

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS



**FARMACOCINÉTICA POBLACIONAL DE ERTAPENEM EN ADULTOS
MAYORES HOSPITALIZADOS EN UNIDADES NO CRÍTICAS**

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

DANIEL IGNACIO PALMA VALLEJOS

**Directores de Tesis: Dra. María Nella Gai
Dra. Elena Vega**

Santiago-CHILE

Agosto 2020

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS

INFORME DE APROBACIÓN DE TESIS DE DOCTORADO

Se informa a la Dirección de la Escuela de Graduados de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas que la Tesis de Doctorado presentada por el candidato:

DANIEL IGNACIO PALMA VALLEJOS

Ha sido aprobada por la Comisión de Evaluadora de Tesis como requisito para optar al grado de Doctor en Ciencias Farmacéuticas, en el examen público rendido el día

Directores de Tesis:

Dra. María Nella Gai

Dra. Elena Vega

Comisión Evaluadora de Tesis:

Dr. Alejandro Álvarez (Presidente)

Dra. Rosemarie Mellado

Dr. Iván Saavedra

Dr. Max Andresen

1. DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a la labor llevada a cabo por los equipos de salud en la pandemia COVID-19.

2. AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a quienes participaron de una forma u otra en concretar este trabajo, y en especial, a la Dra. Carmen Romero, jefa del Laboratorio de Endocrinología del Hospital Clínico de la Universidad de Chile y a todo su equipo por su incondicional apoyo y cariño todo este tiempo.

3. IDENTIFICACIÓN DEL PROYECTO

Este proyecto de tesis fue desarrollado en la Sección de Geriatría del Hospital Clínico de la Universidad de Chile y en el Departamento de Ciencias y Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Chile. Además, contó con el apoyo del Laboratorio Central y Laboratorio de Endocrinología del Hospital Clínico de la Universidad de Chile.

El proyecto obtuvo el apoyo de las siguientes fuentes de financiamiento:

- Beca para estudios de Doctorado en Chile. CONICYT: 2012 – 2016 (Beca n°21120174).
- Oficina de Apoyo a la Investigación Clínica (OAIC 698-14) del Hospital Clínico de la Universidad de Chile.
- Departamento de Ciencias y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

A lo largo del desarrollo del proyecto de tesis, se realizaron las siguientes actividades de difusión y publicación de resultados sobre esta línea de investigación.

Presentación en congreso:

- Palma D, Gai M, Vega E, Cárdenas C. Utilización de Ceftriaxona y Ertapenem en Adultos Mayores Hospitalizados en una Unidad Geriátrica de Agudos. XVIII Congreso Nacional de Geriátrica y Gerontología, 30, 31 de Julio y 1 de Agosto de 2014, Santiago, Chile.

Publicación:

- Palma D, Vega E, Gai M. Determination of Ertapenem for Pharmacokinetic Study. Journal of Advanced Pharmacy Education and Research 2020; Aceptado para publicar.

TABLA DE CONTENIDOS

1. DEDICATORIA.....	ii
2. AGRADECIMIENTOS.....	iii
3. IDENTIFICACIÓN DEL PROYECTO.....	iv
4. ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
5. ÍNDICE DE TABLAS	viii
6. RESUMEN.....	xi
7. SUMMARY	xiii
8. INTRODUCCIÓN.....	1
8.1. Farmacocinética clínica	1
8.1.1. Modelos compartimentales y poblacionales	1
8.2. Paciente Geriátrico y Cambios Fisiológicos Asociados al Envejecimiento	3
8.2.1. Infecciones en el Adulto Mayor	5
8.3. Tratamiento Antimicrobiano	5
8.3.1. Ertapenem	6
8.4. Monitorización Terapéutica de Fármacos en el Paciente Geriátrico	7
9. HIPÓTESIS.....	10
10. OBJETIVOS.....	10
10.1. Objetivo general	10
10.2. Objetivos específicos	10
11. METODOLOGÍA.....	11
11.1. FASE CLÍNICA	11
11.1.1. Selección de Pacientes	12
11.1.2. Recopilación de antecedentes.....	12
11.1.3. Toma de Muestra para Estudio Farmacocinético	13
11.2. FASE ANALÍTICA	14

TABLA DE CONTENIDOS

11.21.	Validación de los Métodos Bioanalíticos.....	14
11.22.	Análisis de Muestras Reales.....	30
11.3.1.	Análisis Farmacocinético Individual	31
11.3.2.	Evaluación del Cumplimiento del Índice PK/PD	32
11.3.3.	Análisis Farmacocinético Poblacional.....	33
11.3.4.	Simulación Farmacocinética de la Dosis	41
12.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
12.1.	FASE CLÍNICA	42
12.1.1.	Caracterización de los pacientes seleccionados	42
12.2.	FASE ANALÍTICA	36
12.2.1.	Validación de los Métodos Bioanalíticos en Plasma Humano.....	36
12.2.2.	Cuantificación de Ertapenem en Muestras Reales	65
12.3.	FASE FARMACOCINÉTICA	68
12.3.1.	Análisis Farmacocinético Individual	68
12.3.2.	Evaluación del Cumplimiento del Índice PK/PD	72
12.3.3.	Análisis Farmacocinético Poblacional.....	74
12.3.4.	Simulación Farmacocinética de la Dosis	85
13.	CONCLUSIONES.....	91
14.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	92

3. ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1: Esquema general del tratamiento de las muestras para análisis total o libre de ertapenem. 22
- Figura 2: Base de datos para realizar análisis poblacional con MATLAB ® 34
- Figura 3: Representación del modelo estructural o modelo farmacocinético de un compartimento en la aplicación SimBiology de MATLAB ®. 36
- Figura 4: Esquema de la selección de pacientes durante el desarrollo del proyecto. 43
- Figura 5: Resumen de cromatogramas correspondientes a plasma blanco de sujetos voluntarios (N=6). 37
- Figura 6: Señal de ertapenem generada a partir de la concentración al límite de cuantificación (3 mg/L). 38
- Figura 7: Linealidad de la concentración plasmática total de ertapenem versus el área generada por el *peak* de ertapenem. 40
- Figura 8: Representación gráfica del promedio de área de ertapenem y la desviación estándar de cada concentración calibrante de la curva de linealidad. 40
- Figura 9: Señal de ertapenem generada a partir de la concentración al límite de cuantificación (0,24 mg/L). 52
- Figura 10: Linealidad de la concentración libre de ertapenem versus el área generada por el *peak* de ertapenem. 54
- Figura 11: Representación gráfica del promedio de área de ertapenem y la desviación estándar de cada concentración calibrante de la curva de linealidad. 55
- Figura 12: Curvas de concentración total (mg/L) (color negro) y de concentración libre (mg/L) (color gris) de ertapenem versus tiempo (h) por paciente (n=5). 70
- Figura 13: Perfil farmacocinético promedio en los pacientes seleccionados (n=5). 71
- Figura 14: Curva de concentración libre de ertapenem en los pacientes seleccionados (n=5). 71
- Figura 15: Curva de concentración libre promedio de ertapenem versus tiempo de los pacientes seleccionados. 73
- Figura 16: Curva de concentración libre promedio de ertapenem versus tiempo del paciente ID#1. 74

- Figura 17: Curvas luego del ajuste de mínimos cuadrados no lineales.
- Figura 18: Curvas ajustadas incluyendo modelo de error exponencial. 77
- Figura 19: Selección de posibles covariables para clearance (Cl). 78
- Figura 20: Selección de posibles covariables para volumen de distribución (Vd). 79
- Figura 21: Curvas ajustadas incluyendo covariables para volumen de distribución y clearance. 81
- Figura 22: Gráfico de bondad de ajuste de la concentración de ertapenem libre predicha versus observada. 83
- Figura 23: Simulación de dosis de ertapenem 1000 mg para pacientes con peso libre de grasa bajo, medio y alto y CIM de 1, 2 y 4 mg/L. 86
- Figura 24: Simulación de dosis de ertapenem 500 mg para pacientes con peso libre de grasa bajo, medio y alto y CIM de 1, 2 y 4 mg/L. 88
- Figura 25: Simulación de dosis fija y velocidad de infusión modificada de 1 hora de ertapenem para pacientes con peso libre de grasa bajo, medio y alto y CIM de 1, 2 y 4 mg/L. 89

4. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Cambios fisiológicos y farmacocinéticos asociados al envejecimiento ¹⁰	4
Tabla 2: Comparación entre la magnitud de cambios fisiológicos asociados al envejecimiento entre pacientes geriátricos robustos y frágiles ³³ .	8
Tabla 3: Descripción de los reactivos de trabajo.	15
Tabla 4: Resumen de las Condiciones Cromatográficas Utilizadas en el Proceso de Validación.	16
Tabla 5: Preparación de soluciones de trabajo para muestras por precipitación de proteínas o para centrifugación/ultrafiltración de ertapenem en plasma humano.	
Tabla 6: Preparación de soluciones calibrantes, controles de calidad, muestras para estabilidad y recuperación a partir de soluciones de trabajo.	19
Tabla 7: Preparación de muestras para análisis de concentración libre de ertapenem en plasma humano.	20
Tabla 8: Caracterización demográfica, antropométrica y mórbida de los reclutados (n=5).	44
Tabla 9: Resumen de las Características Clínicas de los Pacientes Reclutados.	35
Tabla 10: Resumen de los resultados de linealidad promedio de la concentración total de ertapenem en plasma humano.	39
Tabla 11: Resumen de resultados de precisión y exactitud en la concentración en el límite de cuantificación.	41
Tabla 12: Resultados obtenidos para curva precisión y exactitud intradía de ertapenem.	42
Tabla 13: Resumen de los resultados de precisión y exactitud inter-día de la concentración.	44
Tabla 14: Resumen de los resultados obtenidos para recuperación de ertapenem por extracción mediante precipitación de proteínas.	45
Tabla 15: Resultados de estabilidad de ertapenem a corto plazo.	46
Tabla 16: Resultados de Estabilidad de ertapenem en el <i>autosampler</i> .	47
Tabla 17: Resultados de estabilidad de ertapenem por ciclos de congelamiento / descongelamiento.	47

Tabla 18: Resultados de estabilidad de ertapenem en solución stock.	49
Tabla 19: Resultados de estabilidad de ertapenem a largo plazo a dos niveles de concentración: 20 mg/L y 240 mg/L.	49
Tabla 20: Resumen de los resultados de absorbancia de los interferentes al tiempo de retención de ertapenem (T_r : 3,26 min).	51
Tabla 21: Resumen de los resultados de linealidad promedio de la concentración libre de ertapenem en plasma humano.	53
Tabla 22: Resumen de resultados de precisión y exactitud en la concentración en el límite de cuantificación.	56
Tabla 23: Resumen de resultados de precisión y exactitud intradía.	57
Tabla 24: Resumen de los resultados de precisión y exactitud Interdía.	57
Tabla 25: Resumen de los resultados obtenidos para recuperación de ertapenem mediante extracción por ultrafiltración.	59
Tabla 26: Resultados de estabilidad de ertapenem a corto plazo.	60
Tabla 27: Resultados de Estabilidad de ertapenem en el <i>autosampler</i> .	61
Tabla 28: Resultados de estabilidad de ertapenem por ciclos de congelamiento/descongelamiento.	61
Tabla 29: Resultados de estabilidad de ertapenem en solución stock.	62
Tabla 30: Resultados de estabilidad de ertapenem a largo plazo a dos niveles de concentración: 20 mg/L y 240 mg/L.	63
Tabla 31: Concentración total (mg/L) y libre (mg/L) versus tiempo (h) de los pacientes seleccionados.	66
Tabla 32: Resumen de los parámetros farmacocinéticos promedio de los pacientes seleccionados.	68
Tabla 33: Puntos de corte para concentración inhibitoria mínima de los microorganismos identificados en los pacientes incluidos en el estudio.	73
Tabla 34: Selección del modelo estructural para la construcción del modelo poblacional.	75
Tabla 35: Resultados de la evaluación del modelo de error en el modelo poblacional.	76
Tabla 36: Resultados de la prueba de posibles covariables para clearance para el modelo poblacional final.	80

Tabla 37: Resultados de la prueba de posibles covariables para volumen de distribución para el modelo poblacional final.	81
Tabla 38: Estimados finales de los parámetros farmacocinéticos poblacionales obtenidos por modelado no lineal de efectos mixtos con aproximación estocástica.	83

5. RESUMEN

En la población geriátrica, una de las principales causas de hospitalización y muerte son las enfermedades infecciosas. Es por esto que, para un correcto uso de antimicrobianos hay que considerar las características clínicas del paciente, del microorganismo causante de la infección y del tratamiento a elegir, siendo de gran importancia el uso de antibióticos β -lactámicos parenterales, como es el caso de ertapenem. No obstante, para que este antimicrobiano tiempo-dependiente tenga un adecuado efecto bactericida, se debe cumplir que la concentración del fármaco libre supere al valor de la concentración inhibitoria mínima del agente patógeno, al menos en un 40% del tiempo dentro de un intervalo de administración, para lograr una adecuada relación farmacocinética/farmacodinámica y con una óptima respuesta clínica.

El objetivo del estudio fue proponer uno o más modelos farmacocinéticos poblacionales en los adultos mayores hospitalizados en unidades no críticas que den cuenta de las alteraciones en la disposición de ertapenem y sugerir esquemas de dosificación.

Método: Estudio farmacocinético prospectivo fue llevado a cabo en unidades no críticas (Unidad Geriátrica de Agudos) del Hospital Clínico Universidad de Chile, durante los meses de diciembre de 2015 a octubre 2017. En este periodo, se obtuvieron muestras de sangre, las que fueron analizadas por cromatografía líquida de alta resolución con detección UV con el fin de determinar la concentración total y libre de ertapenem en plasma humano en esta subpoblación. Una vez realizada la cuantificación, se realizó análisis farmacocinético individual y poblacional a través de modelado no lineal de efectos mixtos, para finalmente realizar simulación de dosis.

Resultados: Durante el periodo de muestreo fueron seleccionados 5 pacientes, con edad promedio de $79,0 \pm 6,8$ años, la mayoría de ellos ($n=4$; 80%) ingresó a UGA desde UPC. Respecto de la antropometría, el peso libre de grasa promedio fue de $37,5 \pm 8,1$ kg. El análisis farmacocinético poblacional demostró que las concentraciones libres de ertapenem observadas se ajustan a un modelo de un compartimento, con velocidad de infusión de

orden cero y velocidad de eliminación de primer orden. La estimación de parámetros obtenidos fueron *clearance* (CL) 10,5 L/h y volumen de distribución (Vd) 121,3 L. Ambos parámetros mostraron una fuerte asociación exponencial con la covariable peso libre de grasa (PLG), siendo la única covariable del modelo establecida. Por otro lado, las simulaciones de dosis permitieron detectar que en pacientes con peso libre de grasa bajo (30 kg) tienen mayor probabilidad de cumplimiento del índice PK/PD comparados con aquellos que tenían un peso libre de grasa más alto (45 kg) o medio (37,5 kg). Por otro lado, la extensión de la infusión intravenosa intermitente no solo aumentó la probabilidad de incumplimiento sino también que no se logran concentraciones máximas libres adecuadas para lograr el índice PK/PD.

En conclusión, existen cambios fisiológicos del envejecimiento, como los relativos a la composición corporal y, en específico, el peso libre de grasa, que pueden cambiar el perfil bactericida de ertapenem, reduciendo potencialmente su efectividad.

6. SUMMARY

In the elderly, one of the major causes of hospitalization and death are infectious diseases. The clinical features of the patient, the microorganism causing the infection and the treatment of choice must be considered for a correct use of antimicrobials, being of great importance the use of parenteral β -lactam antibiotics, as ertapenem. However, time- dependent antimicrobials must reach the concentration of the free drug exceeds the minimum inhibitory concentration of the pathogen, at least 40% of the administration interval, to achieve an adequate pharmacokinetic/pharmacodynamic index with an optimal clinical response.

The objective of the study was to propose one or more population pharmacokinetic models in the elderly inpatient in non-critical units to account for the alterations in disposition of ertapenem and to propose dosing simulation to optimize PK/PD index.

Method: Prospective pharmacokinetic study was carried out in non-critical units (Acute Geriatric Unit) at Hospital Clinico Universidad de Chile, between December 2015 and October 2017. In this period, blood samples were obtained, which were analyzed by high performance liquid chromatography with UV detection to determine the total and free concentration of ertapenem in human plasma in this subpopulation. Once the quantification was done, individual and population pharmacokinetic analysis was performed through non-linear mixed-effects modeling, to finally perform dose simulation.

Results: In sampling time, 5 patients were selected, with an average age of 79.0 ± 6.8 years, most of them (n=4, 80%) enrolled in Acute Geriatric Unit from Critical Patient Unit. Regarding anthropometry, the average fat-free weight was 37.5 ± 8.1 kg. The population pharmacokinetic analysis showed the observed free ertapenem concentrations are adjusted to a one compartment model, with zero order infusion rate and first order elimination rate. The estimation of parameters obtained were clearance (Cl) 10.5 L/h and volume of distribution (Vd) 121.3 L. Both parameters showed a strong exponential association with the covariate fat-free mass (FFM), being the only established covariate in the model. On the

other hand, dose simulations allowed us to detect in patients with low FFM (30 kg) have a higher probability of compliance with the PK/PD index compared with higher fat-free mass (45 kg) or medium (37.5 kg). Moreover, the extension of the intermittent intravenous infusion not only increased the probability of noncompliance but also adequate maximum free concentrations are not achieved to achieve the PK/PD index.

In conclusion, physiological changes of aging, such fat-free mass, can change the bactericidal profile of ertapenem, potentially reducing its effectiveness.

7. INTRODUCCIÓN

7.1. Farmacocinética clínica

La Farmacocinética Clínica es una ciencia de carácter multidisciplinar y de un gran interés sanitario, cuyo principal objetivo en la práctica asistencial es la individualización posológica u optimización de los tratamientos farmacológicos, a fin de alcanzar la máxima eficacia terapéutica con la mínima incidencia de efectos adversos¹.

Durante el desarrollo de la farmacocinética clínica, la investigación se ha centrado fundamentalmente en el estudio de las concentraciones plasmáticas de los fármacos, asumiendo la hipótesis de que, al alcanzar el equilibrio de distribución, la concentración libre en el sitio de acción (o biofase) va a estar en equilibrio con la concentración del fármaco en el plasma². Esto puede ser dilucidado a través de modelos compartimentales que corresponden a ecuaciones diferenciales, generalmente lineales, utilizadas para describir el proceso dinámico del paso de un fármaco dentro y fuera de un compartimento. Tales modelos son representados por perfiles de concentración plasmática versus tiempo que se ajustan a estas ecuaciones matemáticas para identificar al modelo que mejor describe la tendencia de sus datos. Además, permiten obtener parámetros farmacocinéticos como el volumen de distribución aparente (Vd) en el que el fármaco se distribuye o estimar el tiempo que se demora en disminuir a la mitad la concentración plasmática del fármaco durante la fase de eliminación terminal (vida media $t_{1/2}$), cuantificar el factor que da cuenta de la eliminación del fármaco desde el torrente sanguíneo (*Clearance* – Cl) y también determinar una medición de exposición al fármaco (área bajo la curva de concentración plasmática versus tiempo – ABC)³.

7.1.1. Modelos compartimentales y poblacionales

Por otro lado, los compartimentos no tienen necesariamente un significado anatómico o fisiológico e incluso pueden ser considerados como un solo tejido o un grupo de ellos con similares características. Por ejemplo, el modelo de un compartimento es el más simple

pues todos los tejidos y fluidos son considerados parte de una misma unidad. Se asume que, luego de una dosis de fármaco administrada, este alcanza su equilibrio de distribución en forma tan rápida que puede considerarse que ocurre en forma instantánea en todo el organismo ⁴. Sin embargo, algunos fármacos no se distribuyen de inmediato en todo el cuerpo y presentan un patrón de distribución rápido hacia el torrente sanguíneo y los órganos o tejidos altamente irrigados, como hígado y riñones, y un patrón de distribución lento hacia otros tejidos corporales. Este comportamiento puede ser representado por los modelos de dos o más compartimentos ⁴.

Si bien ambos modelos han sido ampliamente utilizados porque ellos permiten explicar la disposición de la gran mayoría de los fármacos, son difíciles de aplicar en el contexto clínico por el alto número de muestras que deben ser obtenidas para definirlos adecuadamente ⁵. Además, parámetros farmacocinéticos como la vida media ($t_{1/2}$), *clearance* (Cl), volumen de distribución (Vd) y el área bajo la curva (ABC) son susceptibles de variar debido a cambios fisiológicos, entre ellos, los asociados al envejecimiento ⁶.

Es debido a lo anterior que el análisis poblacional se aventaja por sobre el modelo compartimental pues permite recopilar información farmacocinética en subgrupos de pacientes que utilizan algún fármaco o grupo terapéutico, intentando explicar la variabilidad a través de la identificación de factores demográficos, fisiopatológicos, medioambientales o relacionados con el impacto en la disposición del fármaco, reconociendo también la variabilidad no atribuible a la población en estudio ⁷. Además, permite elaborar regímenes de dosificación en los que no se poseen antecedentes sobre los parámetros farmacocinéticos individuales ⁸.

Un modelo de población consta de parámetros de efectos fijos y parámetros de efectos aleatorios. Los primeros cuantifican los valores medios de las características individuales del paciente como edad, sexo, función renal, y sus parámetros farmacocinéticos. Los últimos cuantifican la magnitud promedio de la variabilidad residual como resultado de la variabilidad aleatoria intraindividual de los parámetros farmacocinéticos, de los errores en la metodología analítica, en la extracción de la muestra, así como también al error asociado

a la elección del modelo compartimental, independiente del orden que sea la cinética ⁸. Las características poblacionales incluyen valores típicos de los parámetros farmacocinéticos, la relación cuantitativa con las características fisiológicas del paciente (peso, función renal, hepática, cardíaca, entre otros) y la variabilidad entre los pacientes que la constituyen ⁸.

7.2. Paciente Geriátrico y Cambios Fisiológicos Asociados al Envejecimiento

Actualmente, la población mundial se encuentra en un proceso de envejecimiento progresivo. Hacia el año 2050, se estima que, por cada 1 niño menor de 15 años, habrá 3,2 ancianos ⁹. Sin embargo, con una creciente población envejecida, el número de personas mayores frágiles se incrementará proporcionalmente, lo que tendrá una sustancial repercusión sobre los sistemas económicos, sociales y sanitarios, asociados a un riesgo incrementado de discapacidad, caídas, demencias, hospitalización, institucionalización, utilización de servicios asistenciales y muerte ¹⁰. Por lo tanto, es necesario desarrollar estrategias que permitan comprender y prevenir esta condición adversa, situación que podría aclararse incluyendo pacientes geriátricos en investigación clínica ¹¹.

Desafortunadamente, este síndrome geriátrico, conocido como fragilidad, está relacionado con la reducción de la capacidad de reserva de múltiples órganos y funciones y puede ser desencadenado por enfermedades, inadecuada ingesta nutricional, debilitamiento de la capacidad física, estrés y los cambios fisiológicos asociados al envejecimiento (Tabla 1) ¹⁰. Estos últimos son capaces de alterar las características farmacocinéticas y farmacodinámicas de los fármacos, debido a que, durante la senescencia, la composición orgánica sufre una disminución progresiva del agua corporal total y de la masa magra, resultando en un incremento relativo de la grasa corporal (30% en promedio) ⁶.

Tabla 1: Cambios fisiológicos y farmacocinéticos asociados al envejecimiento ¹⁰

Composición corporal	
Grasa corporal	Aumenta
Masa magra corporal	Disminuye
Agua corporal total	Disminuye
Absorción	
pH Gástrico	Aumenta
Capacidad secretoria	Disminuye
Flujo sanguíneo gastrointestinal	Disminuye
Distribución	
Albúmina plasmática	Disminuye
Afinidad por proteínas	Disminuye
α 1-glicoproteína ácida	Aumenta
Metabolismo	
Tamaño del Hígado	Disminuye
Flujo sanguíneo hepático	Disminuye
Función renal	
Velocidad de filtración glomerular	Disminuye
Flujo plasmático renal	Disminuye

Como consecuencia de estos cambios, los fármacos polares, al ser solubles en agua, tienden a tener volúmenes de distribución más pequeños, lo que podría causar mayores concentraciones de fármaco libre en el plasma. Además, a partir de los 40 años el flujo sanguíneo renal cae aproximadamente 1% por año, propiciando una disminución de la excreción renal para todos los fármacos que son eliminados a través de esta vía ¹². En adición, los compuestos ácidos se unen principalmente a albúmina, proteína plasmática que disminuye en ancianos que padecen enfermedades infecciosas, inflamatorias y en malnutridos ¹².

Estas dos últimas condiciones reducen la concentración de albúmina por disminución de su velocidad de síntesis, mientras que la inflamación, por sí misma, está asociada a una mayor velocidad catabólica, y cuando es extrema, mueve a esta proteína plasmática fuera del compartimento vascular, lo que podría resultar en hipoalbuminemia, condición que es

reconocida como un potente predictor de mortalidad en pacientes que padecen enfermedad renal crónica (ERC) ¹³.

Por otra parte, es frecuente que la inflamación pueda causar daño en el endotelio vascular ¹³. En pacientes con edema generalizado, el incremento en la presión capilar es el principal promotor de movimiento de fluido desde los vasos sanguíneos hacia el espacio intersticial. Por ejemplo, en pacientes con insuficiencia cardiaca congestiva (ICC) se expande el volumen plasmático, en el daño hepático crónico (DHC) hay estancamiento de la sangre por obstrucción venosa y en las infecciones hay aumento de la permeabilidad capilar ¹⁴.

7.2.1. Infecciones en el Adulto Mayor

Los adultos mayores son particularmente susceptibles de sufrir cuadros sépticos por diversos factores como la institucionalización, malnutrición, inmunosenescencia y por las múltiples comorbilidades que padecen. Además, la gravedad de la infección parece estar directamente relacionada con patologías crónicas, tabaquismo, abuso de alcohol y con el deterioro funcional ^{15,16}.

Debido a estos factores, es que las enfermedades infecciosas son las responsables del 30% de las causas de muerte en los adultos mayores y son el motivo más frecuente de hospitalización en esta población ¹⁷. Comúnmente, los adultos mayores de 65 años que requieren hospitalización por infecciones adquiridas en la comunidad ingresan a un centro asistencial por cuadros frecuentemente producidos por bacterias que infectan principalmente al tracto urinario y al tracto respiratorio, seguidas por infecciones a la piel y tejidos blandos ¹⁸.

7.3. Tratamiento Antimicrobiano

Por estas razones, la elección del tratamiento antibiótico al ingreso o durante la hospitalización debe estar asociada al contexto clínico del paciente y al espectro de acción antimicrobiano. A fin de cubrir adecuadamente a los microorganismos bacterianos que frecuentemente podrían causar el foco de infección, una de las bases terapéuticas es el uso de los antibióticos betalactámicos ¹⁹⁻²⁰. Estos antimicrobianos actúan inhibiendo el

crecimiento de las bacterias susceptibles por inactivación de enzimas ubicadas en la membrana celular bacteriana conocidas como proteínas de unión a penicilina (PBP - *Penicillin binding protein* - en inglés). Estas están involucradas en la tercera etapa de la síntesis de la pared celular, donde las hebras lineales de peptidoglucano se entrecruzan formando un polímero similar a una red que cubre a la célula bacteriana y le confiere estabilidad osmótica en el medio hipertónico del paciente infectado ²¹.

Existen diferentes tipos de PBPs que le confieren otras funciones a la célula bacteriana, como es el caso de la PBP2 en la *E. coli*, que es fundamental para mantener la forma de varilla del bacilo o la PBP3 que está involucrada en la formación del tabique durante la división celular. Consecuentemente, diferentes tipos de betalactámicos se unirán con diferentes afinidades a las PBPs, influyendo en el desarrollo microbiano y, por lo tanto, en la capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano o el efecto bactericida ²². Esta respuesta a los betalactámicos dependerá en gran medida del tiempo (T) en que la concentración del fármaco libre se mantiene sobre la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) del microorganismo patógeno ($fT > CIM$), preferiblemente dentro de un 40% del intervalo de dosis para poder asegurar un tratamiento óptimo ^{23, 24}.

Sin embargo, los betalactámicos se caracterizan por ser antibióticos hidrofílicos, lo que implica que son incapaces de difundir pasivamente a través de la membrana plasmática de las células eucariontes, es decir, son inactivos frente a patógenos intracelulares (*Legionella pneumophila*, *Chlamydia pneumoniae*) siendo limitados al espacio extracelular y/o definidos por el grado de eliminación renal como fármaco inalterado principalmente. Es por esta razón que cuando los antimicrobianos presentan este tipo de Vd bajo ($< 0,3 - 0,4$ L/Kg), sus concentraciones plasmáticas e intersticiales pueden caer dramáticamente debido a la extravasación de fluido o edema (3 L), generando un alto riesgo de fluctuaciones en la disposición del antibiótico ²⁵.

7.3.1. Ertapenem

Entre los betalactámicos descritos con bajo Vd, vida media larga, alto porcentaje de unión a albúmina y con algún grado de eliminación renal como fármaco inalterado, se encuentra

ertapenem ²⁶, antibiótico que no ha sido investigado fuera del contexto de unidades de paciente crítico ni exclusivamente en adultos mayores hospitalizados (con características clínicas diferentes al adulto joven).

Ertapenem es un antibiótico betalactámico, de administración parenteral, perteneciente al grupo de los carbapenémicos que ha demostrado ser adecuado como tratamiento empírico de infecciones por betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en pacientes hospitalizados ²⁷ y con equivalencia con ceftriaxona en estudios clínicos, en relación a eficacia y seguridad, para infecciones adquiridas en la comunidad ²⁸.

Algunas características farmacológicas (vida media larga, administración diaria única, alta unión a proteínas plasmáticas y eliminación renal como fármaco inalterado) le confieren ventajas terapéuticas frente al resto de los carbapenémicos. No obstante, aunque su espectro de acción es amplio, tiene limitada actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococos*, bacterias comúnmente asociadas con infecciones nosocomiales o intrahospitalarias ²⁹. Ertapenem es eliminado como fármaco inalterado principalmente a través de filtración glomerular y procesos secretorios, pudiendo aumentar su vida media de eliminación de 4,4 a 14,1 horas, dependiendo de la etapa de la enfermedad renal. Además, tiene una alta unión a proteínas plasmáticas en el rango de concentraciones terapéuticas, desde un 95% en concentraciones inferiores a 50 mg/L hasta 92% en concentraciones de 150 mg/L, distribuyéndose principalmente en el líquido extracelular y alcanzando gran variedad de tejidos ³⁰.

7.4. Monitorización Terapéutica de Fármacos en el Paciente Geriátrico

La Monitorización Terapéutica de Fármacos (MTF) es una práctica clínica que tiene como objetivo medir la concentración de un fármaco de forma específica en una matriz biológica extraída desde un paciente para poder optimizar los intervalos de dosificación individualmente ³¹. Además, es una intervención centrada en la evidencia, que considera para el desarrollo del diseño metodológico las características farmacológicas de una molécula, las estrategias de dosificación, así como también factores que podrían afectar a la

variabilidad en la respuesta, como las características clínicas y sociodemográficas ³². Con la MTF se pretende alcanzar el mayor beneficio del tratamiento, evitando las consecuencias adversas de su uso. Además de adecuar el balance del riesgo/beneficio, uno de los principales objetivos de la MTF es mejorar la respuesta clínica en población general o en pacientes en situaciones especiales a través de la utilización de mediciones en diferentes matrices biológicas de fármacos (monitorización farmacocinética) y/o mediante el uso de biomarcadores (monitorización farmacodinámica) ³².

En este sentido, debido a los cambios fisiológicos asociados al envejecimiento, a la alta carga de enfermedades crónicas que padecen y a los múltiples tratamientos de los que son subsidiarios, los adultos mayores frágiles pueden presentar cambios exagerados en su farmacocinética frente a un adulto mayor robusto o en el que cuyo proceso de envejecimiento podría considerarse normal (Tabla 2) ³³. La persona mayor robusta es aquella que presenta cambios fisiológicos del envejecimiento pero que no necesariamente repercuten clínica o farmacológicamente en los tratamientos utilizados, a diferencia del paciente frágil, cuyos cambios farmacocinéticos y farmacodinámicos pueden tener implicancias en seguridad y efectividad ³³.

Tabla 2: Comparación entre la magnitud de cambios fisiológicos asociados al envejecimiento entre pacientes geriátricos robustos y frágiles ³³.

Proceso Farmacocinético	Paciente Geriátrico Robusto	Paciente Geriátrico Frágil
Absorción	↔	↓ o ↔
Distribución	↓ Agua corporal total ↑ Tejido Adiposo ↓ Albúmina	↓↓ Agua corporal total ↑↑ Tejido Adiposo ↓↓ Albúmina
Metabolismo	↓ Biotransformación ↔ Bioconjugación	↓↓ Biotransformación ↓ Bioconjugación
Excreción	↓	↓↓

Simbología: ↔: Inalterado; ↓: Disminuido; ↓↓: Muy disminuido; ↑: Aumentado; ↑↑: Muy aumentado.

De acuerdo con lo anterior, es esperable que para fármacos con un gran volumen de distribución y un alto porcentaje de unión a albúmina, como ertapenem, en pacientes con hipoalbuminemia y/o volúmenes de distribución alterados, exista mayor variabilidad en las concentraciones plasmáticas libres necesarias para obtener eficacia terapéutica ³⁴.

De este modo, la MTF podría ser una herramienta que permita maximizar el %fT>CIM, limitando la probabilidad del desarrollo de resistencia a los antimicrobianos ³⁵. Es por esto que, debido a la incrementada prevalencia de microorganismos multirresistentes, sumado a las alteraciones fisiopatológicas y farmacocinéticas en la persona mayor frágil, queda en evidencia el rol potencial de la MTF en la optimización de la prescripción y dosificación de betalactámicos ³⁶, lo que podría beneficiar a los pacientes geriátricos y ser de gran utilidad para los clínicos en la toma de decisiones.

8. HIPÓTESIS

A través del análisis farmacocinético poblacional se podrán identificar los cambios fisiopatológicos responsables de las alteraciones en la disposición de ertapenem que interfieren con el óptimo cumplimiento de la meta farmacocinética/farmacodinámica en adultos mayores hospitalizados en unidades no críticas.

9. OBJETIVOS

9.1. Objetivo general

Proponer uno o más modelos farmacocinéticos poblacionales en los adultos mayores hospitalizados en unidades no críticas que den cuenta de las alteraciones en la disposición de ertapenem.

9.2. Objetivos específicos

1. Caracterizar a los pacientes seleccionados desde el punto de vista sociodemográfico y mórbido.
2. Identificar los cambios fisiopatológicos que influyen en la disposición de ertapenem a través de modelos farmacocinéticos poblacionales.
3. Evaluar si ertapenem cumple con un óptimo parámetro farmacocinético/farmacodinámico (%fT>CIM).
4. Proponer esquemas de optimización de la dosificación de ertapenem.

10. METODOLOGÍA

Durante el desarrollo del proyecto, se programaron y realizaron diferentes actividades con el fin de dar cumplimiento a los objetivos del estudio:

4.1. FASE CLÍNICA (2014 – 2017): Selección de pacientes, recopilación de antecedentes clínicos y muestreo.

4.2. FASE ANALÍTICA (2015 – 2017): Pruebas preliminares y validación de dos métodos de determinación de ertapenem en plasma humano.

4.3. FASE FARMACOCINÉTICA (2017 – 2019): Modelado farmacocinético acorde a los datos obtenidos de concentraciones totales y libres de ertapenem en la matriz biológica estudiada.

10.1. FASE CLÍNICA

Durante esta etapa del estudio, las dependencias utilizadas fueron: Unidad Geriátrica de Agudos, Laboratorio Central y Laboratorio de Endocrinología del Hospital Clínico de la Universidad de Chile.

Para el cumplimiento de las buenas prácticas clínicas (BPC) durante el desarrollo del proyecto, y, en especial, durante la fase clínica del estudio, este se enmarcó de acuerdo con la Ley N°20.584, que regula los derechos y deberes de las personas en relación con acciones vinculadas a su atención en salud, y que entró en vigencia el 1 de octubre de 2012

³⁷. De este modo, el protocolo de estudio fue presentado y aprobado por el Comité de Ética Científico y de Investigación del Hospital Clínico Universidad de Chile (HCUCH) para ser llevado a cabo cumpliendo las BPC y los principios bioéticos (Anexo 1).

10.1.1. Selección de Pacientes

Durante un periodo de dos años (diciembre 2015 – octubre 2017), los pacientes hospitalizados en unidades no críticas fueron evaluados cumpliendo los siguientes criterios de selección:

Criterios de inclusión:

- Hombres y mujeres ≥ 65 años.
- Admitidos en Unidad Geriátrica de Agudos o Medicina Interna del HCUCH.
- Cursando infección en que el tratamiento de elección o empírico sea ertapenem administrado por vía intravenosa y que hayan recibido al menos una dosis previamente.

Criterios de exclusión:

- Pacientes subsidiarios de hemodiálisis o peritoneodiálisis.
- Aquellos que no estén en condiciones de otorgar el consentimiento informado.

A todos los pacientes seleccionados para el estudio se les realizó el proceso de consentimiento informado en presencia de los Ministros de Fe (Anexo 2).

10.1.2. Recopilación de antecedentes

Los datos sociodemográficos y biomédicos de cada paciente fueron obtenidos a partir de la ficha electrónica (TiCares®) y recopilados en una ficha de seguimiento farmacéutico especialmente diseñada para el presente estudio (Anexo 3), resguardando la privacidad de la información de los pacientes a través de códigos correlativos en la medida que fueron ingresados al estudio (ID#1, ID#2, ID#3 y sucesivamente).

Para estimar la función renal, se utilizó el examen de creatinina sérica (mg/dL) y se estimó la velocidad de filtración glomerular (VFG) mediante el uso de dos fórmulas (aMDRD,

MDRD-6). Para la estimación del *clearance* de creatinina (ClCr), se utilizó la fórmula de Cockcroft-Gault. Para realizar la estimación de la VFG (mL/min) a través de la fórmula MDRD-6, fue necesario registrar albúmina plasmática (g/dL) y nitrógeno ureico sérico (mg/dL) en cada uno de los pacientes.

Para establecer el índice de comorbilidad por paciente y por muestra total, se utilizó el índice de Charlson ajustado por edad ³⁸ (Anexo 4).

Por otro lado, fueron consideradas como medidas antropométricas relevantes en el senescente: el peso (kg), estatura (m), índice de masa corporal (kg/m²), altura de rodilla (cm), circunferencia de cintura (cm), circunferencia de antebrazo (cm), circunferencia de la pantorrilla (cm) y los pliegues cutáneos (tricipital, bicipital, suprailíaco, subescapular) (cm). La medición antropométrica permitió estimar el peso libre de grasa ³⁹.

Los pacientes que iniciaron tratamiento con ertapenem, recibieron un esquema de administración por infusión intravenosa de 1 gramo al día o 500 mg cada 24 horas si el ClCr < 30 mL/min.

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante estadística descriptiva utilizando una planilla de datos a través del programa Excel de Microsoft Office 365 ®.

10.1.3. Toma de Muestra para Estudio Farmacocinético

Una vez que los participantes recibieron una dosis de ertapenem, las muestras fueron tomadas a los tiempos 0 - 0,5 - 1 - 2 - 3 - 6 - 12 y 24 horas. El tiempo cero corresponde al tiempo justo antes de administrar la dosis siguiente.

Las muestras de sangre fueron obtenidas a partir de catéter venoso (radial o cubital) y recibidas en tubos con anticoagulante EDTA (tubo tapa lila, para muestras plasmáticas) e inmediatamente procesadas en el Laboratorio de Endocrinología del HCUCH a través de centrifugación a 5000 rpm por 5 minutos a 4°C. Finalmente, las

muestras fueron transferidas a tubos de centrifugación, rotuladas con el código de identificación del paciente, con la fecha y hora exacta de toma de muestra y almacenadas a -80°C hasta el momento del análisis.

10.2. FASE ANALÍTICA

El desarrollo de esta fase del proyecto fue llevado a cabo en el Laboratorio de Biofarmacia/Farmacocinética de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile.

El objetivo de esta fase fue validar los métodos analíticos para la determinación de la concentración total y libre de ertapenem en plasma humano, a fin de realizar la cuantificación de las muestras reales obtenidas.

10.2.1. Validación de los Métodos Bioanalíticos

El método de análisis por *HPLC* fue evaluado por selectividad, linealidad, precisión, exactitud, reproducibilidad, recuperación y estabilidad, según la guía de la *Food and Drug Administration (FDA)* para la validación de métodos bioanalíticos⁴⁰.

4.2.1.1. Reactivos

Ertapenem fue obtenido desde una formulación comercial disponible para administración inyectable, el producto Invanz ®, Merck Sharp and Dohme que lo contiene como sal sódica. En la Tabla 3, se describen los reactivos y materiales utilizados durante la fase analítica del estudio. Toda el agua desionizada (18.2 M Ω) fue preparada a través de un sistema de purificación Millipore (Bedford, MA, USA). El plasma blanco fue obtenido desde el Laboratorio Central del HCUCH.

Tabla 3: Descripción de los reactivos de trabajo.

Reactivo	Descripción
Ertapenem	ERT. Ertapenem sódico, Invanz, Merk Sharp and Dohme, N° lote 2157030.
Fosfato de sodio monobásico monohidratado	NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O, grado analítico, adquirido en Merck Chile.
Acetonitrilo	LiChrosolv, grado gradiente para cromatografía líquida, adquirido en Merck Chile.
Ácido Ortofosfórico	H ₃ PO ₄ , grado analítico, adquirido en Merck Chile.
Agua	Agua desionizada de Tipo I, obtenida con sistema Milli-Q.

4.2.1.2. Condiciones Cromatográficas y Equipamiento

El sistema HPLC consistió en un equipo Flexar FX-20 LC Pump (Waltham, MA, USA) con detector UV/visible. El controlador del instrumento, la obtención de la información y el procesamiento de datos fue llevado a cabo por Chromera Software (Waters, Milford, USA). La separación cromatográfica fue ejecutada a 25°C, mediante horno, utilizando una columna Spherisorb C18; 4,6 x 250 mm, 5 µm (Waters, Milford, USA).

La fase móvil estaba compuesta de acetonitrilo-*buffer* fosfato (pH 6,5; 50 mM) (14:86, v/v) a una velocidad de flujo isocrática de 1 mL/min y a un volumen de inyección de 5 µL para concentración total y 50 µL para muestras de concentración libre. Los *peaks* de interés fueron detectados por absorbancia UV a una longitud de onda de 310 nm. La cuantificación se basó en el área del *peak* de ertapenem.

Tabla 4: Resumen de las Condiciones Cromatográficas Utilizadas en el Proceso de Validación.

Equipo	: Flexar FX-20 LC Pump
Columna	: Spherisorb C18; 4,6 x 250 mm, 5 μ m
Fase Móvil	: <i>Buffer</i> fosfato 50 mM 86%: Acetonitrilo 14%, pH 6,5
Detector	: UV visible
Longitud de onda	: 310 nm
Flujo	: 1 mL/min
Volumen de inyección	: 5 μ L (total) – 50 μ L (libre)
Tiempos de retención (T_r) aprox.	: T_r = 2,54 min (total) – 3,26 min (libre)
Tiempo de corrida	: 3,5 minutos

4.2.1.3. Fase Móvil

La fase móvil fue preparada disolviendo 6,89 g de fosfato de sodio monobásico monohidratado en 880 mL de agua desionizada, agregando 120 mL de acetonitrilo y ajustando el pH a 6,5 con hidróxido de sodio, haciendo que el volumen total de la fase móvil sea mayor a 1 L. Finalmente, la fase móvil fue desgasificada y filtrada a través de un sistema de filtración Millipore.

4.2.1.4. Preparación de soluciones

El rango para probar la linealidad de las concentraciones totales de ertapenem fue obtenido desde datos farmacocinéticos disponibles en la literatura, donde la $C_{m\acute{a}x}$ promedio era aproximadamente 150 mg/L^{41,42}. Por lo tanto, se consideró desde 300 mg/L, que corresponde al doble de la $C_{m\acute{a}x}$ (considerando la variabilidad interindividual) y hasta 1 mg/L, es decir entre un 0,6 – 200% del valor relativo a la $C_{m\acute{a}x}$.

Para construir la curva de calibrado de linealidad del sistema, las muestras fueron sometidas a precipitación de proteínas y, posteriormente, inyectadas en orden. Primero, una muestra

blanco por triplicado y cinco veces cada solución calibrante (1, 2, 3, 4, 10, 15, 40, 75, 150 y 300 mg/L).

De similar forma, para probar la linealidad de las concentraciones libres de ertapenem, las características farmacocinéticas fueron revisadas en la literatura, donde el porcentaje de unión a albúmina de ertapenem es aproximadamente 90%. Por lo tanto, el intervalo fue considerando un 10% de los valores utilizados para confeccionar la curva de calibrado de la concentración total de ertapenem.

Así, se consideró como punto máximo 60 mg/L, lo que corresponde a 4 veces el valor de la $C_{máx}$ (obtenida desde $C_{máx}$ libre de 15 mg/L) considerando la variabilidad interindividual y hasta 0,24 mg/L, es decir, entre un 0,4 – 400% relativo a la $C_{máx}$. Para construir la curva de calibrado de linealidad del sistema, las muestras fueron sometidas a centrifugación utilizando un dispositivo de ultrafiltración (descrito más adelante), para posteriormente ser inyectadas en el *autosampler*. Primero, una muestra cero en triplicado y cinco veces cada calibrante (0,24; 1,2; 2,4; 6; 9; 12; 36; 48 y 60 mg/L).

De este modo, fue establecido el intervalo de linealidad esperado, para luego preparar las soluciones a fin de continuar con el proceso de validación.

Todas las concentraciones preparadas fueron calculadas a través de la siguiente ecuación:

$$V_i \times C_i = V_f \times C_f \text{ (ecuación 1)}$$

Donde:

- C_i : Concentración inicial. Concentración de la solución stock de ertapenem.
- V_i : Volumen de la solución inicial necesario para obtener la solución de trabajo.
- C_f : Concentración final. Concentración alcanzada de la solución de trabajo.
- V_f : Volumen final de la solución de trabajo.

La formulación comercial de ertapenem fue disuelta en agua desionizada para obtener 100 mg/mL de solución reconstituida (solución *stock* o madre). Luego, las soluciones de trabajo fueron preparadas a partir de alícuotas de solución reconstituida con agua desionizada para cada nivel de concentración (Tabla 5), las que fueron agitadas en vórtex por 30 segundos y almacenadas en volúmenes de 10 mL a -80°C por más de 12 meses.

Concentración reconstituido/ Concentración soluciones de trabajo (mg/L)	Alícuotas (μ L)	Concentración soluciones de trabajo (mg/L)
100000	1800	18000
100000	900	9000
100000	600	6000
100000	300	3000
100000	180	1800
100000	120	1200
100000	100	1000
100000	90	900
100000	60	600
100000	48	480
100000	24	240
1200	1000	120
1000	480	48
1000	120	12

Luego, las muestras fueron divididas en dos grupos y procesadas por precipitación de proteínas (4.2.1.4.1) para obtener aquellas que serán analizadas para determinación de concentración total o sin precipitación de proteínas para análisis de concentración libre y posterior centrifugación con dispositivo de ultrafiltración (4.2.1.4.2).

Precipitación de proteínas

A partir de las soluciones de trabajo, se tomaron diferentes alícuotas para preparar soluciones de calibrantes, controles de calidad (QC), muestras para recuperación y

estabilidad. Estas fueron transferidas a tubos de centrifugación de 15 mL, aforadas con plasma blanco hasta completar 3 mL de muestra. Luego, fueron tratadas con 6 mL de acetonitrilo para realizar precipitación de proteínas y obtener diferentes niveles de concentración (Tabla 6). Luego, las muestras fueron agitadas 30 segundos en vórtex y centrifugadas a 14.000 x g, durante 5 minutos a 4°C, recuperando el sobrenadante obtenido⁴³. Finalmente, las muestras fueron separadas en alícuotas de 200 µL, llevándolas a sequedad mediante corriente de nitrógeno a 30°C.

Posteriormente, el residuo seco fue reconstituido con 200 µL de fase móvil⁴⁴, transfiriendo las muestras a viales para posteriormente continuar con el análisis cromatográfico.

Tabla 5: Preparación de soluciones calibrantes, controles de calidad, muestras para estabilidad y recuperación a partir de soluciones de trabajo.

Soluciones de trabajo	Alícuota	Plasma	Calibrante
(mg/L)	(µL)	(µL)	(mg/L)
18000	50	2950	300
9000	50	2950	150
6000	37.5	2962.5	75
3000	40	2960	40
900	50	2950	15
600	50	2950	10
240	50	2950	4
120	37.5	2962.5	3
Soluciones de trabajo	Alícuota	Plasma	QC
(mg/L)	(µL)	(µL)	(mg/L)
18000	40	2960	240
9000	60	2940	120
6000	60	2940	12
Soluciones de trabajo	Alícuota	Plasma	REC
(mg/L)	(µL)	(µL)	(mg/L)

18000	40	2960	240
6000	15	2985	30
600	50	2950	10
Soluciones de trabajo	Alícuota	Plasma	EST
(mg/L)	(μ L)	(μ L)	(mg/L)
18000	40	2960	240
1800	20	2980	20

Muestras para centrifugación/ultrafiltración

Antes del proceso de ultrafiltración para análisis de concentración libre, las muestras utilizadas con este fin no deben ser procesadas por precipitación de proteínas, por lo tanto, no se adicionó acetonitrilo para el procedimiento de preparación de las muestras.

A partir de las soluciones de trabajo, se tomaron diferentes alícuotas (Tabla 7), las que fueron transferidas a tubos de centrifugación y aforadas con plasma blanco hasta completar 5 mL de muestra para preparar: calibrantes, controles de calidad y para las pruebas de recuperación y estabilidad.

Para cada muestra, 200 μ L fueron puestos dentro de un dispositivo de ultrafiltración Vivaspin 500 ® (500 μ L: capacidad en volumen del dispositivo, 30.000 kDa: punto de corte de peso molecular del sistema de filtración), centrifugado por 10 minutos a 15.000 x g a 4°C ⁴⁵.

Finalmente, se obtuvo una alícuota de 100 μ L de ultrafiltrado, la que fue transferida a un vial (con inserto vidrio ámbar), agitada por 30 segundos en vórtex y puesto en el *autosampler* para continuar con el análisis cromatográfico.

Tabla 6: Preparación de muestras para análisis de concentración libre de ertapenem en plasma humano.

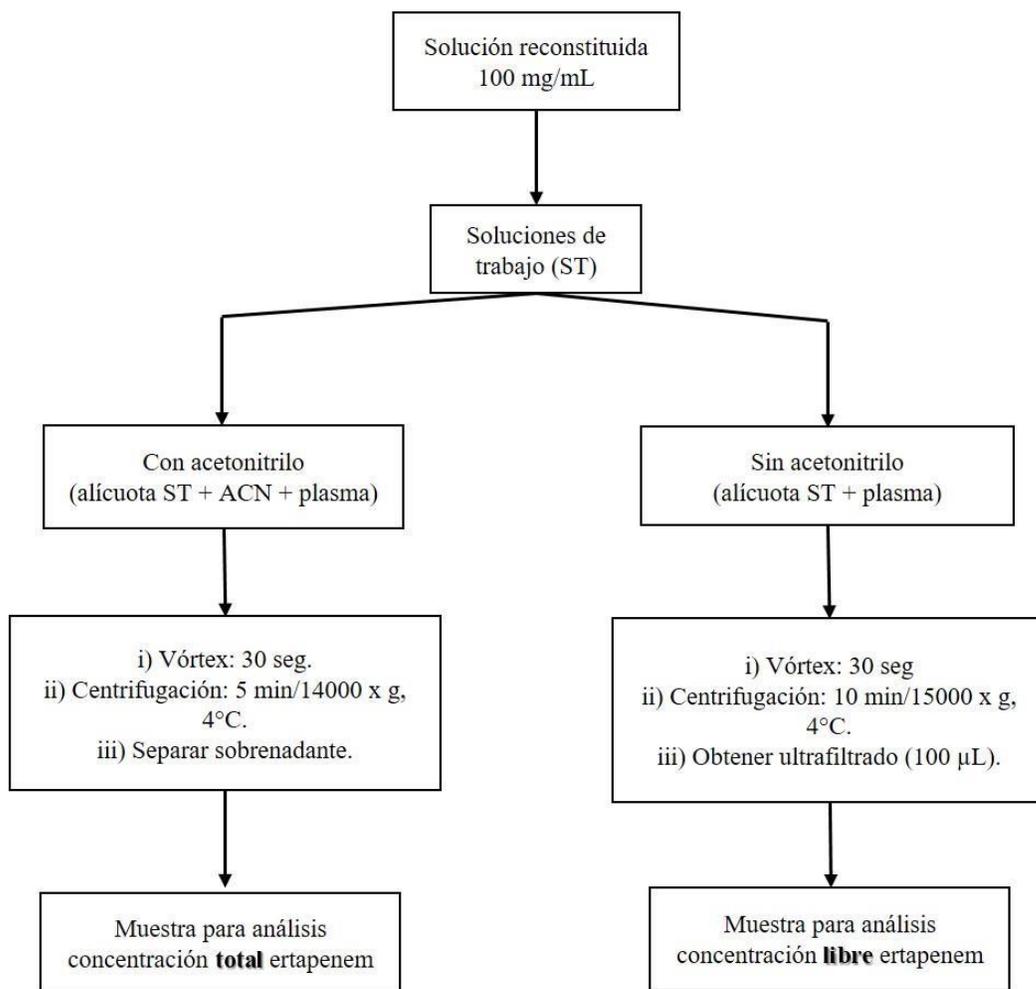
Calibrantes				
Soluciones de trabajo	Alícuota	Plasma	Calibrantes	Volumen Final

Tabla 6: Preparación de muestras para análisis de concentración libre de ertapenem en plasma humano.

(mg/L)	(μ L)	(μ L)	(mg/L)	(μ L)
1200	250	4750	60	5000
1200	200	4800	48	5000
480	125	4825	36	5000
480	37.5	4962.5	12	5000
1200	25	4975	9	5000
1200	10	4990	6	5000
1200	50	4950	2.4	5000
120	25	4975	1.2	5000
120	10	4990	0.24	5000
Controles de Calidad (QC)				
Soluciones de trabajo	Alícuota	Plasma	QC	Volumen Final
(mg/L)	(μ L)	(μ L)	(mg/L)	(μ L)
1000	225	4775	45	5000
1000	75	4925	15	5000
1000	15	4985	3	5000
Muestras para recuperación (REC)				
Soluciones de trabajo	Alícuota	Plasma	REC	Volumen Final
(mg/L)	(μ L)	(μ L)	(mg/L)	(μ L)
1000	225	4775	45	5000
1000	75	4925	15	5000
1000	15	4985	3	5000
Muestras para estabilidad (EST)				
Soluciones de trabajo	Alícuota	Plasma	EST	Volumen Final
(mg/L)	(μ L)	(μ L)	(mg/L)	(μ L)
1000	225	4775	45	5000
1000	15	4985	3	5000

En la Figura 1, se resume el proceso de preparación de muestras para análisis de ertapenem total y libre en plasma humano.

Figura 1: Esquema general del tratamiento de las muestras para análisis total o libre de ertapenem.



4.2.1.5. Conservación y almacenamiento de las soluciones

Las soluciones preparadas fueron separadas y almacenadas en tubos de centrifugación, cerrados, protegidos de la luz y a -80°C , rotulando la fecha de preparación, el compuesto que contiene con su respectiva concentración y el tipo de solución al que corresponde.

4.2.1.6. Curva de Calibración

Para confeccionar las curvas de calibración de ambos métodos, fueron preparadas las siguientes muestras:

- i) Para análisis de concentración total de ertapenem:
- Muestra Blanco: 3 mL de plasma más 6 mL de acetonitrilo.
 - Siete muestras de calibrantes: volumen de plasma, más alícuota de solución de trabajo de ertapenem (volúmenes especificados en tabla 6), entre los dos volúmenes suman 3 mL, luego se agregan 6 mL de acetonitrilo (completando 9 mL). Con esto, se obtienen las concentraciones teóricas de 300, 150, 75, 40, 15, 4, 3 mg/L en plasma.
 - Tres muestras de QC (bajo, medio y alto): volumen de plasma más alícuota de solución de trabajo (volúmenes especificados en tabla 6) entre los dos volúmenes suman 3 mL, luego se agregan 6 mL de acetonitrilo (completando 9 mL). Las concentraciones teóricas finales en las muestras QC fueron de 12 mg/L (bajo), 120 mg/L (medio) y 240 mg/L (alto).
- ii) Para análisis de concentración libre de ertapenem:
- Muestra Blanco: 5 mL de plasma cero.
 - Diez muestras de calibrantes: Cantidad variable de plasma, de acuerdo con el volumen de solución de trabajo de ertapenem (Tabla 7). Con esto, se obtienen las concentraciones teóricas de 60; 48; 36; 12; 9; 6; 2,4; 1,2; 0,24 mg/L en plasma.
 - Tres muestras QC (bajo, medio y alto): Se utilizaron los volúmenes indicados en la Tabla 7 para las soluciones de trabajo de ertapenem y plasma. Las concentraciones teóricas finales en las muestras QC fueron de 3 mg/L (bajo), de 15 mg/L (medio) y 45 mg/L (alto).

4.2.1.7. Análisis de los Datos para Validación

Para el análisis de los datos en el proceso de validación, se utilizó el programa Excel Microsoft Office 365 ® con el fin de obtener cada uno de los parámetros de validación establecidos: selectividad, linealidad, límite de detección (LOD), límite de cuantificación

(LOQ), precisión y exactitud intradía, precisión y exactitud interdía, pruebas de estabilidad y recuperación de ertapenem en plasma humano, mediante el uso de las muestras calibrantes, incluido el LOQ y QCs.

La cuantificación de ertapenem fue realizada a través de la utilización del área generada por cada *peak* (absorbancia) versus las concentraciones nominales de ertapenem, ajustando los resultados al modelo de ecuación de la recta de la siguiente forma:

$$y = ax \pm b \text{ (ecuación 2)}$$

Dónde:

y = Área del *peak* de ertapenem.

a = Pendiente de la recta.

b = Intercepto de la recta.

x = Concentración de ertapenem (mg/L)

El resto de los parámetros fueron calculados acorde a sus respectivas ecuaciones:

i) Desviación estándar (DE):

$$DE = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}{n-1} \text{ (ecuación 3)}$$

ii) Coeficiente de variación (CV):

$$CV = \frac{DE}{\bar{x}} \times 100 \text{ (ecuación 4)}$$

Los criterios de aceptación de este parámetro son: %CV < 15%, excepto en el límite de cuantificación, aceptándose CV < 20%.

iii) Error relativo (ER):

$$ER = \frac{[\text{Concentración observada}] - [\text{concentración}]_{\text{nominal}}}{[\text{concentración}]_{\text{nominal}}} \times 100 \text{ (ecuación 5)}$$

iv) Exactitud

$$\text{Exactitud} = \frac{[\text{concentración}]_{\text{observada}}}{[\text{concentración}]_{\text{nominal}}} \times 100 \text{ (ecuación 6)}$$

4.2.1.8. Parámetros de Validación

La descripción de los parámetros de validación para análisis de concentración total y libre fueron los siguientes:

Selectividad

Este parámetro fue determinado cromatográficamente a través de la ausencia de *peaks* interferentes en el tiempo de retención de ertapenem ($t_r = 2,54$ minutos para concentración total). Fueron utilizadas 6 unidades de plasma blanco, cada una proveniente de distintos donantes y obtenidas desde el Laboratorio Central del Hospital Clínico de la Universidad de Chile.

Linealidad

Fue probada por extracción acuosa a las concentraciones nominales de 3,0; 4,0; 10,0; 15,0; 40,0; 75,0; 150,0 y 300,0 mg/L para muestras por precipitación de proteínas (análisis de concentración total) y por ultrafiltración a las concentraciones nominales de 0,24; 1,2; 2,4; 6,0; 9,0; 12,0; 36,0; 48,0 y 60,0 mg/L (análisis de concentración libre). La curva de calibración fue confeccionada a través del método de regresión lineal del área del *peak* de ertapenem versus la concentración nominal. El porcentaje de desviación desde la concentración nominal fue calculado por regresión a cada concentración del estándar con un criterio de aceptación de $\leq 15\%$ en la curva de calibración.

Límite de Detección

El LOD teórico debe ser 3 veces el ruido y puede ser determinado a través de la siguiente ecuación:

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

Donde,

- $F = 3$ (veces el ruido).
- m = Pendiente obtenida a partir de los puntos de la curva de linealidad.
- Y_{blanco} = Corresponde al intercepto de curva obtenida desde la regresión lineal entre la concentración de ertapenem y el promedio de área (*peak*) de ertapenem.
- DE_{blanco} = Corresponde al intercepto de la curva entre la concentración y la desviación estándar del promedio de área de cada nivel, obtenido gráficamente entre la concentración de ertapenem versus la desviación estándar de cada calibrante de la curva de linealidad.

Entonces, la relación obtenida entre la señal generada a partir de las muestras de plasma blanco a los tiempos de retención de ertapenem (total y libre) respecto del área producida en el LOD debe ser ≥ 3 .

Límite de Cuantificación

El límite de cuantificación (LOQ) fue validado por análisis replicado de plasma enriquecido con ertapenem a 3,0 mg/L para concentración total y 0,24 mg/L para concentración libre con una precisión $\leq 15\%$ como criterio de aceptación. Además, la relación obtenida entre la señal generada a partir de las muestras de plasma blanco a los tiempos de retención de ertapenem (total y libre) respecto del área producida en el LOQ debe ser ≥ 10 .

Precisión y exactitud intradía

La precisión intra-corrída fue evaluada mediante análisis replicado (5 muestras frescas) de cada control de calidad (LOQ, bajo, medio, alto), inyectados dos veces

cada uno, incluyendo al LOQ. Las concentraciones fueron determinadas a través de la confección de una curva de calibración (linealidad) y posterior interpolación del área de ertapenem en cada muestra para obtener las concentraciones experimentales. Posteriormente, los valores obtenidos fueron comparados con los teóricos, determinando el %ER y %CV. El coeficiente de variación fue determinado en cada nivel ($\leq 15\%$), debiendo obtener valores de ER entre 85 – 115%.

Precisión y exactitud interdía

La precisión entre-corridas fue evaluada mediante análisis replicado (5 muestras frescas) de cada control de calidad (LOQ, bajo, medio, alto), inyectados 2 veces cada uno, incluyendo al LOQ. Las concentraciones fueron determinadas a través de la confección de una curva de calibración (linealidad) y posterior interpolación del área de ertapenem en cada muestra para obtener las concentraciones experimentales. Los datos de precisión interdía fueron obtenidos desde curvas separadas por al menos 7 días, repitiendo dos veces más el mismo procedimiento (al menos 3 veces, en días distintos). Posteriormente, los valores obtenidos fueron comparados con los teóricos, determinando %ER (exactitud) y %CV (precisión) entre los resultados obtenidos en las tres mediciones. El coeficiente de variación fue determinado en cada nivel (criterio: $\leq 15\%$), debiendo obtener valores de ER entre 85 – 115%.

Recuperación

Para el cálculo de la recuperación de ertapenem, muestras de controles de calidad fueron preparadas a 3 niveles de concentración bajo (10 mg/L), medio (30 mg/L) y alto (240 mg/L) para muestras sometidas a precipitación de proteínas (análisis fármaco total) y a 3 niveles de concentración: bajo (3 mg/L), medio (15 mg/L) y alto (45 mg/L) para muestras sin precipitación de proteínas (análisis fármaco libre). Seis replicados de cada control de calidad fueron extraídos según el tipo de análisis y fueron inyectados dentro del sistema HPLC. La concentración de ertapenem en ambas condiciones fue determinada a través de las curvas de regresión lineal. Los

experimentos de recuperación fueron llevados a cabo en triplicado para cada nivel de concentración (bajo, medio y alto). La recuperación fue calculada por comparación de la concentración obtenida versus la concentración de la solución acuosa de ertapenem preparada, la que fue considerada un 100%. El coeficiente de variación fue determinado en cada nivel (criterio: $\leq 15\%$), debiendo obtener valores de recuperación entre 85 – 115%.

Estabilidad

La estabilidad a corto plazo fue llevada a cabo con muestras de plasma cargadas con ertapenem a niveles de concentración bajo y alto, midiendo cada nivel a tiempo cero y, luego de \pm seis horas, fueron inyectadas tres muestras de cada nivel de concentración. Las muestras fueron cargadas luego de seis horas para obtener la precisión y exactitud, calculando las concentraciones a través de interpolación desde la curva estándar. El coeficiente de variación fue determinado en cada nivel (criterio de aceptación: $\leq 15\%$), así como el error relativo, considerando el tiempo cero como el 100%, debiendo encontrarse valores entre 85 – 115%.

La estabilidad en el *autosampler* fue evaluada utilizando dos controles de calidad en quintuplicado, extraídos y puestos en viales en el *autosampler* a 25°C por 12 horas antes de inyectar las muestras para análisis. Se determinó la precisión y exactitud calculando a través de interpolación las concentraciones desde la curva estándar original. El coeficiente de variación fue determinado en cada nivel (criterio de aceptación: $\leq 15\%$), así como el error relativo, considerando el tiempo cero como el 100%, debiendo encontrarse valores entre 85 – 115%.

Se determinó la estabilidad por ciclos de congelamiento/descongelamiento usando dos niveles de controles de calidad, a través de 3 ciclos de 24 horas de congelamiento (-80°C) y descongelamiento. Posteriormente, doce muestras fueron procesadas por cada nivel de concentración, donde las primeras tres muestras de cada nivel de control de calidad fueron consideradas como tiempo cero y el resto de

las muestras fueron congeladas a -80°C por 24 horas. Finalmente, cada muestra fue inyectada en duplicado y esta operación fue repetida hasta completar tres ciclos. La precisión y exactitud fue determinada utilizando las concentraciones obtenidas a través de interpolación desde la curva estándar. El coeficiente de variación fue determinado en cada nivel (criterio de aceptación: $\leq 15\%$), así como el error relativo, considerando el tiempo cero como el 100%, debiendo encontrarse valores entre 85 – 115%.

La estabilidad de la solución stock fue realizada preparando soluciones de ertapenem en dos niveles de controles de calidad (bajo y alto). Luego de la preparación de las muestras, cada solución fue inyectada en triplicado y los resultados obtenidos fueron considerados como tiempo cero. Luego, un grupo de soluciones se mantuvo a temperatura ambiente (25°C) y el otro grupo fue refrigerado a -80°C por un periodo de 24 horas. Una vez cumplido el tiempo, ambos grupos de muestras fueron inyectados en triplicado. Finalmente, esta operación fue repetida a las 48 horas, obteniendo la precisión y exactitud mediante interpolación de las concentraciones desde la curva estándar, considerando el tiempo cero como 100% de estabilidad para esta prueba.

La estabilidad a largo plazo fue llevada a cabo con muestras de plasma cargadas con ertapenem a niveles de concentración bajo y alto, obteniendo 18 muestras por cada nivel de concentración para diferentes tiempos. El primer tiempo fue considerado el tiempo cero, donde 3 muestras de cada concentración fueron procesadas e inyectadas a la vez. Luego un periodo de tiempo de 168 horas (una semana), las muestras fueron descongeladas a temperatura ambiente (25°C) y procesadas en triplicado a cada nivel de concentración, inyectando una muestra por vez. Este proceso correspondió a la semana 1 y fue repetido hasta completar 5 semanas. El coeficiente de variación fue determinado en cada nivel ($\leq 15\%$), así como el error relativo, considerando el tiempo cero como el 100%, debiendo encontrarse valores entre 85 – 115%.

10.2.2. Análisis de Muestras Reales

Las muestras reales fueron descongeladas (de -80°C a 25°C), procesadas, dependiendo del tipo de extracción de la muestra, mediante precipitación de proteínas o de centrifugación con sistema de ultrafiltración, para luego continuar con la cuantificación.

Precipitación de proteínas

Se tomaron alícuotas de 200 µL de plasma y fueron sometidas a precipitación de proteínas con acetonitrilo. Luego, fueron centrifugadas por 5 minutos a 14000 x g, a una temperatura de 4°C. Posteriormente, el sobrenadante (100 µL) fue filtrado a través de la membrana Millex® 0,22 µm, transferido a un vial, agitado en vórtex por 30 segundos y puesto en el *autosampler* para continuar con el análisis cromatográfico. El volumen de inyección para la muestra con fines de análisis de concentración total fue de 5 µL.

Ultrafiltración

Se tomaron alícuotas de 200 µL de plasma, la que fue transferida a un sistema de ultrafiltración Vivaspín 500 ® y centrifugada por 10 minutos a 15.000 x g y a 4°C. Finalmente, se obtiene una alícuota de ultrafiltrado de 100 µL, la que es transferida a un vial, agitado en vórtex por 30 segundos y puesto en el *autosampler* para continuar con el análisis cromatográfico. El volumen de inyección para la muestra con fines de análisis de concentración libre fue de 50 µL.

Inyección en el sistema cromatográfico

Todas las muestras, procesadas por precipitación de proteínas o por ultrafiltración, fueron inyectadas en duplicado, calculando el promedio de ambas mediciones como valor final.

Análisis de las muestras y controles de calidad

Durante el análisis de las muestras obtenidas desde los pacientes, una curva de calibrado fue confeccionada, incluyendo controles de calidad para cada paciente (niveles bajo, medio y alto para cada una de las mediciones) y llevando a cabo la determinación de ertapenem.

La curva de calibrado fue confeccionada mediante el uso de una base de datos especialmente diseñada para recopilar y registrar las áreas que generó cada *peak* de ertapenem, obteniendo así concentraciones interpoladas desde la curva de calibración, ajustándolas al tiempo de muestreo de cada paciente.

De este modo, fue posible confeccionar los perfiles de concentración total y libre de ertapenem en plasma y continuar con el análisis farmacocinético individual.

10.3. FASE FARMACOCINÉTICA

10.3.1. Análisis Farmacocinético Individual

Los datos utilizados para concentración total y libre de ertapenem fueron analizados según lo publicado en la literatura. En el caso de la concentración total de ertapenem, la $C_{m\acute{a}x}$ promedio es aproximadamente 150 mg/L. Por lo tanto, 300 mg/L fue considerado el límite superior del rango de validación, que corresponde al doble de la $C_{m\acute{a}x}$ (considerando la variabilidad interindividual) y 1 mg/L como límite inferior, es decir entre un 0,6 – 200% relativo a la $C_{m\acute{a}x}$. En la situación del análisis de concentración libre, el porcentaje de unión a albúmina de ertapenem es al menos de un 90%. Por lo tanto, el intervalo fue considerando un 10% de los valores utilizados para confeccionar la curva de calibrado de la concentración total de ertapenem ^{41, 42}.

Por otro lado, para probar el grado de cumplimiento del índice PK/PD (eficacia como bactericida) de acuerdo con las concentraciones obtenidas experimentalmente, es necesario que la concentración libre ertapenem supere a la concentración inhibitoria mínima (CIM) en al menos un 40% del intervalo de administración (cada 24 horas), es decir, la

concentración libre del antibiótico debe superar la CIM al menos hasta 9,6 horas post-administración ⁴⁶.

Para llevar a cabo el análisis farmacocinético para cada paciente, los datos de concentración total y libre de ertapenem versus los tiempos de muestreo correspondientes fueron registrados y analizados en una base de datos utilizando el programa Excel de Microsoft Office 365 ®.

Respecto de los tiempos de muestreo y los horarios de toma de muestra para cada paciente, el tiempo cero correspondió al momento justo antes de la administración de 1 gramo de ertapenem por infusión intravenosa, en base a cinética de eliminación de orden cero y modelo de un compartimento ⁴⁷.

Para la obtención individual de los parámetros farmacocinéticos, los datos de concentración total y libre fueron adaptados a escala semilogarítmica, utilizando los últimos 3 puntos de cada curva, contrastados frente al tiempo. Una vez realizados los cálculos de concentración, los parámetros obtenidos fueron la constante de velocidad de eliminación (K_{el}), el tiempo de vida media de eliminación ($t_{1/2}$), *clearance* (Cl_{total}) y área bajo la curva de la concentración total y libre de ertapenem versus tiempo de 0 a 24 horas (ABC_{24h}), siendo este último parámetro calculado mediante el método de los trapecios. Por otro lado, la concentración máxima ($C_{máx}$) fue obtenida indirectamente a través de la curva de concentración total o libre de ertapenem versus tiempo.

Posteriormente, todos los parámetros farmacocinéticos obtenidos fueron analizados mediante estadística descriptiva.

10.3.2. Evaluación del Cumplimiento del Índice PK/PD

Para estimar la probabilidad de cumplimiento del índice PK/PD en los pacientes incluidos en el estudio, dos aspectos fueron considerados en la evaluación:

- i) Identificación del patógeno causante de la infección tratada con ertapenem.
- ii) Concentración inhibitoria mínima (CIM): la CIM del patógeno causante de la infección fue obtenida a partir del listado de puntos de cortes epidemiológicos establecidos por *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST *breakpoint*) y se eligió el punto de corte más alto en el rango de susceptibilidad a la dosis objetivo y el punto de corte epidemiológico promedio para el régimen de administración descrito (ECOFF: *epidemiological cut-off values*).
- iii) Índice PK/PD: Definido como $fT\% > 40\% > CIM$ para ertapenem, debe cumplirse que la concentración libre del antibiótico carbapenémico debe mantenerse sobre la CIM por lo menos 9,6 horas (40% de 24 horas, que corresponde al intervalo de administración). Por lo tanto, el perfil farmacocinético utilizado correspondió al de la concentración libre de ertapenem para evaluar el cumplimiento del índice.

El gráfico concentración libre versus tiempo (a las 9,6 horas) fue utilizado para comparar individualmente el cumplimiento del índice PK/PD frente a la CIM utilizada.

10.3.3. Análisis Farmacocinético Poblacional

Una vez concluida la fase de análisis farmacocinético individual, los datos fueron recopilados en una planilla especialmente diseñada para el análisis no lineal de efectos mixtos (Figura 2), la que contiene antecedentes clínicos y farmacocinéticos. El objetivo de este análisis fue identificar efectos aleatorios y ajustar efectos fijos y, de este modo, establecer un modelo que permita integrar dichas fuentes de variabilidad.

Una vez tabulada la información en la base de datos en Microsoft Office Excel®, dicha hoja fue transformada al formato “*groupedData*” para la estimación de parámetros iniciales

en MATLAB ®. Esta transformación permite identificar la variable independiente (TIME), grupo variable (IDs), variable dependiente (CONC), la dosis administrada (DOSE), velocidad de infusión (RATE), las posibles covariables del modelo (SCr, CICr, PT, PLG, ALB, CACI, SEX) y sus respectivas unidades de medida (opcional, excepto para variables tiempo y concentración).

Figura 2: Base de datos para realizar análisis poblacional con MATLAB ®

	ID	Time	Conc	Dose	Rate	SCr	Edad	CICr	PT	PLG	ALB	CACI	SEX
Units	g...	inde...	depe...	dose1	rate1	co...	cova...	cov...	c...	cov...	cov...	cova...	co...
	hour	milligr	milligr	milligr	milligr	milligr	year	millilit	kilo	kilogr	gram		
1	1.0	0.0	0.769541...	NaN	NaN	1.2	74.0	40.5	53.0	45.0	2.7	8.0	1
2	1.0	0.5	18.54870...	1000.0	2000.0	1.2	74.0	40.5	53.0	45.0	2.7	8.0	1
3	1.0	1.0	15.31034...	NaN	NaN	1.2	74.0	40.5	53.0	45.0	2.7	8.0	1
4	1.0	2.0	9.700913...	NaN	NaN	1.2	74.0	40.5	53.0	45.0	2.7	8.0	1
5	1.0	3.0	6.649349...	NaN	NaN	1.2	74.0	40.5	53.0	45.0	2.7	8.0	1
6	1.0	6.0	2.101197...	NaN	NaN	1.2	74.0	40.5	53.0	45.0	2.7	8.0	1
7	1.0	12.0	1.344633...	NaN	NaN	1.2	74.0	40.5	53.0	45.0	2.7	8.0	1
8	1.0	24.0	0.75	NaN	NaN	1.2	74.0	40.5	53.0	45.0	2.7	8.0	1
9	2.0	0.0	0.591279...	NaN	NaN	0.8	89.0	54.0	61.0	47.0	3.1	9.0	1
10	2.0	0.5	11.68906...	1000.0	2000.0	0.8	89.0	54.0	61.0	47.0	3.1	9.0	1
11	2.0	1.0	8.648674...	NaN	NaN	0.8	89.0	54.0	61.0	47.0	3.1	9.0	1
12	2.0	2.0	4.718715...	NaN	NaN	0.8	89.0	54.0	61.0	47.0	3.1	9.0	1
13	2.0	3.0	3.282381...	NaN	NaN	0.8	89.0	54.0	61.0	47.0	3.1	9.0	1
14	2.0	6.0	2.275831...	NaN	NaN	0.8	89.0	54.0	61.0	47.0	3.1	9.0	1
15	2.0	12.0	1.460533...	NaN	NaN	0.8	89.0	54.0	61.0	47.0	3.1	9.0	1
16	2.0	24.0	0.452844...	NaN	NaN	0.8	89.0	54.0	61.0	47.0	3.1	9.0	1
17	3.0	0.0	1.272948...	NaN	NaN	0.5	83.0	64.6	48.0	37.0	2.4	4.0	2
18	3.0	0.5	11.97213...	1000.0	2000.0	0.5	83.0	64.6	48.0	37.0	2.4	4.0	2

ID: Identificador del paciente; Conc: concentración libre de ertapenem; SCr: creatinina sérica; CICr: *Clearance* de creatinina; PT: peso total; PLG: Peso libre de grasa; ALB: albúmina sérica; CACI: Índice de Charlson ajustado por edad; SEX: sexo.

El análisis farmacocinético poblacional fue llevado a cabo de forma secuencial, esto quiere decir que los parámetros farmacocinéticos fueron estimados inicialmente usando solo la información farmacocinética disponible. Este tipo de abordaje permite reducir los tiempos de análisis respecto de las simulaciones realizadas con todas las fuentes de variabilidad simultáneamente.

Para ello, hay que considerar que, de la información recopilada que se relaciona a la administración de un fármaco y la observación de la concentración, deben obtenerse parámetros poblacionales amplios que describan el modelo, tomando en cuenta las

variaciones individuales. En ese aspecto, la función no lineal más comúnmente usada es la función exponencial, debido a que la mayoría de los fármacos son eliminados con una tendencia exponencial. Por lo tanto, la concentración puede ser descrita de la siguiente forma:

$$y_{ij} = D_i/V e^{k_{ij}t} + a\varepsilon_{ij} \text{ (ecuación 8)}$$

Donde,

y_{ij} : Respuesta “j” del paciente “i”

D_i : Dosis administrada al paciente “i”

V : Promedio poblacional del volumen de distribución.

a : Parámetro de error.

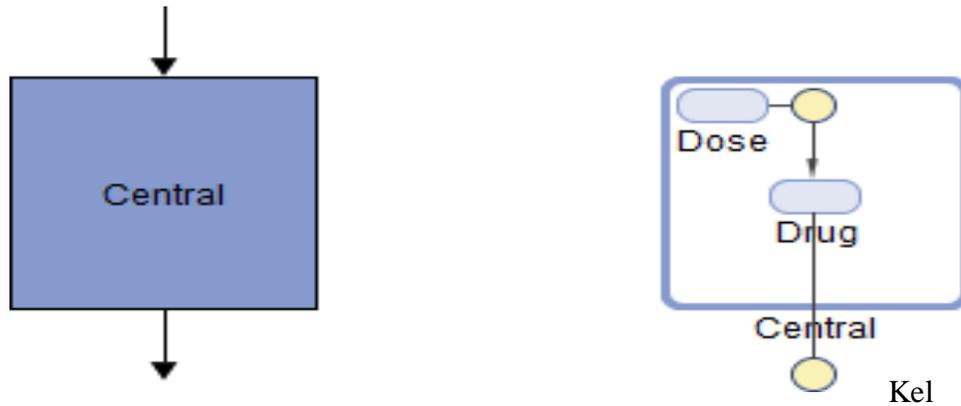
ε_{ij} : Representación de una medida de error residual de la respuesta “j” en el paciente “i”, donde $\varepsilon_{ij} \sim N(0,1)$, es decir, que es representado por el error estadístico idénticamente distribuido con media cero y varianza σ^2 , que describe la diferencia del logaritmo de la concentración observada versus el logaritmo de la concentración predicha (valor residual) y fue expresada en términos del %CV.

k_i : Parámetro de constante de velocidad de eliminación del paciente “i”, con dependencia en el *clearance* del paciente “i” y en el volumen de distribución ($k_i = Cl_i/V$).

Pasos de la construcción del modelo farmacocinético poblacional

- i) **Modelo estructural:** Identificar el modelo estructural más simple (uno o más compartimentos). En este modelo (Figura 3), se describe la tendencia promedio de los datos utilizando parámetros de efectos fijos (volumen de distribución y *clearance*).

Figura 3: Representación del modelo estructural o modelo farmacocinético de un compartimento en la aplicación SimBiology de MATLAB ®.



Dose: dosis utilizada (mg); Drug: concentración libre de ertapenem (mg/L); Central: volumen de distribución aparente (L), k_{el} : Constante de velocidad de eliminación (1/h).

- Definir parámetros estimados: los parámetros a estimar en el modelo son el volumen de distribución (Central) y *clearance* ($Cl_{Central}$). De este modo, se utiliza el algoritmo “*sbiofit*”, que contiene la función “*nlinfit*” (regresión no lineal de mínimos cuadrados), ajustando los datos al modelo e ignorando los efectos individuo-específicos (variabilidad interindividual).
 - Definir la dosis: todos los pacientes que recibieron ertapenem, representado por la especie “Drug_Central” (concentración), donde el esquema de dosis varía entre los pacientes seleccionados. La cantidad de fármaco está puesto en la respuesta/variable “DOSE” (dosis recibida).
- ii) **Modelo estadístico** (modelo de error residual): para definir el modelo de error que más se ajusta a los resultados, se compararon 3 criterios de información (*AIC*: *Akaike Information Criteria*; *BIC*: *Bayes Information Criteria*; *RMSE*: *Root Mean Square Error*). Para *AIC*, *BIC* y *RMSE*, los valores más pequeños dan cuenta de un mejor ajuste. Los tipos de modelos de error disponibles en

MATLAB ®, son error constante (por defecto), proporcional, combinado y exponencial (Tabla 8).

Tabla 8: Tipos de modelos de error disponibles en la aplicación SimBiology de MATLAB®

Tipo de error	Descripción matemática	Desviación estándar
Constante	$y = f + a \varepsilon$	a
Proporcional	$y = f + b f \varepsilon$	$b f $
Combinado	$y = f + (a + b f) \varepsilon$	$a + b f $
Exponencial	$y = f * \exp(a \varepsilon)$ o equivalente	$Ge^{a_2 - 1} * e^a$
	$\log(y) = \log(f) + a \varepsilon$	a

y : Respuesta; f : Resultado de la simulación; ε : Variable estándar de media cero y de varianza uno; a/b : Parámetros de error.

- Estimación de parámetros y ajuste al modelo poblacional: los parámetros para estimar en el modelo, luego de incluir la variabilidad residual, son el volumen de distribución (Central) y *clearance* (Cl_Central). De este modo, se utiliza el algoritmo “*sbiofitmixed*”, que contiene la función “*nlmefit*” (del inglés: *non linear mixed effects fit*) que calcula los efectos fijos y aleatorios para cada parámetro. El algoritmo calcula los efectos aleatorios distribuidos paramétricamente. Por lo tanto, es necesario especificar una transformación matemática para los parámetros estimados, de modo que los parámetros transformados sigan una distribución normal:

$$\log(V_i) = \log \Phi v d, i = \theta v + \eta v d, i \text{ (ecuación 9)}$$

$$\log(Cl_i) = \log \Phi cl, i = \theta cl + \eta cl, i \text{ (ecuación 10)}$$

Donde,

V_i = Volumen de distribución del paciente “i”.

$\Phi_{vd,i}$ = Efectos mixtos del volumen en el paciente “i”

θ_{vd} = Efectos fijos del volumen en el paciente “i”

$\eta_{vd,i}$ = Efectos aleatorios del volumen en el paciente “i”

Cl_i = Clearance del paciente “i”

$\phi_{Cl,i}$ = Efectos mixtos del *clearance* en el paciente “i”

θ_{Cl} = Efectos fijos del *clearance* en el paciente “i”

$\eta_{Cl,i}$ = Efectos aleatorios del *clearance* en el paciente “i”

Además, al considerar diferencias entre pacientes (individuos), asumiendo al volumen de distribución (o *clearance*) como variable aleatoria, éste puede cambiar alrededor de la media poblacional de la siguiente forma:

$$Vd_i = \theta_1 + \eta_i \text{ (ecuación 11)}$$

Donde,

Vd_i : Volumen de distribución del paciente “i”

θ_1 : Efecto fijo o parámetro poblacional del volumen de distribución.

η_i : Efecto aleatorio del paciente “i”.

Este último parámetro (η_i) da cuenta de la desviación del paciente “i” desde el promedio poblacional del volumen de distribución de la siguiente forma:

$$\eta_i \sim N(0, \omega^2) \text{ (ecuación 12)}$$

Donde,

η_i : Variable aleatoria independientemente distribuida con media cero y varianza ω^2 .

N: Número de observaciones.

ω^2 : Error de varianza (se asume como constante a través de las observaciones). La magnitud de la variabilidad interindividual fue expresada en términos del %CV.

- iii) **Modelo de covariables:** Las diferentes covariables elegidas en la fase clínica del estudio, pueden ser incluidas en el modelo global con el fin de establecer relaciones con los parámetros estimados. Algunas de las expresiones que pueden dar cuenta de una relación entre un parámetro que está siendo estimado y una o más covariables incluidas en el modelo, debe describirse de la siguiente forma:

$$Vd = \theta_1 + \theta_2 * PT + \eta_{vd,i} \text{ (ecuación 13)}$$

$$Cl = \theta_3 + \theta_4 * ClCr + \eta_{Cl,i} \text{ (ecuación 14)}$$

Donde,

Vd: Volumen de distribución

θ_1 : Efecto fijo 1 (parámetro poblacional para el volumen de distribución)

θ_2 : Efecto fijo 2 (parámetro poblacional del peso sobre el volumen de distribución)

PT: Peso total (covariable)

$\eta_{vd,i}$: Efecto aleatorio (desviación del individuo “i” respecto del promedio poblacional del volumen de distribución).

Cl: Clearance

θ_3 : Efecto fijo 3 (parámetro poblacional para el *clearance*)

θ_4 : Efecto fijo 4 (parámetro poblacional de *clearance* de creatinina sobre el *clearance*)

ClCr: *Clearance* de creatinina (covariable)

$\eta_{Cl,i}$: Efecto aleatorio (desviación desde el paciente “i” respecto del promedio poblacional de *clearance*).

Luego, para establecer si hay relación entre parámetros y covariables debe aplicarse el algoritmo “*sbiofitmixed*” a través de la función “*nlmefit*” y posteriormente realizar dos análisis:

- Gráficos diagnósticos donde el parámetro de bondad de ajuste debe ser de $R^2 \geq 0,6$ para evaluar posibles covariables que podrían contribuir en el modelo (concentraciones observadas versus predichas).
- Evaluar la contribución de la(s) covariable(s) en el modelo a través de la disminución de los parámetros AIC, BIC y aumento del RMSE, el cual describe la precisión del estimado poblacional relativo al estimado de parámetros fijos por estimación Bayesiana. De este modo, se evalúan las covariables incluidas en el modelo global y la disminución del parámetro RMSE para indicar mejor ajuste del modelo. Un cambio de dos unidades en el valor de AIC o BIC se considera valor umbral para elegir un modelo u otro ⁴⁸.

Posteriormente, la robustez del modelo poblacional final (estructural + estadístico + covariables) fue evaluada mediante la aplicación del algoritmo “*sbiofitmixed*” a través de la función “*nlmefitsa*” (del inglés: *non linear mixed effects fit with stochastic approximation*) conocido como método SAEM (del inglés: *stochastic approximation with expectation maximization*), con 1000 iteraciones y un intervalo de confianza del 95% ⁴⁹ y evaluando la variabilidad de los parámetros que el modelo ha descrito.

Todos los resultados obtenidos fueron analizados mediante estadística descriptiva y procesados a través del software Microsoft Office Excel 365 ®.

Una vez que fueron obtenidos todos los parámetros farmacocinéticos derivados del modelado poblacional (Vd y Cl), se calcularon los otros parámetros de ertapenem como tiempo de vida media de eliminación ($t_{1/2}$) (ecuación 15), constante de velocidad de eliminación (k_{el}) (ecuación 16) y área bajo la curva de concentración plasmática versus tiempo (ABC) (ecuación 17)

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{0,692}{K_{el}} \text{ (ecuación 15)}$$

$$k_{el} = \frac{Cl}{Vd} \text{ (ecuación 16)}$$

$$ABC = \frac{dosis}{cl} \text{ (ecuación 17)}$$

10.3.4. Simulación Farmacocinética de la Dosis

Luego de la fase de análisis farmacocinético poblacional de ertapenem en el grupo de pacientes seleccionados, el modelo final fue utilizado para llevar a cabo la simulación de la concentración libre de ertapenem en el tiempo, considerando el modelo de error y las covariables incluidas en el modelo global.

Cabe destacar que las simulaciones de concentración libre de ertapenem tienen como finalidad situarse en el supuesto de lo que “podría ocurrir si” las condiciones cambian respecto al esquema de tratamiento.

Tomando en cuenta que ertapenem es un antibiótico tiempo dependiente, la modificación de la frecuencia de administración del antibiótico puede interferir en el cumplimiento del índice PK/PD. Por lo tanto, una herramienta que puede permitir evaluar estos posibles escenarios y dar respuesta a ellos es la confección de gráficos de concentraciones simuladas versus tiempo.

La simulación de dosis fija de ertapenem (1000 mg) fue comparada con 500 mg/día llevada a cabo con las curvas de concentración libre de ertapenem generadas por peso libre de grasa⁵⁰, bajo (30 kg), medio (37,5 kg) y alto (45 kg), y contrastadas con CIM baja (1 mg/L), media (2 mg/L) y alta (4 mg/L), para poder obtener el grado de cumplimiento del índice PK/PD de ertapenem de acuerdo con el modelo poblacional ajustado, siendo contrastados mediante el Software Microsoft Office Excel 365 ®.

11. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

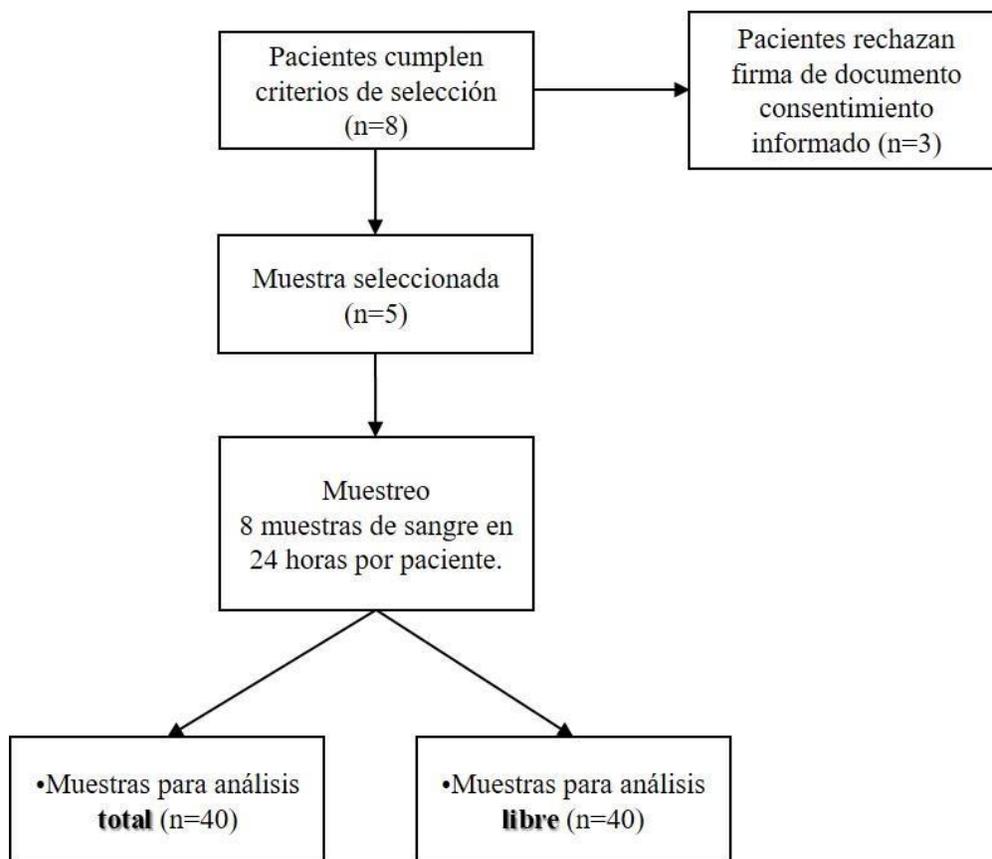
11.1. FASE CLÍNICA

Durante el desarrollo de la fase clínica del proyecto, hubo algunas dificultades en el reclutamiento de los pacientes, en particular, por la puesta en marcha de un protocolo institucional de antibióticos en el HCUCH, cambiando el patrón de prescripción de antimicrobianos, lo que disminuyó considerablemente la oportunidad de que los pacientes recibieran ertapenem. Por lo tanto, el periodo de muestreo, que inicialmente fue programado para realizarse en un año, fue extendido por un año más.

11.1.1. Caracterización de los pacientes seleccionados

Durante el periodo comprendido entre diciembre de 2015 y octubre de 2017, fueron seleccionados 5 pacientes geriátricos hospitalizados por infecciones agudas cuyo tratamiento empírico o de elección fue ertapenem. Por otro lado, 3 pacientes que cumplieron los criterios de inclusión rechazaron el protocolo de toma de muestras, mientras se realizaba el proceso de consentimiento informado (no firmado) (Figura 4).

Figura 4: Esquema de la selección de pacientes durante el desarrollo del proyecto.



De los pacientes seleccionados para el estudio, la mayoría fueron mujeres (60%), con una edad promedio de $79,0 \pm 6,8$ años, provenientes de unidades de paciente crítico (80%), posteriormente trasladadas a la Unidad Geriátrica de Agudos (100%). En relación con las variables antropométricas, el IMC promedio fue $20,7 \pm 2,4$ kg/m² y el peso promedio libre de grasa fue $37,6 \pm 2,4$ kg. Las demás características sociodemográficas se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7: Caracterización demográfica, antropométrica y mórbida de los pacientes reclutados (n=5).

Antecedentes sociodemográficos	Pacientes reclutados (n = 5) [intervalo]
Edad promedio	79,0 ± 6,8 años [73 – 89]
Sexo	
Masculino	2 (40%)
Femenino	3 (60%)
Antropometría	
Peso promedio	52,9 ± 7,5 kg [43 – 61]
Peso promedio libre de grasa	37,6 ± 8,1 kg [27 – 46]
Función Renal	
Creatinina (Cr) sérica	1,1 ± 0,7 mg/dL [0,5 – 2,2]
Nitrógeno ureico sérico (NUS)	26,4 ± 17,7 mg/dL [9 – 56]
Albúmina	2,9 ± 0,4 g/dL [2,4 – 3,5]
Velocidad de Filtración Glomerular	
Cockcroft-Gault	44,3 ± 16,5 mL/min [21 – 65]
Foco de infección	
Urinario	4 (80%)
Respiratorio	1 (20%)
Comorbilidades/paciente	6,4 ± 2,3 patologías crónicas
Hipertensión arterial	4 (14,8%)
Accidente cerebrovascular	2 (7,4%)
Insuficiencia cardiaca	2 (7,4%)
Enfermedad renal crónica	2 (7,4%)
Otras	21 (51,9%)
Índice de Charlson ajustado por Edad	7,0 ± 2,0 [4 – 9]
*aMDRD: abreviate Modified of Diet Renal Disease	
**MDRD-6: Modified of Diet Renal Disease 6	

En este sentido, algunos estudios han demostrado que el IMC más apropiado para personas mayores de 65 años debería estar entre 25 – 27 kg/m², por lo tanto, la muestra presentó un valor subóptimo respecto del valor considerado normal de IMC para esta población ^{51,52}. De hecho, en pacientes no-frágiles, el perfil de composición corporal ha sido caracterizado a través del aumento del peso libre de grasa y baja proporción de tejido graso, contrastado con lo que ocurre en los pacientes pre-frágiles y frágiles ⁵³. Respecto del peso promedio libre de grasa de la muestra, el valor obtenido indica un resultado bajo el promedio, indicando que los pacientes seleccionados corresponderían a un fenotipo pre-frágil o frágil

^{53,54}.

Por otro lado, la función renal fue estimada mediante tres fórmulas (aMDRD, Cockcroft-Gault y MDRD-6), debido a la imposibilidad de recolectar la muestra para realizar el examen de creatinina urinaria en 24 horas (bajo débito, pacientes sin indicación médica de sonda Foley o cateterismo intermitente). Los resultados de las tres fórmulas difieren entre sí, aunque la evidencia apoya el uso de la fórmula de Cockcroft-Gault para realizar el ajuste de dosis para fármacos con excreción renal como es el caso de ertapenem ⁵⁵.

Además, entre las fórmulas utilizadas, es la que menor dispersión de los resultados dentro de la población obtuvo, a diferencia de aMDRD. De hecho, ertapenem fue ajustado según estimación de la función renal en un paciente (ID#4), considerando que, al inicio del tratamiento, el paciente ID#1 también debería haber recibido esquema de ertapenem ajustado (creatinina del día antes del inicio del tratamiento fue de 1,7 mg/dL; ClCr 28,6 mL/min estimado por fórmula de Cockcroft-Gault). Posteriormente, se solicitó examen de creatinina actualizado al día siguiente del muestreo (1,2 mg/dL; ClCr 40,5 mL/min). Por otro lado, la mayoría de los pacientes seleccionados presentó hipoalbuminemia (n=4; 80%), categorizando este déficit como leve a moderado (entre 3,4 – 2,5 g/L) en la muestra, similar a lo documentado en la literatura ⁵⁶.

En relación con el perfil de enfermedad, los pacientes padecían en promedio $6,4 \pm 2,3$ patologías crónicas, con un índice de comorbilidad ajustado por edad alto (> 3). Las enfermedades con mayor frecuencia en la muestra fueron hipertensión arterial (n=4; 80%), accidente cerebrovascular (n=2; 40%), insuficiencia cardiaca (n=2; 40%), enfermedad renal

crónica (n=2; 40%) y daño hepático crónico (n=1; 20%). Los resultados obtenidos contrastan de forma absoluta con los presentados por Musson y colaboradores ⁴², donde los perfiles farmacocinéticos de voluntarios adultos jóvenes y adultos mayores sanos coincidían en las características clínicas (fisiológicas y patológicas), lo que no permitiría una adecuada comparación con el perfil de envejecimiento de un adulto mayor pre-frágil o frágil.

Cabe destacar que el primer paciente reclutado (ID#1) presentó un evento adverso convulsivo que fue asociado con el uso de ertapenem (relación temporal, cedió con la suspensión del antibiótico). El paciente tenía antecedentes de accidente cerebrovascular, deterioro cognitivo leve a moderado, hipoalbuminemia severa (2,4 g/dL) y falla renal (CICr < 30 mL/min).

Por otro lado, hay escasa evidencia que relaciona significativamente tal reacción adversa (RAM) con las comorbilidades presentes en los pacientes. De hecho, un reporte de caso destaca que la enfermedad renal crónica, hipoalbuminemia y la enfermedad neurológica previa ⁵⁷, podrían considerarse como desencadenantes de esta RAM, todas las características presentes en el paciente.

Tabla 8: Resumen de las Características Clínicas de los Pacientes Reclutados.

Paciente	Edad	Sexo	Peso (kg)	PLG (kg)	Creatinina (mg/dL)	NUS (mg/dL)	Albúmina (g/L)	CACI	CG (mL/min)	CG-PLG (mL/min)	Foco Infeccioso	Microorganismo causante	Dosis Ertapenem (g)	Tiempo infusión (h)
ID#1	74	M	53	45	1,2	26	2,7	8	40,5	34,0	urinario	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0,5
ID#2	89	M	61	47	0,8	19	3,1	9	54,0	41,2	urinario	<i>Enterobacter cloacae</i>	1	1
ID#3	83	F	48	37	0,5	22	2,4	4	64,6	49,9	respiratorio	<i>E coli</i> BLEE (+)	1	0,5
ID#4	73	F	59	32	2,2	56	2,9	8	21,2	11,6	urinario	<i>E. coli</i>	0,5	0,5
ID#5	76	F	43	27	0,8	9	3,5	6	40,6	26,0	urinario	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0,5

*M: masculino; F: femenino; PLG: peso libre de grasa; NUS: nitrógeno ureico sérico; CACI: índice de Charlson ajustado por edad; CG: Cockcroft-Gault; CG-PLG: Cockcroft-Gault calculado con peso libre de grasa; BLEE: beta-lactamasa de espectro extendido.

11.2. FASE ANALÍTICA

11.2.1. Validación de los Métodos Bioanalíticos en Plasma Humano

Durante el desarrollo de la fase analítica del proyecto, fueron validados los métodos de determinación de concentración total y libre de ertapenem en plasma humano, con el fin de que sean utilizados para determinaciones del antibiótico en poblaciones especiales, como es el caso del paciente geriátrico.

Para ambos métodos, ertapenem fue cuantificado utilizando HPLC con detector UV/visible a una longitud de onda de 310 nm, con una velocidad de flujo isocrática de 1 mL/min con un tiempo total de corrida de 3,5 minutos. El tiempo de equilibrio entre muestras fue de 0,5 minutos y la temperatura tanto de la columna como del *autosampler* fue ajustada a 25°C.

5.2.1.1. Determinación de la concentración total de ertapenem

Selectividad

Las muestras de plasma seleccionadas correspondieron a aquellas que no presentaron señales interferentes en el tiempo de retención de ertapenem ($t_r = 2,54$ min) en las condiciones cromatográficas descritas (Figura 5). Además, fue inspeccionada la señal generada en presencia de ertapenem a la concentración en el límite de cuantificación (3 mg/L) (Figura 6).

Figura 5: Resumen de cromatogramas correspondientes a plasma blanco de sujetos voluntarios (N=6).

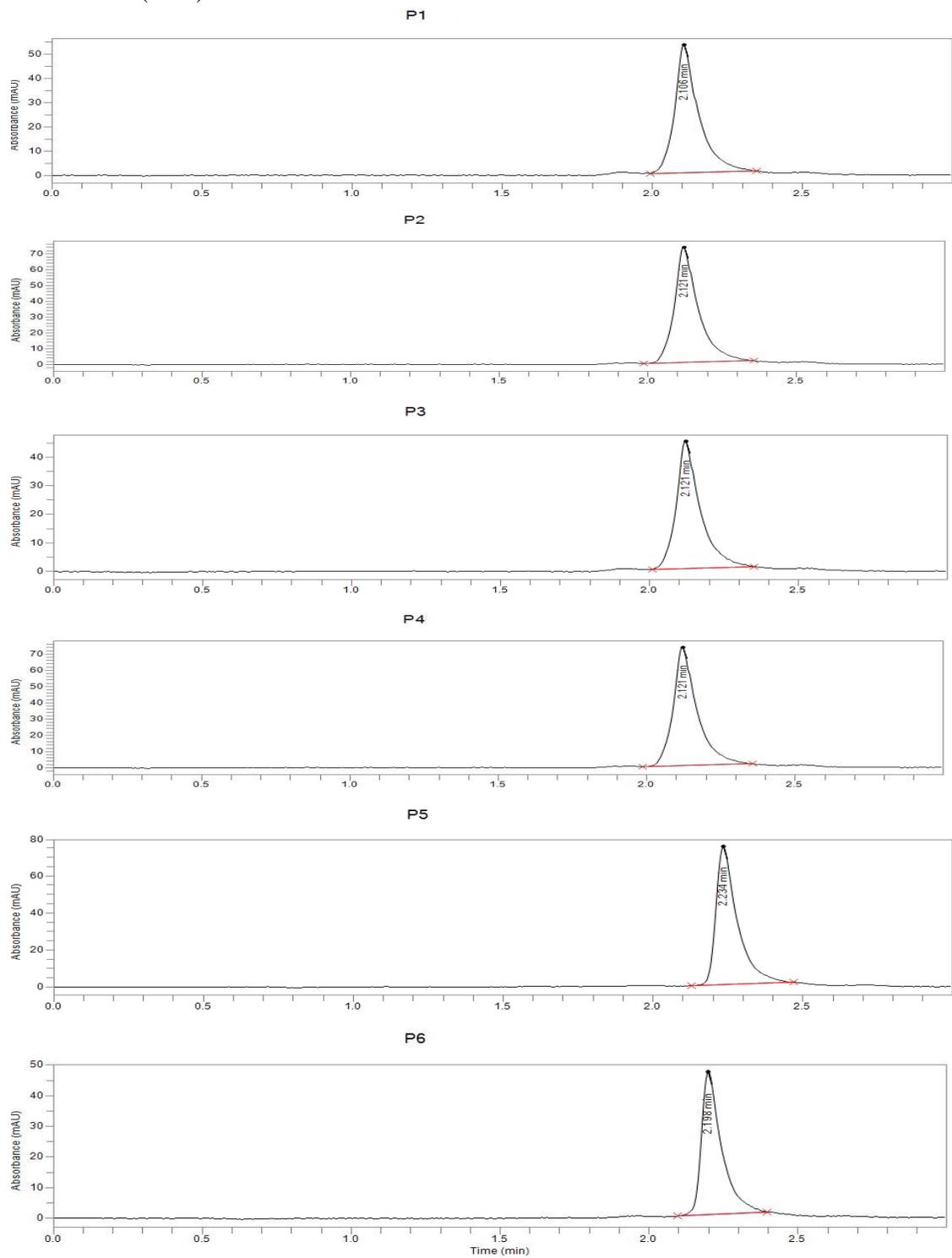
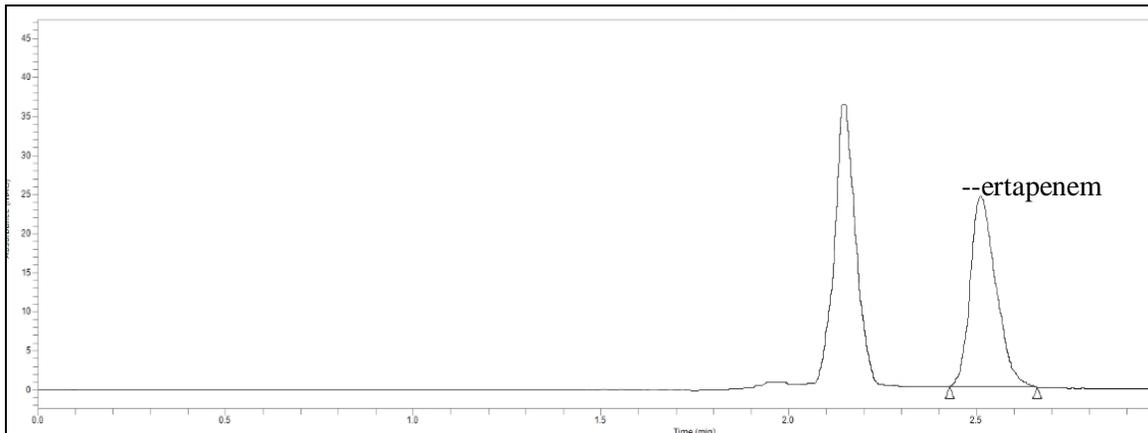


Figura 6: Señal de ertapenem generada a partir de la concentración al límite de cuantificación (3 mg/L).



Linealidad

Los resultados obtenidos para probar la linealidad de la concentración total de ertapenem en el rango entre 3 – 300 mg/L han sido resumidos en la Tabla 10.

Respecto de las muestras de plasma blanco en la calibración, no se identificaron señales cuantificables. No obstante, hubo dos resultados entre los calibrantes que no cumplieron con los parámetros de validación establecidos previamente, por lo que fueron removidos de la determinación: 1 mg/L (exactitud: 66,1%) y 2 mg/L (exactitud: 43,7%).

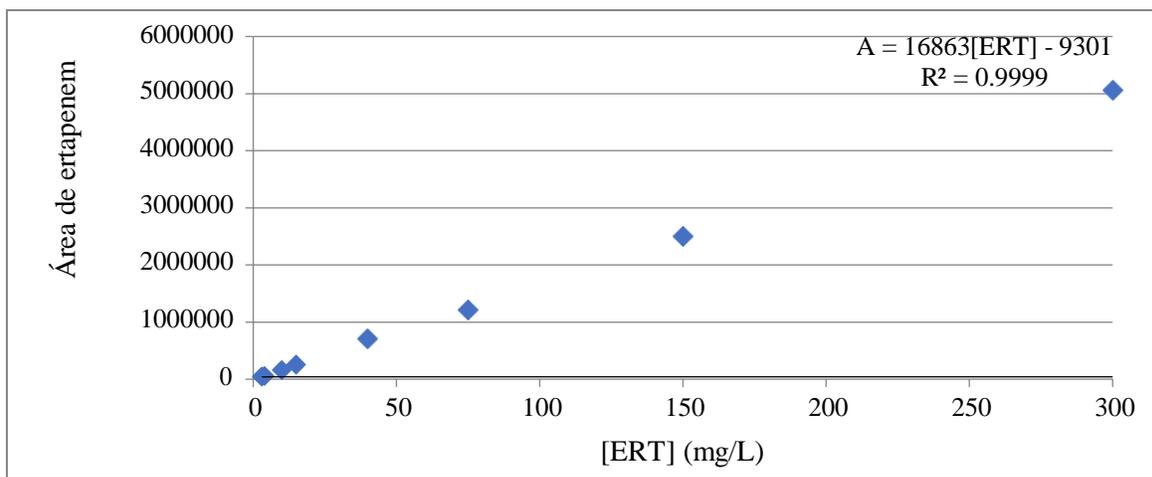
El resto de los resultados cumplieron con los criterios de aceptación de precisión y exactitud (criterio de aceptación: $CV < 15\%$; $85\% \geq \text{exactitud} \leq 115\%$).

De este modo, se obtuvo la función o ecuación de la recta que rige al sistema, cumpliendo con el parámetro de bondad de ajuste (criterio de aceptación: $R^2 \geq 0,980$) de la regresión lineal. Gráficamente, la linealidad del sistema fue representada en la Figura 7.

Tabla 9: Resumen de los resultados de linealidad promedio de la concentración total de ertapenem en plasma humano.

	Concentración	[ERT Est] promedio	Media área	DE	%Exactitud	%error relativo	%CV
	Plasma Blanco	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0
LOD	1 mg/L	1,66	18713,88	235,12	166,13	66,13	1,25
	2 mg/L	2,87	39171,86	562,01	143,72	43,72	1,43
LOQ	3 mg/L	3,13	43564,02	283,60	104,50	4,50	0,65
	4 mg/L	3,79	54702,58	870,88	94,88	-5,11	1,59
	10 mg/L	10,34	165179	1859,62	103,47	3,47	1,12
	15 mg/L	15,65	254742,6	957,30	104,38	4,38	0,37
	40 mg/L	42,13	701233,42	1570,23	105,34	5,34	0,22
	75 mg/L	72,17	1207797,52	3052,09	96,23	-3,76	0,25
	150 mg/L	148,74	2498943,38	8527,56	99,163	-0,83	0,34
	300 mg/L	301,01	5066456,06	36362,7	100,33	0,33	0,71
*LOD: límite de detección; LOQ: límite de cuantificación; ERT: ertapenem; Est: estimada; DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación.							

Figura 7: Linealidad de la concentración plasmática total de ertapenem versus el área generada por el *peak* de ertapenem.



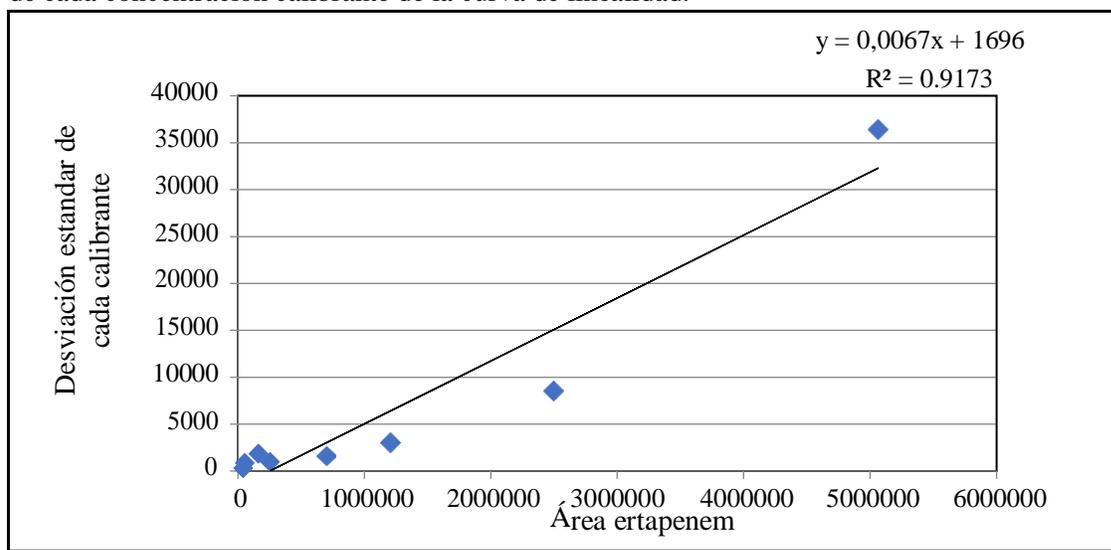
*[ERT]: Concentración total de ertapenem en plasma humano; A: Área de ertapenem.

Límite de Detección

El límite de detección fue determinado de acuerdo con lo indicado en la metodología previamente descrita en la sección 4.2.1.8 (Parámetros de validación). Para ello, fue necesario graficar el área de ertapenem versus la desviación estándar de cada calibrante (Figura 8), obteniendo el intercepto en el eje Y.

Figura 8: Representación gráfica del promedio de área de ertapenem y la desviación estándar

de cada concentración calibrante de la curva de linealidad.



Entonces, la desviación estándar de la respuesta a concentración cero es obtenida de la ecuación, para luego ser reemplazado en la ecuación de LOD teórico:

Por lo tanto,

$$LOD \text{ teórico } [ERT] = \frac{-9301 + 3 * (1696)}{16863} = 0,25 \text{ mg/L}$$

Límite de Cuantificación

Los resultados obtenidos a través de la evaluación de precisión y exactitud para probar el límite de cuantificación han sido resumidos en la tabla 12.

Tabla 10: Resumen de resultados de precisión y exactitud en la concentración en el límite de cuantificación.

Muestras	Concentración nominal ERT	Área promedio ERT	[ERT] _{est}	Promedio	DE	% CV	% Error relativo	% Exactitud
1	3,00	45567	3,25	3,27	0,01	0,38	8,97	91,03
2		45682	3,26					
3		45980	3,28					
4		46078	3,28					
5		45815	3,27					

*ERT: ertapenem; [ERT]_{est}: concentración de ertapenem estimada; DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación.

Precisión y Exactitud Intradía

Los calibrantes (5 veces cada uno) y los QC (10 veces cada uno) fueron medidos para establecer la precisión y exactitud intradía. Las concentraciones teóricas finales en las muestras QC fueron de 12 mg/L (bajo), 120 mg/L (medio) y 180 mg/L (alto). Además, fue incluido en el análisis el nivel de concentración al LOQ.

Los resultados obtenidos de precisión y exactitud intradía han sido resumidos en la tabla 13.

Tabla 11: Resultados obtenidos para curva precisión y exactitud intradía de ertapenem.

	Concentración nominal	Muestra	Promedio Área ERT	[ERT Est]	[ERT promedio]	DE	% Exactitud	% error relativo	% CV
LOQ	3 mg/L	1	45567,83	2,89	2,89	0,03	96,46	-3,53	1,36
		2	45879,1	2,91					
		3	46230,85	2,94					
		4	44801,8	2,84					
		5	45011,8	2,86					
	12 mg/L	6	154531,3	10,13	10,47	0,32	87,25	-12,74	3,10

	7	166104,45	10,89					
	8	161666,55	10,60					
	9	154951,05	10,15					
	10	161092,55	10,56					
120 mg/L	11	1846877,15	122,44	122,90	0,57	102,41	2,41	0,47
	12	1867862,9	123,83					
	13	1855970,5	123,04					
	14	1846944	122,44					
	15	1851192,65	122,72					
180 mg/L	16	2671113,95	177,14	177,73	0,77	98,73	-1,26	0,43
	17	2696505,85	178,82					
	18	2681470,5	177,83					
	19	2683968,2	177,99					
	20	2666785,05	176,85					
*ERT: ertapenem; [ERT] _{est} : concentración de ertapenem estimada; DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación.								

Todos los resultados cumplieron con los criterios de aceptación para precisión y exactitud (%CV < 15%; 85% ≥ exactitud ≤ 115%).

Precisión y Exactitud Interdía

Se midieron 5 muestras frescas de plasma enriquecido con cantidades conocidas de ertapenem en los tres niveles de QC bajo 12 mg/L, medio 120 mg/L y alto 180 mg/L. Además, fueron incluidas 5 muestras para el nivel más bajo de la linealidad LOQ (3 mg/L) (Tabla 14).

Tabla 12: Resumen de los resultados de precisión y exactitud interdía de la concentración.

		Día 1	Día 2	Día 3					
Concentración	Muestra	[ERT Est]	[ERT Est]	[ERT Est]	[ERT promedio]	DE	% Error relativo	% Exactitud	%CV
3 mg/L	1	2,52	3,36	2,60	2,82	0,39	-5,87	94,13	13,88
	2	2,53	3,35	2,52					
	3	2,58	3,36	2,57					
	4	2,59	3,37	2,56					
	5	2,57	3,35	2,52					
12 mg/L	1	11,70	12,06	11,58	11,77	0,40	-1,88	98,12	3,43
	2	11,64	12,23	11,51					
	3	11,73	12,62	11,66					
	4	11,38	12,42	11,74					
	5	11,48	11,78	11,08					
120 mg/L	1	118,61	121,51	119,51	118,78	1,51	-1,01	98,99	1,27
	2	118,80	116,99	116,98					
	3	120,30	119,75	116,59					
	4	120,14	118,77	118,44					
	5	120,65	117,33	117,37					
240 mg/L	1	238,59	242,27	245,41	239,98	2,80	-0,01	99,99	1,17
	2	241,04	237,94	244,29					
	3	237,15	240,07	236,83					
	4	240,70	240,50	236,69					
	5	240,27	241,96	236,03					

*ERT: ertapenem; [ERT]_{est}: concentración de ertapenem estimada; DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación.

Todos los resultados obtenidos en la evaluación inter-día cumplieron con los criterios de aceptación para precisión y exactitud (%CV < 15%; 85% ≥ exactitud ≤ 115%).

Recuperación

Los resultados obtenidos desde las pruebas de recuperación cumplieron con los criterios de aceptación ($\%CV < 15\%$; $85\% \geq \text{exactitud} \leq 115\%$) y fueron reunidos en la tabla 14.

Tabla 13: Resumen de los resultados obtenidos para recuperación de ertapenem por extracción mediante precipitación de proteínas.

Nivel	Concentración teórica	área ERT	Concentración método	% Recuperación	Parámetros Estadísticos	
Bajo	10	153553,8	9,65	96,57	DE	0,12
		154837,1	9,73	97,33	% REC	98,06
		156138,8	9,81	98,10	%CV	1,25
		156012,4	9,80	98,03	Promedio [ERT]	9,80
		156101,8	9,80	98,08		
		159752,5	10,02	100,25		
Medio	30	489199,2	29,56	98,53	DE	0,41
		491413,9	29,69	98,97	Promedio % REC	100,09
		504646,6	30,47	101,59		
		498010,8	30,08	100,28	%CV	0,41
		493123,1	29,79	99,31	Promedio [ERT]	100,09
		506101,7	30,56	101,88		
Alto	240	3671028,9	218,24	90,93	DE	0,84
		3710083,5	220,56	91,90	Promedio % REC	91,56
		3702778,5	220,13	91,72		
		3703474,4	220,17	91,73	%CV	0,38
		3702113,3	220,09	91,70	Promedio [ERT]	219,74
		3688228,6	219,26	91,36		

*ERT: ertapenem, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, REC: recuperación, [ERT]: concentración total de ertapenem.

El % de recuperación promedio entre los tres niveles de concentración ensayados fue de 96,6% para el método de extracción mediante precipitación de proteínas.

Estabilidad

Los resultados obtenidos de las pruebas de estabilidad a corto plazo (tabla 15), estabilidad en el *autosampler* (tabla 16), por ciclos de congelamiento/descongelamiento (tabla 17), estabilidad de la solución stock (tabla 18) y a largo plazo (tabla 19) cumplieron con los criterios de aceptación (%CV < 15%; 85% \geq exactitud \leq 115%).

Tabla 14: Resultados de estabilidad a corto plazo de ertapenem para análisis de concentración total.

Nivel	Periodo	Ecuación	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error
Nivel Bajo (20 mg/L)	t0	A = 16863 [ERT] - 9301	20,16	20,17	0,09	0,48	100,88	0,88
			20,27					
			20,08					
	t6		20,86	20,75	0,35	1,71	103,78	3,78
			20,35					
			21,04					
Nivel Alto (240 mg/L)	t0	219,44	219,50	1,64	0,75	91,46	-8,53	
		221,18						
		217,88						
	t6	214,22	212,82	1,31	0,61	88,67	-11,32	
		212,64						
		211,61						

*ERT: ertapenem, [ERT]: concentración de ertapenem total, DE: desviación estándar, CV:

Tabla 14: Resultados de estabilidad a corto plazo de ertapenem para análisis de concentración total.

Nivel	Periodo	Ecuación	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error
-------	---------	----------	-------	----------	----	-----	-------------	---------

coeficiente de variación, t0 = tiempo cero; t6 = tiempo luego de 6 horas.

Tabla 15: Resultados de Estabilidad en el *autosampler* de ertapenem para análisis de concentración total.

Nivel	Periodo	Área ERT	[ERT]	DE	%CV	% Exactitud	% Error
Bajo (20 mg/L)	t0	328033,6	19,35	16407,3	5,00	96,77	3,22
	t1=24 horas	294021,8	17,22	37168,1	12,64	86,11	13,88
Alto (240 mg/L)	t0	3846668,17	239,77	49768,7	1,29	99,90	0,09
	t1=24 horas	3286092,3	204,65	184618	5,61	85,27	14,72

*ERT: ertapenem, [ERT]: concentración de ertapenem total, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, t0 = tiempo cero; t6 = tiempo luego de 24 horas.

Tabla 16: Resultados de estabilidad por ciclos de congelamiento / descongelamiento de ertapenem para análisis de concentración total.

	20 mg/L	Área ERT	Ecuación	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error
t0	Muestra 1	331516,75	A = 16863 [ERT] - 9301	20,21	20,44	0,21	1,04	102,20	2,20
	Muestra 2	338648,35		20,63					
	Muestra 3	336008,1		20,47					
t1 = 24 horas	Muestra 1	302162,9	A = 16755 [ERT] - 11851	18,74	18,76	0,05	0,30	93,83	-6,16
	Muestra 2	303666,75		18,83					

Tabla 16: Resultados de estabilidad por ciclos de congelamiento / descongelamiento de ertapenem para análisis de concentración total.

	Muestra 3	301902,05		18,72					
t2 = 48 horas	Muestra 1	282748,65	A = 16393 [ERT] - 9068,1	17,80	17,80	0,01	0,09	87,09	-12,90
	Muestra 2	282521,45		17,78					
	Muestra 3	283069,2		17,82					
t3 = 72 horas	Muestra 1	271516	A = 15373 [ERT] - 6345,9	18,07	18,16	0,15	0,85	88,84	-11,15
	Muestra 2	271386,5		18,06					
	Muestra 3	275596,65		18,34					

	240 mg/L	Área ERT	Ecuación	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error
t0	Muestra 1	3829328,85	A = 16863 [ERT] - 9301	227,64	221,39	5,42	2,44	92,24	-7,75
	Muestra 2	3678774,9		218,71					
	Muestra 3	3664240,3		217,85					
t1 = 24 horas	Muestra 1	3563675	A = 16755 [ERT] - 11851	213,40	214,39	1,02	0,47	89,32	-10,67
	Muestra 2	3579246,3		214,33					
	Muestra 3	3597841,3		215,43					
t2 = 48 horas	Muestra 1	3408649,5	A = 16393 [ERT] - 9068,1	208,49	208,66	0,16	0,07	86,94	-13,05
	Muestra 2	3411370,6		208,66					
	Muestra 3	3414012		208,82					
t3 = 72 horas	Muestra 1	3283930,85	A = 15373 [ERT] - 6345,9	214,02	212,97	0,97	0,45	88,73	-11,26
	Muestra 2	3254318,75		212,10					
	Muestra 3	3264819		212,78					

* ERT: ertapenem, [ERT]: concentración de ertapenem total, DE: desviación estándar, CV:

coeficiente de variación, t0: tiempo cero, t1: 24 horas; t2: 48 horas; t3: 72 horas.

Tabla 17: Resultados de estabilidad en solución stock de ertapenem para análisis de concentración total.

Nivel	Condición	Periodo	Área ERT	[ERT]	DE	%CV	% Exactitud	% Error
Bajo (20 mg/L)	t0		327295,5	19,30	15771,80	4,81	96,54	3,45
	Temperatura ambiente (25°C)	t1 = 24 horas	291907,15	17,09	3306,77	1,12	85,45	14,54
		t2 = 48 horas	291204,65	17,04	7676,59	2,59	85,23	14,76
	Bajo refrigeración (-80°C)	t2 = 24 horas	303749,3	17,83	2384,88	0,78	89,16	10,83
		t2 = 48 horas	302413,4	17,74	1041,55	0,34	88,74	11,25
Alto (240 mg/L)	t0		3932283,37	245,13	4923,04	0,12	102,14	-2,14
	Temperatura ambiente (25°C)	t1 = 24 horas	3535374,45	220,27	33981,09	0,95	91,78	8,21
		t2 = 48 horas	3624314,15	225,84	70216,47	1,95	94,10	5,89
	Bajo refrigeración (-80°C)	t2 = 24 horas	3642009,25	226,95	95688,59	2,66	94,56	5,43
		t2 = 48 horas	3712401,05	231,36	318033,51	9,01	96,40	3,59

* ERT: ertapenem, [ERT]: concentración de ertapenem total, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, t0: tiempo cero, t1: 24 horas; t2: 48 horas.

Tabla 18: Resultados de estabilidad de ertapenem a largo plazo a dos niveles de concentración: 20 mg/L y 240 mg/L.

	20 mg/L	Área ERT	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error
T0	Muestra 1	330716,85	20,16	20,30	0,13	0,67	101,52	1,52
	Muestra 2	335311,2	20,43					
	Muestra 3	333320,15	20,31					
T1	Muestra 1	330351,05	20,14	20,02	0,13	0,68	98,60	-1,39
	Muestra 2	325819,25	19,87					
	Muestra 3	328881,75	20,05					

Tabla 18: Resultados de estabilidad de ertapenem a largo plazo a dos niveles de concentración: 20 mg/L y 240 mg/L.

T2	Muestra 1	321059,6	19,59	19,35	0,22	1,16	95,29	-4,70
	Muestra 2	316423,8	19,31					
	Muestra 3	313539,4	19,14					
T3	Muestra 1	303516	18,55	18,57	0,08	0,45	91,49	-8,50
	Muestra 2	302886,5	18,51					
	Muestra 3	305596,65	18,67					
T4	Muestra 1	294873,55	18,03	17,84	0,16	0,94	87,88	-12,11
	Muestra 2	290606,8	17,78					
	Muestra 3	289455,95	17,71					
T5	Muestra 1	285579,75	17,48	17,67	0,23	1,34	87,01	-12,98
	Muestra 2	293189,5	17,93					
	Muestra 3	287226,5	17,58					
	240 mg/L	Área ERT	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error
t0	Muestra 1	3993558	237,37	236,44	1,08	0,45	98,51	-1,48
	Muestra 2	3982307,2	236,70					
	Muestra 3	3957800,3	235,25					
t1	Muestra 1	3959121	235,33	233,57	2,00	0,85	98,78	-1,21
	Muestra 2	3936556,3	233,99					
	Muestra 3	3892750,1	231,39					
t2	Muestra 1	3835095,5	227,97	228,03	0,25	0,11	96,44	-3,55
	Muestra 2	3840586,1	228,30					
	Muestra 3	3832259	227,80					
t3	Muestra 1	3660811,4	217,64	216,43	1,42	0,65	91,53	-8,46
	Muestra 2	3646692	216,80					

Tabla 18: Resultados de estabilidad de ertapenem a largo plazo a dos niveles de concentración: 20 mg/L y 240 mg/L.

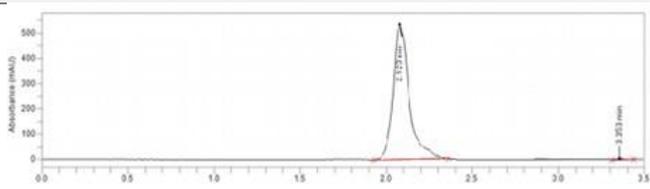
	Muestra 3	3613954,7	214,86					
t4	Muestra 1	3554366,3	211,33	211,34	0,46	0,22	89,38	-10,61
	Muestra 2	3546804,3	210,88					
	Muestra 3	3562546,5	211,81					
t5	Muestra 1	3423356,3	203,56	203,73	0,14	0,07	86,16	-13,83
	Muestra 2	3427485,8	203,80					
	Muestra 3	3427884,9	203,83					
* ERT: ertapenem, [ERT]: concentración de ertapenem total, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, t0: tiempo cero; t1: semana 1; t2: semana 2; t3: semana 3; t4: semana 4; t5: semana 5.								

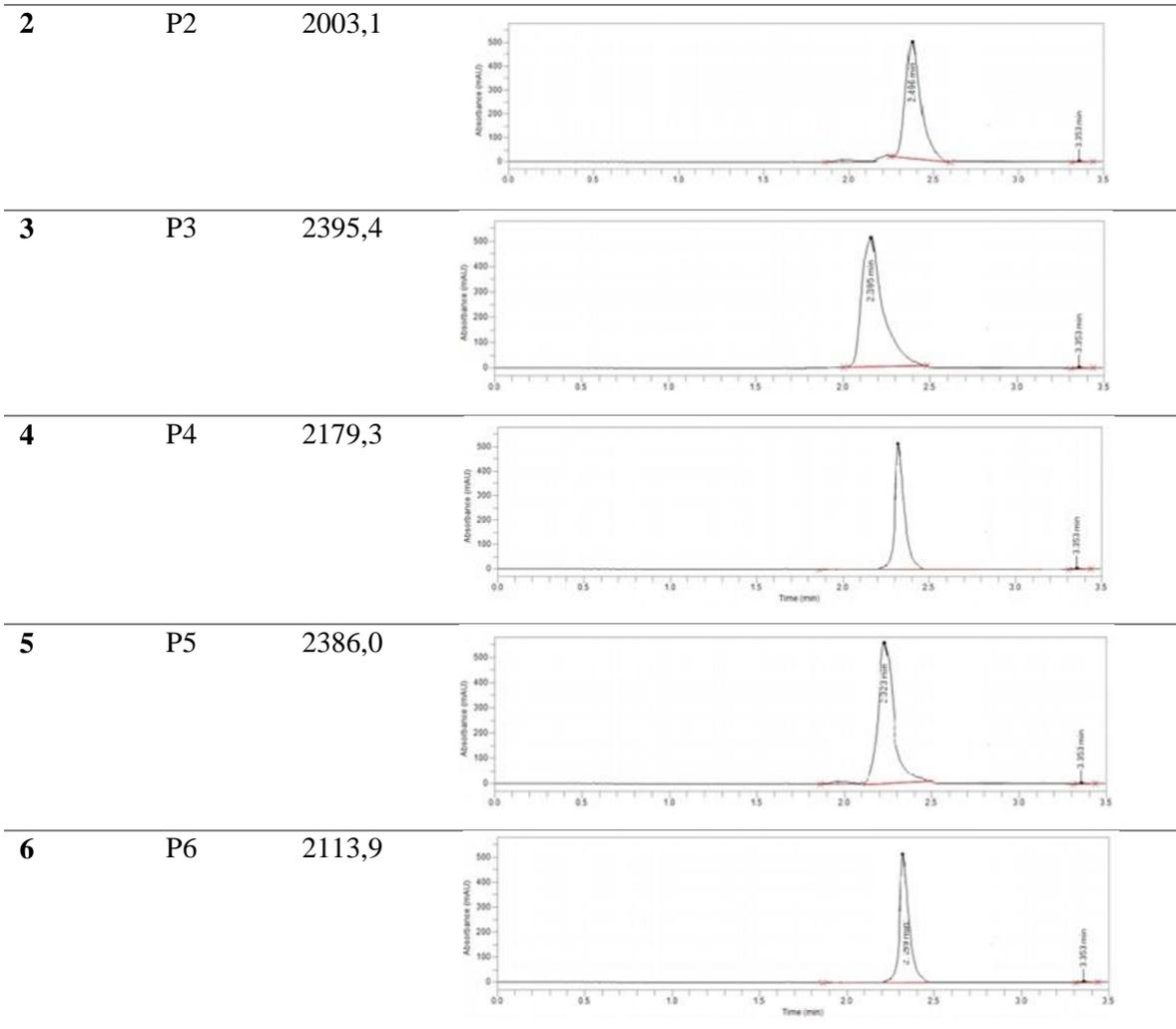
5.2.1.2 Determinación de la concentración libre de ertapenem

Selectividad

Las muestras de plasma seleccionadas correspondieron a aquellas que no presentaron señales interferentes en el tiempo de retención de ertapenem ($t_r = 3,26$ min) en las condiciones cromatográficas descritas previamente (Tabla 21). Además, fue inspeccionada la señal generada en presencia de ertapenem a la concentración en el límite de cuantificación (0,24 mg/L) (Figura 9).

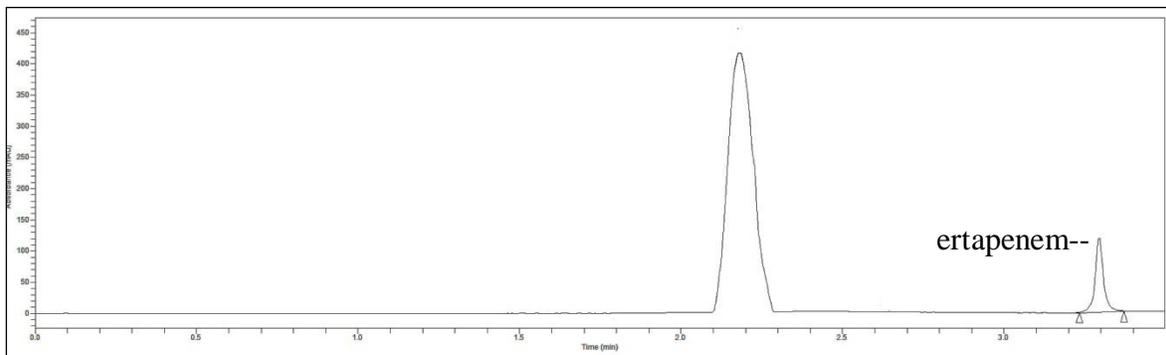
Tabla 19: Resumen de los resultados de absorbancia de los interferentes al tiempo de retención de ertapenem (T_r : 3,26 min).

Muestra	Plasma	Área ($t_r=3,26$ minutos)	Cromatogramas
1	P1	2235,4	



*tr: tiempo de retención, ERT: ertapenem.

Figura 9: Señal de ertapenem generada a partir de la concentración al límite de cuantificación (0,24 mg/L).



Linealidad

Los resultados obtenidos a través de los calibrantes para probar la linealidad de la concentración libre de ertapenem en el rango entre 0,24 – 60 mg/L han sido resumidos en la tabla 21.

Respecto de las muestras de plasma blanco en la calibración, hubo señales cuantificables identificadas. Sin embargo, la presencia del ruido alrededor del tiempo de retención no logró más de un 10% de la señal producida en la concentración al límite de cuantificación. El área promedio generada por estas señales fue de 1985.

El resto de los resultados cumplieron con los criterios de aceptación de precisión y exactitud ($CV < 15\%$; $85\% \geq \text{exactitud} \leq 115\%$).

De este modo, pudo obtenerse la función o ecuación de la recta que rige al sistema, cumpliendo con el parámetro de bondad de ajuste ($R^2 \geq 0,980$) de la regresión lineal. Gráficamente, la linealidad del sistema fue representada en la Figura 10.

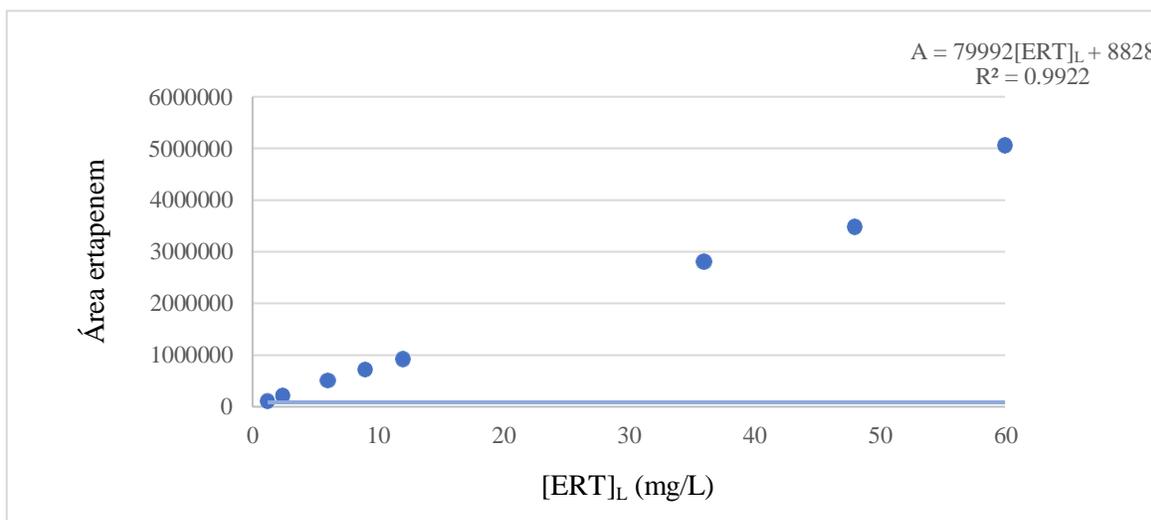
Tabla 20: Resumen de los resultados de linealidad promedio de la concentración libre de ertapenem en plasma humano.

	Concentración	[ERT Est] prom	Media Área	DE	Exactitud	% error relativo	%CV
	Plasma Blanco (mg/L)	-	-	-	-	-	-
LOQ	0,24	0,21	25280,16	213,79	85,70	-14,30	0,85
	1,2	1,19	103916,18	1747,11	99,06	-0,94	1,68
	2,4	2,59	215678,66	2498,38	107,75	7,75	1,16
	6	6,18	503549,84	5243,95	103,08	3,08	1,04
	9	8,89	720290,9	13613,8	98,82	-1,18	1,89

Tabla 20: Resumen de los resultados de linealidad promedio de la concentración libre de ertapenem en plasma humano.

	Concentración	[ERT Est] prom	Media Área	DE	Exactitud	% error relativo	%CV
	12	12,64	1019847,14	9082,09	105,32	5,32	0,89
	36	36,48	2927087,56	40466	101,34	1,34	1,38
	48	43,43	3483200,64	12235,4	90,49	-9,51	0,35
	60	63,23	5066456,06	36362,7	105,38	5,38	0,72

Figura 10: Linealidad de la concentración libre de ertapenem versus el área generada por el peak de ertapenem.

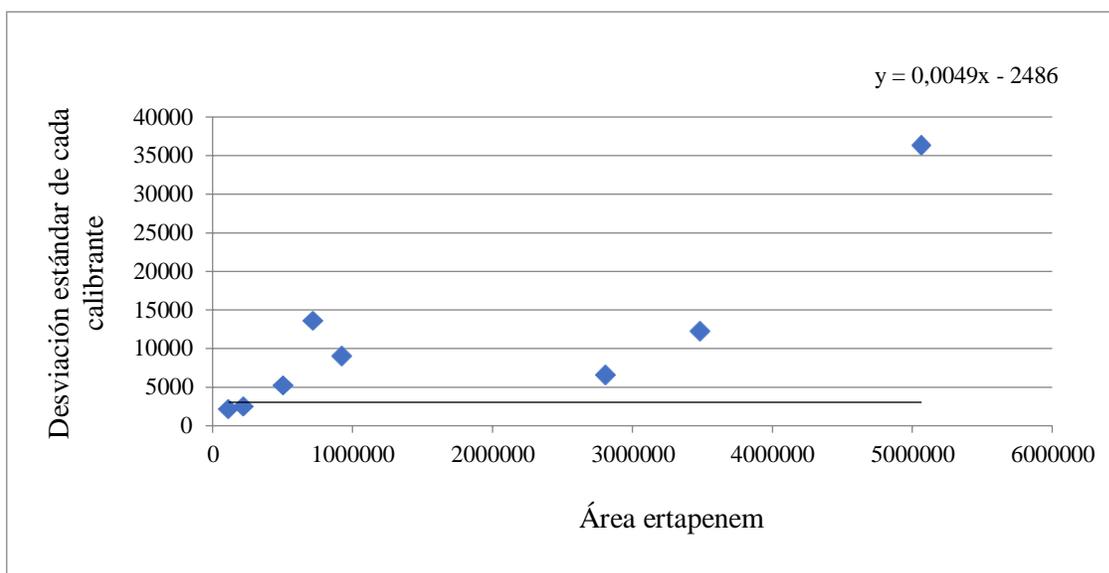


*[ERT]_L: Concentración libre de ertapenem en plasma humano; A: Área de ertapenem.

Límite de Detección

El límite de detección fue determinado de acuerdo con lo indicado en la metodología previamente descrita en la sección 4.2.1.8 (Parámetros de validación). Para ello, fue necesario graficar el área generada por el *peak* de ertapenem versus la desviación estándar de cada calibrante (Figura 11), obteniendo el intercepto en el eje Y.

Figura 11: Representación gráfica del promedio de área de ertapenem y la desviación estándar de cada concentración calibrante de la curva de linealidad.



Entonces, la desviación estándar de la respuesta a concentración cero es obtenida de la ecuación, para luego ser reemplazado en la ecuación de LOD teórico:

Por lo tanto,

$$LOD \text{ teórico} = \frac{8828 + (3 * -2486)}{79992} = 0,02 \text{ mg/L}$$

Límite de Cuantificación

Los resultados obtenidos a través de la evaluación de precisión y exactitud para probar el límite de cuantificación del método de determinación de concentración libre de ertapenem han sido resumidos en la tabla 23.

Tabla 21: Resumen de resultados de precisión y exactitud en la concentración en el límite de cuantificación.

Muestras	Concentración nominal ERT	Área promedio ERT	[ERT] _{est}	Promedio	DE	%CV	% Error relativo	% Exactitud
1	0,24	25755	0,21	0,21	0,00298	1,42	-12,19	193,01
2		25778	0,21					
3		25494	0,21					
4		25775	0,21					
5		25240	0,21					

*ERT: ertapenem; [ERT]_{est}: concentración de ertapenem estimada; DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación.

Precisión y Exactitud Intradía

Los calibrantes y controles de calidad fueron medidos para establecer la precisión y exactitud intradía. Las concentraciones teóricas finales en las muestras QC fueron de 3 mg/L (bajo), 15 mg/L (medio) y 45 mg/L (alto). Además, fue incluido en el análisis el nivel

de concentración al LOQ (0,24 mg/L). Los resultados obtenidos de precisión y exactitud intradía han sido resumidos en la tabla 23.

Tabla 22: Resumen de resultados de precisión y exactitud intradía para análisis de concentración libre de ertapenem.

	Concentración [ERT promedio]		DE	Exactitud	% error relativo	%CV
LOQ	0,24 mg/L	0,25	0,01	104,88	4,88	3,09
	3 mg/L	2,84	0,01	94,51	-5,48	0,18
	15 mg/L	15,21	0,76	101,42	1,42	5,00
	45 mg/L	44,94	0,29	99,87	-0,13	0,63

Todos los resultados cumplieron con los criterios de aceptación para precisión y exactitud (%CV < 15%; 85% ≥ % exactitud ≤ 115%).

Precisión y Exactitud Interdía

Se midieron 5 muestras frescas de plasma enriquecido con cantidades conocidas de ertapenem en los tres niveles de QC bajo 3 mg/L, medio 15 mg/L y alto 45 mg/L. Además, fueron incluidas 5 muestras para el nivel más bajo de la linealidad LOQ (0,24 mg/L) (Tabla 24).

Tabla 23: Resumen de los resultados de precisión y exactitud Interdía.

Concentración	Muestra	Día 1	Día 2	Día 3	[ERT promedio]	DE	% Error relativo	% Exactitud	%CV
		[ERT Est]							
0,24 mg/L	1	0,25	0,23	0,21	0,23	0,02	-5,10	94,90	8,25

Concentración	Muestra	Día 1	Día 2	Día 3	[ERT promedio]	DE	% Error relativo	% Exactitud	%CV
		[ERT Est]							
	2	0,26	0,22	0,21					
	3	0,26	0,21	0,21					
	4	0,25	0,22	0,22					
	5	0,24	0,21	0,21					
3 mg/L	1	2,83	2,66	2,78	2,78	0,11	-7,28	92,72	3,90
	2	2,84	2,66	2,90					
	3	2,84	2,64	2,88					
	4	2,83	2,65	2,89					
	5	2,83	2,59	2,89					
15 mg/L	1	14,22	15,42	14,69	15,32	0,49	2,16	102,16	3,21
	2	14,74	15,67	15,26					
	3	15,20	15,78	14,99					
	4	15,98	15,37	15,49					
	5	15,93	15,45	15,68					
45 mg/L	1	45,37	44,84	45,11	44,91	0,22	-0,21	99,79	0,48
	2	44,66	44,47	44,84					
	3	45,04	45,13	45,00					
	4	44,72	44,80	44,81					
	5	44,91	44,99	44,91					

*ERT: ertapenem; [ERT]_{est}: concentración de ertapenem estimada; DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación.

Todos los resultados obtenidos en la evaluación inter-día cumplieron con los criterios de aceptación para precisión y exactitud (%CV < 15%; 85% ≥ exactitud ≤ 115%).

Recuperación

La recuperación fue evaluada midiendo 3 niveles de concentración (3, 15 y 45 mg/L), preparados en triplicado y extraídos según el método descrito previamente. Finalmente, fueron inyectadas 2 veces cada muestra. Los resultados obtenidos para probar el porcentaje de extracción o de recuperación son reunidos en la Tabla 25.

Tabla 24: Resumen de los resultados obtenidos para recuperación de ertapenem mediante extracción por ultrafiltración.

Nivel	Concentración teórica	Área ERT	Concentración método	% Recuperación	Parámetros Estadísticos
Bajo	3 mg/L	220733,1	2,91	97,00	DE 0,03
		225475,7	2,97	98,98	% REC 98,82
		226143,2	2,98	99,26	%CV 0,91
		226012,4	2,98	99,20	Promedio [ERT] 2,96
		226453,1	2,98	99,39	
		225715,9	2,97	99,08	
Medio	15 mg/L	1201676,2	15,21	101,43	DE 0,10
		1190141,3	15,07	100,46	Promedio % REC 100,30
		1189780,7	15,06	100,43	%CV 0,10
		1188965,5	15,05	100,36	Promedio [ERT] 100,30
		1179034,3	14,93	99,53	
		1179863,1	14,94	99,60	
Alto	45 mg/L	3580217,6	45,05	100,11	DE 0,13
		3588970,8	45,16	100,35	Promedio % REC 100,59
		3602778,5	45,33	100,74	%CV 0,30
		3603474,4	45,34	100,76	Promedio [ERT] 45,27
		3602113,3	45,32	100,72	
		3608228,6	45,40	100,89	

*ERT: ertapenem, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, REC: recuperación, [ERT]: concentración libre de ertapenem.

El porcentaje de recuperación promedio entre los tres niveles de concentración ensayados fue de 99,9%.

Estabilidad

Los resultados obtenidos de las pruebas de estabilidad a corto plazo (tabla 26), estabilidad en el *autosampler* (Tabla 27), por ciclos de congelamiento/descongelamiento (tabla 28), estabilidad de la solución stock (tabla 29) y a largo plazo (tabla 30) cumplieron con los criterios de aceptación (%CV < 15%; 85% \geq exactitud \leq 115%).

Tabla 25: Resultados de estabilidad a corto plazo de ertapenem para análisis de concentración libre.

Nivel	Periodo	Área ERT	Ecuación	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error	
Nivel Bajo (3 mg/L)	t0	215694,85	A=79992xERT + 8828	2,59	2,58	0,01	0,22	86,02	13,98	
		215269,95		2,58						
		214805,1		2,57						
	t1	215439,9		2,58	2,56	0,02	0,84	85,28	14,72	
		212749,5		2,55						
		212222,85		2,54						
Nivel Alto (45 mg/L)	t0	3443952,3		A=79992xERT + 8828	42,94	42,71	0,20	0,47	94,92	5,08
		3418392,2			42,62					
		3414699,85			42,58					
	t1	3299733,8	41,14		41,02	0,13	0,33	91,15	8,85	
		3278507,3	40,88							
		3291637,1	41,04							

*ERT: ertapenem, [ERT]: concentración de ertapenem libre, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, t0 = tiempo cero; t6 = tiempo luego de 6 horas.

Tabla 26: Resultados de Estabilidad en el *autosampler* de ertapenem para análisis de concentración libre.

Nivel	Periodo	Área ERT	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error
Bajo (3 mg/L)	t0	229636,63	2,76	2,76	1031,37	0,45	92,01	7,99
	t1=24 horas	222039,50	2,67	2,67	1082,51	0,49	88,85	11,15
Alto (45 mg/L)	t0	3457286,77	43,11	43,11	33396,1	0,97	95,80	4,20
	t1=24 horas	3284136,35	40,95	40,95	52543,3	1,60	90,99	9,01

*ERT: ertapenem, [ERT]: concentración de ertapenem libre, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, t0 = tiempo cero; t6 = tiempo luego de 24 horas.

Tabla 27: Resultados de estabilidad por ciclos de congelamiento/descongelamiento de ertapenem para análisis de concentración libre.

	3 mg/L	Área ERT	Ecuación	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error
t0	1	229429,8	A =	2,76	2,75	0,01	0,31	91,62	8,38
	2	228106,05	79992xERT +	2,74					
	3	228573,05	8828	2,75					
t1 = 24 horas	1	220767	A =	3,11	3,09	0,02	0,54	103,10	-3,10
	2	218711,9	67223xERT +	3,08					
	3	218922,6	11551	3,08					
t2 = 48 horas	1	215945,4	A =	2,91	2,91	0,00	0,06	105,85	-5,85
	2	216175,85	72507xERT +	2,91					
	3	216016,3	5085,5	2,91					
t3 = 72	1	213771	A =	2,84	2,83	0,00	0,13	103,13	-3,13

Tabla 27: Resultados de estabilidad por ciclos de congelamiento/descongelamiento de ertapenem para análisis de concentración libre.

horas									
	2	213348	71799xERT +	2,83					
	3	213852,2	10117	2,84					
	45 mg/L	Área ERT	Ecuación	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error
t0	1	3397494,7	A =	42,36	42,32	0,04	0,10	94,04	5,96
	2	3393569,85	79992xERT +	42,31					
	3	3390943,8	8828	42,28					
t1 = 24 horas	1	3260725,9	A =	48,33	48,32	0,01	0,02	107,38	-7,38
	2	3259462,7	67223xERT +	48,32					
	3	3259620,1	11551	48,32					
t2 = 48 horas	1	3208539,8	A =	44,18	44,13	0,11	0,24	98,06	1,94
	2	3209783,25	72507xERT +	44,20					
	3	3195900,45	5085,5	44,01					
t3 = 72 horas	1	3093661,25	A =	42,95	42,89	0,10	0,24	95,32	4,68
	2	3094608,9	71799xERT +	42,96					
	3	3081266,2	10117	42,77					

* ERT: ertapenem, [ERT]: concentración de ertapenem libre, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, t0: tiempo cero, t1: 24 horas; t2: 48 horas; t3: 72 horas.

Tabla 28: Resultados de estabilidad en solución stock de ertapenem para análisis de concentración libre.

Nivel	Condición	Periodo	Área ERT	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error
Bajo (3)	t0		223000,967	2,68	223000,97	457,78	0,21	89,25	10,75

mg/L)	Temperatura ambiente (25°C)	t1 = 24 horas	221748,9	2,66	221768,23	433,99	0,20	88,73	11,27
		t2 = 48 horas	221163,05	2,65	221124,90	70,18	0,03	88,48	11,52
	Bajo refrigeración (-80°C)	t2 = 24 horas	222261	2,67	222295,50	119,51	0,05	88,94	11,06
		t2 = 48 horas	221924	2,66	221949,50	74,10	0,03	88,80	11,20
Alto (45 mg/L)	t0		3534198,3	44,07	3534198,30	2731,25	0,08	97,94	2,06
	Temperatura ambiente (25°C)	t1 = 24 horas	3530370,1	44,02	3530341,60	65,33	0,00	97,83	2,17
		t2 = 48 horas	3526866,9	43,98	3526706,43	458,14	0,01	97,73	2,27
	Bajo refrigeración (-80°C)	t2 = 24 horas	3531998,15	44,04	3532907,30	1753,60	0,05	97,88	2,12
		t2 = 48 horas	3528933,95	44,01	3528260,70	1513,07	0,04	97,79	2,21

* ERT: ertapenem, [ERT]: concentración de ertapenem libre, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, t0: tiempo cero, t1: 24 horas; t2: 48 horas.

Tabla 29: Resultados de estabilidad a largo plazo a dos niveles de concentración de ertapenem para análisis de concentración libre: 3 mg/L y 45 mg/L.

	3 mg/L	Área ERT	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error
T0	1	235251,85	2,83	2,82	0,05	1,81	93,96	6,04
	2	229844,2	2,76					
	3	237851,15	2,86					
T1	1	229880,05	2,76	2,78	0,02	0,86	98,62	1,38
	2	230346,25	2,77					
	3	233406,75	2,81					
T2	1	230582,6	2,77	2,72	0,05	1,74	96,55	3,45
	2	225944,8	2,71					
	3	223058,4	2,68					

T3	1	213033	2,55	2,56	0,02	0,69	90,78	9,22
	2	212401,5	2,54					
	3	215109,65	2,58					
T4	4	206884,55	2,48	2,47	0,01	0,26	87,60	12,40
	5	206315,95	2,47					
	6	205862,95	2,46					
T5	7	206584,75	2,47	2,45	0,02	0,86	86,93	13,07
	8	204692,5	2,45					
	9	203227,5	2,43					
	45 mg/L	Área ERT	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error
T0	Muestra 1	3479396,8	43,39	43,40	0,16	0,37	96,44	3,56
	Muestra 2	3468144	43,25					
	Muestra 3	3493635,1	43,56					
T1	Muestra 1	3444953,8	42,96	42,79	0,15	0,34	98,61	1,39
	Muestra 2	3422387,1	42,67					
	Muestra 3	3428578,9	42,75					
T2	Muestra 1	3420922,3	42,66	42,67	0,05	0,12	98,31	1,69
	Muestra 2	3426410,9	42,72					
	Muestra 3	3418081,8	42,62					
T3	Muestra 1	3246632,2	40,48	40,22	0,30	0,75	92,68	7,32
	Muestra 2	3232510,8	40,30					
	Muestra 3	3199771,5	39,89					
T4	Muestra 4	3140181,1	39,15	39,15	0,10	0,25	90,21	9,79
	Muestra 5	3132617,1	39,05					
	Muestra 6	3148357,3	39,25					
T5	Muestra 7	3009165,1	37,51	37,54	0,03	0,08	86,51	13,49

	Muestra 8	3013292,6	37,56				
	Muestra 9	3013689,7	37,56				

* ERT: ertapenem, [ERT]: concentración de ertapenem libre, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, t0: tiempo cero; t1: semana 1; t2: semana 2; t3: semana 3; t4: semana 4; t5: semana 5.

La evidencia indica que las soluciones acuosas de ertapenem (20 mg/mL) diluidas en cloruro de sodio al 0,9% y mantenidas a temperatura ambiente (25°C) pueden ser estables por 6 horas, prolongándose hasta 24 horas cuando se conservan bajo cadena de frío (entre 2 – 8°C) ⁵⁸. Sin embargo, también existe evidencia de que aquellas muestras conservadas a -20°C tienen una respuesta variable con relación a la estabilidad ⁵⁹.

Del mismo modo ocurre con la concentración de la solución, que según algunos autores ⁶⁰, a medida que aumenta la concentración decaería la estabilidad. No obstante, en este estudio, ertapenem fue reconstituido y diluido con agua milli-Q, no con soluciones de cloruro de sodio, y fue almacenado a -80°C, lo que podría cambiar las condiciones de estabilidad previamente descritas.

Otro punto por considerar en las pruebas de estabilidad con ertapenem es la longitud de onda elegida para la detección del antibiótico en una matriz biológica, debido a que se han descrito longitudes de onda de máxima absorbancia para estudios de estabilidad (220 – 250 nm) y para estudios de cuantificación de ertapenem (278 – 314 nm) ⁶¹.

Finalmente, el método respondió dentro del rango lineal para las pruebas de estabilidad ejecutadas cumpliendo todos los estándares de precisión y exactitud establecidos previamente.

11.2.2. Cuantificación de Ertapenem en Muestras Reales

Las muestras de los pacientes reclutados en el estudio, fueron analizadas en diferentes periodos de tiempo. El primero, durante agosto del año 2017, donde el procedimiento fue

llevado a cabo según lo establecido (Figura 1). En esa oportunidad, las muestras procesadas fueron: ID#1 (diciembre 2015), ID#2 (enero 2016) e ID#3 (mayo 2016). El descongelamiento promedio de las muestras tardó 10 minutos.

Posteriormente, las dos últimas muestras (ID#4, ID#5) fueron congeladas a -80°C y permanecieron 3 y 4 días (octubre 2017), respectivamente, antes de procesarlas mediante el mismo procedimiento descrito.

Una vez procesadas las muestras, en cada periodo de análisis, una curva de calibración fue confeccionada para obtener la concentración de ertapenem total y libre desde las muestras reales. Cada muestra fue inyectada dos veces y se obtuvo el promedio de los valores. Los resultados se presentan en la Tabla 31.

Tabla 30: Concentración total (mg/L) y libre (mg/L) versus tiempo (h) de los pacientes seleccionados.

Paciente	Muestra	Tiempo	[ERT] Total	[ERT] Libre	Antecedentes adicionales
ID#1	1	0,0	4,2	0,77	Dosis administrada: 1 g Infusión intermitente: 30 minutos ClCr > 30 mL/min Hipoalbuminemia severa (2,4 g/dL)
	2	0,6	97,3	18,55	
	3	1,3	79,9	15,31	
	4	2,2	48,1	9,70	
	5	3,1	34,0	6,65	
	6	6,0	22,1	2,10	
	7	11,6	13,9	1,34	
	8	24,0	6,3	0,75	
ID#2	1	0,0	5,2	0,59	Dosis administrada: 1 g Infusión intermitente: 60 minutos ClCr > 30 mL/min Hipoalbuminemia leve (3,1 g/dL)
	2	0,7	92,5	11,69	
	3	2,3	83,7	8,65	
	4	4,0	51,1	4,72	
	5	5,3	40,9	3,28	
	6	8,3	24,3	2,28	

Paciente	Muestra	Tiempo	[ERT] Total	[ERT] Libre	Antecedentes adicionales
	7	11,1	11,8	1,46	
	8	23,7	4,9	0,45	
ID#3	1	0	6,5	1,27	Dosis administrada: 1 g Infusión intermitente: 30 minutos ClCr > 30 mL/min Hipoalbuminemia severa (2,4 g/dL)
	2	1,2	106,0	11,97	
	3	2,3	81,0	8,44	
	4	3,6	62,3	7,07	
	5	4,6	50,5	5,74	
	6	5,9	42,3	4,79	
	7	12,1	26,7	2,98	
	8	24,6	7,1	0,71	
ID#4	1	0,0	6,3	1,18	Dosis administrada: 500 mg Infusión intermitente: 30 minutos ClCr < 30 mL/min Hipoalbuminemia moderada (2,9 g/dL)
	2	0,6	125,3	19,65	
	3	1,1	110,0	12,93	
	4	2,2	87,3	8,60	
	5	3,1	65,1	7,11	
	6	6,0	47,8	3,61	
	7	11,8	31,0	1,81	
	8	24,2	15,9	1,18	
ID#5	1	0,0	5,5	0,93	Dosis administrada: 1 g Infusión intermitente: 30 minutos ClCr > 30 mL/min Sin hipoalbuminemia (3,5 g/dL)
	2	0,6	105,2	12,66	
	3	1,0	83,0	11,26	
	4	2,1	64,1	8,64	
	5	3,2	48,3	6,07	
	6	6,0	34,1	4,08	
	7	12,3	12,8	2,28	
	8	24,0	6,5	1,10	

*ClCr: Clearance de creatinina (estimado por fórmula de Cockcroft-Gault); [ERT]: concentración de ertapenem.

11.3. FASE FARMACOCINÉTICA

11.3.1. Análisis Farmacocinético Individual

Los perfiles farmacocinéticos individuales de concentración total y libre de ertapenem en los pacientes seleccionados versus tiempo de muestreo se presentan en la Figura 12. Por otro lado, las curvas promedio de las concentraciones totales y libres de ertapenem (n=5) se presentan en las Figuras 13 y 14.

Los datos individuales tanto de concentración total como de concentración libre se ajustan al modelo de un compartimento, aunque otros autores también han ajustado los datos obtenidos por ellos a un modelo de dos compartimentos ^{47,62}.

Los parámetros farmacocinéticos promedio obtenidos (Tabla 32) difieren con los presentados por otros grupos de investigación ^{41, 42}. Particularmente, los pacientes seleccionados, presentaron en promedio un tiempo de vida media de eliminación más prolongado comparado con adultos mayores sanos (robustos) ⁴². De forma opuesta ocurre con el *clearance* de la concentración total, puesto que los resultados muestran una disminución de la depuración del fármaco desde el organismo ⁴². La diferencia es que los pacientes incluidos en este proyecto presentaban cambios fisiológicos que dan cuenta de un adulto mayor frágil (hipoalbuminemia, función renal deteriorada) y que contrastan con un adulto joven sano.

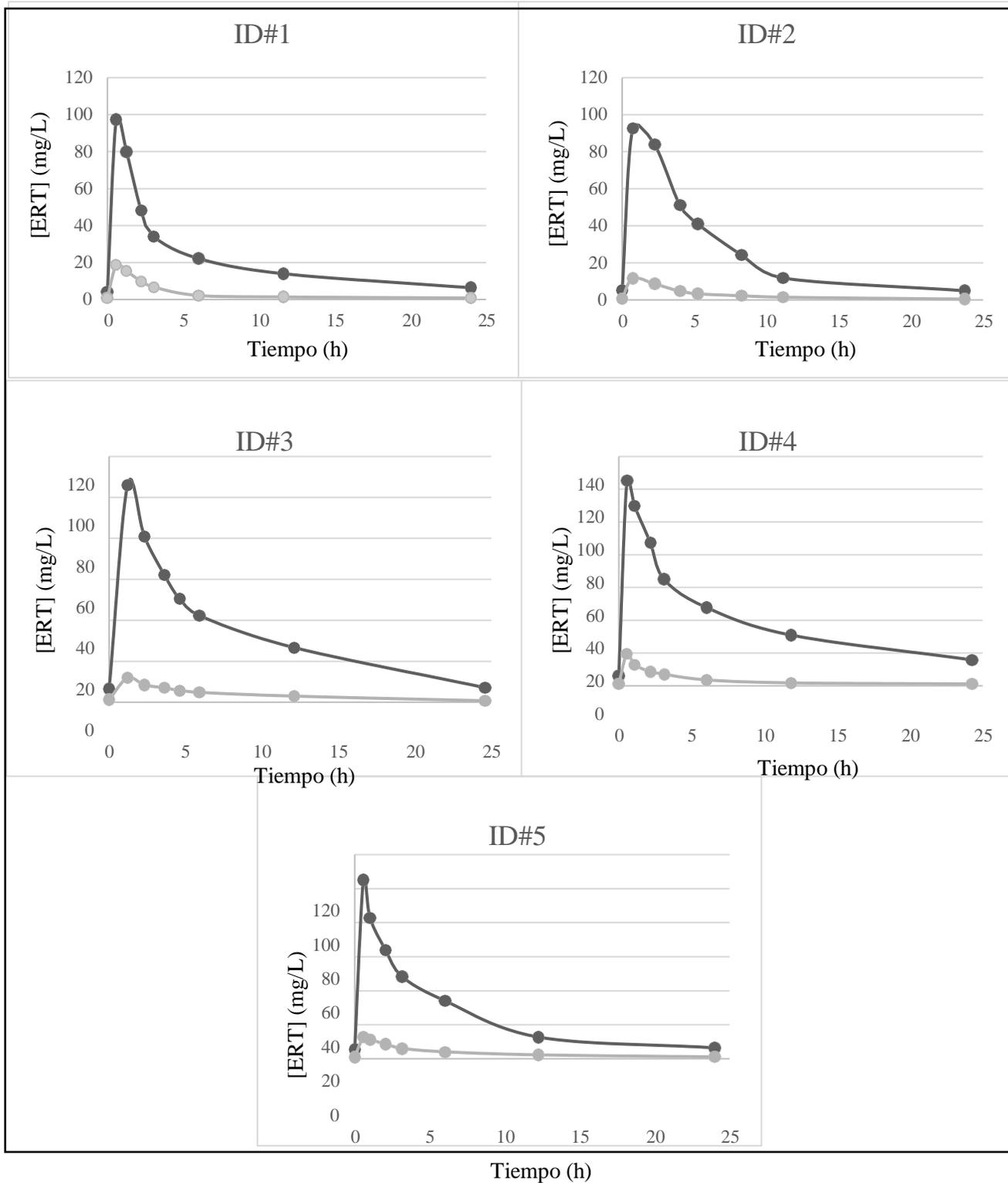
Tabla 31: Resumen de los parámetros farmacocinéticos promedio de los pacientes seleccionados.

Parámetros Farmacocinéticos	Concentración total	Concentración libre
	(+ DE)	(+ DE)
$K_{el} (h^{-1})$	$0,0844 \pm 0,0148$	$0,0779 \pm 0,0208$
$t_{1/2} (h)$	$9,2 \pm 1,6$	$9,6 \pm 2,5$

Vd (L)	14,2 ± 2,5	132,2 ± 30,4
Cl_{total} (L h⁻¹)	1,2 ± 0,4	10,3 ± 3,8
ABC_{24h} (mg L⁻¹ h)	690,1 ± 169,3	79,4 ± 9,1

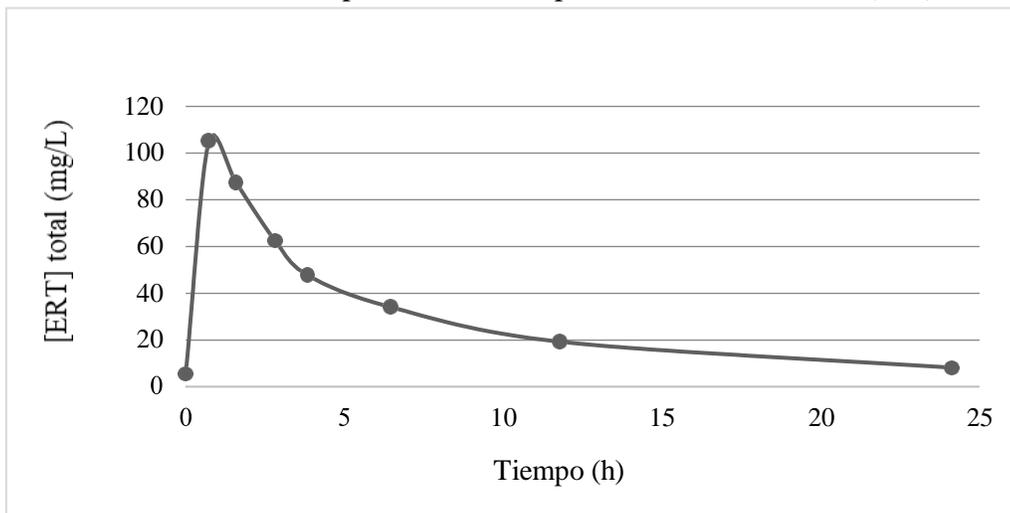
K_{el}: constante de velocidad de eliminación; t_{1/2}: tiempo de vida media de eliminación; Cl_{total}: clearance total; ABC_{24h}: área bajo la curva de la concentración plasmática versus tiempo de 0 a 24 horas; \bar{x} promedio; DE: desviación estándar.

Figura 12: Curvas de concentración total (mg/L) (color negro) y de concentración libre (mg/L) (color gris) de ertapenem versus tiempo (h) por paciente (n=5).



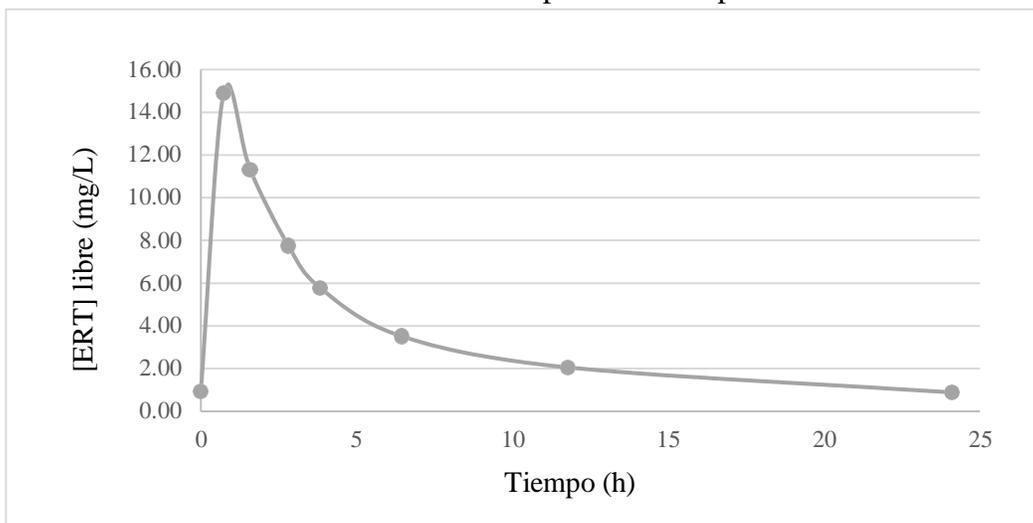
*[ERT]: concentración de ertapenem.

Figura 13: Perfil farmacocinético promedio en los pacientes seleccionados (n=5).



* [ERT]: concentración plasmática de ertapenem.

Figura 14: Curva de concentración libre de ertapenem en los pacientes seleccionados (n=5).



* [ERT]: concentración plasmática de ertapenem.

11.3.2. Evaluación del Cumplimiento del Índice PK/PD

Para estimar el grado de cumplimiento del índice PK/PD en los pacientes incluidos, los patógenos causantes de la infección tratada con ertapenem fueron identificados en un 100% (n=5) durante la hospitalización. Esto permitió obtener la CIM más alta disponible y publicada en el listado de susceptibilidad de EUCAST.

En relación con el cumplimiento promedio del índice PK/PD (Figura 15), el punto de corte epidemiológico promedio de la CIM obtenido desde EUCAST (ECOFF: 0,064 mg/L), fue superado por la concentración libre del antibiótico durante un tiempo mayor a 9,6 horas, a diferencia de lo que ocurrió con la CIM más extrema (4 y 16 mg/L). Esto indica una probabilidad aumentada de falla terapéutica en el contexto de microorganismos con mecanismos de resistencia tales como la generación de β -lactamasas de espectro extendido (*E. coli* BLEE) o aquellos microorganismos que son menos susceptibles al antibiótico (*E. cloacae*) (Tabla 33).

De hecho, la concentración libre de ertapenem en el paciente ID#1 decae antes de 9,6 horas, tiempo necesario para cumplir con el índice PK/PD de ertapenem en pacientes no críticos. Es pertinente mencionar que el paciente tenía antecedentes de enfermedad renal crónica, pero con una función renal estimada normal (ClCr > 30 mL/min) y presentaba hipoalbuminemia severa (< 2,5 g/dL), factor que estaría implicado en que el fármaco incremente su fracción libre, sea eliminado más rápidamente del organismo y que el antibiótico no logre cumplir adecuadamente el índice PK/PD ⁶³.

Por otro lado, es relevante mencionar que la fracción libre de ertapenem es capaz de permear en mayor proporción hacia el sistema nervioso central que la fracción unida a albúmina, situación que podría estar implicada en el desarrollo de la reacción adversa en el mismo paciente (ID#1) ⁶⁴. De este modo, pueden identificarse variables clínicas que podrían estar implicadas en el incumplimiento potencial del índice PK/PD.

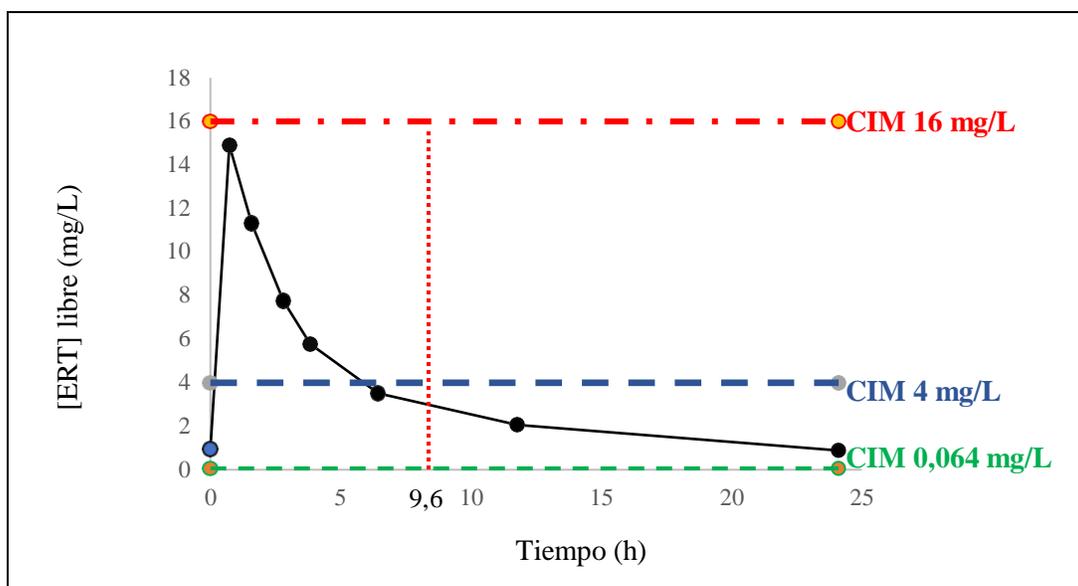
Tabla 32: Puntos de corte para concentración inhibitoria mínima de los microorganismos identificados en los pacientes incluidos en el estudio.

Paciente	Microorganismo identificado	Foco infeccioso tratado	ECOFF (mg/L)	CIM extrema (mg/L)
ID#1	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Urinario	0,064	4
ID#2	<i>Enterobacter cloacae</i>	Urinario	0,064	16
ID#3	<i>Escherichia coli</i> BLEE (+)	Respiratorio	0,064	16
ID#4	<i>Escherichia coli</i>	Urinario	0,064	16
ID#5	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Urinario	0,064	4

*BLEE: beta-lactamasa de espectro extendido; ECOFF: *epidemiological cut-off values*; CIM: concentración inhibitoria mínima.

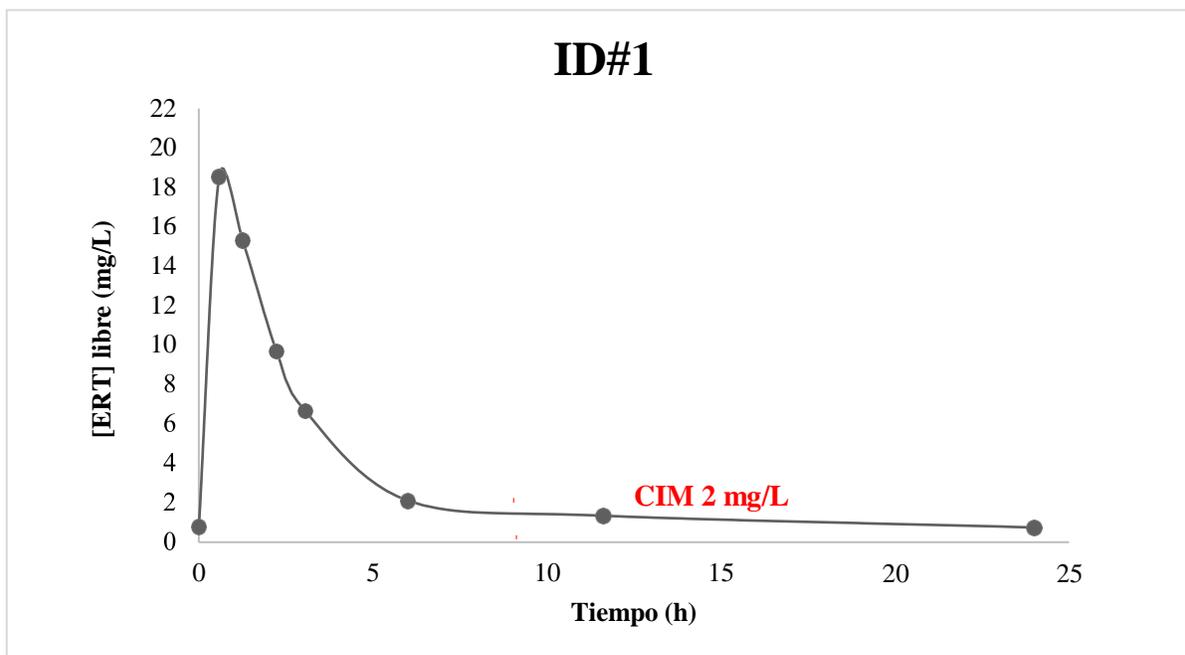
Por otro lado, hubo solo un paciente (ID#1) que no cumplió con el índice PK/PD para una CIM de 2 mg/L (figura 16).

Figura 15: Curva de concentración libre promedio de ertapenem versus tiempo de los pacientes seleccionados.



*[ERT]: concentración de ertapenem; CIM: concentración inhibitoria mínima

Figura 16: Curva de concentración libre promedio de ertapenem versus tiempo del paciente ID#1.



*[ERT]: concentración de ertapenem; CIM: concentración inhibitoria mínima.

11.3.3. Análisis Farmacocinético Poblacional

Los datos de concentración libre de ertapenem versus tiempo fueron considerados como una observación, generando un $n=40$, con el que se realizó análisis farmacocinético poblacional de forma secuencial, es decir, que los parámetros farmacocinéticos fueron estimados inicialmente utilizando los resultados obtenidos en la fase de análisis individual

⁶⁵. Las observaciones fueron evaluadas para construir un modelo poblacional que pudiera describir el comportamiento de ertapenem en adultos mayores hospitalizados.

11.3.3.1. Diseño del modelo farmacocinético poblacional

Modelo estructural

Dos diferentes modelos estructurales (uno y dos compartimentos, modelo de farmacocinética lineal con infusión IV de 30 minutos) fueron ajustados a los datos de

concentración versus tiempo de ertapenem (Figura 17). Los resultados obtenidos basados en los criterios de selección dan cuenta que los datos analizados se ajustaron de mejor forma a un modelo de un compartimento (Tabla 34). Otros grupos que han investigado sobre ertapenem, han ajustado previamente los resultados de concentración plasmática versus tiempo tanto a modelos de un compartimento como a dos o más compartimentos ^{46, 60, 61}, utilizando también diferentes matrices biológicas para cuantificar ertapenem (líquido cefalorraquídeo, suero/plasma, tejido muscular dializado, orina) ⁶⁰.

Figura 17: Curvas luego del ajuste de mínimos cuadrados no lineales.

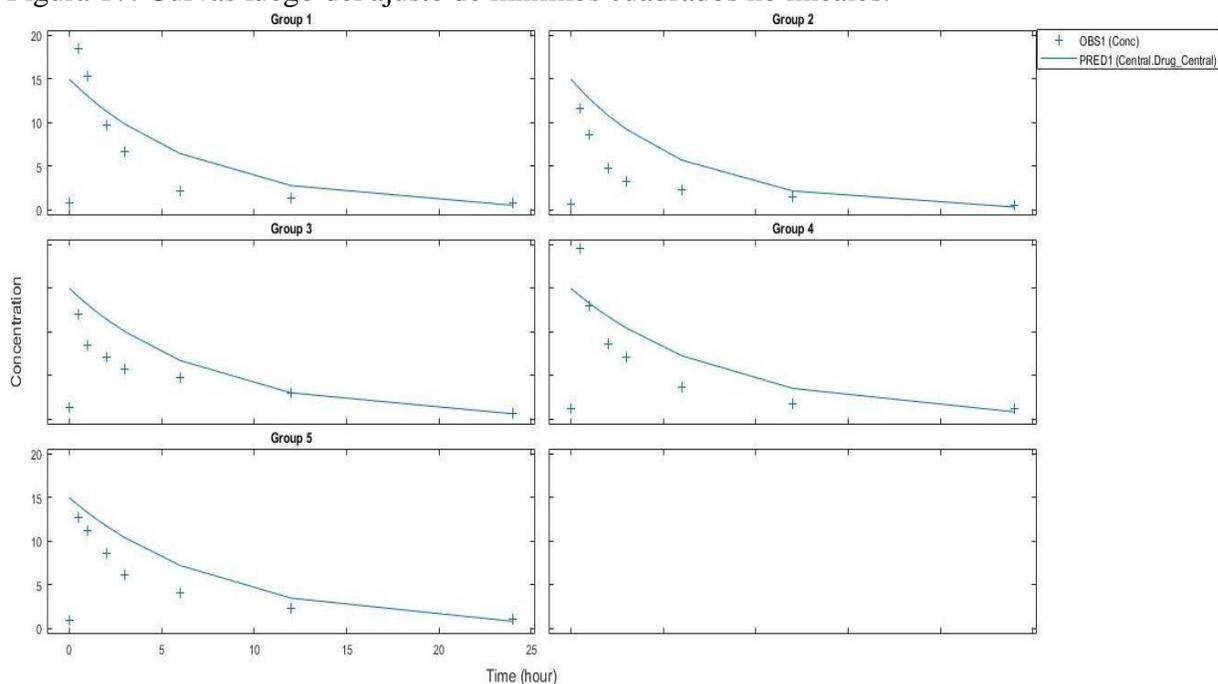


Tabla 33: Selección del modelo estructural para la construcción del modelo poblacional.

Modelo estructural	AIC	BIC
Un compartimento	264.73	290.06
Dos compartimentos	275.75	301.01

AIC: Akaike Information Criteria; BIC: Bayes Information Criteria.

Luego, incorporando la elección del modelo de un compartimento basada en el análisis de los criterios de selección (AIC y BIC) y asumiendo que la concentración libre de ertapenem versus tiempo tiene un perfil de decaimiento monoexponencial ($C_t = C_0 * e^{-k_{el} * t}$), donde C_t

es la concentración de ertapenem a tiempo “t”, C_0 es la concentración inicial, k_{el} es la constante de velocidad de eliminación que depende del volumen y *clearance* ($k_{el} = Cl/V$), las características del modelo son las siguientes:

- Un compartimento con administración por infusión intermitente (orden cero) y eliminación de primer orden.
- Volumen de distribución medio (Central) = 132,2 L
- *Clearance* promedio (Cl_Central) = 10,3 L/h
- Modelo de error: constante (por defecto)

De este modo, la variabilidad interindividual fue analizada con modelo de error constante, asumiendo una distribución logarítmica para volumen de distribución y *clearance*, a través del modelo compartimental obtenido (un compartimento), concluyendo que la variabilidad interindividual es debida a ambos parámetros farmacocinéticos.

Modelo de error

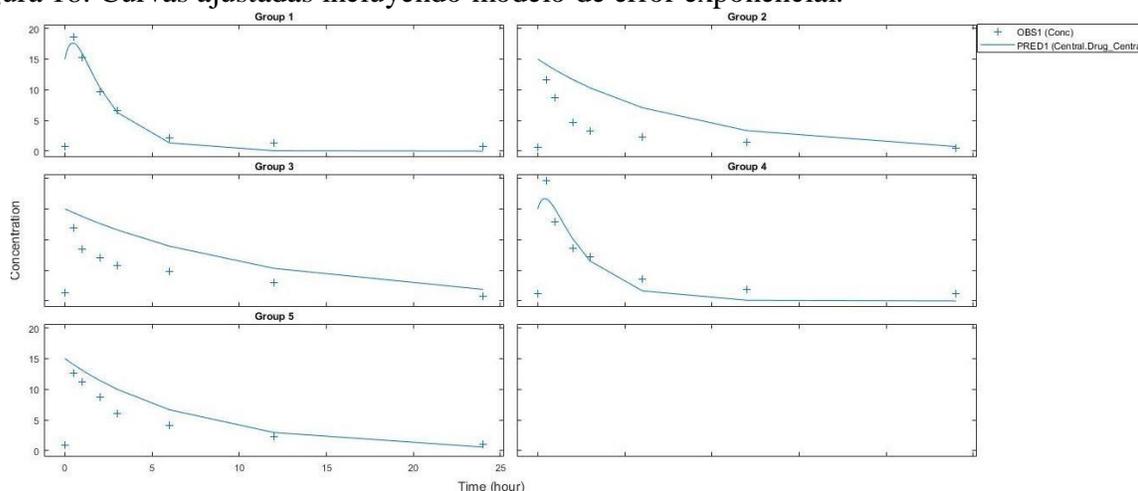
Para poder establecer la variabilidad residual, fueron probados 4 modelos de error disponibles, evaluando los criterios de información (AIC, BIC, RMSE). Los resultados fueron resumidos en la Tabla 35. El modelo de error que se ajustó mejor a los datos experimentales fue el exponencial (Figura 18).

Tabla 34: Resultados de la evaluación del modelo de error en el modelo poblacional.

Tipo de error	AIC	BIC	RMSE
Constante	264.73	290.06	6.52
Proporcional	274.76	301.01	5.91
Combinado	275.64	290.09	5.27
Exponencial	151.18	176.51	2.26

AIC: Akaike Information Criteria; BIC: Bayes Information Criteria; RMSE: Root Mean Square Error.

Figura 18: Curvas ajustadas incluyendo modelo de error exponencial.



Modelo de covariables

Una vez obtenido el modelo de error e incluido al modelo estructural, una serie de covariables fueron probadas para poder establecer cuál parámetro lograba reducir AIC, BIC y RMSE. Para ello, fue utilizado el promedio de cada parámetro (V_d y Cl) (Figura 19 y 20, respectivamente) obtenido junto a las covariables consideradas para el análisis (edad, peso total, peso libre de grasa, *clearance* de creatinina, creatinina sérica, albúmina plasmática, índice de Charlson ajustado por edad).

Debido a que la covariable sexo es una variable categórica, la aplicación Simbiology, basada en el software estadístico R®, utiliza el gráfico de caja y bigote para estimar una posible variación significativa sobre el parámetro farmacocinético a evaluar. Cuando el valor está centrado sobre el promedio del parámetro en ambas cajas (hombres y mujeres), se descarta la variación e influencia sobre el modelo. Al contrario, cuando ambas cajas (hombres y mujeres) toman valores promedio diferentes (parámetro farmacocinético), es más probable que la covariable categórica influya en el modelo y tenga que ser probado posteriormente a través de los criterios de selección (AIC, BIC y RSME) ^{66,67}.

Figura 19: Selección de posibles covariables para clearance (CI).

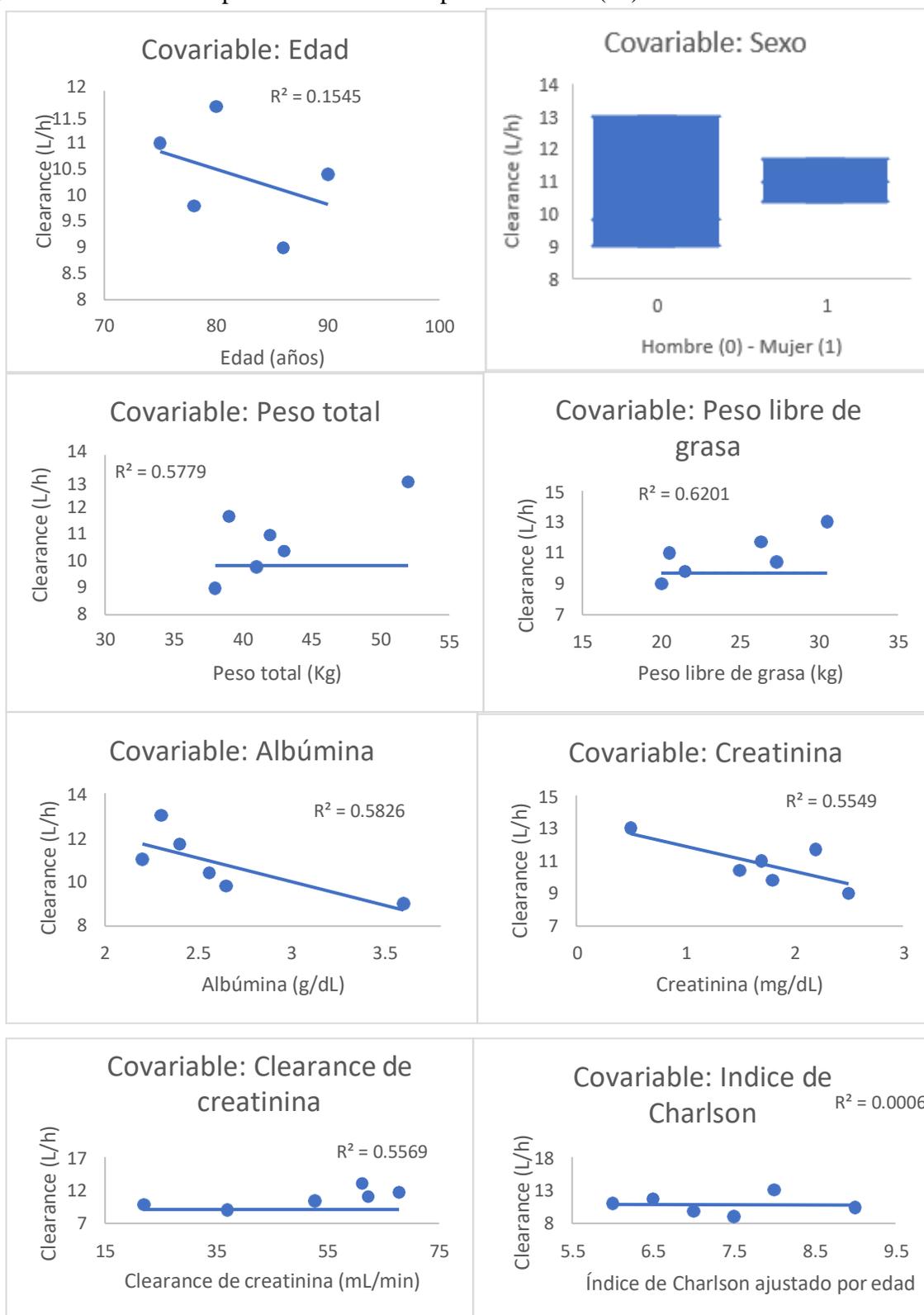
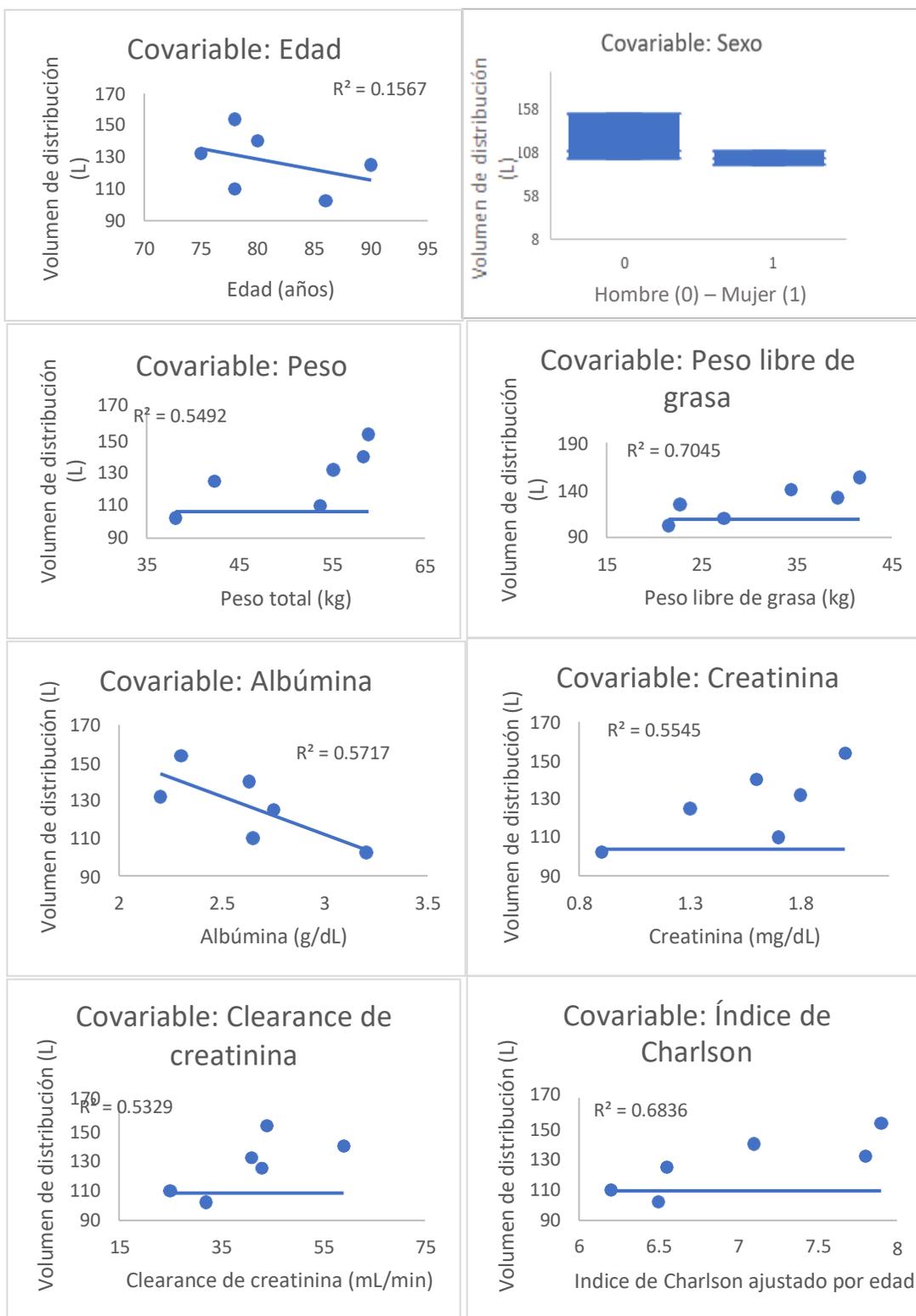


Figura 20: Selección de posibles covariables para volumen de distribución (Vd).



Luego de que los gráficos de bondad de ajuste de parámetros versus covariables fuesen esbozados e inspeccionados con el fin de probar su influencia en el modelo poblacional final, aquellos que tuvieron un $R^2 \geq 0,6$ (valor que podría dar cuenta de adecuada correlación entre parámetros farmacocinéticos y covariables) para *clearance* fue peso libre de grasa y para volumen de distribución fueron sexo, peso libre de grasa e índice de Charlson ajustado por edad ⁶⁶.

Posteriormente, al evaluar la incorporación de las covariables preseleccionadas con una adecuada relación con los parámetros mediante la inspección de gráficos de bondad de ajuste, para probar a través de los criterios de información los resultados obtenidos (Tabla 36 y 37). De este modo, un cambio de dos unidades en el valor de AIC o BIC se consideró como valor umbral para elegir la selección de la covariable y la disminución del parámetro RMSE para indicar mejor ajuste al modelo ^{48, 68, 69, 70}.

De las covariables preseleccionadas, solo fue considerada en el modelo final el peso libre de grasa para *clearance* y volumen de distribución, descartando el efecto de la incorporación del sexo e índice de Charlson ajustado por edad para este último parámetro (Figura 21).

Tabla 35: Resultados de la prueba de posibles covariables para *clearance* para el modelo poblacional final.

Covariable	AIC	BIC	RMSE
tSEX	152,82	177,27	2,64
tEdad	151,56	176,83	2,05
tPT	150,82	178,90	2,22
tPLG	147,93	173,25	1,25
tSCr	150,12	175,95	2,23
tClCr	149,84	175,32	2,19
tALB	150,23	175,73	2,01
tCACI	151,28	177,01	1,98

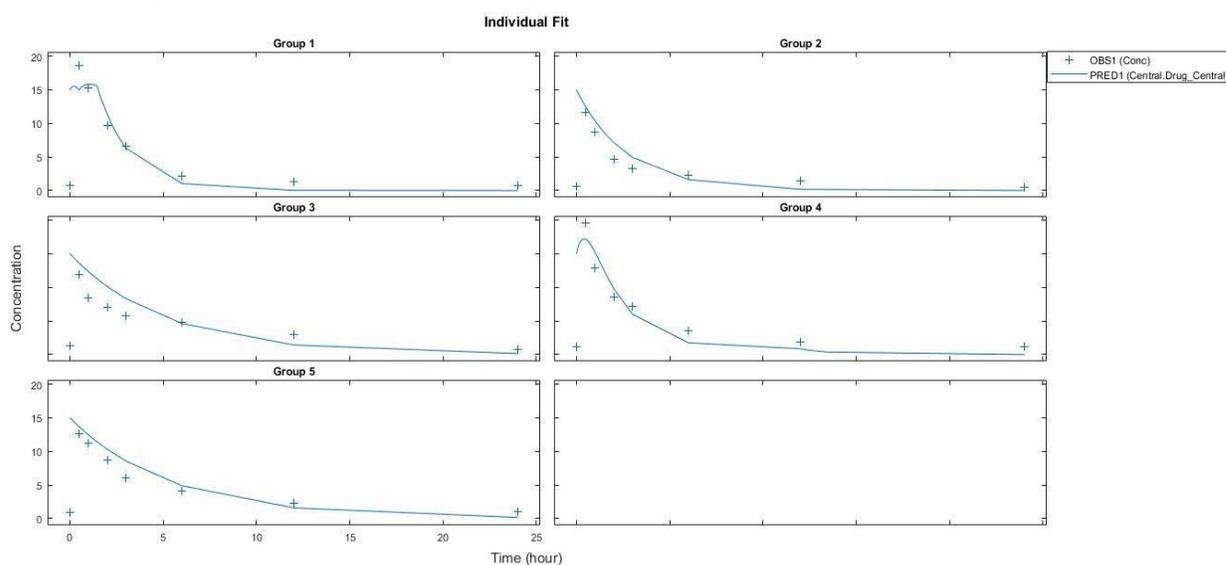
AIC: Akaike Information Criteria; BIC: Bayes Information Criteria; RMSE: Root Mean Square Error.

Tabla 36: Resultados de la prueba de posibles covariables para volumen de distribución para el modelo poblacional final.

Covariable	AIC	BIC	RMSE
tSEX	149,72	175,56	2,24
tEdad	151,12	175,25	2,32
tPT	150,49	174,64	2,01
tPLG	147,93	173,25	1,18
tSCr	151,01	175,88	2,28
tClCr	150,86	175,06	2,12
tALB	150,23	174,67	2,45
tCACI	149,92	174,65	2,03

AIC: Akaike Information Criteria; BIC: Bayes Information Criteria; RMSE: Root Mean Square Error.

Figura 21: Curvas de concentración libre de ertapenem versus tiempo ajustadas incluyendo covariables para volumen de distribución y clearance.



Una vez que se llevó a cabo la incorporación de las covariables, solo peso libre de grasa mantuvo una relación que pudo explicar tanto *clearance* como volumen de distribución para la concentración libre de ertapenem en los pacientes seleccionados. De este modo, la media de la covariable peso libre de grasa (PLG: 37,5 kg) obtenido en la fase clínica del estudio fue utilizada para expresar *clearance* (ecuación 18) y volumen de distribución (ecuación 19):

$$Cl = e^{(\theta_1 + \theta_2 * PLG)} \text{ (ecuación 18)}$$

$$Vd = e^{(\theta_3 + \theta_4 * PLG)} \text{ (ecuación 19)}$$

Donde,

θ_1 : Parámetro poblacional de efectos fijos para Cl.

θ_2 : Parámetro poblacional de efectos fijos para Vd.

θ_3 : Parámetro poblacional de efectos fijos para peso libre de grasa sobre Cl.

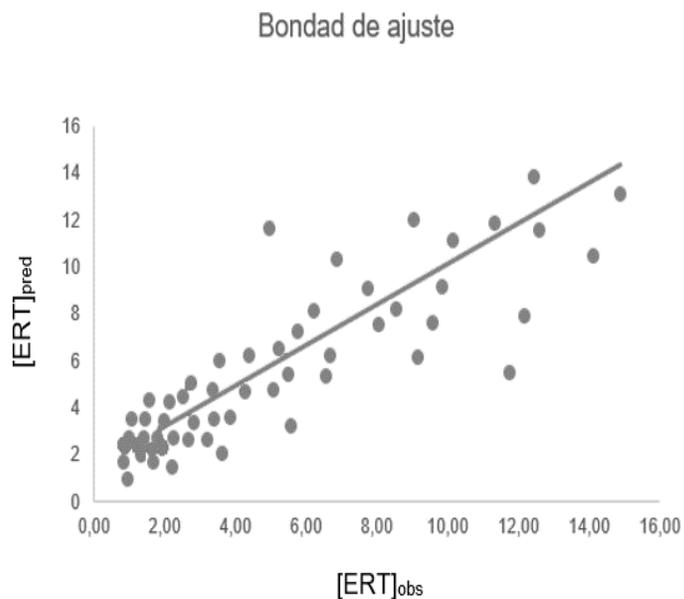
θ_4 : Parámetro poblacional de efectos fijos para peso libre de grasa sobre Vd.

En suma, las concentraciones observadas en los pacientes seleccionados pueden ser expresadas a través del peso libre de grasa tanto para *clearance* como para volumen de distribución.

11.3.3.2. Evaluación del Modelo

La capacidad del modelo para predecir los datos observados fue evaluada mediante inspección visual de gráficos de bondad de ajuste. Una adecuada correlación fue observada a través de los gráficos de bondad de ajuste (Figura 22) entre la concentración libre poblacional de ertapenem predichas por el modelo y las observadas ($R^2 = 0,85$), y de las predicciones individuales llevadas a cabo utilizando el modelo ($R^2 = 0,91$), dan cuenta de que el modelo es aceptable.

Figura 22: Gráfico de bondad de ajuste de la concentración de ertapenem libre predicha versus observada.



$[ERT]_{pred}$: concentración libre de ertapenem predicha por el modelo poblacional; $[ERT]_{obs}$: concentración libre de ertapenem observada.

Una vez obtenidos los parámetros farmacocinéticos poblacionales (Tabla 38), la incertidumbre fue evaluada para predecir dichos parámetros (Cl, Vd) mediante el método - SAEM, realizando 1000 iteraciones con un intervalo de confianza del 95%. Los resultados obtenidos luego de la aplicación del método SAEM fueron resumidos en la Tabla 38.

Tabla 37: Estimados finales de los parámetros farmacocinéticos poblacionales obtenidos por modelado no lineal de efectos mixtos con aproximación estocástica.

Parámetro	Estimado	[Intervalo de confianza 95%]
Cl (L/h)	10,5	[9,2 – 11,7]
Vd (L)	121,3	[104,3 – 135,7]
θ_1	2,08	[1,13 – 2,85]
θ_2	0,007	[0,003 – 0,236]
θ_3	4,69	[3,785 – 5,201]
θ_4	0,003	[-0,004 – 0,003]

$\omega_{Cl}(\%)$	6,4	[1,9 – 8,9]
$\omega_{Vd}(\%)$	11,9	[7,1 - 20,6]
$\sigma_e(\%)$	8,6	[5,5 – 10,2]

Cl: *Clearance*; Vd: Volumen de distribución; θ_1 : efecto fijo 1 (*clearance*); θ_2 : Efecto fijo 2 (volumen de distribución); ω_{Cl} : varianza de distribución aleatoria para *clearance*; ω_{Vd} : Varianza de distribución aleatoria para volumen de distribución; σ_e : Varianza de distribución del error residual; %: expresado como coeficiente de variación.

Después de realizada la etapa de evaluación del modelo, fueron utilizadas las ecuaciones de vida media y área bajo la curva, para obtener más información de las características poblacionales de ertapenem:

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{0,693 \times Vd}{Cl} = \frac{0,693 \times 121,3}{10,5} = 7,9 \text{ horas}$$

Este valor de vida media de eliminación es varias veces el reportado por la literatura y podría dar cuenta de una acumulación del fármaco por una disminución de la velocidad de filtración glomerular debido al envejecimiento ⁷¹. Sin embargo, *clearance* de creatinina no fue hallado como covariable en el modelo presente. Más aun, este resultado difiere con el obtenido en el análisis farmacocinético individual, aunque está dentro del intervalo de variación promedio de la vida media obtenido ($9,2 \pm 1,6$ horas).

La larga vida media puede reflejar el grado de unión a proteínas plasmáticas, en particular, a albúmina. No obstante, la albúmina plasmática no fue detectada como covariable del modelo, probablemente porque los pacientes de la muestra tenían, en promedio, hipoalbuminemia leve (3,4 – 3,0 g/dL), considerando que un cambio significativo en el perfil farmacocinético podría ocurrir con mayor probabilidad en pacientes con hipoalbuminemia moderada (2,9 – 2,5 g/dL) a severa (< 2,5 g/dL) ⁷².

Por otro lado, para el área bajo la curva de la concentración libre versus tiempo para ertapenem, fue la siguiente:

$$ABC = \frac{dosis}{Cl} = \frac{1000 \text{ mg}}{10,5 \text{ L/h}} = 95,2 \text{ mg/L/h}$$

En ese sentido, al igual que todos los fármacos con excreción predominantemente renal, el ABC puede alterarse con la ERC, incrementándose varias veces, dependiendo del nivel de deterioro de la función renal. Aunque, la mayoría de los pacientes tenían hipoalbuminemia, el ABC es casi el doble del reportado en adultos mayores sanos (95,2 versus 52,4 mg/h/L) ^{41, 66}, a pesar de que solo un paciente tenía enfermedad renal diagnosticada.

Este tipo de hallazgo clínico sostiene la base del análisis de la concentración libre para antibióticos tiempo dependientes con muy alta unión a albúmina, como es ertapenem. De hecho, se ha descrito que para fármacos con porcentaje de unión a albúmina mayor a 90%, la concentración libre puede incrementarse significativamente, teniendo consecuencias clínicamente relevantes cuando la unión a proteínas cambia, lo que en el caso de ertapenem podría estar relacionado a falla terapéutica e incumplimiento del índice PK/PD ⁷³.

11.3.4. Simulación Farmacocinética de la Dosis

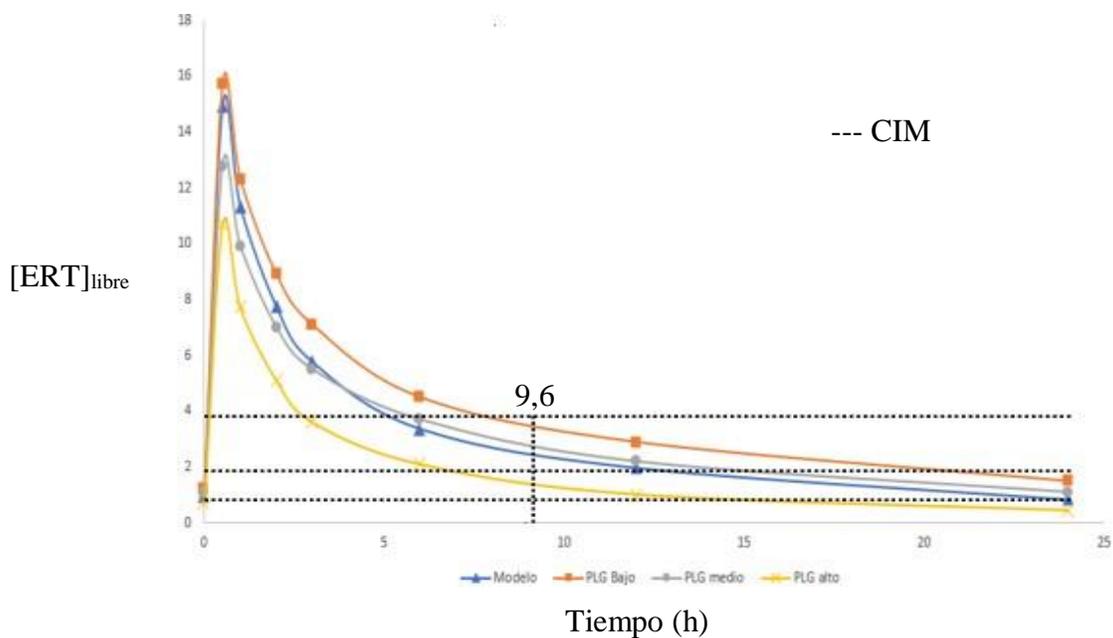
El escenario de simulación en la presente investigación está enmarcado en el conocimiento y optimización del índice PK/PD, de modo que, las condiciones simuladas tienen relación con las modificaciones que podrían alterar significativamente los resultados para obtener un adecuado efecto bactericida, considerando e incluyendo la covariable identificada en el modelo poblacional.

Tomando en cuenta que ertapenem es un antibiótico hidrofílico y tiempo dependiente, la modificación de la frecuencia de administración del antibiótico puede interferir en el cumplimiento del índice PK/PD. Por lo tanto, una herramienta que puede permitir evaluar estos posibles escenarios y dar respuesta a ellos es la confección de gráficos de concentraciones simuladas versus tiempo. Además, conceptualmente es un antibiótico tiempo-dependiente, por lo tanto, no debería modificarse su frecuencia de administración como estrategia de simulación.

De este modo, para pacientes con peso promedio de 70 kg, fueron identificadas modificaciones y se utilizaron como variantes del modelo: dosis fija de 1000 mg y variación a 500 mg (por ABC aumentada poblacionalmente), covariable peso libre de grasa (20, 30 y 40 kg) y CIM del patógeno (1,0; 2,0 y 4,0 mg/L).

Los gráficos simulados de concentración libre versus tiempo fueron utilizados para estimar el grado de cumplimiento del índice PK/PD (la concentración libre de ertapenem debe permanecer al menos un 40% del tiempo del intervalo de administración sobre la concentración inhibitoria mínima) para diferentes puntos de corte de CIM clínicamente relevantes.

Figura 23: Simulación de dosis de ertapenem 1000 mg para pacientes con peso libre de grasa bajo, medio y alto y CIM de 1, 2 y 4 mg/L.



Una vez realizadas las simulaciones, luego de administrar una dosis de 1000 mg de ertapenem con un patógeno de CIM 1 mg/L, todos los pacientes con las características poblacionales del estudio cumplirían el índice PK/PD, es decir, la concentración libre de ertapenem superaría a la CIM del patógeno luego de las 9,6 horas de administrado el tratamiento. Sin embargo, el escenario cambiaría significativamente cuando el patógeno

alcanza una CIM de 2 mg/L, donde aquellos pacientes que tienen un alto peso libre de grasa podrían ser más propensos a fallar terapéuticamente ⁷⁴.

Esto podría ocurrir en presencia de patologías donde el volumen extracelular se expande, como en la insuficiencia cardíaca congestiva o en pacientes con daño hepático crónico con ascitis ¹⁴. Es por esto que, según los datos obtenidos luego de la simulación, no sería recomendable utilizar ertapenem 1000 mg/día en pacientes que cursan infecciones cuya CIM ≥ 4 mg/L, debido a que es muy probable que ninguno de ellos cumpla con el índice PK/PD, incluso, en pacientes con peso libre de grasa bajo el promedio (Figura 23).

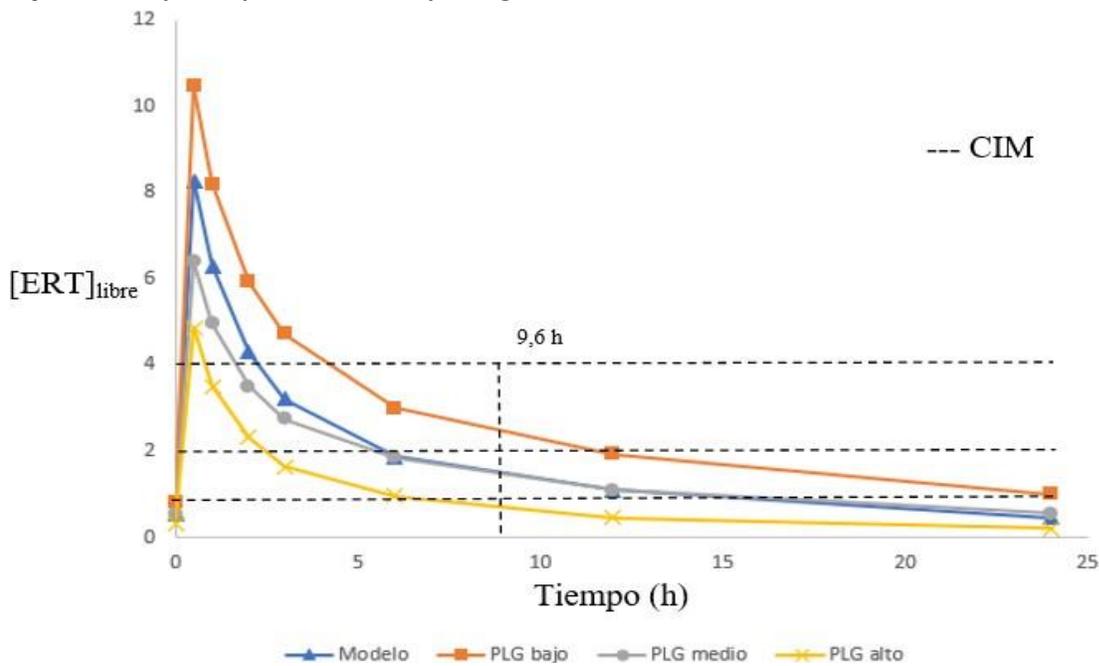
Es necesario mencionar que para patógenos con CIM de 1 mg/L, la mayoría de los pacientes (excepto aquellos con peso libre de grasa alto) cumplirían con un 100% del índice PK/PD, lo que podría tener potencial en disminuir la tasa de resistencia a carbapenémico ^{30,75}.

En el contexto de los hallazgos de los parámetros farmacocinéticos poblacionales obtenidos, se realizó simulación con una dosis de 500 mg, la que corresponde al 50% de la dosis aprobada por la FDA para tratar infecciones y que se ajuste de este modo en pacientes con $\text{ClCr} < 30$ mL/min ³⁰ (Figura 24). Esta variante fue considerada debido a que el ABC calculado con los estimados poblacionales obtenidos es casi el doble del reportado en la literatura para adultos mayores ⁴¹. Los resultados obtenidos dan cuenta de los siguientes escenarios de falla terapéutica:

- Para pacientes con peso libre de grasa alto y patógenos con una CIM ≥ 1 mg/L.
- Para microorganismos con una CIM ≥ 2 mg/L en pacientes con peso libre de grasa normal y alto.
- Para pacientes con patógenos con una CIM ≥ 4 mg/L, independiente del peso libre de grasa.

Por lo tanto, no sería recomendable realizar esta modificación de la dosis en pacientes con peso libre de grasa normal o alto o en presencia de patógenos más resistentes. Podría ser de utilidad reducir la dosis en pacientes con sarcopenia (peso libre de grasa bajo), porque la estimación de la función renal a través de la creatinina depende del metabolismo muscular y podría ser sobreestimada (tanto por $ClCr$ como por VFG) ⁷⁶.

Figura 24: Simulación de dosis de ertapenem 500 mg para pacientes con peso libre de grasa bajo, medio y alto y CIM de 1, 2 y 4 mg/L.



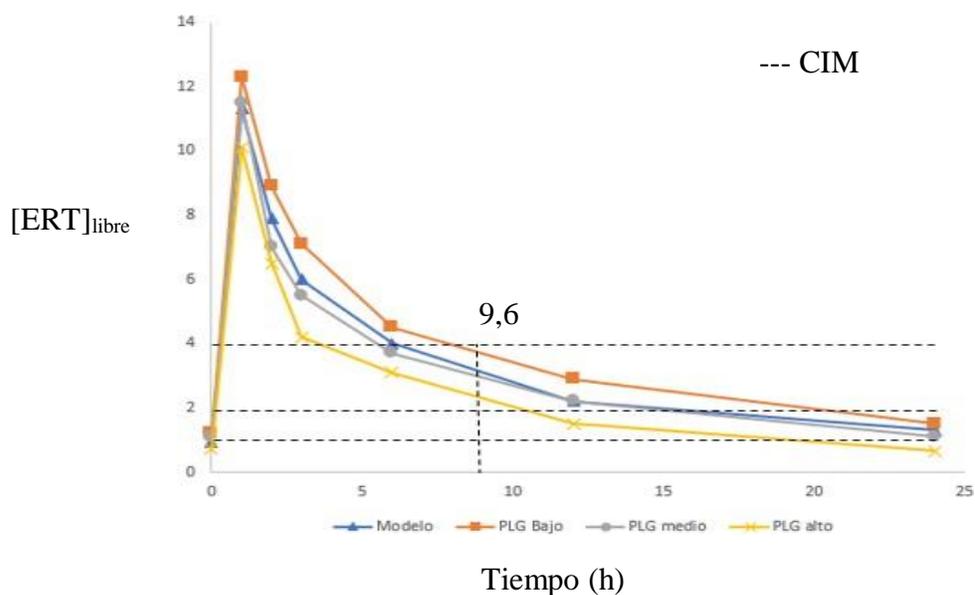
Cambio en la velocidad de infusión intermitente

Posteriormente, analizando los resultados obtenidos luego de la simulación con 500 y 1000 mg, parece pertinente plantear que ocurriría si la infusión intermitente de 1 g fuese de 1 hora en vez de 30 minutos y que pasaría con el cumplimiento del índice PK/PD en este contexto. Hay que considerar que los esquemas de dosificación de antibióticos tiempo- dependientes además deberían cumplir que la concentración máxima alcanzada sea 4 a 5 veces la CIM del patógeno para mantener el efecto bactericida ⁷⁷.

En este nuevo escenario, modificando la velocidad de infusión de 0,5 a 1 hora, pero manteniendo una dosis de 1000 mg de ertapenem, con un patógeno de CIM 2 mg/L, todos los pacientes con las características poblacionales del estudio cumplirían el índice PK/PD, es decir, la concentración libre de ertapenem superaría a la CIM del patógeno luego de las 9,6 horas de administrado el tratamiento. Sin embargo, el escenario cambiaría cuando el patógeno alcanza una CIM ≥ 4 mg/L, considerando que además tampoco se cumpliría la condición de que la concentración máxima sea 4 a 5 veces la CIM (Figura 25).

Por lo tanto, no sería recomendable utilizar ertapenem 1000 mg/día en pacientes que cursan infecciones cuya CIM ≥ 4 mg/L, debido a que es muy probable que ninguno de ellos cumpla con el índice PK/PD ni con la concentración máxima requerida, aumentando la probabilidad de resistencia intra-tratamiento ⁷⁸.

Figura 25: Simulación de dosis fija y velocidad de infusión modificada de 1 hora de ertapenem para pacientes con peso libre de grasa bajo, medio y alto y CIM de 1, 2 y 4 mg/L.



No obstante, para un régimen de ertapenem 1000 mg, de infusión intermitente de 1 hora y en presencia de patógenos con CIM ≥ 2 mg/L, no se cumpliría un 100% del índice PK/PD

para ninguna condición simulada. Por lo tanto, esta modificación de la velocidad de infusión no sería recomendada para evitar resistencia intra-tratamiento, pero si para lograr $\geq 40\%$ del índice PK/PD cuando se sospeche de un microorganismo con una CIM ≤ 2 mg/L, independiente del peso libre de grasa del paciente.

Esto contrasta con el esquema habitual de infusión intravenosa intermitente de 30 minutos, donde solo se cumple en el supuesto de un patógeno con una CIM ≤ 1 mg/L.

Por otro lado, una de las mayores limitaciones del estudio fue la dificultad de reclutar pacientes, lo que influyó en que se obtuviera un pequeño tamaño de muestra. De todos modos, se obtuvieron 40 observaciones, lo que es una experiencia que podría brindar información clínica para siguientes estudios de esta línea de investigación.

Finalmente, el presente trabajo es el primero que desarrolla un modelo farmacocinético poblacional de ertapenem en adultos mayores hospitalizados en unidades no críticas, identificando una covariable como el peso libre de grasa, pudiendo dar cuenta de que los cambios fisiológicos del envejecimiento podrían afectar el logro de un adecuado índice PK/PD en población geriátrica frágil.

De este modo, pueden desarrollarse programas de monitorización terapéutica de antibióticos β -lactámicos, utilizando el índice PK/PD para optimizar la terapia y lograr reducir la tasa de resistencia a los antimicrobianos.

12. CONCLUSIONES

El presente estudio demostró que la concentración libre de ertapenem en adultos mayores hospitalizados en unidades no críticas podría verse afectada por cambios fisiológicos del envejecimiento.

Respecto del análisis farmacocinético poblacional, tanto *clearance* como volumen de distribución mostraron tener dependencia con el peso libre de grasa como única covariable identificada en el modelo poblacional desarrollado.

La variabilidad interindividual para *clearance* y para volumen de distribución fue de 6,4% y 11,6% respectivamente. La variabilidad residual (8,6%) de las concentraciones libres de ertapenem en los pacientes para una dosis de 1000 mg, da cuenta de la necesidad de realizar monitorización terapéutica debido a que, dependiendo de la CIM del patógeno y del peso libre de grasa del paciente, podría ocurrir incumplimiento del índice PK/PD, en las condiciones observadas.

Para patógenos con CIM de 1 mg/L, con el esquema habitual con velocidad de infusión de 30 minutos y 1000 mg de ertapenem, los pacientes cumplirían un 100% del índice PK/PD, lo que podría tener potencial en disminuir las tasas de resistencia a carbapenémicos, a excepción de aquellos con peso libre de grasa alto.

Modificando la velocidad de infusión intermitente a 1 hora, podría lograrse un 40% del índice PK/PD cuando se sospeche de un microorganismo con una $CIM \leq 2$ mg/L, independiente del peso libre de grasa del paciente en población geriátrica.

La falta de caracterización clínica y farmacocinética en geriatría es la base para desarrollar programas de monitorización terapéutica que permitan dar cumplimiento a las metas propuestas por el equipo de salud que atiende a personas mayores, con conductas más individualizadas, principalmente en la dosificación de antibióticos.

13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ Mariño E., Fernández C., Modamio P. Desarrollo y tendencias recientes en farmacocinética clínica. *Farmacia Hospitalaria*. 1998; 23: 197 – 204.
- ² Wright D., Winter H., Duffull S. Understanding the time course of pharmacological effect: a PKPD approach. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2011; 71: 815 – 823.
- ³ Gustafson D., Bradshaw-Pierce E. Fundamental Concepts in Clinical Pharmacology, en: HIDALGO A, (Eds). *Principles of Anticancer Drug Development*. 2011; 37 – 62.
- ⁴ DiPiro J et al. *Concepts in Clinical Pharmacokinetics*, 5ª Edición, 2005; 1-73.
- ⁵ Jones H., Rowland Y. Basic Concepts in Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling in Drug Discovery and Development. *Pharmacometrics and Systems Pharmacology*. 2013; 2: 1 – 12.
- ⁶ Turnheim K. When drug therapy gets old: pharmacokinetics and pharmacodynamics in the elderly. *Experimental Gerontology*. 2003; 38(8): 843 – 853.
- ⁷ Sun H., Fadiran E., Jones C., et al. Population Pharmacokinetic: A Regulatory Perspective. *Clinical Pharmacokinetics*. 1999; 37: 41 – 58.
- ⁸ Calvo M., Benítez A. Papel de los modelos farmacocinéticos de población. Revisión de métodos. *Química Clínica*. 2004; 23(6): 417 – 422.
- ⁹ Cohen J. Human Population: The Next Half Century. *Science*. 2003; 302: 1172 – 1175.
- ¹⁰ Etman A., Burdorf A., Van der Cammen T., et al. Socio-demographic determinants of worsening in frailty among community-dwelling older people in 11 European countries. *Journal of Epidemiology and Community health*. 2012; 66(12): 1116 – 1121.
- ¹¹ McLean A., Le Couteur D. Aging biology and geriatric clinical pharmacology. *Pharmacological Reviews*. 2004; 56: 163-184.
- ¹² Mangoni A., Jackson S. Age-related changes in pharmacokinetics and pharmacodynamics: basic principles and practical applications. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2003; 57(1): 6 – 14.
- ¹³ Burl R., Kaysen G. Serum Albumin: relationship to inflammation and nutrition. *Seminars in Dialysis*. 17(6): 2004; 432 – 437.
- ¹⁴ Vrhovac B., Sarapa N., Bakran I., et al. Pharmacokinetic Changes in Patients With Oedema. *Clinical Pharmacokinetics*. 1995; 28(5): 405 – 418.
- ¹⁵ Esper A., Moss M., Lewis C., et al. The role of infection and comorbidity: Factors that influence disparities in sepsis. *Critical Care Medicine*. 2006; 34(10): 2576 – 2582.
- ¹⁶ Torres B., Núñez E., Pérez D., et al. Barthel and Charlson indexes for the prognosis of mortality and institutionalization in hospitalized geriatric patients. *Revista Española de Geriatria y Gerontología*. 2009; 44(4): 209 – 212.
- ¹⁷ Rodríguez M.; Ramírez C., Maldonado G., et al. Antibiotics in older adults. *Puerto Rico Health Sciences Journal*. 2004; 23(1): 25 – 33.

-
- ¹⁸ Marwick C., Santiago V., McCowan C., et al. Community acquired infections in older patients admitted to hospital from care homes versus the community: cohort study of microbiology and outcomes. *BioMed Central Geriatrics*. 2013; 13(1): 1 – 12.
- ¹⁹ Beveridge L., Davey P., Phillips G., et al. Optimal management of urinary tract infections in older people. *Clinical Interventions in Aging*. 2011; 6: 173 – 80.
- ²⁰ Caballero J., Rello J. Combination antibiotic therapy for community acquired pneumonia. *Annals of Intensive Care*. 2011; 1(1): 1 – 48.
- ²¹ Spratt B., Cromie K. Penicillin-binding proteins of gram-negative bacteria. *Reviews of Infectious Diseases*. 1988; 10(4): 699 – 711.
- ²² Chambers H., Sachdeva M. Binding of beta-lactam antibiotics to penicillin-binding proteins in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Infectious Diseases*. 1990; 161(6): 1170 – 1176.
- ²³ Craig W. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: Rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clinical Infectious Diseases*. 1998; 26(1): 1 – 10.
- ²⁴ Abdul-Aziz M., Dulhunty J., Bellomo R., et al. Continuous beta-lactam infusion in critically ill patients: the clinical evidence. *Annals of Intensive Care*. 2012; 2(1): 37.
- ²⁵ Pea F., Viale P., Furlanut M. Antimicrobial therapy in critically ill patients: a review of pathophysiological conditions responsible for altered disposition and pharmacokinetic variability. *Clinical Pharmacokinetics*. 2005; 44(10): 1009 – 1034.
- ²⁶ Roberts J., Pea F., Lipman J. The clinical relevance of plasma protein binding changes. *Clinical Pharmacokinetics*. 2013; 52(1): 1 – 8.
- ²⁷ Burgess D., Hall R., Lewis J., et al. Clinical and microbiological analysis of a hospital's extended spectrum beta-lactamase-producing isolates over a 2 years period. *Pharmacotherapy*. 2003; 23(10): 1232 – 1237.
- ²⁸ Zhanel G., Baudry P., Vashisht V., et al. Pharmacodynamic activity of ertapenem versus multidrug-resistant genotypically characterized extended-spectrum b-lactamase-producing *Escherichia coli* using an in vitro model. 2008; 61(3): 643 – 646.
- ²⁹ Zhanel G., Johanson J., Embil J., et al. Ertapenem: review of new carbapenem. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2005; 3(1): 23 – 39.
- ³⁰ Breilh D., Texier-Maugein J., Allaouchiche B., et al. Carbapenems. *Journal of Chemotherapy (Florence, Italy)*. 2013; 25(1): 1 – 17.
- ³¹ Kang J., Lee M. Overview of therapeutic drug monitoring. *The Korean Journal of Internal Medicine*. 2009; 24(1): 1 – 10.
- ³² Holford N. Target concentration intervention: beyond Y2K. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 1999; 48(1): 9 – 13.
- ³³ McLachlan A., Hilmer S., Le Couteur D. Variability in response to drugs in older people: phenotypic and genotypic factors. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2009; 85(4):431 – 433.

-
- ³⁴ Hayashi Y., Lipman J., Udy A., et al. β -Lactam therapeutic drug monitoring in the critically ill: optimising drug exposure in patients with fluctuating renal function and hypoalbuminaemia. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2013; 41(2): 162 – 166.
- ³⁵ Roberts J., Kruger P., Paterson D., et al. Antibiotic resistance - What's dosing got to do with it? *Critical Care Medicine*. 2008; 36(8): 2433 – 2440.
- ³⁶ Ben-Ami R., Rodriguez-Baño., Arslan H., et al. A multinational survey of risk factors for infection with extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae in nonhospitalized patients. *Clinical Infectious Disease*. 2009; 49(5): 682 – 690.
- ³⁷ República de Chile. Ley n°20.854. Regula los Derechos y Deberes que tienen las personas en relación con acciones vinculadas a su atención en salud. Biblioteca del Congreso Nacional de Chile; 2012. (Disponible en www.leychile.cl)
- ³⁸ Charlson M., Szatrowski T., Peterson J, et al. Validation of a combined comorbidity index. *Journal of Clinical Epidemiology*. 1994; 47(11): 1245 – 1251.
- ³⁹ Arroyo P., Lera L., Sánchez H., et al. Indicadores antropométricos, composición corporal y limitaciones funcionales en ancianos. *Revista Médica de Chile*. 2007; 135: 846 – 854.
- ⁴⁰ Food and Drug Administration. Guidance for Industry “Bioanalytical Method Validation” USA, 2018. (Disponible en www.fda.gov).
- ⁴¹ Majumdar A., Musson D., Birk K., et al. Pharmacokinetics of Ertapenem in Healthy Young Volunteers. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2002; 46(11): 3506 – 3511.
- ⁴² Musson D., Majumdar A., Holland S., et al. Pharmacokinetics of total and unbound ertapenem in healthy elderly subjects. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2004; 48(2): 521 – 524.
- ⁴³ McWhinney B., Wallis S., Hillister T., et al. Analysis of 12 beta-lactam antibiotics in human plasma by HPLC with ultraviolet detection. *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 2010; 878(22): 2039 – 2043.
- ⁴⁴ Legrand T., Chhun S., Rey E., et al. Simultaneous determination of three carbapenem antibiotics in plasma by HPLC with ultraviolet detection. *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 2008; 875(2): 551 – 556.
- ⁴⁵ Briscoe S., McWhinney J., Lipman J., et al. A method for determining the free (unbound) concentration of ten beta-lactam antibiotics in human plasma using HPLC with ultraviolet detection. *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 2012; 907: 178 – 184.
- ⁴⁶ Moczygemba L., Frei C., Burgess D. Pharmacodynamic Modeling of Carbapenems and Fluoroquinolones Against Bacteria That Produce ESBL. *Clinical Therapeutics*. 2004; 26(11): 1800 – 1807.
- ⁴⁷ Frasca D., Marchand S., Petitpas F., et al. Pharmacokinetics of Ertapenem following Intravenous and Subcutaneous Infusions in Patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2010; 54(2): 924 – 926.
- ⁴⁸ Lavielle M., Mentré F. Estimation of population pharmacokinetics parameters of saquinavir in HIV patients with MONOLIX software. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2007; 34(2): 229 – 249.

-
- ⁴⁹ Karlsson K., Plan E., Karlsson M. Performance of three estimation methods in repeated time-to-event modeling. *Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*. 2011; 13(1): 83 – 91.
- ⁵⁰ Kyle U., Schultz Y., Dupertuis Y., Pichard C. Body composition interpretation. Contributions of the fat-free mass index and the body fat mass index. *Nutrition*. 2003; 19(7-8): 597 – 604.
- ⁵¹ Waters D., Ward A., Villareal D. Weight loss obese adults 65 years and older: A review of the controversy. *Experimental Gerontology*. 2013; 48(10): 1054 – 1061.
- ⁵² Lee Y., Kim J., Han E., Ryu M., Cho Y., et al. Frailty and body mass index as predictors of 3-year mortality in older adults living in the community. *Gerontology*. 2004; 60(6): 475 – 482.
- ⁵³ Falsarella G., Renó L., Coutinho C., Coimbra I., Moretto M., et al. Body composition as a frailty marker for the elderly community. *Clinical Intervention in Aging*. 2015; 10: 1661 – 1666.
- ⁵⁴ Kyle U., Schutz Y., Dupertuis Y., Pichard C., Body composition interpretation: Contributions of the fat-free mass index and the body fat mass index. *Nutrition*. 2003; 19(7-8): 597 – 604.
- ⁵⁵ Cartet-Farnier E., Goutelle-Audibert L., Maire P., De la Gastine B., Goutelle S. Implications of using the MDRD or CKD-EPI equation instead of the Cockcroft-Gault equation for estimating renal function and drug dosage adjustment in elderly patients. *Fundamental and Clinical Pharmacology*. 2017; 31(1): 110 – 119.
- ⁵⁶ Brock F., Bettinelli L., Dobner T., Stobbe J., Pomatti G., Telles C. Prevalence of hypoalbuminemia and nutritional issues in hospitalized elders. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*. 2016; 24: e2736.
- ⁵⁷ Lin H., Chew S. Status Epilepticus and Delirium Associated with Ertapenem in a Very Elderly Patient with Chronic Kidney Disease and Silent Ischaemic Cerebrovascular Disease. *Drug Safety – Case Reports*. 2015; 2(1): 19.
- ⁵⁸ Jain J., Sutherland C., Nicolau D., Kuti J. Stability of ertapenem 100 mg/mL in polypropylene syringes stored at 25, 4, and -20°C. *American Journal of Health-System Pharmacy*. 2014; 71(17): 1480 – 1484.
- ⁵⁹ McQuade M., Van Nostrand V., Schariter J., Kanike J., Forsyth R. Stability and compatibility of reconstituted ertapenem with commonly used i.v. infusion and coinfusion solutions. *American Journal of Health-System Pharmacy*. 2004; 61(1): 38 – 45.
- ⁶⁰ Zajac M., Cielecka-Piontek J., Jelinska A. Stability of ertapenem in aqueous solutions. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2007; 43(2): 445 – 449.
- ⁶¹ Pedroso T., Salgado H. A critical review of analytical methods for determination of ertapenem sodium. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 2014; 46(1): 15 – 21.
- ⁶² van Rijn S., Zuur M., van Altena R., Akkerman O., Proost J., de Lange W., et al. Pharmacokinetic Modeling and Limited Sampling Strategies based on healthy volunteers for Monitoring of Ertapenem in MDR-TB patients. 2017; 61(4): 1783 – 1816.
- ⁶³ Sime F., Roberts M., Roberts J. Optimization of dosing regimens and dosing in special populations. *Clinical Microbiology and Infection*. 2015; 21(10): 886 – 893.
- ⁶⁴ Sutton S., Jumper M., Cook S., Edun B., Wyatt M. Ertapenem-Induced Encephalopathy in a Patient with Normal Renal Function. *Journal of Investigative Medicine High Impact Case Reports*. 2017; 5(1): 1 – 5.
- ⁶⁵ Kiang T., Sherwin C., Spigarelli M., Ensom M. Fundamentals of Population Pharmacokinetic Modelling – Modelling and Software. *Clinical Pharmacokinetics*. 2012; 51(8): 515 – 525.

-
- ⁶⁶ Ito K., Murphy D. Application of ggplot2 to pharmacometric graphics. *CPT: Pharmacometrics and Systems Pharmacology*. 2013; 2(10): 1 – 16.
- ⁶⁷ Sun X., Wu K., Cook D. PKgraph: an R package for graphically diagnosing population pharmacokinetic models. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*. 2011; 104(3): 461 – 471.
- ⁶⁸ Mould D., Upton R. Basic Concepts in Population Modeling, Simulation, and Model-Based Drug Development – Part 2: Introduction to Pharmacokinetic Modeling Methods. 2013; 2(4): e38.
- ⁶⁹ Sun X., Li J. PKreport: report generation for checking population pharmacokinetic model assumptions. *BMC Medical Informatics and Decision Making*. 2011; 11:31.
- ⁷⁰ Zuo F., Li J. Exploring Population Pharmacokinetic Modeling with Resampling Visualization. *Biomed Research International*. 2014; 2014: 585687.
- ⁷¹ Nix D., Majumdar A., DiNubile M. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of ertapenem: an overview for clinicians. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2004; 53 suppl 2; 23 – 28.
- ⁷² Liebchen U., Kratzer A., Wicha S., Kees F., Kloft C., Kees M. Unbound fraction of ertapenem in intensive care unit patients. *Journal of Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2014; 69: 3108 – 3111.
- ⁷³ Dasgupta A. Usefulness of monitoring free (unbound) concentration of therapeutic drugs in patient management. *Clinica chimica acta; International Journal of Clinical Chemistry*. 2007; 377(1-2): 1 – 13.
- ⁷⁴ Kyle U., Hans D., Karsegard L., Slosman D., Pichard C. Age-related differences in fat-free mass, skeletal muscle, body cell mass and fat mass between 18 and 94 years. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2001; 55: 663 – 672.
- ⁷⁵ Andersson D. Improving predictions of the risk of resistance development against new and old antibiotics. *Clinical Microbiology and Infection*. 2015; 21(10): 894 – 898.
- ⁷⁶ Dowling T., Wang E., Ferrucci L., Sorokin J. Glomerular filtration rate equations overestimate creatinine clearance in older individuals enrolled in the Baltimore longitudinal study on aging (BLSA): Impact on renal drug dosing. *Pharmacotherapy*. 2013; 33(9): 912 – 921.
- ⁷⁷ Barger A., Fuhst C., Wiedemann B. Pharmacological indices in antibiotic therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1994; 38(5): 1112 – 1117).
- ⁷⁸ Karam G., Chastre J., Wilcox M., Vincent J. Antibiotic strategies in the era of multidrug resistance. *Critical Care*. 2016, 20: 136 – 145.

14. ANEXOS

Anexo 1. Aprobación comité de ética

HOSPITAL CLINICO UNIVERSIDAD DE CHILE

CERTIFICADO N° 698/14

La Subdirección de Investigación Clínica, certifica que el Proyecto que se individualiza a continuación fue revisado y aprobado en todas las instancias pertinentes según la normativa interna que rige en el Hospital Clínico de la Universidad de Chile.

Nombre del Proyecto

"Farmacocinética poblacional de ceftriaxona y ertapenem en adultos mayores hospitalizados en una unidad geriátrica de agudos".

N° Interno OAIC 698/14

Investigadora Principal:

QF. Daniel Palma Vallejos
Sección de Geriatria

Financiamiento y Facturación: tiene financiamiento de la "Beca de apoyo de Tesis Doctoral" de CONICYT

Código Convenio: Arancel OAIC fondos especiales, código 217.

Otros Antecedentes:

1. Proyecto aprobado por el Comité Ético Científico o de Investigación del Hospital Clínico, a través del Acta de Aprobación N° 89 del 12 de Noviembre de 2014.
2. El objetivo de este proyecto es proponer modelos farmacocinéticos poblacionales para ceftriaxona y ertapenem en adultos mayores hospitalizados en una unidad geriátrica de agudos.
3. Proyecto cumple con lo dispuesto en la Ley 20.120 del año 2006, delegación que consta en la Resolución Exenta N° 718 del 24 de Noviembre de 2014.
4. Proyecto no generará *overhead* al Hospital.


DR. CARLOS SCIARAFFIA MERINO
SUBDIRECTOR DE INVESTIGACION CLINICA

XEN/sdv
Santiago,

22 DIC. 2014

Anexo 2. Índice de Charlson ajustado por edad

Institute for Algorithmic Medicine
A Texas Non-profit Corporation

01-13-01 Comorbidity Index and Score of Charlson et al

Purpose: To use the comorbidity score developed by Charlson et al to give an estimate of 10 year survival for a patient.

Age of the patient years

Does the patient have?

AIDS?	<input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No
Cerebrovascular disease?	<input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No
Chronic pulmonary disease?	<input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No
Congestive heart failure?	<input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No
Connective tissue disease?	<input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No
Dementia?	<input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No
Hemiplegia?	<input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No
Leukemia?	<input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No
Malignant lymphoma?	<input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No
Myocardial infarction?	<input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No
Peripheral vascular disease?	<input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No
Ulcer disease?	<input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No

Click the appropriate column for each condition (give only 1 answer per row)

	none	without end organ damage	with end organ damage
Diabetes mellitus	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

	none	mild	moderate	severe
Liver disease	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Renal disease	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

	none	non-metastatic	metastatic
Malignant solid tumor	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

Anexo 3. Consentimiento informado



HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSIDAD DE CHILE

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Título del Proyecto: Farmacocinética Poblacional de Ertapenem en Adultos Mayores Hospitalizados en Unidades no Críticas.

Investigador Principal: Químico Farmacéutico (Q.F.) Daniel Palma Vallejos, Sección de Geriátría, Departamento de Medicina.

Este formulario de consentimiento puede contener algunas palabras que usted probablemente no entiende. Por favor pida explicación a uno de los integrantes del grupo de investigación para que lo asesore.

Antes de tomar la decisión de participar en la investigación, lea cuidadosamente este formulario de consentimiento y discuta cualquier inquietud que usted tenga con el investigador. Usted también podrá discutir su participación con los demás miembros de su familia o amigos antes de tomar la decisión.

1. Usted ha sido invitado a participar en un proyecto de investigación bajo la supervisión del Q.F. Daniel Palma Vallejos, en el Hospital Clínico de la Universidad de Chile. El propósito de esta investigación explicar si algunos antibióticos utilizados durante la hospitalización (ertapenem) se comportan de forma distinta en los adultos mayores debido a algunos cambios asociados al envejecimiento.
2. Si usted decide participar en este estudio, se contemplan las siguientes actividades:
 - a) A través de la revisión de la ficha clínica electrónica se podrá establecer si usted cumple con los criterios de selección para luego realizar el proceso de consentimiento informado. reclutado en el estudio.
 - b) Una vez incluido(a) en el estudio, se recopilará información sociodemográfica, mórbida, exámenes de laboratorio y medicamentos prescritos durante la administración del antibiótico en estudio.
 - c) Debido a que el uso de un antibiótico intravenoso requiere habitualmente la instalación de una vía venosa periférica, no será necesario pincharlo nuevamente para extraer cada muestra de sangre. En total, se extraerán 3 ml de sangre de su brazo, justo cuando comience la infusión del antibiótico (0 hora), cuando la infusión termine (0,5 horas) y luego a las 1, 2, 3, 6, 12 y 24 horas post-infusión. Generalmente, en los exámenes de rutina durante una hospitalización, se extraen 5 – 25 mL de sangre por muestra. En el presente estudio se extraerá un total de 24 mL de sangre. Parte de ella, se utilizará para el análisis de los antibióticos y la otra parte de su muestra de sangre será almacenada como contra muestra.

Versión 1.2 Hospital Clínico Universidad de Chile, Fecha 1.10.15



-
- d) A todas sus muestras y datos se les asignará un código numérico para su uso actual. Los resultados individuales serán anónimos y nunca serán mostrados (sin su consentimiento) a nadie fuera del proyecto de investigación.

3. Riesgo que pueden estar asociados a la investigación:

- a) Las preguntas personales para conocer su estado de salud actual e historia clínica pueden ser tediosas o usted puede no estar dispuesto a responderlas. Usted puede discutir las con el entrevistador, y puede decidir no responder a determinadas preguntas o no continuar con su participación. Tanto las respuestas como la información que usted suministre son confidenciales.
- b) Usted puede experimentar ligeras molestias en el sitio de extracción de la sangre e incluso infección (flebitis). Algunas personas experimentan mareos o sensación de debilidad general tras la extracción de la muestra y si presenta cualquier molestia, puede manifestarla al investigador.
- c) Los resultados de la investigación son estrictamente confidenciales. No se entregará información de las evaluaciones clínicas realizadas durante la investigación a compañías de seguros ni otras personas o instituciones sin su previa autorización.

4.- Beneficios para usted/sociedad: Usted no recibirá ningún beneficio médico o económico por la participación en este proyecto. Sin embargo, usted estará haciendo una libre y generosa donación para la investigación que podrá ser beneficiosa para futuras generaciones. Tenga en cuenta que en la mayoría de los casos el conocimiento científico avanza de forma lenta. El estudio de su muestra podrá resultar en nuevas pruebas clínicas o tratamientos y por lo tanto podrá ayudar a prevenir o a curar esta enfermedad en un futuro. Los investigadores de la Universidad de Chile lo consideran a usted como un importante colaborador en la batalla contra la enfermedad y le agradecerán su decisión de participar en este estudio.

5. La participación es voluntaria y usted puede rehusarse de participar o retirarse de la investigación en cualquier momento. Si una vez realizada la donación de su muestra usted desea retirarse del proyecto de investigación, este material será destruido a petición suya. Sin embargo, una vez procesada su muestra, los resultados derivados de la investigación no podrán ser eliminados de aquellos trabajos científicos derivados de este estudio y que ya estén publicados.

- i. El Investigador tomará medidas para proteger la confidencialidad de su registro médico y su identidad no será divulgada en ninguna publicación que resulte de este estudio. Para proteger sus derechos, la agencia que suministra los fondos para este proyecto podría en algún momento inspeccionar los registros suministrados por usted para este proyecto (no por nombres, sino utilizando solamente códigos numéricos). Esto con el fin de asegurarse de que sus derechos han sido protegidos en este proyecto.

Versión 1.2 Hospital Clínico Universidad de Chile, Fecha 1.10.15



ii. Este proyecto de investigación no está destinado a proveer diagnóstico ni tratamiento de aquellos problemas médicos no mencionados explícitamente. Su participación en este proyecto de investigación no debe reemplazar las visitas de rutina a su médico de cabecera o de familia.

iii. Usted será informado de cualquier hallazgo derivado de su participación en la investigación, que pueda cambiar su decisión de continuar en este estudio. El investigador puede retirarlo de esta investigación, si entiende que existen circunstancias médicas que lo aconsejan.

iv. Si tiene preguntas o preocupaciones sobre este estudio, o si experimenta cualquier problema, puede llamar las 24 horas a:

Q.F. Daniel Palma Vallejos – Teléfono 56 9 56177814
Correo: dpalma@hcuch.cl

Este estudio cuenta con la aprobación del Comité Ético Científico y de Investigación del Hospital Clínico de la Universidad de Chile. Cualquier consulta llamar al teléfono 29789008

Versión 1.2 Hospital Clínico Universidad de Chile, Fecha 1.10.15



He leído este formulario de aprobación y he tenido la oportunidad de hacer preguntas. Entiendo que me darán copia de este documento. Consiento en participar en esta investigación

Nombre del participante:.....

RUT..... Firma..... Fecha.....

Nombre del Investigador o médico designado.....

RUT..... Firma..... Fecha.....

Nombre del Delegado del Director o Ministro de Fe.....

RUT..... Firma..... Fecha.....

Versión 1.2 Hospital Clínico Universidad de Chile, Fecha 1.10.15

4 de 4


28 OCT. 2015

Anexo 4. Ficha Farmacéutica



FICHA SEGUIMIENTO FARMACOTERAPÉUTICO UGA

Antecedentes sociodemográficos y hábitos					
Nombre:			Nº Ficha:	Edad:	
Fecha Nacimiento:	Previsión:		Cama:	Años escolaridad:	
Ingreso Hospital:	Motivo de ingreso:		Días de Hospitalización:		
Ingreso UGA:	Motivo ingreso UGA:		Egreso UGA:		
Barthel	Basal:	Ingreso:	Egreso:	Post alta:	Fecha:
Cuidador:		Contacto:	Lugar de egreso:		
Hábitos Tabaco () Alcohol () Drogas () Adherencia () Hierbas Medicinales ():					
Alergias (): RAM (): Automedicación ():					
Comorbilidades					
HTA	Alzheimer	Delirium	Cáncer		
DM2	Parkinson	Constipación	-		
IAM	Asma	Inc. urinaria	-		
IC-CF	EPOC	Trastorno sueño	-		
Arritmia	LCFA	Trastorno ánimo	Quirúrgicos		
Dislipidemia	NAC	Malnutrición	-		
Obesidad	Artritis	Inc. Fecal	-		
TVP	Artrosis	Inmovilismo	-		
TEP	Osteoporosis	Déficit sensorial			
ACV	Gota	Det. Cognitivo	Fracturas		
ERC	Hipotiroidismo	Caidas	-		
ITU a repetición	Insuf. Venosa	UPP	-		
HPB	Prótesis dental	Polifarmacia	-		
Perfil de uso de Medicamentos					
Prescritos antes de la hospitalización	Beers	STOPP	Prescritos después de la hospitalización	Beers	STOPP

Farmacoterapia (dosis/frecuencia/vía)														
1														
2														
3														
4														
5														
6														
7														
8														
9														
10														
11														
12														
13														
14														
15														
16														
17														
18														
19														
20														
21														
22														
Constantes y balances														
Presión arterial														
Presión arterial media														
Frecuencia cardíaca														
Frecuencia respiratoria														
Saturación O2														
FiO2														
Orina														
Deposiciones														
HGT														
Insulina Cristalina														
Insulina NPH														
Temperatura														

Anexo 5. Tablas de validación

Tabla 10: Resumen de los resultados de linealidad promedio de la concentración total de ertapenem en plasma humano.

Concentración	Inyección	área ERT	[ERT] estimada	[ERT Est] promedio	Media área	DE	Exactitud	%error relativo	%CV	
Plasma Blanco	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	
LOD	1 mg/L	1	18600,3	1,65	1,66	18713,88	235,12	166,13	66,13	1,25
		2	18981,7	1,67						
		3	18484,1	1,64						
		4	18550,6	1,65						
		5	18952,7	1,67						
	2 mg/L	1	39924,3	2,91	2,87	39171,86	562,01	143,72	43,72	1,43
		2	39083,5	2,86						
		3	38642,1	2,84						
		4	39551,8	2,89						
		5	38657,6	2,84						
LOQ 3 mg/L	1	43737,1	3,14	3,13	43564,02	283,60	104,50	4,50	0,65	
	2	43973,5	3,15							
	3	43289,7	3,11							
	4	43435,8	3,12							
	5	43384	3,12							
4 mg/L	1	54597,5	3,78	3,79	54702,58	870,88	94,88	-5,11	1,59	
	2	55931,4	3,86							
	3	54761,5	3,79							
	4	53474,9	3,72							
	5	54747,6	3,79							
10 mg/L	1	165161,9	10,34	10,34	165179	1859,62	103,47	3,47	1,12	
	2	164005,1	10,27							
	3	164712,6	10,31							
	4	163677,1	10,25							
	5	168338,3	10,53							
15 mg/L	6	255248,1	15,68	15,65	254742,6	957,30	104,38	4,38	0,37	
	7	253440,5	15,58							
	8	254143,1	15,62							
	9	255877	15,72							
	10	255004,3	15,67							

40 mg/L	1	703080,3	42,24	42,13	701233,42	1570,23	105,34	5,34	0,22
	2	700167,3	42,07						
	3	700885,5	42,11						
	4	702613,9	42,21						
	5	699420,1	42,02						
75 mg/L	1	1208566,2	72,22	72,17	1207797,52	3052,09	96,23	-3,76	0,25
	2	1206703,2	72,11						
	3	1206776,7	72,11						
	4	1212564,9	72,45						
	5	1204376,6	71,97						
150 mg/L	1	2499786,7	148,79	148,74	2498943,38	8527,56	99,163	-0,83	0,34
	2	2503074,5	148,99						
	3	2510331,3	149,42						
	4	2488576,8	148,13						
	5	2492947,6	148,38						
300 mg/L	1	5096238,2	302,77	301,01	5066456,06	36362,7	100,33	0,33	0,71
	2	5003656,2	297,28						
	3	5079521,6	301,77						
	4	5069783	301,20						
	5	5083081,3	301,99						

Tabla 12: Resultados obtenidos para curva precisión y exactitud intradía de ertapenem.

	Concentración nominal	Muestra	Área ERT	Promedio Área ERT	[ERT Est]	[ERT promedio]	DE	% Exactitud	%error relativo	%CV
LOQ	3 mg/L	1	45380,97	45567,83	2,89	2,89	0,03	96,46	-3,53	1,36
			45754,7							
		2	46225,6	45879,1	2,91					
			45532,6							
		3	45144,6	46230,85	2,94					
			47317,1							
		4	46485,6	44801,8	2,84					
			43118							
		5	44123,4	45011,8	2,86					
			45900,2							
12 mg/L	6	155408,6	154531,3	10,13	10,47	0,32	87,25	-12,74	3,10	
		153654								

	7	167877,3	166104,45	10,89					
		164331,6							
	8	157366,2	161666,55	10,60					
		165966,9							
	9	153478,7	154951,05	10,15					
		156423,4							
10	148552,6	161092,55	10,56						
	173632,5								
120 mg/L	11	1858624	1846877,15	122,44	122,90	0,57	102,41	2,41	0,47
		1835130,3							
	12	1842937,4	1867862,9	123,83					
		1892788,4							
	13	1869576,9	1855970,5	123,04					
		1842364,1							
	14	1849202,1	1846944	122,44					
		1844685,9							
	15	1860655,4	1851192,65	122,72					
		1841729,9							
180 mg/L	16	2665693,6	2671113,95	177,14	177,73	0,77	98,73	-1,26	0,43
		2676534,3							
	17	2681085,8	2696505,85	178,82					
		2711925,9							
	18	2673930,4	2681470,5	177,83					
		2689010,6							
	19	2664992,4	2683968,2	177,99					
		2702944							
	20	2665956,7	2666785,05	176,85					
		2667613,4							

*ERT: ertapenem; $[ERT]_{est}$: concentración de ertapenem estimada; DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación.

Tabla 14: Resumen de los resultados obtenidos para recuperación de ertapenem por extracción mediante precipitación de proteínas.

Nivel	Concentración teórica	área ERT	Concentración método	% Recuperación	Parámetros Estadísticos
Bajo	10	153553,8	9,65	96,57	DE 0,12

		154837,1	9,73	97,33	% REC	98,06
		156138,8	9,81	98,10	%CV	1,25
		156012,4	9,80	98,03	Promedio [ERT]	9,80
		156101,8	9,80	98,08		
		159752,5	10,02	100,25		
Medio	30	489199,2	29,56	98,53	DE	0,41
		491413,9	29,69	98,97	Promedio % REC	100,09
		504646,6	30,47	101,59	%CV	0,41
		498010,8	30,08	100,28	Promedio [ERT]	100,09
		493123,1	29,79	99,31		
		506101,7	30,56	101,88		
Alto	240	3671028,9	218,24	90,93	DE	0,84
		3710083,5	220,56	91,90	Promedio % REC	91,56
		3702778,5	220,13	91,72	%CV	0,38
		3703474,4	220,17	91,73	Promedio [ERT]	219,74
		3702113,3	220,09	91,70		
		3688228,6	219,26	91,36		

*ERT: ertapenem, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, REC: recuperación, [ERT]: concentración total de ertapenem.

Tabla 15: Resultados de estabilidad de ertapenem a corto plazo.

Nivel	Periodo	Absorbancia	Área ERT	Ecuación	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error
Nivel Bajo (20 mg/L)	t0	331313,8	330823,3	$A = 16863 [ERT] - 9301$	20,16	20,17	0,09	0,48	100,88	0,88
		330332,8								
		342973,1	332665,8		20,27					
		322358,5								
		330245,2			329399,75					
	328554,3									
	t6	343973,1	342516		20,86	20,75	0,35	1,71	103,78	3,78
		341058,9								
		334961,9	334037,6		20,35					
		333113,3								

Nivel Alto (240 mg/L)	t0	341058,9	345596,65	21,04	219,50	1,64	0,75	91,46	-8,53	
		350134,4								
		3689536,8	3691129,4							219,44
		3692722								
		3731806,7	3720564,9							221,18
		3709323,1								
	3693238,8	3664962,65	217,88							
	3636686,5									
	t6	3604082,2	3603164	214,22	212,82	1,31	0,61	88,67	-11,32	
		3602245,8								
		3584474,4	3576463,45							212,64
		3568452,5								
3572890,4		3559120,95	211,61							
3545351,5										

*ERT: ertapenem, [ERT]: concentración de ertapenem total, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, t0 = tiempo cero; t6 = tiempo luego de 6 horas.

Tabla 16: Resultados de Estabilidad de ertapenem en el *autosampler*.

Nivel	Periodo	Absorbancia	Área ERT	[ERT]	DE	%CV	% Exactitud	% Error
Bajo (20 mg/L)	t0	329552	328033,6	19,35	16407,3	5,00	96,77	3,22
		310919,9						
		343628,9						
	t1=24 horas	297243,5	294021,8	17,22	37168,1	12,64	86,11	13,88
		290800,1						
358156,5								
Alto (240 mg/L)	t0	3841646,1	3846668,17	239,77	49768,7	1,29	99,90	0,09
		3799600,9						
		3898757,5						
	t1=24 horas	3334491,3	3286092,3	204,65	184618	5,61	85,27	14,72
		3237693,3						
3594675,5								

*ERT: ertapenem, [ERT]: concentración de ertapenem total, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, t0 = tiempo cero; t6 = tiempo luego de 24 horas

Tabla 17: Resultados de estabilidad de ertapenem por ciclos de congelamiento /
descongelamiento.

	20 mg/L	Inyección	Área ERT	Ecuación	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error
t0	Muestra 1	332780,5	331516,75	A = 16863 [ERT] - 9301	20,21	20,44	0,21	1,04	102,20	2,20
		330253			20,63					
	Muestra 2	337849,5	338648,35		20,47					
		339447,2								
	Muestra 3	331109,3	336008,1							
		340906,9								
t1 = 24 horas	Muestra 1	300649,5	302162,9	A = 16755 [ERT] - 11851	18,74	18,76	0,05	0,30	93,83	-6,16
		303676,3			18,83					
	Muestra 2	304743,6	303666,75		18,72					
		302589,9								
	Muestra 3	301417,4	301902,05							
		302386,7								
t2 = 48 horas	Muestra 1	285478,2	282748,65	A = 16393 [ERT] - 9068,1	17,80	17,80	0,01	0,09	87,09	-12,90
		280019,1			17,78					
	Muestra 2	284635,1	282521,45		17,82					
		280407,8								
	Muestra 3	280126,7	283069,2							
		286011,7								
t3 = 72 horas	Muestra 1	271539,5	271516	A = 15373 [ERT] - 6345,9	18,07	18,16	0,15	0,85	88,84	-11,15
		271492,5			18,06					
	Muestra 2	270704,9	271386,5		18,34					
		272068,1								
	Muestra 3	277281	275596,65							
		273912,3								
	240 mg/L	Inyección	Área ERT	Ecuación	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error
t0	Muestra 1	3829437,4	3829328,85	A = 16863 [ERT] - 9301	227,64	221,39	5,42	2,44	92,24	-7,75
		3829220,3			218,71					
	Muestra 2	3675937,9	3678774,9		217,85					
		3681611,9								
	Muestra 3	3646917,1	3664240,3							
		3681563,5								
t1 = 24 horas	Muestra 1	3566859,5	3563675	A = 16755 [ERT] - 11851	213,40	214,39	1,02	0,47	89,32	-10,67
		3560490,5			214,33					
	Muestra 2	3559165,7	3579246,3		215,43					
		3599326,9								
	Muestra 3	3599163,5	3597841,3							
		3596519,1								

t2 = 48 horas	Muestra 1	3415297,3	3408649,5	A = 16393 [ERT] - 9068,1	208,49	208,66	0,16	0,07	86,94	-13,05
		3402001,7			208,66					
	Muestra 2	3407293,1	3411370,6		208,82					
		3415448,1								
	Muestra 3	3412436,2	3414012							
		3415587,8								
t3 = 72 horas	Muestra 1	3298607,9	3283930,85	A = 15373 [ERT] - 6345,9	214,02	212,97	0,97	0,45	88,73	-11,26
		3269253,8			212,10					
	Muestra 2	3214059,7	3254318,75		212,78					
		3294577,8								
	Muestra 3	3287802,1	3264819							
		3241835,9								

* ERT: ertapenem, [ERT]: concentración de ertapenem total, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, t0: tiempo cero, t1: 24 horas; t2: 48 horas; t3: 72 horas.

Tabla 18: Resultados de estabilidad de ertapenem en solución stock.

Nivel	Condición	Periodo	Absorbancia	Área ERT	[ERT]	DE	%CV	% Exactitud	% Error			
Bajo (20 mg/L)	t0		313668,5	327295,5	19,30	15771,80	4,81	96,54	3,45			
			344572,2									
			323645,8									
	Temperatura ambiente (25°C)	t1 = 24 horas		291585	291907,15	17,09	3306,77	1,12	85,45	14,54		
				292229,3								
				297607,4								
		t2 = 48 horas			293153,7	291204,65	17,04	7676,59	2,59	85,23	14,76	
					289255,6							
					304065,2							
	Bajo refrigeración (-80°C)	t2 = 24 horas			303749,3	17,83	2384,88	0,78	89,16	10,83		
											305311	
											302187,6	
t2 = 48 horas					302413,4	17,74	1041,55	0,34	88,74	11,25		
											306871,2	
											302563,9	
Alto (240 mg/L)	t0		3935229,4	3932283,37	245,13	4923,04	0,12	102,14	-2,14			
			3926600									
			3935020,7									
	Temperatura ambiente (25°C)	t1 = 24 horas			3535374,45	220,27	33981,09	0,95	91,78	8,21		
											3513509,2	
											3557239,7	
		t2 = 48 horas				3624314,15	225,84	70216,47	1,95	94,10	5,89	
												3580428,6
												3576121,5

Bajo refrigeración (-80°C)	t2 = 24 horas	3672337,6	3642009,25	226,95	95688,59	2,66	94,56	5,43
		3611680,9						
		3484816,7						
	t2 = 48 horas	3707179,3	3712401,05	231,36	318033,51	9,01	96,40	3,59
		3717622,8						
		3161625,1						

* ERT: ertapenem, [ERT]: concentración de ertapenem total, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, t0: tiempo cero, t1: 24 horas; t2: 48 horas.

Tabla 19: Resultados de estabilidad de ertapenem a largo plazo a dos niveles de concentración: 20 mg/L y 240 mg/L.

	20 mg/L	Inyección	Área ERT	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error
T0	Muestra 1	331051,8	330716,85	20,16	20,30	0,13	0,67	101,52	1,52
		330381,9							
	Muestra 2	330972,9	335311,2	20,43					
		339649,5							
	Muestra 3	337876,7	333320,15	20,31					
		328763,6							
T1	Muestra 1	328714,6	330351,05	20,14	20,02	0,13	0,68	98,60	-1,39
		331987,5							
	Muestra 2	320906,9	325819,25	19,87					
		330731,6							
	Muestra 3	326214,1	328881,75	20,05					
		331549,4							
T2	Muestra 1	318423,6	321059,6	19,59	19,35	0,22	1,16	95,29	-4,70
		323695,6							
	Muestra 2	314967,3	316423,8	19,31					
		317880,3							
	Muestra 3	314853,1	313539,4	19,14					
		312225,7							
T3	Muestra 1	301539,5	303516	18,55	18,57	0,08	0,45	91,49	-8,50
		305492,5							
	Muestra 2	303704,9	302886,5	18,51					
		302068,1							
	Muestra 3	307281	305596,65	18,67					
		303912,3							
T4	Muestra 1	295640,4	294873,55	18,03	17,84	0,16	0,94	87,88	-12,11
		294106,7							
	Muestra 2	287967,1	290606,8	17,78					
		293246,5							
	Muestra 3	297529,3	289455,95	17,71					
		281382,6							
T5	Muestra 1	283138,2	285579,75	17,48	17,67	0,23	1,34	87,01	-12,98
		288021,3							

	Muestra 2	296284,7	293189,5	17,93					
		290094,3							
	Muestra 3	291862,9	287226,5	17,58					
		282590,1							
	240 mg/L	Inyección	Área ERT	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error
t0	Muestra 1	3999404,7	3993558	237,37	236,44	1,08	0,45	98,51	-1,48
		3987711,3							
	Muestra 2	3976819,5	3982307,2	236,70					
		3987794,8							
	Muestra 3	3992014,7	3957800,3	235,25					
		3923585,9							
t1	Muestra 1	3972890,4	3959121	235,33	233,57	2,00	0,85	98,78	-1,21
		3945351,5							
	Muestra 2	3950390,4	3936556,3	233,99					
		3922722,1							
	Muestra 3	3868452,5	3892750,1	231,39					
		3917047,7							
t2	Muestra 1	3819308	3835095,5	227,97	228,03	0,25	0,11	96,44	-3,55
		3850883							
	Muestra 2	3842993,5	3840586,1	228,30					
		3838178,6							
	Muestra 3	3835588,7	3832259	227,80					
		3828929,3							
t3	Muestra 1	3666611,4	3660811,4	217,64	216,43	1,42	0,65	91,53	-8,46
		3655011,4							
	Muestra 2	3632772,5	3646692	216,80					
		3660611,4							
	Muestra 3	3605238,4	3613954,7	214,86					
		3622670,9							
t4	Muestra 1	3556486,6	3554366,3	211,33	211,34	0,46	0,22	89,38	-10,61
		3552245,9							
	Muestra 2	3552423,5	3546804,3	210,88					
		3541185							
	Muestra 3	3567066,8	3562546,5	211,81					
		3558026,2							
t5	Muestra 1	3425105,4	3423356,3	203,56	203,73	0,14	0,07	86,16	-13,83
		3421607,1							
	Muestra 2	3443182,4	3427485,8	203,80					
		3411789,1							
	Muestra 3	3430322,4	3427884,9	203,83					
		3425447,4							

* ERT: ertapenem, [ERT]: concentración de ertapenem total, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, t0: tiempo cero; t1: semana 1; t2: semana 2; t3: semana 3; t4: semana 4; t5: semana 5

Tabla 23: Resumen de resultados de precisión y exactitud intradía.

	Concentración	Muestra	área ERT	Promedio área ERT	[ERT Est]	[ERT promedio]	DE	Exactitud	% error relativo	% CV
LOQ	0,24 mg/L	1	23079,2	23544,75	0,25	0,25	0,01	104,88	4,88	3,09
			24010,3							
		2	24205,2	23590,40	0,26					
			22975,6							
		3	23965,4	23893,50	0,26					
			23821,6							
		4	23013,6	23239,85	0,25					
			23466,1							
		5	23470	22413,90	0,24					
			21357,8							
	3 mg/L	6	210606,6	210584,30	2,83	2,84	0,01	94,51	-5,48	0,18
			210562							
		7	210722,3	211202,45	2,84					
			211682,6							
		8	210818,2	210860,05	2,84					
			210901,9							
		9	210380,7	210307,55	2,83					
			210234,4							
		10	210272,6	210366,05	2,83					
			210459,5							
	15 mg/L	11	1019311,1	1035887,18	14,22	15,21	0,76	101,42	1,42	5,00
			1052463,25							
		12	1071465,8	1073878,05	14,74					
			1076290,3							
		13	1089783,5	1107179,83	15,20					
			1124576,15							
		14	1169594,15	1163414,60	15,98					
			1157235,05							
		15	1161524,5	1160322,25	15,93					
			1159120							
	45 mg/L	16	3291448,4	3294855,90	45,37	44,94	0,29	99,87	-0,13	0,63
			3298263,4							
		17	3219908,9	3243252,45	44,66					
			3266596							
		18	3275808,5	3270671,60	45,04					
			3265534,7							
		19	3247809,5	3247311,90	44,72					
			3246814,3							

	20	3251476,8 3271613,5	3261545,15	44,91				
--	----	------------------------	------------	-------	--	--	--	--

*ERT: ertapenem; [ERT]_{est}: concentración de ertapenem estimada; DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación.

Tabla 24: Resumen de los resultados de precisión y exactitud interdía.

Concentración	Muestra	Día 1	Día 2	Día 3	[ERT promedio]	DE	% Error relativo	% Exactitud	% CV
		[ERT Est]							
0,24 mg/L	1	0,25	0,23	0,21	0,23	0,02	-5,10	94,90	8,25
	2	0,26	0,22	0,21					
	3	0,26	0,21	0,21					
	4	0,25	0,22	0,22					
	5	0,24	0,21	0,21					
3 mg/L	1	2,83	2,66	2,78	2,78	0,11	-7,28	92,72	3,90
	2	2,84	2,66	2,90					
	3	2,84	2,64	2,88					
	4	2,83	2,65	2,89					
	5	2,83	2,59	2,89					
15mg/L	1	14,22	15,42	14,69	15,32	0,49	2,16	102,16	3,21
	2	14,74	15,67	15,26					
	3	15,20	15,78	14,99					
	4	15,98	15,37	15,49					
	5	15,93	15,45	15,68					
45 mg/L	1	45,37	44,84	45,11	44,91	0,22	-0,21	99,79	0,48
	2	44,66	44,47	44,84					
	3	45,04	45,13	45,00					
	4	44,72	44,80	44,81					
	5	44,91	44,99	44,91					

*ERT: ertapenem; [ERT]_{est}: concentración de ertapenem estimada; DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación.

Tabla 26: Resultados de estabilidad de ertapenem a corto plazo.

Nivel	Periodo	Absorbancia	Área ERT	Ecuación	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error
Nivel Bajo (3 mg/L)	t0	216034,5	215694,85	$A=79992xERT + 8828$	2,59	2,58	0,01	0,22	86,02	13,98
		215355,2								
		215234,1	215269,95		2,58					
		215305,8								
		214256,9	214805,1		2,57					
	215353,3									
	t1	218482,2	215439,9		2,58					
		212397,6								
		213142,5	212749,5		2,55					
		212356,5								
212434,6		212222,85	2,54							
212011,1										
Nivel Alto (45 mg/L)	t0	3498634,5	3443952,3	42,94	42,71	0,20	0,47	94,92	5,08	
		3389270,1								
		3434554,3	3418392,2							42,62
		3402230,1								
		3398838,3	3414699,85							42,58
	3430561,4									
	t1	3300231,2	3299733,8	41,14	41,02	0,13	0,33	91,15	8,85	
		3299236,4								
		3283563,2	3278507,3	40,88						
		3273451,4								
3278902,7		3291637,1	41,04							
3304371,5										

*ERT: ertapenem, [ERT]: concentración de ertapenem libre, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, t0 = tiempo cero; t6 = tiempo luego de 6 horas.

Tabla 27: Resultados de Estabilidad de ertapenem en el autosampler.

Nivel	Periodo	Absorbancia	Área ERT	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error		
Bajo (3 mg/L)	t0	228453,2	229636,6333	2,76	2,76	1031,37	0,45	92,01	7,99		
		230112,9									
		230343,8									
	t1=24 horas	223097,8			222039,5	2,67	2,67	1082,51	0,49	88,85	11,15
		220981,2									
	221645,2										
Alto (45 mg/L)	t0	3434655,7	3457286,767	43,11	43,11	33396,1	0,97	95,80	4,20		
		3441562,1									
		3495642,5									

	t1=24 horas	3334491,3	3284136,35	40,95	40,95	52543,3	1,60	90,99	9,01
		3233781,4							
		3258145,1							

*ERT: ertapenem, [ERT]: concentración de ertapenem libre, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, t0 = tiempo cero; t6 = tiempo luego de 24 horas.

Tabla 28: Resultados de estabilidad de ertapenem por ciclos de congelamiento/descongelamiento.

	3 mg/L	Área ERT	Ecuación	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error
t0	1	229429,8	A = 79992xERT + 8828	2,76	2,75	0,01	0,31	91,62	8,38
	2	228106,05		2,74					
	3	228573,05		2,75					
t1 = 24 horas	1	220767	A = 67223xERT + 11551	3,11	3,09	0,02	0,54	103,10	-3,10
	2	218711,9		3,08					
	3	218922,6		3,08					
t2 = 48 horas	1	215945,4	A = 72507xERT + 5085,5	2,91	2,91	0,00	0,06	105,85	-5,85
	2	216175,85		2,91					
	3	216016,3		2,91					
t3 = 72 horas	1	213771	A = 71799xERT + 10117	2,84	2,83	0,00	0,13	103,13	-3,13
	2	213348		2,83					
	3	213852,2		2,84					

	45 mg/L	Inyección	Área ERT	Ecuación	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error
t0	1	3395769,1	3397494,7	A = 79992xERT + 8828	42,36	42,32	0,04	0,10	94,04	5,96
		3399220,3			42,31					
	2	3394615,9	3393569,85		42,32					
		3392523,8			42,28					
	3	3392234,2	3390943,8		42,28					
		3389653,4								
t1 = 24 horas	1	3260547,3	3260725,9	A = 67223xERT + 11551	48,33	48,32	0,01	0,02	107,38	-7,38
		3260904,5			48,32					
	2	3259233,6	3259462,7		48,32					
		3259691,8			48,32					
	3	3259871,9	3259620,1		48,32					

		3259368,3											
t2 = 48 horas	1	3216976,2	3208539,8	A = 72507xERT + 5085,5	44,18	44,13	0,11	0,24	98,06	1,94			
		3200103,4											
		3209723											
	2	3209843,5	3209783,25		44,20								
		3									3196324,1	3195900,45	44,01
											3195476,8		
t3 = 72 horas	1	3090789,9	3093661,25	A = 71799xERT + 10117	42,95	42,89	0,10	0,24	95,32	4,68			
		3096532,6											
		3094050,5											
	2	3095167,3	3094608,9		42,96								
		3									3082637,4	3081266,2	42,77
											3079895		

* ERT: ertapenem, [ERT]: concentración de ertapenem libre, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, t0: tiempo cero, t1: 24 horas; t2: 48 horas; t3: 72 horas.

Tabla 29: Resultados de estabilidad de ertapenem en solución stock.

Nivel	Condición	Periodo	Absorbancia	Área ERT	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error	
Bajo (3 mg/L)	t0		223511,6	223000,967	2,68	223000,967	457,78	0,21	89,25	10,75	
			222864								
			222627,3								
	Temperatura ambiente (25°C)	t1 = 24 horas		222181,6	221748,9	2,66	221768,233	433,99	0,20	88,73	11,27
				221316,2							
				221806,9							
		t2 = 48 horas		221163,05	221186,7	2,65	221124,9	70,18	0,03	88,48	11,52
					221139,4						
					221048,6						
	Bajo refrigeración (-80°C)	t2 = 24 horas		222364,5	222261	2,67	222295,5	119,51	0,05	88,94	11,06
				222157,5							
				222364,5							
t2 = 48 horas			221924	221983,5	2,66	221949,5	74,10	0,03	88,80	11,20	
				221864,5							
				222000,5							
Alto (45 mg/L)	t0		3532459,1	3534198,3	44,07	3534198,3	2731,25	0,08	97,94	2,06	
			3537346,3								
			3532789,5								
	Temperatura ambiente (25°C)	t1 = 24 horas		3530412,9	3530370,1	44,02	3530341,6	65,33	0,00	97,83	2,17
				3530327,3							
				3530284,6							
		t2 = 48 horas		3526866,9	3527231,1	43,98	3526706,43	458,14	0,01	97,73	2,27
					3526502,7						
					3526385,5						

Bajo refrigeración (-80°C)	t2 = 24 horas	3531226,5	3531998,15	44,04	3532907,3	1753,60	0,05	97,88	2,12
		3532769,8							
		3534725,6							
	t2 = 48 horas	3529898,1	3528933,95	44,01	3528260,7	1513,07	0,04	97,79	2,21
		3527969,8							
		3526914,2							

* ERT: ertapenem, [ERT]: concentración de ertapenem libre, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, t0: tiempo cero, t1: 24 horas; t2: 48 horas.

Tabla 30: Resultados de estabilidad de ertapenem a largo plazo a dos niveles de concentración: 20 mg/L y 240 mg/L.

	3 mg/L	Inyección	Área ERT	[ERT]	Promedio	DE	%CV	% Exactitud	% Error
T0	Muestra 1	230587,3	235251,85	2,83	2,82	0,05	1,81	93,96	6,04
		239916,4							
	Muestra 2	230506,4	229844,2	2,76					
		229182							
	Muestra 3	237408,2	237851,15	2,86					
		238294,1							
T1	Muestra 1	228244,1	229880,05	2,76	2,78	0,02	0,86	98,62	1,38
		231516							
	Muestra 2	230434,4	230346,25	2,77					
		230258,1							
	Muestra 3	235739,6	233406,75	2,81					
		231073,9							
T2	Muestra 1	227947,1	230582,6	2,77	2,72	0,05	1,74	96,55	3,45
		233218,1							
	Muestra 2	224488,8	225944,8	2,71					
		227400,8							
	Muestra 3	224372,6	223058,4	2,68					
		221744,2							
T3	Muestra 1	211057	213033	2,55	2,56	0,02	0,69	90,78	9,22
		215009							
	Muestra 2	213220,4	212401,5	2,54					
		211582,6							
	Muestra 3	216794,5	215109,65	2,58					
		213424,8							
T4	Muestra 4	207151,9	206884,55	2,48	2,47	0,01	0,26	87,60	12,40
		206617,2							
	Muestra 5	206476,6	206315,95	2,47					
		206155,3							

	Muestra 6	205836,8 205889,1	205862,95	2,46					
T5	Muestra 7	205643,7 207525,8	206584,75	2,47	2,45	0,02	0,86	86,93	13,07
		Muestra 8	205788,2 203596,8	204692,5					
	Muestra 9		203364,4 203090,6	203227,5					
			45 mg/L	Inyección					
T0	Muestra 1	3485244 3473549,6	3479396,8	43,39	43,40	0,16	0,37	96,44	3,56
		Muestra 2	3462656,8 3473631,1	3468144					
	Muestra 3		3477850 3509420,2	3493635,1					
T1	Muestra 1	3458723,7 3431183,8	3444953,8	42,96	42,79	0,15	0,34	98,61	1,39
		Muestra 2	3436221,7 3408552,4	3422387,1					
	Muestra 3		3454281,8 3402876	3428578,9					
T2	Muestra 1	3405135,3 3436709,3	3420922,3	42,66	42,67	0,05	0,12	98,31	1,69
		Muestra 2	3428818,8 3424002,9	3426410,9					
	Muestra 3		3421412 3414751,6	3418081,8					
T3	Muestra 1	3252432,7 3240831,7	3246632,2	40,48	40,22	0,30	0,75	92,68	7,32
		Muestra 2	3218591,8 3246429,7	3232510,8					
	Muestra 3		3191055,7 3208487,2	3199771,5					
T4	Muestra 4	3142301,9 3138060,2	3140181,1	39,15	39,15	0,10	0,25	90,21	9,79
		Muestra 5	3138236,8 3126997,3	3132617,1					
	Muestra 6		3152878,1 3143836,5	3148357,3					
T5	Muestra 7	3010914,7 3007415,4	3009165,1	37,51	37,54	0,03	0,08	86,51	13,49
		Muestra 8	3028989,7 2997595,4	3013292,6					
	Muestra 9		3016127,7 3011251,7	3013689,7					

* ERT: ertapenem, [ERT]: concentración de ertapenem libre, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, t0: tiempo cero; t1: semana 1; t2: semana 2; t3: semana 3; t4: semana 4; t5: semana 5.