



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

**PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS
FARMACOBIOLOGICAS**

**IMPLEMENTACIÓN DE UN PROGRAMA
PILOTO PARA LA MONITORIZACIÓN DE
ANTIBIÓTICOS EN PACIENTES
PEDIÁTRICOS**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS FARMACOBIOLOGICAS

PRESENTA:

Q.F.B. VELARDE SALCEDO RODRIGO

SAN LUIS POTOSÍ, S. L. P.

AGOSTO DE 2022

El programa de **Maestría en Ciencias Farmacobiológicas** de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Sistema Nacional de Posgrados (SNP) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), con **registro 003383** en el nivel **En Desarrollo**.

Proyecto realizado en:

Laboratorio de Biofarmacia y Farmacocinética de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí

Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”.

Con financiamiento de:

Secretaría de Educación Pública, por medio del Programa para el Desarrollo Profesional Docente. Oficio número: 511-6/2020-8585.

Beca-Tesis del CONACyT con número de registro 782280 (CVU 1026240)



Implementación de un programa piloto para la monitorización de antibióticos en pacientes pediátricos por Velarde Salcedo Rodrigo se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

La versión completa del presente trabajo fue sometida a análisis de similitud en la plataforma “turnitin” (<https://www.turnitin.com/es>). El informe de originalidad reporta un 21% de similitud.

Programa Piloto-Monitorización de antibióticos en programas pediátricos

INFORME DE ORIGINALIDAD

21%

ÍNDICE DE SIMILITUD

INTEGRANTES DEL JURADO

Dra. Rosa del Carmen Milán Segovia
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Presidente

Dra. Silvia Romano Moreno
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Secretaria

Dra. Susanna Edith Medellín Garibay
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Vocal

SUBCOMITÉ DE TESIS

Directora de Tesis

Dra. Susanna Edith Medellín Garibay
Profesor Investigador, Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Autónoma de San Luis Potosí

Co-directora de Tesis

Dra. Silvia Romano Moreno
Profesor Investigador, Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Autónoma de San Luis Potosí

Asesora Interna del Posgrado

Dra. Rosa del Carmen Milán Segovia
Profesor Investigador, Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Autónoma de San Luis Potosí

Asesor Clínico

Dr. Luis Fernando Pérez González
Jefe del área de Infectología Pediátrica
Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”



POSGRADO EN CIENCIAS FARMACOBIOLOGICAS

San Luis Potosí, S.L.P., a 15 de agosto de 2022

**Comité Académico del Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas
Facultad de Ciencias Químicas / UASLP
Presente._**

Por medio de la presente comunicamos que la tesis llevada a cabo por el alumno de Maestría **QFB. Rodrigo Velarde Salcedo** titulada **“Implementación de un programa piloto para la monitorización de antibióticos en pacientes pediátricos”**, ha sido concluida y aprobada por el comité tutorial para dar inicio a los trámites correspondientes para su titulación, la cual tendrá lugar el día **23 de agosto del 2022** a las **16:00 hrs.** en el **Auditorio Chico (G203)**, de la Facultad.

ATENTAMENTE

Dra. Susanna Edith Medellín Garibay
Directora de Tesis

Dra. Silvia Romano Moreno
Co-Directora de Tesis

Dra. Rosa del Carmen Milán Segovia
Asesora interna del PCFB

www.uaslp.mx

DEDICATORIA

A mis padres.

Compartamos juntos este logro.

Aunque físicamente no estemos todos, siempre conté con ustedes.

AGRADECIMIENTOS

A la **Dra. Susanna Edith Medellín Garibay**, la **Dra. Silvia Romano Moreno** y la **Dra. Rosa del Carmen Milán Segovia**, por abrirme las puertas en su excelente grupo de investigación y guiarme en esta etapa de mi formación profesional.

Al **Dr. Luis Fernando Pérez González**, por su colaboración y la recepción positiva al presente trabajo.

A los **médicos residentes** y **enfermeras** del servicio de pediatría del Hospital Central, por su amabilidad y apoyo para el muestreo de los pacientes incluidos en este trabajo.

A los químicos **Francisco Torres** y **Francisco Arriaga**, por su apoyo y enseñanzas en farmacia durante la etapa clínica de este proyecto.

A mis compañeros de laboratorio **Omar**, **Ivette**, **Coco** y **Frida**, que me acompañaron en este proyecto y me hicieron sentir en casa.

A **mis padres**, que desde el principio me guiaron y me permitieron tener una buena educación a lo largo de mi vida. Gracias a su apoyo y cariño incondicional me encuentro donde estoy ahora.

A mis hermanos **Jimena** y **Marco**, que siguieron el camino de la ciencia antes que yo y me han dado sus consejos y experiencias. Son y siempre serán un ejemplo a seguir.

A **Ada**, por ser una fuente de inspiración cuando las cosas parecían difíciles.

RESUMEN

El uso de antibióticos en pediatría representa un reto para el personal médico, pues la variabilidad fisiológica asociada al crecimiento y las limitaciones para obtener información farmacocinética dificultan llegar a un consenso en la dosificación. La monitorización de antibióticos es una estrategia útil para alcanzar objetivos farmacocinéticos/farmacodinámicos que aseguren el éxito terapéutico. En este trabajo se desarrolló y validó un método por cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas para cuantificar ocho antibióticos en plasma y se monitorizaron pacientes pediátricos del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” para evaluar el cumplimiento de objetivos farmacocinéticos/farmacodinámicos. Los resultados demuestran los beneficios de la monitorización y representan un punto de partida para obtener información farmacocinética local que permita refinar criterios de dosificación.

Palabras clave: Antibióticos, Pediatría, Objetivos farmacocinéticos/farmacodinámicos, Monitorización Terapéutica de Fármacos, Cromatografía de Líquidos acoplada a Espectrometría de Masas.

SUMMARY

Pediatric antibiotic usage poses a challenge for medical staff, as developmental physiological variability, and limitations to obtain pharmacokinetic information make it difficult to reach a consensus on dosing. Antibiotic therapeutic drug monitoring is a useful strategy to reach pharmacokinetic/pharmacodynamic targets and ensure therapeutic success. In this study a liquid chromatography coupled to mass spectrometry method was developed and validated to quantify eight antibiotics on plasma and pediatric patients from “Dr. Ignacio Morones Prieto” Central Hospital were monitored to assess PK/PD target attainment. Results showcase the benefits of therapeutic drug monitoring and represent a starting point to obtain local pharmacokinetic information to further refine dosing criteria.

Keywords: Antibiotics, Pediatrics, PK/PD Targets, Therapeutic Drug Monitoring, Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry.

ÍNDICE

1. Introducción	11
2. Antecedentes	12
2.1. Uso de antibióticos en pediatría	12
2.2. Cambios fisiológicos que modifican la farmacocinética en pacientes pediátricos ...	13
2.3. Optimización de los esquemas de dosificación de fármacos en pediatría	14
2.3.1. Escalamiento alométrico.....	14
2.3.2. Modelos farmacocinéticos basados en fisiología (PB/PK)	14
2.3.3. Modelos de farmacocinética poblacional	15
2.3.4. Monitorización terapéutica de fármacos	15
2.4. Monitorización terapéutica de antibióticos	16
2.4.1. Objetivos farmacoterapéuticos de los antibióticos	16
2.4.2. Métodos de análisis empleados para la monitorización de antibióticos.....	17
3. Justificación	19
4. Hipótesis.....	20
5. Objetivo General	20
6. Objetivos Específicos	20
7. Metodología.....	21
7.1. Desarrollo del método analítico para la cuantificación de antibióticos en plasma sanguíneo mediante UPLC-MS/MS.....	21
7.1.1. Materiales y equipo.....	21
7.1.2. Estandarización de técnica cromatográfica	22
• 7.1.2.1. Preparación de soluciones stock	22
• 7.1.2.2. Preparación de curva de calibración y controles de calidad para la cuantificación de antibióticos	22
• 7.1.2.3. Condiciones de detección por espectrometría de masas.....	23
• 7.1.2.4. Condiciones de separación cromatográfica.....	23
7.1.3. Método de procesamiento de muestras (plasma sanguíneo)	24
7.1.4. Validación del método analítico	25
7.2. Establecimiento de protocolos de monitorización.....	28
7.3. Diseño del estudio clínico.....	29
7.3.1. Lugar de realización del estudio	29

7.3.2. Universo de estudio	29
7.3.3. Criterios de selección de pacientes	29
7.3.4. Variables de estudio	30
7.3.5. Muestreo.....	32
7.3.6. Aspectos éticos.....	32
7.4. Procedimiento de toma de muestra para la monitorización	33
7.5. Interpretación de resultados.....	33
7.5.1. Estimación bayesiana de parámetros farmacocinéticos	33
7.5.2. Concentraciones mínimas inhibitorias de los microorganismos.....	34
7.5.3. Predicciones para ajuste de dosis	34
8. Resultados.....	35
8.1. Estandarización de la técnica cromatográfica	35
8.1.1. Optimización de condiciones de detección por espectrometría de masas	35
8.1.2. Selección de columna.....	35
8.1.3. Optimización de gradiente de elución.....	36
8.1.4. Método de procesamiento de muestras.....	36
8.2. Validación del método analítico.....	36
8.2.1. Selectividad	37
8.2.3. Efecto de matriz.....	37
8.2.3. Linealidad	37
8.2.4. Límites de detección y cuantificación	37
8.2.5. Efecto de acarreo	38
8.2.6. Precisión y exactitud.....	38
8.2.7. Estabilidad	38
8.2.8. Efecto de anticoagulantes, matriz lipémica y hemolizada.....	39
8.3. Protocolo de monitorización	39
8.4. Implementación del programa de monitorización a escala piloto.....	39
8.4.1. Características de la población.....	39
8.4.2. Uso general de antibióticos.....	40
8.4.3. Hallazgos en las monitorizaciones realizadas	40
• 8.4.3.1. Fármaco A	40
• 8.4.3.2. Fármaco B	41
• 8.4.3.3. Fármaco C	41
• 8.4.3.4. Fármaco D	41
• 8.4.3.5. Fármaco E	41

• 8.4.3.6. Fármaco F	42
• 8.4.3.7. Fármaco G.....	42
• 8.4.3.7. Fármaco H.....	43
9. Discusión.....	44
10. Conclusiones	53
11. Bibliografía	55
Glosario	66

1. Introducción

Las enfermedades infecciosas han representado un problema de salud importante a lo largo de la historia y el surgimiento de los antibióticos ha permitido combatir estas enfermedades y disminuir su mortalidad, particularmente en población infantil. Estas enfermedades continúan siendo relevantes a pesar de los avances en el tratamiento y, dentro de la población infantil, hay subpoblaciones vulnerables especialmente susceptibles a infecciones, incluyendo pacientes con fibrosis quística, VIH, enfermedades oncológicas, en tratamiento con inmunosupresores, entre otros. (1,2) Estas infecciones, tanto las adquiridas en la comunidad como las derivadas de la atención hospitalaria, pueden conducir a complicaciones médicas severas, prolongando los tiempos de hospitalización y potencialmente poniendo en riesgo la vida de los pacientes. (1,3,4) Por lo anterior, los antibióticos son de los fármacos más prescritos y su uso se extiende a pacientes de todas las edades. Los pacientes pediátricos engloban una población heterogénea que se puede dividir en subpoblaciones de acuerdo con la edad. Dadas las dificultades de realizar ensayos clínicos y estudios farmacocinéticos en pediatría, el uso y dosificación de medicamentos en pediatría comienza extrapolando información farmacocinética de estudios realizados en adultos durante el proceso de aprobación y, posteriormente, de estudios más especializados que se realizan después de que los medicamentos entran al mercado. Aún cuando se realizan estudios farmacocinéticos en subpoblaciones pediátricas, los resultados pueden variar entre distintas regiones geográficas y centros de salud. Debido a esto, estrategias de dosificación personalizada como la monitorización terapéutica de fármacos, pueden ser útiles para asegurar que se alcancen objetivos terapéuticos y evitar efectos adversos asociados a sobredosificación. En este trabajo, se implementó un programa de monitorización de antibióticos, desde el desarrollo de un método analítico para cuantificar antibióticos en plasma, hasta una evaluación a escala piloto donde se exploraron los beneficios que esta práctica clínica puede proporcionar a pacientes pediátricos hospitalizados a nivel local.

2. Antecedentes

2.1. Uso de antibióticos en pediatría

Los antibióticos son uno de los grupos de fármacos de uso más frecuente en pediatría. Se ha reportado que entre el 25 y 40% de los pacientes pediátricos hospitalizados reciben tratamiento antimicrobiano durante su estancia hospitalaria. (5,6) La cantidad de antibióticos disponibles para el tratamiento de infecciones es muy amplia y la selección de un agente antimicrobiano depende de si se conoce el agente causal, del sitio de la infección, de patrones de resistencia observados localmente y del estado de salud del paciente. (7)

A pesar del frecuente uso de antibióticos en el ambiente pediátrico, es complicado establecer los criterios de dosificación en esta población antes de su aprobación debido a las dificultades para realizar estudios farmacocinéticos en un gran número de pacientes menores de edad (8,9):

- Al existir distintas subpoblaciones pediátricas, es necesario estratificar por grupos de edad, lo que incrementa el número de pacientes requeridos para realizar los estudios.
- El volumen y número de muestras de sangre está limitado, especialmente en estratos de menor edad.
- Puede haber dificultad para que los pacientes y sus familiares accedan a participar en estudios farmacocinéticos, por la invasividad que representa la toma de múltiples muestras de sangre.

Debido a estos retos, la dosificación inicial de medicamentos en población infantil se extrapola a partir de los datos disponibles en adultos y constituye un uso *off label*, es decir, como una extensión de los usos para los que un medicamento fue aprobado, con base en la evidencia científica disponible. (8) Los esquemas de dosificación en pediatría suelen refinarse a través de estudios farmacocinéticos después de la aprobación. Sin embargo, está reportado que aún falta evidencia para establecer regímenes de dosificación en pediatría que se puedan generalizar a nivel

global, existiendo una alta variabilidad entre centros de salud de distintos países. Lo anterior es un problema importante que enfrenta el personal de salud especializado y crea la necesidad de validar las dosis entre poblaciones. (7,10,11)

2.2. Cambios fisiológicos que modifican la farmacocinética en pacientes pediátricos

La variabilidad farmacocinética se debe a características propias de cada paciente, tales como la edad, sexo, peso, factores genéticos, factores ambientales, así como los estados patológicos y la situación clínica. En pediatría, la farmacocinética está además influenciada por los cambios fisiológicos asociados con el crecimiento y maduración de órganos y sistemas que modifican directamente los mecanismos de absorción, distribución, metabolismo y eliminación (ADME) del fármaco. Algunos de los aspectos fisiológicos relevantes para la farmacocinética que cambian con la edad son:

- La superficie de absorción en el tracto gastrointestinal (relativa al tamaño corporal) y el pH gástrico.
- El porcentaje de agua corporal y tejido adiposo.
- La concentración de proteínas plasmáticas.
- El grado de expresión y actividad de las enzimas del metabolismo de primera y segunda fase.
- La tasa de filtración glomerular, reabsorción y secreción tubular.

Los cambios en estos aspectos fisiológicos son más marcados durante los primeros dos años de vida. Sin embargo, cada parámetro fisiológico alcanza la madurez en distintas edades a lo largo de la niñez, algunos (como la actividad de algunas enzimas del citocromo P-450) hasta la adolescencia. Basándose en estas diferencias de edad, es importante distinguir entre subpoblaciones pediátricas: neonatos, neonatos prematuros, lactantes (menores a dos años), escolares (menores a 12 años) y adolescentes (menores a 18 años). (8,10)

Además de las diferencias farmacocinéticas entre subpoblaciones pediátricas, algunas condiciones patológicas de pacientes en estado crítico (p. ej. daño renal,

aclaramiento renal aumentado, trastornos ácido-base, hipoproteinemia, etc.) pueden alterar los procesos ADME.

2.3. Optimización de los esquemas de dosificación de fármacos en pediatría

Dada la alta variabilidad farmacocinética entre subpoblaciones pediátricas, existen varias estrategias para establecer los esquemas de dosificación en estas poblaciones.

2.3.1. Escalamiento alométrico

La alometría estudia la variación entre las dimensiones anatómicas y fisiológicas de los seres vivos y su correlación. El escalamiento alométrico del volumen de distribución y el aclaramiento es la manera más sencilla de extrapolar estos parámetros farmacocinéticos de adultos a población pediátrica. En estos modelos, se asume una relación directa entre parámetros antropométricos y los parámetros farmacocinéticos. Típicamente se considera que el volumen de distribución sigue una relación lineal directa con el peso corporal, por lo que se relaciona con el volumen de un adulto promedio (70 kg) elevando a un exponente alométrico de 1, con la forma: $V_{d\text{ pediátrico}} = V_{d\text{ adulto}} \left(\frac{\text{Peso}}{70\text{ kg}}\right)^1$. En contraste, el aclaramiento renal se relaciona con el peso corporal elevando a un exponente de 0.75 ($CL_{\text{pediátrico}} = CL_{\text{adulto}} \left(\frac{\text{Peso}}{70\text{ kg}}\right)^{0.75}$). Este enfoque es práctico, únicamente requiriendo conocer el peso del paciente para establecer esquemas de dosificación. Sin embargo, no se consideran los cambios fisiológicos en todo el rango de edades de los pacientes pediátricos ni las vías de eliminación de cada fármaco en particular (adicionales a la excreción renal). Debido a esto, no siempre son los más adecuados para predecir el comportamiento de fármacos en poblaciones distintas a las estudiadas inicialmente. (10,12)

2.3.2. Modelos farmacocinéticos basados en fisiología (PB/PK)

Los modelos PB/PK constituyen un enfoque mecanístico *in silico* que considera todos los factores posibles que pueden influir en la disposición del fármaco por el organismo, tales como las características fisicoquímicas del fármaco (tamaño molecular, solubilidad, propiedades ácido-base), forma farmacéutica, vías de

administración, tamaño y maduración de órganos, flujo sanguíneo, concentración de proteínas en plasma y tejidos, actividad de enzimas y transportadores, permeabilidad de membranas, etc. Estas simulaciones basadas en conocimiento actual de la fisiología permiten simular el comportamiento farmacocinético y farmacodinámico tanto en plasma como tejidos diana, incorporando los cambios que ocurren con la edad desde el momento del nacimiento -e incluso aquellos cambios fisiológicos derivados de patologías particulares- a los modelos matemáticos. Estos modelos son particularmente útiles para predecir el comportamiento que se encontrará al extrapolar el uso de medicamentos a distintas poblaciones antes de realizar estudios farmacocinéticos. (13,14)

2.3.3. Modelos de farmacocinética poblacional

Los modelos farmacocinéticos poblacionales proporcionan una guía inicial para establecer regímenes de dosificación en poblaciones especiales. Estos describen el comportamiento medio en poblaciones específicas con información farmacocinética real. También pueden incorporar principios de fisiología y alometría al encontrarse correlación entre los parámetros farmacocinéticos y covariables que representen de manera directa o indirecta la fisiología, tales como peso, edad, sexo, medicación concomitante, comorbilidades, marcadores de función hepática y renal, etc. Los modelos pediátricos en particular suelen realizarse en subpoblaciones pediátricas muy particulares (ej, solo en neonatos, lactantes, escolares, etc), o bien incluir la edad como una de las principales covariables que describen el comportamiento farmacocinético. A pesar de los retos asociados a la realización de estos modelos, descritos anteriormente, constituyen una de las herramientas más precisas para diseñar esquemas de dosificación en poblaciones pediátricas, incluso con enfermedades específicas (neoplasias hematológicas, fibrosis quística, apendicitis, tuberculosis, etc.).

2.3.4. Monitorización terapéutica de fármacos

La monitorización terapéutica de fármacos es una práctica clínica rutinaria en la cual se miden concentraciones plasmáticas de fármacos administrados en un número limitado de muestras sanguíneas (una o dos), para conocer si se están alcanzando

concentraciones dentro del margen terapéutico. La monitorización de fármacos integra principios de farmacocinética poblacional, características del paciente y las concentraciones plasmáticas obtenidas. Este enfoque permite una farmacoterapia personalizada, dado que incorpora información farmacocinética de cada paciente de manera individual. (15,16)

Mediante esta estrategia, es posible la estimación de los parámetros farmacocinéticos individuales sin un perfil completo de concentraciones realizando un ajuste bayesiano. Este ajuste consiste en una estimación inicial (*a priori*), donde se utilizan parámetros medios de modelos poblacionales y las covariables de cada paciente (peso, edad, creatinina sérica, etc.). Posteriormente, al tener una concentración plasmática, los parámetros farmacocinéticos son recalculados, obteniéndose estimaciones individuales *a posteriori*, con las cuales se puede evaluar si las concentraciones se encuentran dentro del rango terapéutico en un paciente en particular y simular los perfiles farmacocinéticos que resultarían de cambios en el esquema de dosificación en caso de ser necesario.

2.4. Monitorización terapéutica de antibióticos

2.4.1. Objetivos farmacoterapéuticos de los antibióticos

La posibilidad de ajustar de manera individual la dosis de diferentes fármacos antimicrobianos a partir de la determinación de sus concentraciones en plasma o suero ha constituido uno de los avances importantes en el tratamiento de infecciones graves.

Inicialmente, el objetivo de monitorizar las concentraciones plasmáticas de antibióticos era evitar efectos tóxicos por sobredosificación o ineficacia por infradosificación. Tradicionalmente, los antibióticos que se han monitorizado en la práctica clínica son el fármaco H (un glicopéptido) y aminoglucósidos (amikacina, gentamicina, tobramicina), pues presentan un margen terapéutico estrecho, con efectos nefro- y ototóxicos. Actualmente se está debatiendo la importancia de monitorizar otros grupos de antimicrobianos (como β -lactámicos, antifúngicos, etc.) y se han propuesto diferentes objetivos farmacocinéticos/farmacodinámicos (PK/PD) en lugar de márgenes terapéuticos tradicionales, con la finalidad de

prevenir la multirresistencia en infecciones intrahospitalarias y ambulatorias. (6) Estos parámetros PK/PD se calculan a partir de las concentraciones plasmáticas de los antimicrobianos y la concentración mínima inhibitoria (CMI) del microorganismo patógeno. La efectividad de cada antimicrobiano o grupo de antimicrobianos se asocia con alguno de los siguientes índices PK/PD:

- Cociente de área bajo la curva de concentración plasmática de fármaco contra tiempo sobre concentración mínima inhibitoria (AUC/CMI) (fluoroquinolonas, macrólidos, tetraciclinas, glicopéptidos).
- Cociente de concentración plasmática máxima de fármaco sobre concentración mínima inhibitoria ($C_{m\acute{a}x}/CMI$) (aminoglucósidos).
- Porcentaje del intervalo de dosificación en el que las concentraciones de fármaco libre en plasma se mantienen por encima de la concentración mínima inhibitoria ($fT > CMI$) (β -lactámicos, lincosamidas).

La relación entre los parámetros PK/PD y la eficacia antimicrobiana depende de la disposición del fármaco, el microorganismo y la localización de la infección. (5,10,11,17,18)

2.4.2. Métodos de análisis empleados para la monitorización de antibióticos

Las técnicas comúnmente utilizadas para determinar las concentraciones de fármacos se basan en inmunoensayos o métodos cromatográficos.

Los métodos inmunológicos más comunes son radioinmunoensayos, ensayos inmunoenzimáticos, ensayos inmunoabsortivos acoplados a enzimas (ELISA) o ensayos de polarización fluorescente. Los inmunoensayos ofrecen la ventaja de ser rápidos, de bajo costo y alta sensibilidad, aunque es fácil que compuestos endógenos o metabolitos de los fármacos presenten reacciones cruzadas con los anticuerpos e interfieran con la cuantificación. (15)

Los ensayos cromatográficos, tales como la cromatografía líquida de alta resolución con detectores de espectroscopía ultravioleta ultravioleta-visible o de fluorescencia (HPLC-UV/FLUO), son ampliamente utilizados en estudios farmacocinéticos, aunque su uso para la monitorización rutinaria se puede ver limitado por los grandes volúmenes de muestra requeridos, procesamiento complejo de muestras y un largo tiempo de ejecución. (19) Sin embargo, los métodos cromatográficos han

evolucionado en años recientes y una alternativa para resolver estas desventajas, son los métodos de cromatografía de líquidos de ultra alta resolución acoplados a espectrometría de masas en tándem (UPLC-MS/MS) para medir diferentes antibióticos en suero o plasma. La alta sensibilidad de estos métodos de análisis facilita el uso de volúmenes pequeños de muestra ($\leq 100 \mu\text{L}$ de plasma o suero sanguíneo) y la especificidad de la detección por espectrometría de masas en tándem permite la cuantificación de múltiples fármacos simultáneamente a partir de una sola muestra, hecho que es particularmente ventajoso para pacientes polimedicados. (20–22) Además de las ventajas para el análisis cuantitativo de fármacos en matrices biológicas convencionales como plasma o suero sanguíneo, la creciente accesibilidad de estas técnicas analíticas altamente sensibles y específicas ha facilitado la cuantificación de fármacos en matrices biológicas obtenidas mediante técnicas de micromuestreo menos invasivas que la punción venosa tradicional, tales como: saliva, sudor, orina, cabello o sangre capilar recolectada en dispositivos capilares (micromuestreo absortivo volumétrico) o tarjetas de papel filtro (gotas de sangre seca). (16) Estos tipos de micromuestreo poco invasivos facilitan la monitorización de fármacos y pueden ser una buena alternativa para facilitar la monitorización y estudios farmacocinéticos en población pediátrica.

3. Justificación

El monitoreo terapéutico de fármacos contribuye de manera importante al uso racional de medicamentos. La optimización personalizada de los esquemas de dosificación puede ayudar a lograr los objetivos terapéuticos, disminuir la probabilidad de presentar efectos adversos y reducir los tiempos de hospitalización. Los pacientes pediátricos, especialmente aquellos en estado crítico, se pueden beneficiar de la monitorización de antimicrobianos dada la situación de vulnerabilidad en que se encuentran y a la alta variabilidad farmacocinética entre subpoblaciones pediátricas. Además de prevenir la aparición de efectos adversos, la monitorización de estos fármacos puede asegurar que se logren objetivos PK/PD que eviten el surgimiento de microorganismos resistentes a antimicrobianos.

A pesar de que se ha demostrado ampliamente la importancia de esta práctica, México presenta un considerable atraso en la implementación de unidades especializadas en la monitorización de fármacos y en la interpretación farmacocinética de las concentraciones de fármacos en fluidos biológicos. En este contexto, es evidente la necesidad de establecer protocolos de monitorización que proporcionen información suficiente para la optimización de la terapia con un número limitado de muestras de sangre, así como desarrollar técnicas analíticas que requieran volúmenes de muestra pequeños. En este trabajo, se estandarizó e implementó un método de UPLC-MS/MS para la cuantificación simultánea en plasma de ocho antimicrobianos comúnmente utilizados en pediatría (fármaco A, fármaco C, fármaco D, fármaco E, fármaco F, fármaco G y fármaco H).

El establecimiento de estrategias de muestreo y análisis de este tipo permitirán superar algunos de los retos asociados a la monitorización de fármacos en población pediátrica. Además de la optimización farmacoterapéutica individual, los datos farmacocinéticos obtenidos podrán representar un punto de partida para desarrollar modelos poblacionales y validar criterios de dosificación de antimicrobianos en pacientes del servicio de Pediatría del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”.

4. Hipótesis

Mediante la implementación de un programa piloto para la monitorización antibióticos en pacientes de pediatría, se logrará optimizar la terapia antimicrobiana en este grupo de pacientes de manera individual y se evidenciarán los beneficios de la monitorización de estos fármacos para este grupo de pacientes en el Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”.

5. Objetivo General

Implementar un protocolo de monitorización farmacocinética para diferentes antibióticos en pacientes pediátricos.

6. Objetivos Específicos

- Estandarizar y validar un método para la cuantificación de fármaco A, fármaco B, fármaco C, fármaco D, fármaco E, fármaco F, fármaco G y fármaco H en plasma sanguíneo por UPLC-MS/MS.
- Desarrollar un protocolo de muestreo para la monitorización farmacocinética para cada uno de estos antibióticos en pacientes de pediatría, con base en estudios farmacocinéticos previos.
- Cuantificar e interpretar las concentraciones plasmáticas de los diferentes antibióticos en pacientes de pediatría del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” de acuerdo con los objetivos PK/PD definidos para cada antibiótico.
- Con base en los resultados obtenidos, determinar la necesidad y los beneficios de la monitorización de antibióticos en el servicio de pediatría del hospital.

7. Metodología

7.1. Desarrollo del método analítico para la cuantificación de antibióticos en plasma sanguíneo mediante UPLC-MS/MS

7.1.1. Materiales y equipo

Se adquirieron materiales de referencia certificados de Sigma-Aldrich:

- Fármaco A trihidratado.
- Hidrocloruro de Fármaco B.
- Fármaco C.
- Fármaco D.
- Fármaco E.
- Fármaco F.
- Hidrocloruro de Fármaco H.
- Fármaco G sódico, estándar analítico.

Los disolventes utilizados en el sistema cromatográfico fueron:

- Agua desionizada.
- Acetonitrilo grado espectrometría de masas.
- Ácido fórmico 98%.

Todos los disolventes fueron filtrados a través de membranas de nylon con poro de 0.2 μm de diámetro antes de ser colocados en los reservorios del sistema de bombeo.

Para la preparación de soluciones stock se utilizó:

- Agua grado HPLC.
- Acetonitrilo grado HPLC.
- Metanol grado HPLC.

Para preparar soluciones en matriz biológica, se utilizó plasma blanco (libre de fármacos) anticoagulado con solución CPD (citrato-fosfato-dextrosa).

Para la estandarización y validación del método cromatográfico, se utilizó un sistema Waters Acquity UPLC Clase H con un sistema de bombeo cuaternario (Quaternary Solvent Manager) y un autoinyector de muestras (FTN Sample Manager), acoplado a un espectrómetro de masas en tándem (Xevo TQD). El sistema fue operado con el software MassLynx v.4.1. Para la preparación de soluciones stock, los reactivos fueron pesados en una balanza analítica.

7.1.2. Estandarización de técnica cromatográfica

- 7.1.2.1. Preparación de soluciones stock

Para preparar soluciones stock, se pesó el equivalente a 1 mg de cada antibiótico base considerando sus pesos moleculares y la pureza de los estándares. Los reactivos pesados fueron disueltos en un volumen de disolvente apropiado de acuerdo con sus solubilidades. Posteriormente estos fueron llevados a concentraciones de 1 mg/mL, aforando en matraces volumétricos de 1 mL con agua grado HPLC (para la estandarización de las condiciones cromatográficas) o plasma (para establecer el método de extracción de matriz biológica y para la validación analítica). Las soluciones preparadas se separaron en alícuotas y, aquellas que no se utilizaron al momento de prepararse, se almacenaron a -80 °C.

- 7.1.2.2. Preparación de curva de calibración y controles de calidad para la cuantificación de antibióticos

Para preparar los estándares de la curva de calibración y los controles, se preparó una mezcla de trabajo a partir de las soluciones stock 1 mg/mL en plasma. La mezcla de trabajo en plasma contenía a los fármacos A, C, D, E, F, G y H 50 µg/mL, así como fármaco B 20 µg/mL.

Se prepararon por separado dos mezclas de trabajo, una para elaborar la curva de calibración y otra para muestras control de concentración baja, media y alta (MCB, MCM y MCA). La curva de calibración se preparó con 8 concentraciones.

- 7.1.2.3. Condiciones de detección por espectrometría de masas

Se establecieron las condiciones óptimas de ionización por electrospray de cada antibiótico en modo positivo, así como las condiciones de fragmentación. Se prepararon soluciones de trabajo de 1 µg/mL de cada antibiótico en viales UPLC por separado y en mezcla, utilizando agua como disolvente. Se trabajó con una inyección combinada de fase móvil desde la columna (50% acetonitrilo y 50% ácido fórmico 0.1% en agua) y las soluciones de trabajo preparadas al espectrómetro de masas. Se utilizó un flujo de fase móvil de 0.1 mL/min y un flujo de inyección de solución de trabajo de 10 µL/min.

Se seleccionaron las condiciones de desolvatación (flujo de gas nitrógeno y temperatura de desolvatación) de acuerdo con las condiciones de elución cromatográfica y el voltaje de capilar de manera que se produjeran señales adecuadas en cada antibiótico. Las condiciones de ionización (voltaje de cono) y fragmentación (energía de colisión) para las transiciones iónicas de cada antibiótico fueron optimizadas automáticamente con la herramienta IntelliStart del software MassLynx v.4.1. Las masas de los iones precursores y los fragmentos, así como las condiciones de ionización y fragmentación, fueron además verificadas modificando estos parámetros manualmente hasta obtener los parámetros que resultaran en una mayor señal.

- 7.1.2.4. Condiciones de separación cromatográfica

Para establecer las condiciones de separación cromatográfica se prepararon en agua soluciones de trabajo de 10 µg/mL de los antibióticos en mezcla y por separado (para verificar que no produjeran señal analítica en los canales de los demás antibióticos).

Se probó un gradiente experimental de disolventes en tres columnas distintas:

- Waters Acquity BEH-Phenyl (2.1 x 100 mm, 1.7 µm)
- Waters Acquity BEH C-18 (2.1 x 100 mm, 1.7 µm)
- Waters Acquity HSS-T3 (2.1 x 100 mm, 1.8 µm)

Se trabajó con una elución en gradiente con los disolventes A (acetonitrilo) y B (ácido fórmico 0.1% en agua) a un flujo de 0.3 mL/min. El gradiente inicial de disolventes se muestra en la Figura 1. Cada columna fue mantenida a una temperatura de 35°C y el automuestreador a 10°C durante los análisis; el volumen de inyección fue de 10 µL.

Después de seleccionar la columna más adecuada para la separación cromatográfica, el gradiente de elución inicial fue modificado de acuerdo con los tiempos de retención obtenidos, la forma de los picos de cada antibiótico, optimizando el tiempo de reacondicionamiento y reduciendo los tiempos de corrida.

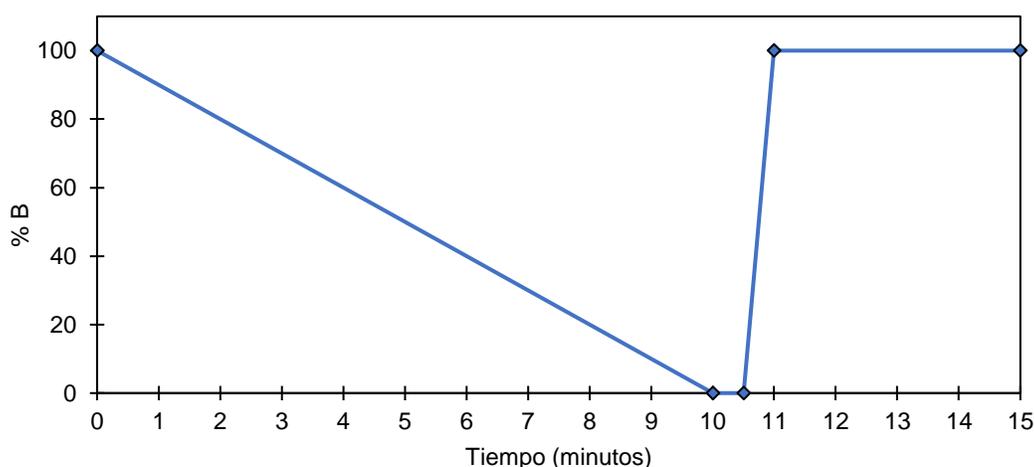


Figura 1. Gradiente experimental utilizado para comparar la separación cromatográfica de los antibióticos en diferentes columnas.

%B: Proporción de solución acuosa de ácido fórmico 0.1%.

7.1.3. Método de procesamiento de muestras (plasma sanguíneo)

Se realizaron diferentes pruebas para estandarizar un método sencillo de extracción de los antibióticos a partir de muestras plasmáticas, el cual incluyó las siguientes consideraciones:

- Precipitación de proteínas con acetonitrilo.
- Centrifugado de las muestras para separar las proteínas precipitadas.
- Dilución del sobrenadante con agua. Se evaluaron diluciones desde 1:2 a 1:9 y se evaluó tanto la forma de los picos y la señal analítica.

7.1.4. Validación del método analítico

Una vez establecidas las condiciones cromatográficas, de espectrometría de masas y el método de procesamiento de muestras de plasma, se procedió a la validación del método analítico. Las características de desempeño del método se evaluaron con base a los lineamientos de la Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2013, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. (23) Esta norma está además en concordancia con la Guía para la Industria de Validación de Métodos Bioanalíticos de la *Food and Drug Administration*. (24) La validación fue realizada en tres corridas independientes de análisis, cada una efectuada en un día distinto. Los parámetros de validación evaluados fueron los siguientes:

- Selectividad: Se analizaron seis muestras de plasma blanco (libres de los antibióticos en estudio) para demostrar que no existen interferencias de compuestos endógenos. Respuestas analíticas (áreas) cercanas a los tiempos de retención de los antibióticos deben ser menores al 20% de la respuesta del límite inferior de cuantificación (LIC).
- Linealidad: Cada corrida de análisis se prepararon soluciones stock en plasma, así como mezcla de trabajo y una curva de calibración, construida al menos seis concentraciones y un blanco de plasma. Cada punto de la curva de calibración fue procesado por triplicado. Se construyeron las curvas de calibración de todos los antibióticos con un modelo lineal y ponderación 1/x. Las concentraciones recuperadas de los calibradores deben encontrarse entre $\pm 15\%$ de su concentración nominal ($\pm 20\%$ para el LIC). Esto último debe cumplirse para al menos un 75% de los puntos de la curva de calibración.
- Límites de detección y cuantificación: Tomando la señal analítica promedio de seis blancos de matriz y las pendientes de las curvas de calibración, se calculó el límite de detección (LD) y el límite de cuantificación (LC) con las siguientes ecuaciones:

Ecuación 1

$$LD = \frac{\text{Señal promedio del blanco} + 3 * \text{Desviaciones estándar}}{\text{Pendiente de la curva de calibración}}$$

Ecuación 2

$$LC = \frac{\text{Señal promedio del blanco} + 10 * \text{Desviaciones estándar}}{\text{Pendiente de la curva de calibración}}$$

- **Efecto de matriz:** Se analizaron seis MCB y MCA preparadas en solución acuosa, así como en plasma blanco procesado (adición post-extracción). Para cada nivel de concentración, se calculó el factor matriz con la Ecuación 3. El coeficiente de variación de las réplicas del factor matriz debe ser menor a 15%.

Ecuación 3. Cálculo del factor matriz.

$$\text{Factor Matriz} = \frac{\text{Respuesta del analito en matriz procesada}}{\text{Respuesta del analito en solución acuosa}}$$

- **Efecto de acarreo:** Se inyectó un blanco de plasma antes del límite superior de cuantificación (LSC). Después, se inyectaron tres blancos de plasma. La respuesta analítica de estos blancos debe ser menor al 20% de la respuesta promedio del LIC.
- **Precisión y exactitud:** En cada corrida de análisis se prepararon MCM, MCB y MCA. Las muestras control, así como el LIC, fueron procesados por quintuplicado. La exactitud fue evaluada con el porcentaje de desviación de la concentración recuperada (concentración obtenida al interpolar en la curva de calibración) con respecto a la concentración nominal de cada control. La precisión fue evaluada con el coeficiente de variación de las cinco réplicas de cada control. Los porcentajes de desviación y coeficientes de variación deben ser menores a $\pm 15\%$ ($\pm 20\%$ para el LIC).
- **Repetibilidad:** La precisión y exactitud fueron evaluadas en cada corrida de análisis (intra-ensayo, $n = 5$). Adicionalmente se procesó por quintuplicado una muestra control diluida (MCD), que corresponde a una mezcla de trabajo con concentraciones mayores a los límites superiores de cuantificación de la

curva de calibración. La mezcla de antibióticos concentrada fue diluida añadiendo 200 µL de mezcla y 800 µL de plasma blanco (factor de dilución = 5) y esta mezcla diluida fue procesada por quintuplicado para evaluar precisión y exactitud.

- Reproducibilidad: Se evaluó la precisión y exactitud tomando los datos de todas las corridas de análisis (inter-ensayo, n = 15).
- Estabilidad en ciclos congelación-descongelación: Se prepararon tres juegos de MCB, MCM y MCA, los cuáles fueron sometidos a uno, dos y tres ciclos de congelación a -80 °C (condiciones en las que se almacenaron las muestras de los pacientes hasta su análisis) y descongelación. Se dejaron las muestras en congelación un tiempo mínimo de 12 horas en cada ciclo. Las muestras control fueron procesadas por triplicado después de su último ciclo de descongelación.
- Estabilidad en automuestreador: Las muestras control de una de las corridas analíticas fueron reinyectadas después de 24 horas de procesarse e introducir al automuestreador, el cual se encuentra a 10 °C.
- Estabilidad a mediano plazo: Se preparó un juego de muestras control y se almacenó a -80 °C inmediatamente después de prepararse. Este fue descongelado y procesado por triplicado después de 60 días.
- Efectos de distintos anticoagulantes y muestra lipémica y hemolizada. Se procesaron blancos y MCB y MCA preparados en plasma obtenido con ácido etilendiaminotetraacético bipotásico (K₂EDTA) y heparina de litio. Para analizar matriz lipémica y hemolizada se procesaron blancos y MCM.

7.2. Establecimiento de protocolos de monitorización

Se elaboraron fichas de monitorización para cada antibiótico, para tener una guía de muestreo e interpretación de las concentraciones plasmáticas obtenidas. Las fichas contienen la siguiente información:

- Estructura química del fármaco
- Nombres comerciales
- Formas farmacéuticas
- Vías de administración
- Indicaciones terapéuticas
- Mecanismo de acción
- Farmacocinética
- Factores fisiopatológicos que alteran la farmacocinética
- Parámetros farmacocinéticos básicos
- Alteraciones de los parámetros farmacocinéticos
- Interacciones medicamentosas de importancia clínica
- Margen terapéutico
- Tiempos de muestreo
- Interpretación de niveles plasmáticos
- Modelos poblacionales de referencia

Considerando la información recopilada en las fichas de monitorización, los objetivos PK/PD y las concentraciones esperadas, se establecieron los tiempos de muestreo óptimos para cada antibiótico. Dado el muestreo limitado en pediatría, estos tiempos se diseñaron para evaluar el cumplimiento de objetivos terapéuticos con una sola muestra y una segunda muestra permitiría una estimación más precisa de los parámetros PK.

7.3. Diseño del estudio clínico

7.3.1. Lugar de realización del estudio

El trabajo fue realizado en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, en colaboración con el servicio de Pediatría del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”.

El estudio realizado fue de tipo observacional, de carácter prospectivo, analítico y transversal.

7.3.2. Universo de estudio

Pacientes pediátricos mayores a 2 años de edad, en tratamiento con uno o varios de los siguientes fármacos: fármaco A, fármaco B, fármaco C, fármaco D, fármaco E, fármaco F, fármaco G y/o fármaco H.

7.3.3. Criterios de selección de pacientes

- Criterios de inclusión:
 - Pacientes de entre 2 y 18 años de edad.
 - Tratamiento con uno o varios de los siguientes fármacos antimicrobianos: fármaco A, fármaco B, fármaco C, fármaco D, fármaco E, fármaco F, fármaco G, fármaco H.
 - Consentimiento de padres o tutores para participar en el estudio, así como el asentimiento de pacientes mayores a 12 años de edad.
- Criterios de eliminación
 - Limitaciones técnicas para la obtención y/o procesamiento de las muestras sanguíneas.
 - Retiro voluntario del estudio.

7.3.4. Variables de estudio

Tabla 1. Variables que se registraron en el estudio.

Variables dependientes				
Variable	Definición operacional	Valores posibles	Unidades	Tipo de variable
Concentración plasmática	Medición de las concentraciones en plasma sanguíneo mediante UPLC-MS/MS.	0.2 a 300 (dependiendo del fármaco)	µg/mL	Cuantitativa, continua.
Variables independientes				
Variable	Definición operacional	Valores posibles	Unidades	Tipo de variable
Dosis de fármaco administrada	Información obtenida a partir de expediente clínico y hoja de indicaciones.	50 a 4000 (dependiendo del fármaco)	mg	Cuantitativa, continua
Tiempo de muestreo	Tiempo transcurrido entre la administración del fármaco y la toma de muestra sanguínea.	0.5 a 48 (dependiendo del fármaco)	horas	Cuantitativa, continua
Variables de Control				
Variable	Definición operacional	Valores posibles	Unidades	Tipo de variable
Medicación concomitante	Información obtenida a partir de expediente clínico y hoja de indicaciones.	Nombre de los fármacos administrados	NA	Cualitativa, nominal
Sexo	Fenotipo que distingue al ser humano entre hombre y mujer.	Masculino Femenino	NA	Cualitativa, nominal
Edad	Tiempo desde la fecha de nacimiento hasta la inclusión en el estudio.	2 a 17	años	Cuantitativa, discreta

Peso	Representa la masa total del cuerpo.	10 – 120	kg	Cuantitativa, continua
Talla	Medición de la longitud del cuerpo.	40 a 200	cm	Cuantitativa, continua
Índice de Masa Corporal	Índice del peso de una persona en relación con su altura.	≥ 15	kg/m ²	Cuantitativa, continua
Creatinina sérica	Biomarcador de la función renal.	0.2 a 2.0	mg/dL	Cuantitativa, continua
Aclaramiento de creatinina	Calculado a partir de la creatinina sérica (fórmula de Schwartz).	15 a 200	mL/min/ 1.73 m ²	Cuantitativa, continua
Hemoglobina	Proteína intraeritrocitaria transportadora de oxígeno.	10 a 18	mg/dL	Cuantitativa, continua
Hematocrito	Proporción del volumen de los eritrocitos en el volumen total de sangre.	30 a 55	% v/v	Cuantitativa, continua
Eritrocitos	Células sanguíneas transportadoras de oxígeno.	3.5 a 6	M/ μ L	Cuantitativa, continua
Leucocitos	Células del sistema inmunológico circulantes en sangre periférica.	0 a 20	K/ μ L	Cuantitativa, continua
Plaquetas	Células implicadas en la coagulación de la sangre.	50 a 450	K/ μ L	Cuantitativa, continua
Albúmina	Proteína más abundante en plasma sanguíneo.	2.5 a 5.5	g/dL	Cuantitativa, continua

7.3.5. Muestreo

El estudio se realizó a escala piloto, monitorizando a pacientes pediátricos bajo tratamiento antimicrobiano durante el periodo de marzo a junio de 2022, mediante un muestreo no probabilístico consecutivo por conveniencia.

7.3.6. Aspectos éticos

- La participación de los pacientes consistió en donar una o dos muestras de sangre venosa periférica, lo cual constituye una investigación con riesgo mínimo de acuerdo con el Artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigaciones para la Salud. (25)
- Se informó a los pacientes, así como a sus padres o tutores, sobre los riesgos y beneficios de su participación en el estudio, así como el manejo de los datos obtenidos del expediente clínico y uso de los resultados del estudio.
- En caso de que accedieran a participar en el estudio, se solicitó a los responsables del menor de edad su autorización por escrito mediante la firma del consentimiento informado correspondiente, además del asentimiento en caso de que el paciente fuera mayor de 12 años de edad.
- En caso de que algún participante decidiera retirarse del estudio, fue posible revocar el consentimiento informado firmando el formato correspondiente sin que esto tuviera repercusiones en la atención médica que el paciente recibió.
- El trabajo fue aprobado por el Comité de Investigación y el Comité de Ética en Investigación del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” así como el Comité de Ética en Investigación y Docencia de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

7.4. Procedimiento de toma de muestra para la monitorización

Se tomaron de una a dos muestras de sangre completa en los tiempos establecidos para cada antibiótico. Las muestras fueron tomadas mediante venopunción en la vena basílica, cefálica o antecubital, a nivel del antebrazo o el dorso de la mano de acuerdo con la accesibilidad de las venas. Se recolectaron al menos 500 µL de sangre en tubos BD Microtainer™ (o bien en tubos BD Vacutainer™ de 4 mL, de acuerdo con la edad de los pacientes) con anticoagulante K₂EDTA.

Las muestras fueron transportadas en hielera al laboratorio y centrifugadas a 11 000 rpm por 15 minutos a 4°C (3 100 rpm por 15 minutos a 4°C para tubos de 4 mL). El plasma fue transferido a tubos eppendorf y almacenado a -80 °C hasta su análisis durante un periodo no mayor a dos meses.

7.5. Interpretación de resultados

La interpretación de las concentraciones plasmáticas se basó en el cálculo de índices PK/PD de cada antibiótico. Para calcular estos índices es necesario estimar los parámetros farmacocinéticos individuales y conocer la concentración mínima inhibitoria de los microorganismos. Los objetivos PK/PD de cada antibiótico están descritos en las fichas de monitorización.

7.5.1. Estimación bayesiana de parámetros farmacocinéticos

La estimación de los parámetros farmacocinéticos de cada paciente se realizó con el software ABBOTTBASE Pharmacokinetics Systems (PKS) v.1.10, utilizando los parámetros medios de modelos poblacionales publicados como estimaciones *a priori*. Con las concentraciones plasmáticas obtenidas, se obtuvieron los parámetros farmacocinéticos individuales *a posteriori* mediante ajuste bayesiano.

Los modelos de referencia se seleccionaron siguiendo los siguientes criterios:

- Similitud con las características demográficas y clínicas de la población de estudio (edad, patologías específicas, etc.).
- Complejidad de los modelos matemáticos, dando prioridad a modelos que incluyan covariables fáciles de obtener, fisiológicamente plausibles, y

expresadas con funciones matemáticas simples (lineales o proporcionales) para facilitar la configuración de éstos en PKS.

- Ajuste y concordancia de las predicciones con las concentraciones observadas en los pacientes incluidos. Esto se evaluó revisando el número de iteraciones necesarias para ajustar los parámetros farmacocinéticos individuales y la suma de cuadrados obtenida en las estimaciones.

7.5.2. Concentraciones mínimas inhibitorias de los microorganismos

Las concentraciones mínimas inhibitorias utilizadas para calcular los índices PK/PD se tomaron de los resultados reportados por el laboratorio clínico en caso de contar con un microorganismo aislado y pruebas de susceptibilidad antimicrobiana para cada paciente. En caso contrario, los objetivos PK/PD se calcularon con los puntos de corte epidemiológico (ECOFF) tomados de las distribuciones de CMI publicadas por el Comité Europeo para las Pruebas de Susceptibilidad a Antimicrobianos (26). Se consideró para cada antibiótico, el ECOFF del agente infeccioso probable más resistente, con la CMI de mayor valor, excepto para los fármacos D y H, para los cuales se consideró una CMI de 2 mg/L y 1 mg/L, respectivamente.

7.5.3. Predicciones para ajuste de dosis

Para los pacientes cuyas concentraciones no cumplieran con los objetivos PK/PD o que alcanzaran concentraciones tóxicas, se realizaron sugerencias de ajuste del esquema de dosificación. Los parámetros farmacocinéticos individuales *a posteriori*, permitieron simular los perfiles de concentración de los antibióticos al cambiar dosis, intervalos de dosificación o duración de infusiones intravenosas. Se seleccionaron los esquemas de dosificación más adecuados y se emitieron las recomendaciones al personal médico en un reporte de resultados.

8. Resultados

8.1. Estandarización de la técnica cromatográfica

8.1.1. Optimización de condiciones de detección por espectrometría de masas

Las condiciones de desolvatación e ionización seleccionadas de acuerdo con las características de elución cromatográfica y las señales de los analitos fueron las siguientes:

- Modo de ionización: Electrospray positivo
- Voltaje de capilar: 2.84 kV
- Flujo de gas de desolvatación (nitrógeno): 1000 L/h
- Temperatura de la fuente: 150°C
- Temperatura de desolvatación: 500 °C
- Gas de colisión: Argón

Para cada antibiótico, se seleccionaron los parámetros de ionización (voltaje de cono) y fragmentación (energía de colisión) para la detección por monitoreo de reacciones múltiples (MRM).

8.1.2. Selección de columna

Se analizaron los cromatogramas obtenidos a partir del gradiente experimental en las columnas Acquity BEH-Phenyl, Acquity BEH-C18 y Acquity HSS-T3, respectivamente. En la columna Acquity Phenyl se obtuvieron tiempos de retención de entre 2.93 y 5.55 minutos. En esta columna, se observan picos dobles para todos los antibióticos. En la columna Acquity BEH-C18 los antibióticos eluyeron entre 3.34 y 5.73 minutos, mientras que en la columna Acquity HSS-T3 los tiempos de retención estuvieron entre 3.70 y 6.32 minutos. Dada la forma de los picos en la columna BEH-Phenyl, ésta se descartó para la separación de los antibióticos en estudio. La forma de los picos fue similar entre las columnas BEH-C18 y HSS-T3, con la diferencia que algunos de los picos en columna BEH-C18 se observan

coleados (fármaco B, fármaco E, fármaco D, fármaco C, fármaco F y fármaco G). De acuerdo con la forma de los picos de cada antibiótico, se seleccionó la columna HSS-T3 para continuar con las siguientes etapas de desarrollo del método.

8.1.3. Optimización de gradiente de elución

El gradiente de elución inicial (Figura 1) fue modificado para optimizar la forma de los picos, la separación de compuestos, reducir el tiempo de corrida y establecer un tiempo de reequilibrio óptimo para la columna. Las modificaciones en el gradiente incluyeron una disminución de la proporción de fase acuosa en las condiciones iniciales (de 100% a 90%), cuatro rampas y una reducción en el tiempo de reequilibrio de la columna. El flujo de fase móvil se mantuvo en 0.3 mL/min y la temperatura de la columna a 35°C. El volumen de inyección fue reducido de 10 a 5 µL para la mezcla de antibióticos preparada en agua. Con estas modificaciones el tiempo de corrida se redujo de 15 a 8 minutos. Se obtuvieron tiempos de retención de entre 1.40 y 4.55 minutos para todos los antibióticos.

8.1.4. Método de procesamiento de muestras

El método final de procesamiento de muestras consistió en precipitar proteínas plasmáticas con acetonitrilo (proporción plasma:acetonitrilo 1:1) y centrifugar el sobrenadante tres veces para remover cualquier partícula que quede suspendida. Después de la última centrifugación es necesario diluir el sobrenadante con agua, pues la presencia de 50% de acetonitrilo en la mezcla puede deformar los picos de algunos compuestos de alta polaridad. Se probaron distintos factores de dilución con agua HPLC, desde 1:2 a 1:9 y se eligió el factor de dilución con el que la forma de los picos no se viera deformada, manteniendo señales analíticas adecuadas. Se seleccionó un factor de dilución 1:7. El volumen de inyección de la muestra procesada fue de 10 µL.

8.2. Validación del método analítico

Después de estandarizar las condiciones cromatográficas, de espectrometría de masas y el método de extracción, se planeó y realizó la validación de la técnica de bioanálisis previamente descrita para la cuantificación de fármaco A, fármaco B,

fármaco C, fármaco D, fármaco E, fármaco F, fármaco G y fármaco H en plasma de acuerdo con la NOM 177 SSA1 2013.

8.2.1. Selectividad

Se analizaron 6 muestras blanco de plasma para demostrar la no interferencia de compuestos endógenos en la matriz biológica. La respuesta analítica de las muestras blanco cerca del tiempo de retención de los analitos fue menor al 20% de la respuesta del límite inferior de cuantificación (LIC) para todos los antibióticos.

Adicionalmente, se evaluó la posible interferencia de otros fármacos administrados comúnmente en pediatría al analizar las muestras de los pacientes (analgésicos, profilácticos gástricos, antiepilépticos, otros antibióticos, etc.). En todos los casos la señal fue menor al 20% de la señal del LIC (excepto para el fármaco monitorizado).

8.2.3. Efecto de matriz

Se analizaron seis muestras control de concentración baja (MCB) y muestras control de concentración alta (MCA) preparadas en solución acuosa, así como en matriz blanco procesada. El cociente de las respuestas analíticas en matriz y en solución (factor matriz, FM) debe tener un **coeficiente de variación menor al 15%**. Este parámetro se cumplió para todos los antibióticos.

8.2.3. Linealidad

Se prepararon por triplicado curvas de calibración con ocho puntos de concentración. Para todos los antibióticos una relación lineal (forma $y = mx + b$) describió entre el área del pico y la concentración, con ponderación $1/x$. El método demostró ser lineal para todos los antibióticos (coeficiente de determinación $r^2 > 0.99$). Además, las concentraciones recuperadas de cada estándar deben tener **desviaciones menores a $\pm 15\%$ de su concentración nominal ($\pm 20\%$ para el LIC)**.

8.2.4. Límites de detección y cuantificación

Con la Ecuación 1 y la Ecuación 2, se calcularon los límites de detección y cuantificación, respectivamente. Los valores obtenidos para cada antibiótico son menores a los límites inferiores de cuantificación de las curvas de calibración.

8.2.5. Efecto de acarreo

Se inyectaron tres muestras blanco de matriz después de inyectar el límite superior de cuantificación (LSC). La señal del blanco fue menor al 20% de la señal del LIC para todos los antibióticos.

8.2.6. Precisión y exactitud

Se prepararon y procesaron por quintuplicado muestras control de concentración baja, media y alta (MCB, MCM y MCA), así como el LIC. La precisión se evaluó comparando la concentración recuperada de cada control (interpolada en una curva de calibración) con la concentración nominal de cada control, cuya desviación debe ser **menor a $\pm 15\%$ ($\pm 20\%$ para el LIC)**. La precisión se evaluó con el coeficiente de variación de las réplicas de cada control, el cual debe ser **menor a $\pm 15\%$ ($\pm 20\%$ para el LIC)**.

La precisión y exactitud fue evaluada en tres corridas analíticas distintas, en las cuales se procesaron curvas de calibración y controles recién preparados. La precisión y exactitud se reportan intra-ensayo (repetibilidad en cada corrida independiente, $n = 5$) e inter-ensayo (reproducibilidad en las tres corridas, $n = 15$). Adicionalmente, en una de las corridas se evaluaron por quintuplicado muestras control diluidas (MCD).

8.2.7. Estabilidad

Se evaluó por triplicado la precisión y exactitud de muestras control en las siguientes condiciones:

- Ciclos de congelación-descongelación (-80°C)
- Muestras procesadas en el automuestreador (10°C) por 24 horas
- Congelación por dos meses (-80°C)

Se demostró estabilidad por 24 horas en el automuestreador para todos los antibióticos. Los fármacos A, C, E, F, G y H son estables después de tres ciclos de congelación-descongelación, mientras los fármacos B y D solo son estables después de dos ciclos.

En las pruebas de estabilidad a mediano plazo, algunos controles se desvían más del 15% de la concentración nominal para el fármaco B y el fármaco E. Sin embargo, al ser desviaciones positivas no se considera que éstas se deban a inestabilidad. Las MCM del fármaco H tienen una desviación promedio de -25.2%. Sin embargo, también presentan un coeficiente de variación elevado y más del 67% de todos los controles de fármaco H cumplieron con los criterios de aceptación. Todos los antibióticos demostraron ser estables a -80°C por al menos 2 meses.

8.2.8. Efecto de anticoagulantes, matriz lipémica y hemolizada

Se procesaron por triplicado MCBs y MCAs en plasma anticoagulado con K₂EDTA y heparina de litio, así como MCMs en plasma lipémico y hemolizado. El fármaco C presentó incrementos en la señal en el plasma lipémico y hemolizado, con desviaciones ligeramente mayores al 15% de la concentración nominal.

Los fármacos A y H presentaron una disminución considerable en la señal en matriz anticoagulada tanto con K₂EDTA como heparina. Este problema se resolvió preparando curvas de calibración en plasma con K₂EDTA al analizar las muestras de los pacientes bajo tratamiento con estos antibióticos. Se demostró linealidad, precisión y exactitud del fármaco A y del fármaco H en una corrida analítica bajo estas condiciones.

8.3. Protocolo de monitorización

Se definieron los tiempos para dos muestras: uno prioritario, el cual proporciona información sobre el cumplimiento de objetivos PK/PD y uno secundario que ayuda a mejorar la estimación de los parámetros farmacocinéticos individuales sin ser indispensable para la monitorización.

8.4. Implementación del programa de monitorización a escala piloto

8.4.1. Características de la población

Se monitorizaron pacientes de entre 2 y 18 años de edad, y se destaca la frecuencia de infecciones en pacientes oncológicos inmunosuprimidos, los cuales constituyen a más de la mitad de los pacientes. El segundo diagnóstico más común es

apendicitis aguda, seguida de otros como estatus epiléptico y tuberculosis ganglionar.

8.4.2. Uso general de antibióticos

Se llevó un registro de los antibióticos utilizados en el área de Pediatría Escolares e Infectología Pediátrica durante el periodo de marzo a junio de 2022, independientemente de si se monitorizaron o no. Esto se realizó con el fin de analizar los patrones de prescripción de antibióticos y evaluar la necesidad de modificar la selección de antibióticos del programa de monitorización.

Los fármacos G, F, H, D, E, y B son prescritos con regularidad, mientras que el uso del fármaco C y fármaco A es menos frecuente. No todos los pacientes bajo tratamiento antibiótico fueron monitorizados, dado que en algunas ocasiones no se obtuvo el consentimiento de sus padres o tutores, por dificultades para la toma de muestra, o bien porque el registro se realizó justo antes del término del tratamiento y egreso de los pacientes.

Además, destaca la prescripción frecuente de antibióticos que no se incluyeron en el programa de monitorización, tales como cefepime, amikacina trimetoprim/sulfametoxazol y ceftriaxona.

8.4.3. Hallazgos en las monitorizaciones realizadas

Se estableció que era necesario un cambio en el esquema de dosificación en poco más de la mitad de las monitorizaciones realizadas. En la mayoría de estos casos, los ajustes propuestos se debieron a un incumplimiento de objetivos PK/PD, mientras que en el resto se recomendaron reducciones de dosis por sobredosificación. Se resumen a continuación los ajustes propuestos para cada antibiótico.

- 8.4.3.1. Fármaco A

No se monitorizó ningún paciente bajo tratamiento con fármaco A. Sólo un paciente recibió fármaco A/fármaco J durante el periodo de estudio, pero no se logró monitorizar por imposibilidad de toma de muestra.

- 8.4.3.2. Fármaco B

Ningún paciente bajo tratamiento con fármaco B requirió un ajuste de dosis. Los esquemas de dosificación de fármaco B varían de 20 a 40 mg/kg/día divididos en cuatro dosis, para tratamiento profiláctico o infección sospechada/confirmada respectivamente. En todos los casos se cumplió el objetivo PK/PD de $fT > CMI > 50\%$, considerando una CMI de 0.25 mg/L, representativa de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. (26)

- 8.4.3.3. Fármaco C

De los pacientes bajo tratamiento con fármaco C, ninguno requirió ajuste de dosis con la dosis estándar de 6 mg/kg/día (precedida de una dosis de carga de 12 mg/kg/día). En todos se cumplió el objetivo de $AUC_{24h}/CMI > 50$ h considerando CMIs de hasta 2 mg/L, representativas de especies susceptibles de *Candida*, como *C. albicans*, *C. dubliniensis* y *C. tropicalis*.

- 8.4.3.4. Fármaco D

La mayoría bajo tratamiento con fármaco D requirieron algún ajuste en las dosis con los esquemas típicos de dosificación (30 mg/kg/día divididos en dos o tres dosis, máximo 1200 mg diarios). Algunos se encontraron sobredosificados, con concentraciones plasmáticas pre-dosis mayores a 20 mg/L ($AUC_{24h} > 280$ mg*h/L). Otros no alcanzaron el objetivo de AUC_{24h}/CMI de 100 h y en dos de ellos la recomendación de dosis solo fue suficiente para cumplir el objetivo PK/PD contra microorganismos con CMIs hasta de 1 mg/L.

- 8.4.3.5. Fármaco E

La mayoría pacientes a quienes se les monitorizó fármaco E no cumplieron el objetivo de $fT > CMI > 40\%$ o 70% (eligiendo el objetivo de 70% en pacientes inmunosuprimidos), con las dosis estándar de 90 mg/kg/día divididos en tres dosis. Se asumió una CMI de 2 mg/L representativa de *Pseudomonas aeruginosa* en caso de no contar con un microorganismo aislado. (26) Al ser el Fármaco E un antibiótico β -lactámico con actividad tiempo – dependiente, prolongar los tiempos de infusión hasta tres o cuatro horas fue una recomendación común. Sin embargo, en dos de los pacientes se consideró que además de prolongar los tiempos de infusión, era

necesario incrementar las dosis para asegurar el cumplimiento de objetivos PK/PD. Ninguno de los pacientes alcanzó concentraciones valle tóxicas.

- 8.4.3.6. Fármaco F

Algunos pacientes bajo tratamiento con dosis estándar de fármaco F (30 mg/kg/día divididos en tres dosis) no alcanzaron el objetivo de $AUC_{24h}/CMI > 80$ h, considerando una CMI de 8 mg/L representativa de microorganismos anaerobios como *Bacteroides fragilis*, (26). En un paciente se sugirió un ligero incremento en la dosis. En otro paciente la concentración plasmática se desvió demasiado de los modelos poblacionales publicados y no fue posible simular el perfil farmacocinético con esquemas de dosificación distintos, por lo que se sugirió un incremento empírico de la dosis a criterio del médico tratante.

- 8.4.3.7. Fármaco G

De los pacientes bajo tratamiento con fármaco G/fármaco I, la mayoría no cumplieron el objetivo PK/PD de un fT/CMI mayor al 50% o 70%, con las dosis estándar de Fármaco G de 300 mg/kg/día divididos en cuatro dosis. Se asumió una CMI de 16 mg/L, representativa de *Pseudomonas aeruginosa*. (26) Se seleccionó el objetivo PK/PD de acuerdo con el estado de salud de los pacientes. Considerando que los pacientes inmunosuprimidos (que constituyeron a la mayoría de los pacientes bajo tratamiento con fármaco G) son más susceptibles a complicaciones derivadas de las infecciones sospechadas o confirmadas, en estos casos se optó por el objetivo de $fT > CMI > 70\%$. El resto de los pacientes sí cumplieron el objetivo PK/PD, pero algunos alcanzaron concentraciones máximas tóxicas (mayores a 150 mg/L), por lo que en éstos fue necesario reducir la dosis diaria a la mitad.

Dada la actividad antimicrobiana tiempo-dependiente del fármaco G, se estableció que en los pacientes que no cumplieran los objetivos PK/PD, éstos se alcanzarían modificando los tiempos de infusión sin ser necesario un incremento en las dosis. Los tiempos de infusión típicos se encuentran entre una y dos horas, dependiendo de los criterios del personal de enfermería, mientras que las simulaciones realizadas con los parámetros farmacocinéticos individuales sugieren que tiempos de infusión

de hasta cuatro horas pueden llegar a ser necesarios para alcanzar objetivos PK/PD.

- 8.4.3.7. Fármaco H

El esquema de dosificación estándar de fármaco H (40 mg/kg/día, máximo 2 g diarios divididos en cuatro dosis), resultó ser insuficiente para alcanzar el objetivo PK/PD de AUC_{24h}/CMI de 400 h en la mayoría de los pacientes monitorizados considerando una CMI de 1 mg/L. En la mayoría de los reportes de resultados se sugirió incrementar la dosis hasta 60 - 80 mg/kg/día. Ningún paciente estuvo sobredosificado.

9. Discusión

La monitorización terapéutica de fármacos es un enfoque de dosificación personalizado de especial importancia para la terapia antimicrobiana. Aunque tradicionalmente solo los antibióticos particularmente tóxicos como Fármaco H y aminoglucósidos se han monitorizado por su perfil de seguridad, se ha propuesto recientemente que otros grupos de antimicrobianos también pueden ser candidatos a monitorización, dada la creciente resistencia a antibióticos facilitada por exposiciones subterapéuticas. Aunado a lo anterior, en pediatría la optimización individual de la antibioterapia adquiere relevancia por la farmacocinética variable a través de la edad, la falta de un consenso en esquemas de dosificación en diferentes centros de salud y la importancia de asegurar objetivos terapéuticos. Por lo anterior, se desarrolló el programa de monitorización desde la estandarización y validación del método de cuantificación de antibióticos en plasma hasta la planeación de protocolos de monitorización que incluyeron esquemas de muestreo e interpretación de resultados, para demostrar la factibilidad y necesidad de implementar esta práctica clínica en el servicio de pediatría del Hospital Central.

El método cromatográfico desarrollado demostró ser útil para su aplicación en la monitorización de antibióticos, debido a las ventajas inherentes a las técnicas de UPLC-MS/MS. La especificidad del método hace posible la cuantificación de múltiples analitos en una sola corrida analítica, en comparación con métodos cromatográficos con otros tipos de detección como espectrofotometría UV-visible o refractometría, donde la resolución de varios compuestos sería un reto y probablemente se requerirían varias corridas independientes para cada antibiótico. (19,27) Esto permitió incluir un panel amplio de ocho antibióticos simultáneamente en el programa de monitorización en corridas cromatográficas de ocho minutos.

Además de la reducción en tiempos de análisis, existe una ventaja evidente para los pacientes que estuvieron bajo tratamiento con dos o hasta tres de los antibióticos en estudio, pues fue posible cuantificarlos todos simultáneamente. Esto permitió optimizar el volumen de muestra utilizado, aspecto que adquiere particular relevancia en el entorno pediátrico, pues la obtención de muestras de sangre puede

ser un reto importante, especialmente en pacientes de menor edad a quienes se les toman menos muestras y de menor volumen. El método desarrollado permite aprovechar los bajos volúmenes de muestra (100 µL de plasma) disponibles para la cuantificación. A pesar de estas ventajas, aún es posible validar el uso de volúmenes menores de muestra, manteniendo las mismas proporciones de disolventes durante el procesamiento. (20,28)

Durante el periodo de estudio clínico, se obtuvo información valiosa de los patrones de prescripción de antibióticos y las monitorizaciones realizadas. Seis de los ocho antibióticos incluidos en el programa de monitorización son utilizados con regularidad, con excepción del fármaco C y el fármaco A, que se prescribieron en dos y una ocasión respectivamente; mientras que los fármacos B, D, E, F, G y H son usados con frecuencia. Estos patrones de prescripción están relacionados con el tipo de diagnósticos e infecciones de los pacientes pediátricos hospitalizados. Uno de los diagnósticos más frecuentes en pacientes que recibieron antibióticos es la fiebre neutropénica, que es una emergencia médica en pacientes oncológicos inmunosuprimidos. El tratamiento antibiótico empírico incluye cefepime, fármaco G/fármaco I o fármaco E para cubrir microorganismos gramnegativos (*Pseudomonas. aeruginosa* y *Enterobacteriaceae*) y -en casos en presencia de catéter venoso central, choque séptico o mucositis- fármaco H o fármaco D para microorganismos grampositivos (*Staphylococcus. aureus* y estafilococos coagulasa negativos, estreptococos β-hemolíticos y *Enterococcus faecalis*). (3) Si no existe mejoría, se puede recurrir a tratamiento antifúngico con fármaco C, en sospecha de *Candida albicans* o *Candida tropicalis*.

El segundo diagnóstico más frecuente es apendicitis aguda. Tanto el proceso de apendicitis como el tratamiento quirúrgico (apendicectomía), conllevan un riesgo de infección al entrar en contacto el interior del tracto gastrointestinal con la cavidad abdominal, un sitio estéril. Debido a esto, se inicia un doble esquema antibiótico, con fármaco F y amikacina (o ceftriaxona) para cubrir microorganismos anaerobios (frecuentemente *Bacteroides fragilis*) y gramnegativos (*Enterobacteriaceae*), respectivamente. (29)

En los dos diagnósticos más comunes, el tratamiento antibiótico incluye seis de los antibióticos en estudio (fármaco C, fármaco D, fármaco E, fármaco F, fármaco G y fármaco H). Además de éstos, el fármaco B es un antibiótico con cobertura de patógenos grampositivos y anaerobios cuya frecuencia de prescripción es comparable con la del fármaco E o fármaco D para infecciones de tejido blando y como tratamiento empírico o profiláctico en infecciones orales.

En contraste, el fármaco A es muy poco utilizado dentro del hospital. Su uso principal es para tratar infecciones poco complicadas por organismos grampositivos en pacientes ambulatorios. El fármaco A está indicado en pacientes oncológicos con fiebre neutropénica cuando se considera que un paciente es de “bajo riesgo”. Sin embargo, se tienen que cumplir criterios estrictos para considerar que un paciente con fiebre y neutropenia es de bajo riesgo (edad mayor a un año, sin neoplasias hematológicas ni comorbilidades, sin alteraciones hemodinámicas, neutrófilos mayores a 100/ μ L y plaquetas mayores a 50 000/ μ L). La mayoría de los pacientes se consideran de alto riesgo y se tratan con antibióticos de primera línea como fármaco H y fármaco D.

Considerando únicamente el uso de antibióticos en las distintas áreas de la división de pediatría, los antibióticos incluidos en el método analítico parecen cubrir las necesidades del Hospital Central. Sin embargo, es necesario determinar si realmente es necesario monitorizarlos. Los requisitos que deben cumplir los fármacos para ser candidatos a monitorización son: 1) no tener disponible un marcador de eficacia clínica; 2) existir correlación entre el perfil farmacocinético y el efecto farmacológico; 3) poseer un margen terapéutico estrecho; 4) tener una farmacocinética variable; 5) que los tratamientos sean de larga duración y 6) debe haber consecuencias claras de una infra- o sobredosificación. (16) Los resultados obtenidos en el estudio proporcionan la evidencia inicial para priorizar los antibióticos que se deben monitorizar.

Los pacientes incluidos bajo tratamiento con Fármaco B no requirieron ajustes de dosis, y existen factores que se deben considerar al interpretar las concentraciones plasmáticas. El parámetro PK/PD que describe la eficacia del fármaco B es el $fT >$

CMI, por lo que es importante una buena estimación de la unión a proteínas plasmáticas. Típicamente, es aceptable asumir un porcentaje de unión a proteínas fijo al evaluar el cumplimiento de objetivos PK/PD cuando este valor es bajo y poco variable. Sin embargo, la unión de Fármaco B a α_1 -glicoproteína ácida (α_1 -gpa) es muy variable, rondando entre el 60 y 92% dependiendo de las concentraciones de α_1 -gpa y fármaco B total. (30) Las concentraciones de α_1 -gpa varían con la edad y, al ser esta una proteína de fase aguda, sus concentraciones se encuentran elevadas durante procesos infecciosos. El modelo de ontogenia de α_1 -gpa de Maharaj y cols. (31) se utilizó junto con datos de unión a proteínas en adultos sanos y con infección, (30) para estimar las concentraciones de fármaco B libre en los pacientes. A pesar de que las estimaciones realizadas tienen un fundamento fisiológico, el cálculo de $fT > CMI$ es muy sensible a éstas en fármacos con elevada unión a proteínas y cuantificar concentraciones de fármaco B libre proporcionaría una predicción más precisa del cumplimiento del objetivo PK/PD. La información disponible acerca de los efectos tóxicos es limitada y, en estudios previos que han investigado la seguridad del fármaco B no se reportan efectos adversos directamente relacionados con las concentraciones plasmáticas, (32,33) por lo que el fármaco B no se considera de margen terapéutico estrecho. Si a lo anterior se suma el hecho de que la duración de los tratamientos suele ser corta (cinco días o menos) y muchos pacientes egresan del hospital para continuar el tratamiento por vía oral, posiblemente la monitorización de fármaco B no sea una práctica crítica.

Al igual que en el caso del fármaco B, ninguno de los pacientes bajo tratamiento con fármaco C requirió un ajuste de dosis, todos alcanzando el objetivo PK/PD de AUC_{24h}/CMI de 50 h. Es importante destacar que estos fueron los resultados considerando CMIs de hasta 2 mg/L, que son los valores esperados dados las especies de *Candida* más comunes de acuerdo con el EUCAST (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**). Sin embargo, se ha reportado que pacientes de oncología con tratamiento antifúngico requieren una cobertura de microorganismos con CMI de hasta 8 mg/L. (34,35) Este objetivo terapéutico más estricto no se alcanzó en los pacientes monitorizados, por lo que en los informes de resultados se reportaron las recomendaciones de dosificación de acuerdo con cada

especie de *Candida* y su respectiva CMI. El personal médico decidió no hacer cambios en las dosis al ver que las dosis de 6 mg/kg/día utilizadas en el hospital son suficientes contra *C. albicans* y *C. tropicalis* y los pacientes presentaron buena respuesta al tratamiento. Se ha descrito que la monitorización de fármaco C no es necesaria incluso en pacientes inmunocomprometidos, dada su baja variabilidad farmacocinética en comparación con otros antifúngicos. (36,37) Los autores que discuten sobre la monitorización de fármaco C, concluyen que utilizar dosis entre 8 y 12 mg/kg/día es suficiente para alcanzar objetivos PK/PD contra cepas de *Candida* con CMIs de 8 mg/L sin preocupación de presentar efectos tóxicos, puesto que no se ha reportado una concentración plasmática a partir de la cual exista un riesgo de toxicidad evidente. (34) Sin embargo, sería pertinente adquirir información en más pacientes para verificar la necesidad de monitorizar fármaco C o, en su defecto, modificar los criterios de dosificación actuales.

El fármaco F, típicamente se administra por vía intravenosa a pacientes con apendicitis aguda y post-operados de apendicectomía. Estos pacientes suelen recuperarse del procedimiento quirúrgico en cinco días o menos y continúan el tratamiento con fármaco F fuera del hospital en cuanto toleran la vía oral, por lo que pudiera parecer que el fármaco F no requiere monitorizarse. Sin embargo, ajustes de dosis fueron necesarios en dos pacientes con un comportamiento diferente al habitual, que no alcanzaron el objetivo PK/PD de AUC_{24h}/CMI de 70 h. Uno de ellos tardó más de siete días en recuperarse del post-operatorio, lo cual puede relacionarse con el incumplimiento de objetivos terapéuticos. El segundo caso fue un paciente post-operado de transposición intestinal, un procedimiento notablemente más complicado que una apendicectomía. Esto indica que a pesar de que los pacientes bajo tratamiento con fármaco F suelen tener una recuperación rápida (dado el padecimiento que tienen), la monitorización terapéutica puede estar indicada en pacientes más graves para asegurar el éxito del tratamiento.

En cuanto al fármaco D, este fármaco mostró un comportamiento más variable respecto los demás antibióticos, encontrando un número similar de casos de sobredosificación e intradosificación. El fármaco D, a diferencia de los antibióticos

que se han discutido hasta el momento, es de margen terapéutico estrecho. Su objetivo PK/PD es un $AUC_{24h}/CMI > 100$ h, por lo que el AUC_{24h} debe superar 100 o 200 mg^*h/L para cubrir grampositivos con CMIs de 1 y 2 mg/L , respectivamente, mientras que valores de AUC_{24h} mayores a 280 mg^*h/L están relacionados con efectos tóxicos hematológicos y oculares. (38) Además del AUC_{24h} , el margen terapéutico puede definirse con concentraciones valle entre 2 y 8 mg/L . (39,40) Los pacientes presentaron AUC_{24h} desde 78 hasta 658 mg^*h/L y concentraciones valle entre 0.5 y 27 mg/L con las dosis estándar de 30 $mg/kg/día$, por lo que la amplia variabilidad farmacocinética, aunada al estrecho margen terapéutico del fármaco D justifica su monitorización en pacientes pediátricos.

Se observaron patrones similares en los fármacos E y G, con un número importante de pacientes que no alcanzaron objetivos terapéuticos. Estos dos antibióticos β -lactámicos son de actividad antimicrobiana tiempo-dependiente y el objetivo PK/PD es el $fT > CMI$, aunque no existe un consenso en los valores de este parámetro. Estudios farmacodinámicos iniciales indican que un $fT > CMI$ mayor a 40% y 50% son necesarios para asegurar la actividad bactericida de fármaco E y fármaco G, respectivamente. (41–51) Sin embargo, reportes basados en observaciones clínicas consideran que son necesarios valores más altos de $fT > CMI$, desde un 70% hasta 100%. (41,44,46,48,51–58) Para fines de este trabajo, se definió un objetivo de $fT > CMI$ de 70% en pacientes inmunosuprimidos (que constituyeron la mayoría de los pacientes monitorizados con estos antibióticos), pues en estos casos es crítico asegurar una exposición suficiente al antibiótico. La mayoría de los pacientes no alcanzaron el objetivo PK/PD y se recomendó prolongar la duración de las infusiones intravenosas. Esta práctica ya se ha explorado y se ha reportado que puede ayudar a alcanzar $fT > CMI$ suficientes para patógenos con CMIs elevadas. (59) Las predicciones con los parámetros farmacocinéticos individuales en la población de estudio indican que las infusiones prolongadas permiten mantener concentraciones superiores a la CMI por un mayor tiempo, especialmente considerando las semividas de eliminación cortas de estos dos antibióticos y el aclaramiento renal aumentado (definido como un aclaramiento de creatinina mayor a 130 $mL/min/1.73m^2$) que pueden presentar los pacientes críticos o con neoplasias

hematológicas. (60) Sin embargo, algunos factores como la estabilidad del fármaco E a temperatura ambiente después de reconstituir o un número limitado de accesos venosos en pacientes polimedicados, pueden limitar la factibilidad de administrar los antibióticos en infusiones prolongadas o continuas. Es además importante considerar la potencial toxicidad de estos dos antibióticos. Aunque se consideraba que los β -lactámicos son seguros, recientemente se ha descrito el potencial nefro- y neurotóxico de las cefalosporinas, fármaco G y fármaco E, (61,62) especialmente en coadministración con otros agentes como fármaco H y antiinflamatorios no esteroideos. Algunos de los pacientes en tratamiento con fármaco G/fármaco I alcanzaron concentraciones máximas tóxicas, siendo posible reducir las dosis a la mitad y mantener un $fT > CMI$ mayor al 70% sin modificar los tiempos de infusión. El principal obstáculo para implementar la monitorización de β -lactámicos en la práctica clínica rutinaria es la falta de un consenso en el objetivo de $fT > CMI$ apropiado. (52) Los resultados de este estudio demuestran que un número importante de pacientes no alcanzan objetivos terapéuticos de fármaco G y fármaco E. No obstante, puede debatirse si es necesario monitorizar estos antibióticos o si administrarlos en infusiones prolongadas como práctica estándar sería suficiente para alcanzar objetivos PK/PD, aunque el hecho de haber encontrado pacientes sobredosificados podría justificar este enfoque personalizado de dosificación.

El fármaco H es un antibiótico que por su toxicidad, se monitoriza de rutina en centros de salud que cuentan con unidades de farmacocinética clínica, en donde los ajustes de dosis se realizan conociendo las concentraciones valle o estimando el AUC_{24h} . (59) Los resultados de la monitorización de fármaco H revelan una frecuente infradosificación en la población pediátrica estudiada, pues solamente un paciente alcanzó el objetivo PK/PD de AUC_{24h}/CMI de 400 h. Este patrón parece indicar que las dosis estándar de Fármaco H en el Hospital Central (40 mg/kg/día, divididos en cuatro dosis) no son suficientes para alcanzar objetivos terapéuticos. Este esquema de dosificación coincide con recomendaciones reportadas de 40 – 60 mg/kg/día, (59,63) aunque se ha descrito que pacientes pediátricos con tumores malignos sólidos o hematológicos pueden requerir dosis diarias de hasta 80 o 90 mg/kg para alcanzar AUC_{24h} de 400 mg*h/L. (64,65), lo que concuerda con las

sugerencias emitidas para los pacientes monitorizados en este trabajo. A pesar de los resultados obtenidos, es necesario obtener más información farmacocinética del fármaco H a nivel local para poder validar nuevos esquemas de dosificación iniciales que se puedan generalizar para la población pediátrica, aunque esto no eliminará la necesidad de monitorizar niveles plasmáticos. (66)

Con la información obtenida de los ocho antibióticos, puede concluirse que su monitorización es importante en pacientes pediátricos, aunque en diferente medida para cada uno:

- **Fármaco D, fármaco E, fármaco G y fármaco H** fueron los antibióticos que requirieron más ajustes de dosis, por lo que se considera que son de mayor prioridad de monitorización.
- La monitorización del **fármaco F** puede adquirir importancia en casos especiales en los cuales los pacientes no respondan al tratamiento y no necesariamente como una práctica de rutina.
- A pesar de que no se requirieron ajustes de dosis del **fármaco C**, es necesario muestrear a un mayor número de pacientes para evaluar la necesidad la monitorización, particularmente en pacientes inmunosuprimidos que pudieran requerir exposiciones altas al antifúngico.
- La monitorización del **fármaco B** parece no ser crítica dado el tipo de pacientes en que se utiliza, aunque para asegurar esta aseveración podría ser necesario monitorizar a más pacientes y cuantificar Fármaco B libre.
- El **fármaco A** fue el antibiótico de menor prioridad de monitorización por su bajo uso hospitalario.

El siguiente paso en la monitorización de antibióticos en pediatría podría ser incluir otros antibióticos que no se estudiaron en este trabajo, tales como trimetoprim/sulfametoxazol, cefepime, ceftriaxona y amikacina, pues se observó una prescripción frecuente de éstos y se podría obtener información sobre el alcance de objetivos terapéuticos en un periodo corto de tiempo. Además, se deberán buscar maneras de ampliar el alcance del programa de monitorización a todas las subpoblaciones pediátricas (incluyendo neonatos y lactantes). El trabajo

se realizó con pacientes de dos años en adelante porque, a pesar de que los volúmenes de muestra que se manejan son bajos, la venopunción continúa siendo un procedimiento médico invasivo. La determinación de fármacos en matrices biológicas obtenidas con métodos menos invasivos como el micromuestreo adsorbtivo volumétrico o las gotas de sangre seca, ha adquirido popularidad recientemente para la monitorización y la realización de estudios de farmacocinética poblacional. Cuantificar en este tipo de muestras puede representar un reto, pues antes de poderse aplicar es necesaria una validación analítica más exhaustiva en comparación con los métodos tradicionales, así como una validación clínica que permita demostrar concordancia entre las concentraciones de fármacos en plasma y sangre capilar (pues los objetivos terapéuticos están definidos en plasma/suero sanguíneo). (67,68) No obstante, se espera que los beneficios de estas alternativas de muestreo faciliten la monitorización.

10. Conclusiones

La implementación de un programa de monitorización de antibióticos en el servicio de pediatría del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”, desde el desarrollo del método analítico, diseño de tiempos de muestreo y aplicación de principios de farmacocinética, permitió establecer esquemas de dosificación personalizados para los pacientes. Los resultados obtenidos revelan patrones de prescripción, dosificación y cumplimiento de objetivos terapéuticos, con los cuales fue posible determinar cuáles de los antibióticos de estudio es más importante monitorizar. Más de la mitad de los pacientes monitorizados requirieron algún ajuste en la dosis o forma de administración, la mayoría por una exposición insuficiente para asegurar el efecto antimicrobiano esperado. Este hecho demuestra que la monitorización de un número amplio de antibióticos (no solo los de margen terapéutico más estrecho) es una práctica clínica valiosa en el contexto pediátrico, especialmente considerando el tipo de infecciones presentes en poblaciones vulnerables como son los pacientes de oncología.

El programa de monitorización implementado demostró tener utilidad clínica, aunque aún puede refinarse con modificaciones en el método analítico. El método desarrollado demostró ser lineal, selectivo, preciso y exacto para cuantificar simultáneamente ocho antimicrobianos en 100 μ L de muestra, lo cual es sumamente ventajoso para pacientes pediátricos polimedicados y para facilitar el análisis de varios pacientes en una sola corrida analítica. Sin embargo, aún es posible incluir antibióticos de uso frecuente que no se cuantificaron en este estudio, reducir los volúmenes de muestra y cuantificar en matrices biológicas distintas al plasma, como gotas de sangre seca. Estas modificaciones permitirán evaluar el comportamiento de otros antimicrobianos y ampliar la cobertura del programa de monitorización a más subpoblaciones pediátricas (además de escolares y adolescentes).

Este estudio realizado a escala piloto constituye un acercamiento inicial al comportamiento farmacocinético de varios antimicrobianos en pacientes pediátricos a nivel local, lo cual permitió entender las necesidades de monitorización. Sin

embargo, aunque el principal objetivo fue la farmacoterapia personalizada, este trabajo deja un precedente para futuros estudios más especializados, que pueden incluir el desarrollo de modelos de farmacocinética poblacional, la validación externa de modelos ya publicados, el establecimiento de esquemas de dosificación locales, entre otros.

11. Bibliografía

1. Kara SS, Tezer H, Polat M, Cura Yayla BC, Bedir Demirdağ T, Okur A, et al. Risk factors for bacteremia in children with febrile neutropenia. *Turkish J Med Sci.* 2019;49(4):1198–205.
2. de Moraes-Pinto MI, Ferrarini MAG. Opportunistic infections in pediatrics: when to suspect and how to approach [Internet]. Vol. 96, *Jornal de Pediatria.* Elsevier Editora Ltda; 2020 [citado el 10 de febrero de 2021]. p. 47–57. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31790645/>
3. White L, Ybarra M. Neutropenic Fever. *Hematol Oncol Clin North Am* [Internet]. 2017;31(6):981–93. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2017.08.004>
4. Garcia PCR, Tonial CT, Piva JP. Septic shock in pediatrics: the state-of-the-art [Internet]. Vol. 96, *Jornal de Pediatria.* Elsevier Editora Ltda; 2020 [citado el 10 de febrero de 2021]. p. 87–98. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31843507/>
5. Downes KJ, Hahn A, Wiles J, Courter JD, Vinks AA. Dose optimisation of antibiotics in children: application of pharmacokinetics/pharmacodynamics in paediatrics. *Int J Antimicrob Agents* [Internet]. 2013; Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2013.11.006>
6. Lovegrove MC, Geller AI, Fleming-Dutra KE, Shehab N, Sapiano MRP, Budnitz DS. US Emergency Department visits for adverse drug events from antibiotics in children, 2011-2015. *J Pediatric Infect Dis Soc* [Internet]. el 20 de marzo de 2019 [citado el 10 de febrero de 2021];8(5):384–91. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30137509/>
7. Fusco NM, Nichols K. Common bacterial infections and their treatment in hospitalized pediatric patients. *Am J Heal Pharm.* 2019;76(19):1521–31.
8. Novak E, Allen PJ. Prescribing medications in pediatrics: concerns regarding FDA approval and pharmacokinetics. *Pediatr Nurs.* 2007;33(1):64–70.

9. FDA F and DA. Population Pharmacokinetics Guidance for Industry. 2019.
10. Le J, Bradley JS. Optimizing Antibiotic Drug Therapy in Pediatrics: Current State and Future Needs. *J Clin Pharmacol*. 2018;58(November 2017):S108–22.
11. Rashed AN, Jackson C, Gastine S, Hsia Y, Bielicki J, Standing JF, et al. Pediatric pharmacokinetics of the antibiotics in the access and watch groups of the 2019 WHO model list of essential medicines for children: a systematic review. *Expert Rev Clin Pharmacol* [Internet]. 2019;12(12):1099–106. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/17512433.2019.1693257>
12. Mahmood I. Extrapolation of Drug Clearance in Children ≤ 2 Years of Age from Empirical Models Using Data from Children (> 2 Years) and Adults. *Drugs R D* [Internet]. 2020;20(1):1–10. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s40268-019-00291-2>
13. Wu Q, Peters SA. A Retrospective Evaluation of Allometry, Population Pharmacokinetics, and Physiologically-Based Pharmacokinetics for Pediatric Dosing Using Clearance as a Surrogate. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* [Internet]. el 1 de abril de 2019 [citado el 11 de mayo de 2021];8(4):220–9. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30762304/>
14. Kuepfer L, Niederalt C, Wendl T, Schlender J-F, Willmann S, Lippert J, et al. Applied Concepts in PBPK Modeling: How to Build a PBPK/PD Model. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* [Internet]. el 1 de octubre de 2016 [citado el 26 de agosto de 2021];5(10):516–31. Disponible en: <https://ascpt.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/psp4.12134>
15. Kang JS, Lee MH. Overview of Therapeutic Drug Monitoring. *Korean J Intern Med* [Internet]. 2009 [citado el 9 de junio de 2022];24(1):1. Disponible en: </pmc/articles/PMC2687654/>
16. Ates HC, Roberts JA, Lipman J, Cass AEG, Urban GA, Dincer C. On-Site Therapeutic Drug Monitoring. *Trends Biotechnol* [Internet]. 2020;(April).

Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.03.001>

17. Hartman SJF, Brüggemann RJ, Orriëns L, Dia N, Schreuder MF, de Wildt SN. Pharmacokinetics and Target Attainment of Antibiotics in Critically Ill Children: A Systematic Review of Current Literature [Internet]. Vol. 59, Clinical Pharmacokinetics. Springer International Publishing; 2020. 173–205 p. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s40262-019-00813-w>
18. Allegaert K, Flint R, Smits A. Pharmacokinetic modelling and Bayesian estimation-assisted decision tools to optimize vancomycin dosage in neonates: only one piece of the puzzle. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2019;15(9):735–49.
19. Decosterd LA, Mercier T, Ternon B, Cruchon S, Guignard N, Lahrichi S, et al. Validation and clinical application of a multiplex high performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry assay for the monitoring of plasma concentrations of 12 antibiotics in patients with severe bacterial infections. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci*. el 10 de noviembre de 2020;1157:122160.
20. Magréault S, Leroux S, Touati J, Storme T, Jacqz-aigrain E. UPLC / MS / MS assay for the simultaneous determination of seven antibiotics in human serum – Application to pediatric studies. *J Pharm Biomed Anal* [Internet]. 2019;174:256–62. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.03.004>
21. Barco S, Mesini A, Barbagallo L, Maffia A, Tripodi G, Pea F, et al. A liquid chromatography-tandem mass spectrometry platform for the routine therapeutic drug monitoring of 14 antibiotics : Application to critically ill pediatric patients. *J Pharm Biomed Anal* [Internet]. 2020;186:113273. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113273>
22. Moorthy GS, Vedar C, Zane NR, Downes KJ, Prodell JL, DiLiberto MA, et al. Development and validation of a volumetric absorptive microsampling- liquid chromatography mass spectrometry method for the analysis of cefepime in

human whole blood: Application to pediatric pharmacokinetic study. *J Pharm Biomed Anal* [Internet]. 2020;179(November):113002. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.113002>

23. Diario Oficial de la Federación. NORMA Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2013, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados que realicen las pruebas de intercambiabilidad. Requisitos. 2013.
24. FDA F and DA. Bioanalytical Method Validation. Guidance for Industry. 2018.
25. Diario Oficial de la Federación. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigaciones para la Salud [Internet]. Diario Oficial de la Federación 1987. Disponible en: <http://www.cofepris.gob.mx/MJ/Paginas/Reglamentos.aspx>
26. EUCAST. MIC Breakpoints [Internet]. [citado el 14 de abril de 2021]. Disponible en: <https://mic.eucast.org>
27. Fage D, Deprez G, Fontaine B, Wolff F, Cotton F. Simultaneous determination of 8 beta-lactams and linezolid by an ultra-performance liquid chromatography method with UV detection and cross-validation with a commercial immunoassay for the quantification of linezolid. *Talanta*. el 1 de enero de 2021;221.
28. Bruck F, Roberts MS, Roberts JA, Robertson TA. Simultaneous determination of seven β -lactam antibiotics in human plasma for therapeutic drug monitoring and pharmacokinetic studies. *J Chromatogr B* [Internet]. 2014;960:134–44. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2014.04.029>
29. Child J, Chen X, Mistry RD, Somme S, MacBrayne C, Anderson PL, et al. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties of Metronidazole in Pediatric Patients with Acute Appendicitis: A Prospective Study. *J Pediatric*

Infect Dis Soc. 2019;8(4):297–302.

30. Kays MB, White RL, Gatti G, Gambertoglio JG. Ex Vivo Protein Binding of Clindamycin in Sera With Normal and Elevated α 1-Acid Glycoprotein Concentrations. *Pharmacother J Hum Pharmacol Drug Ther* [Internet]. el 2 de enero de 1992 [citado el 5 de febrero de 2022];12(1):50–5. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/j.1875-9114.1992.tb02671.x>
31. Maharaj AR, Gonzalez D, Cohen-Wolkowicz M, Hornik CP, Edginton AN. Improving pediatric protein binding estimates: An evaluation of α 1-acid glycoprotein maturation in healthy and infected subjects HHS Public Access. *Clin Pharmacokinet*. 2018;57(5):577–89.
32. Smith MJ, Gonzalez D, Goldman JL, Yogev R, Sullivan JE, Reed MD, et al. Pharmacokinetics of clindamycin in obese and nonobese children. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. el 1 de abril de 2017 [citado el 27 de agosto de 2021];61(4). Disponible en: <https://doi.org/10.1128/AAC.02014-16>.
33. Gonzalez D, Delmore P, Bloom BT, Cotten CM, Poindexter BB, McGowan E, et al. Clindamycin pharmacokinetics and safety in preterm and term infants. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. el 1 de mayo de 2016 [citado el 27 de agosto de 2021];60(5):2888–94. Disponible en: <https://journals.asm.org/journal/aac>
34. Van Der Elst KCM, Pereboom M, Van Den Heuvel ER, Kosterink JGW, Schölvinc EH, Alffenaar JWC. Insufficient fluconazole exposure in pediatric cancer patients and the need for therapeutic drug monitoring in critically ill children. *Clin Infect Dis*. el 1 de diciembre de 2014;59(11):1527–33.
35. Autmizguine J, Guptill JT, Cohen-Wolkowicz M, Benjamin DK, Capparelli E V. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antifungals in children: Clinical implications. Vol. 74, *Drugs*. Springer International Publishing; 2014. p. 891–909.

36. Cohen-Wolkowicz M, Benjamin DK. Fluconazole therapeutic drug monitoring in children with cancer: Not today. Vol. 59, *Clinical Infectious Diseases*. Oxford University Press; 2014. p. 1534–6.
37. Stockmann C, Constance JE, Roberts JK, Olson J, Doby EH, Ampofo K, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antifungals in children and their clinical implications. Vol. 53, *Clinical Pharmacokinetics*. Springer International Publishing; 2014. p. 429–54.
38. Dou L, Meng D, Dong Y, Chen L, Han X, Fan D, et al. Dosage regimen and toxicity risk assessment of linezolid in sepsis patients. *Int J Infect Dis*. el 1 de julio de 2020;96:105–11.
39. Alsultan A. Determining therapeutic trough ranges for linezolid. *Saudi Pharm J*. el 1 de diciembre de 2019;27(8):1061–3.
40. Boak LM, Rayner CR, Grayson ML, Paterson DL, Spelman D, Khumra S, et al. Clinical population pharmacokinetics and toxicodynamics of linezolid. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2014 [citado el 9 de septiembre de 2021];58(4):2334–43. Disponible en: <https://journals.asm.org/journal/aac>
41. Wang ZM, Chen XY, Bi J, Wang MY, Xu BP, Tang BH, et al. Reappraisal of the optimal dose of meropenem in critically ill infants and children: A developmental pharmacokinetic- pharmacodynamic analysis. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. el 1 de agosto de 2020 [citado el 14 de septiembre de 2021];64(8). Disponible en: <https://journals.asm.org/journal/aac>
42. Germovsek E, Lutsar I, Kipper K, Karlsson MO, Planche T, Chazallon C, et al. Plasma and CSF pharmacokinetics of meropenem in neonates and young infants: results from the NeoMero studies. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. el 1 de julio de 2018 [citado el 15 de septiembre de 2021];73(7):1908–16. Disponible en: <https://academic.oup.com/jac/article/73/7/1908/4978317>

43. Béranger A, Benaboud S, Urien S, Moulin F, Bille E, Lesage F, et al. Piperacillin Population Pharmacokinetics and Dosing Regimen Optimization in Critically Ill Children with Normal and Augmented Renal Clearance. *Clin Pharmacokinet* 2018 582 [Internet]. el 4 de junio de 2018 [citado el 22 de octubre de 2021];58(2):223–33. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40262-018-0682-1>
44. Cusumano JA, Klinker KP, Huttner A, Luther MK, Roberts JA, LaPlante KL. Towards precision medicine: Therapeutic drug monitoring–guided dosing of vancomycin and β -lactam antibiotics to maximize effectiveness and minimize toxicity. *Am J Heal Pharm* [Internet]. el 7 de julio de 2020 [citado el 15 de agosto de 2021];77(14):1104–12. Disponible en: <https://academic.oup.com/ajhp/article/77/14/1104/5857350>
45. Sime FB, Roberts MS, Peake SL, Lipman J, Roberts JA. Does beta-lactam pharmacokinetic variability in critically ill patients justify therapeutic drug monitoring? A systematic review. Vol. 2, *Annals of Intensive Care*. Springer Verlag; 2012.
46. Steffens NA, Zimmermann ES, Nichelle SM, Brucker N. Meropenem use and therapeutic drug monitoring in clinical practice: a literature review. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*. Blackwell Publishing Ltd; 2021.
47. Hassan HE, Ivaturi V, Gobburu J, Green TP. Dosage Regimens for Meropenem in Children with Pseudomonas Infections Do Not Meet Serum Concentration Targets. *Clin Transl Sci* [Internet]. el 1 de marzo de 2020 [citado el 15 de septiembre de 2021];13(2):301–8. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/cts.12710>
48. Sime FB, Roberts MS, Tiong IS, Gardner JH, Lehman S, Peake SL, et al. Can therapeutic drug monitoring optimize exposure to piperacillin in febrile neutropenic patients with haematological malignancies? A randomized controlled trial. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. el 1 de agosto de 2015 [citado el 17 de septiembre de 2021];70(8):2369–75. Disponible en:

<https://academic.oup.com/jac/article/70/8/2369/813395>

49. Chongcharoenyanon T, Wacharachaisurapol N, Anugulruengkitt S, Maimongkol P, Anunsittichai O, Sophonphan J, et al. Comparison of piperacillin plasma concentrations in a prospective randomised trial of extended infusion versus intermittent bolus of piperacillin/tazobactam in paediatric patients. *Int J Infect Dis.* el 1 de julio de 2021;108:102–8.
50. Thibault C, Lavigne J, Litalien C, Kassir N, Théorêt Y, Autmizguine J. Population pharmacokinetics and safety of piperacillin-tazobactam extended infusions in infants and children. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019;63(11).
51. Nichols K, Chung EK, Knoderer CA, Buenger LE, Healy DP, Dees J, et al. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of extended-infusion piperacillin and tazobactam in critically ill children. *Antimicrob Agents Chemother.* el 1 de enero de 2016;60(1):522–31.
52. Dhaese S, Van Vooren S, Boelens J, De Waele J. Therapeutic drug monitoring of β -lactam antibiotics in the ICU. <https://doi.org/10.1080/1478721020201788387> [Internet]. 2020 [citado el 10 de febrero de 2022];1155–64. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14787210.2020.1788387>
53. Saito J, Shoji K, Oho Y, Kato H, Matsumoto S, Aoki S, et al. Population Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Meropenem in Critically Ill Pediatric Patients. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. el 1 de febrero de 2021 [citado el 14 de septiembre de 2021];65(2). Disponible en: </pmc/articles/PMC7848983/>
54. Patel BM, Paratz J, See NC, Muller MJ, Rudd M, Paterson D, et al. Therapeutic drug monitoring of beta-lactam antibiotics in burns patients-a one-year prospective study. *Ther Drug Monit* [Internet]. abril de 2012 [citado el 10 de febrero de 2022];34(2):160–4. Disponible en: <https://journals.lww.com/drug->

monitoring/Fulltext/2012/04000/Therapeutic_Drug_Monitoring_of_Beta_Lactam.8.aspx

55. Huttner A, Harbarth S, Hope WW, Lipman J, Roberts JA. Therapeutic drug monitoring of the β -lactam antibiotics: what is the evidence and which patients should we be using it for? *J Antimicrob Chemother* [Internet]. el 1 de diciembre de 2015 [citado el 15 de septiembre de 2021];70(12):3178–83. Disponible en: <https://academic.oup.com/jac/article/70/12/3178/2363621>
56. Thorsted A, Kristoffersson AN, Maarbjerg SF, Schrøder H, Wang M, Brock B, et al. Population pharmacokinetics of piperacillin in febrile children receiving cancer chemotherapy: The impact of body weight and target on an optimal dosing regimen. *J Antimicrob Chemother.* el 1 de octubre de 2019;74(10):2984–93.
57. Hartman SJF, Swaving JGE, van Beek SW, van Groen BD, de Hoop M, van der Zanden TM, et al. A New Framework to Implement Model-Informed Dosing in Clinical Guidelines: Piperacillin and Amikacin as Proof of Concept. *Front Pharmacol.* el 16 de diciembre de 2020;11.
58. Scharf C, Paal M, Schroeder I, Vogeser M, Draenert R, Irlbeck M, et al. Therapeutic drug monitoring of meropenem and piperacillin in critical illness—experience and recommendations from one year in routine clinical practice. *Antibiotics* [Internet]. el 1 de marzo de 2020 [citado el 20 de mayo de 2021];9(3):131. Disponible en: www.mdpi.com/journal/antibiotics
59. Costenaro P, Minotti C, Cuppini E, Barbieri E, Giaquinto C, Donà D. Optimizing antibiotic treatment strategies for neonates and children: Does implementing extended or prolonged infusion provide any advantage? Vol. 9, *Antibiotics*. MDPI AG; 2020. p. 1–20.
60. Wu CC, Tai CH, Liao WY, Wang CC, Kuo CH, Lin SW, et al. Augmented renal clearance is associated with inadequate antibiotic pharmacokinetic/pharmacodynamic target in Asian ICU population: a

prospective observational study. *Infect Drug Resist* [Internet]. el 16 de agosto de 2019 [citado el 15 de agosto de 2021];12:2531–41. Disponible en: <https://www.dovepress.com/augmented-renal-clearance-is-associated-with-inadequate-antibiotic-pha-peer-reviewed-fulltext-article-IDR>

61. Imani S, Buscher H, Marriott D, Gentili S, Sandaradura I. Too much of a good thing: A retrospective study of β -lactam concentration-toxicity relationships. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. el 1 de octubre de 2017 [citado el 20 de mayo de 2021];72(10):2891–7. Disponible en: <https://academic.oup.com/jac/article/72/10/2891/3952632>
62. Roger C, Louart B. Beta-Lactams Toxicity in the Intensive Care Unit: An Underestimated Collateral Damage? *Microorg* 2021, Vol 9, Page 1505 [Internet]. el 14 de julio de 2021 [citado el 15 de agosto de 2021];9(7):1505. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-2607/9/7/1505/htm>
63. Smit C, Goulooze SC, Brüggemann RJM, Sherwin CM, Knibbe CAJ. Dosing Recommendations for Vancomycin in Children and Adolescents with Varying Levels of Obesity and Renal Dysfunction: a Population Pharmacokinetic Study in 1892 Children Aged 1–18 Years. *AAPS J* 2021 233 [Internet]. el 11 de abril de 2021 [citado el 5 de octubre de 2021];23(3):1–10. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1208/s12248-021-00577-x>
64. Guilhaumou R, Marsot A, Dupouey J, Galambrun C, Boulamery A, Coze C, et al. Pediatric Patients With Solid or Hematological Tumor Disease: Vancomycin Population Pharmacokinetics and Dosage Optimization. *Ther Drug Monit* [Internet]. el 1 de octubre de 2016 [citado el 7 de marzo de 2022];38(5):559–66. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27631462/>
65. Zhao W, Zhang D, Fakhoury M, Fahd M, Duquesne F, Storme T, et al. Population pharmacokinetics and dosing optimization of vancomycin in children with malignant hematological disease. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2014 [citado el 11 de octubre de 2021];58(6):3191–9.

Disponible en: <https://journals.asm.org/journal/aac>

66. Marsot A, Gallais F, Galambrun C, Coze C, Blin O, Andre N, et al. Vancomycin in Pediatric Patients with Solid or Hematological Malignant Disease: Predictive Performance of a Population Pharmacokinetic Model and New Optimized Dosing Regimens. *Paediatr Drugs* [Internet]. el 1 de agosto de 2018 [citado el 7 de marzo de 2022];20(4):375–81. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29736878/>
67. Capiou S, Veenhof H, Koster RA, Bergqvist Y, Boettcher M, Halmingh O, et al. Official International Association for Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology Guideline : Development and Validation of Dried Blood Spot – Based Methods for Therapeutic Drug Monitoring. *Ther Drug Monit.* 2019;41(4):409–30.
68. Wilhelm AJ, den Burger JCG, Swart EL. Therapeutic Drug Monitoring by Dried Blood Spot: Progress to Date and Future Directions. *Clin Pharmacokinet.* 2014;53(11):961–73.
69. Lorenzo P, Moreno A, Leza J, Lizasoain I, Moro M. Velázquez Farmacología Básica y Clínica. 17a ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2004.
70. Shargel L, Yu ABC. *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics*. 7a ed. McGraw Hill; 2016.
71. Bhattacharjee MK. *Chemistry of Antibiotics and Related Drugs*. Brooklyn, NY: Springer International Publishing; 2016.
72. Skoog DA, Holler FJ, Crouch SR. *Principios de Análisis Instrumental*. 6a ed. CENGAGE Learning; 2008.
73. Abbas AK, Lichtman, Andrew H. Pillai S. *Inmunología celular y molecular*. 7a ed. Barcelona, España: ELSEVIER; 2012.

Glosario

Absorción: Entrada de los fármacos al organismo desde el lugar donde se administran (tracto gastrointestinal, tejido muscular, etc.). (69)

Aclaramiento de creatinina: Velocidad de eliminación de la creatinina del organismo expresada como volumen de plasma sanguíneo aclarado de creatinina por unidad de tiempo (mL/min). Ayuda a estimar la tasa de filtración glomerular y es un marcador de función renal. (70)

Aclaramiento de un fármaco: Medida de la tasa de eliminación de un fármaco, definida como el volumen de plasma sanguíneo liberado del fármaco por unidad de tiempo. (70)

Antibiótico: Sustancia química que inhibe el crecimiento de microorganismos, causando daño mínimo al organismo huésped. (71)

Anticoagulante: Sustancia añadida a muestras de sangre para prevenir su coagulación. Puede incluir EDTA, heparina, citrato de sodio, etc.

Área bajo la curva: Integral de la curva de concentraciones plasmáticas contra tiempo, en un intervalo de tiempo definido. Representa una medida de exposición a un fármaco después de su administración. (70)

Asentimiento informado: Documento en el que un paciente menor de edad acepta participar en un proyecto de investigación, conociendo en qué consiste dicha participación y los posibles riesgos. (25)

Columna: En cromatografía, se refiere a un tubo sólido en donde se empaquetan partículas de fase estacionaria, que interactúan con los compuestos químicos presentes en una muestra durante una separación cromatográfica. (72)

Comité de ética en investigación: Organismo responsable de evaluar y dictaminar protocolos de investigación en seres humanos y/o animales, con base en guías éticas institucionales. (23)

Concentración mínima inhibitoria: Concentración mínima de un antibiótico capaz de detener el crecimiento de un microorganismo específico. (71)

Concentración plasmática: Cantidad de fármaco presente en plasma sanguíneo, expresado como peso de fármaco por unidad de volumen de plasma. (23)

Concentración valle: Concentración plasmática de un fármaco medida justo antes de la siguiente administración. (70)

Consentimiento informado: Acuerdo escrito en el cual un sujeto de investigación o su representante legal autoriza su participación en un proyecto de investigación, conociendo los procedimientos a los que se someterá y sus potenciales riesgos. (23)

Cromatografía de líquidos: Método físico de separación de mezclas, donde los compuestos se separan al distribuirse entre una fase móvil líquida y una fase estacionaria sólida. (72)

Cromatograma: Gráfico de la señal producida por el detector de un cromatógrafo durante una separación cromatográfica, contra el tiempo. (72)

Curva de calibración: Descripción de la relación entre la concentración de un compuesto que de interés, y la señal analítica producida en el equipo de medición. (23)

Distribución: Transporte de un fármaco dentro del torrente sanguíneo y su penetración a tejidos después de su administración y/o absorción. (69)

Efecto de acarreo: Efecto generado por un incremento en la señal analítica de un equipo, debido a contaminación de muestras anteriores. (23)

Efecto de Matriz: Influencia de los componentes de la matriz biológica sobre el análisis de un compuesto de interés. Puede incluir interferencias en la medición o un incremento/disminución en la señal analítica. (23)

Enfermedad infecciosa: Enfermedad ocasionada por organismos como bacterias, hongos, virus o parásitos. (71)

Espectrometría de masas: Método de análisis en el que un compuesto es ionizado y fragmentado, para posteriormente separar los fragmentos en función de la relación de su masa atómica o molecular y su carga eléctrica. (72)

Estabilidad: Capacidad de un compuesto químico a analizar en una matriz biológica, de conservar sus características desde la toma de muestra, hasta su análisis. (23)

Estimación bayesiana: En farmacocinética, se refiere al uso de la Teoría Bayesiana para estimar parámetros farmacocinéticos individuales. Inicialmente estos parámetros se calculan con variables clínicas y antropométricas del paciente. Al obtener más información (las concentraciones plasmáticas), estos parámetros se recalculan y se obtiene una estimación individual más precisa. (70)

Exactitud: Concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor real. (23)

Excreción: Salida del fármaco y/o sus metabolitos desde el torrente sanguíneo al exterior del organismo. (69)

Farmacocinética: Ciencia que estudia la cinética de los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción de fármacos en el organismo. (70)

Farmacodinamia: Estudio de los efectos fisiológicos y bioquímicos de los fármacos en el organismo, incluyendo sus mecanismos de acción y la relación entre las concentraciones y el efecto farmacológico. (70)

Fase móvil: Fluido que penetra a través de una fase estacionaria durante una separación cromatográfica. (72)

Inmunosupresión: Inhibición de uno o más componentes del sistema inmune innato o adaptativo, como resultado de enfermedades subyacentes o fármacos administrados. (73)

Linealidad: Capacidad de un método analítico de obtener una respuesta proporcional a la concentración de un compuesto en una muestra. (23)

Matriz biológica: Material de origen biológico que contiene al compuesto de interés que se va a analizar. (23)

Metabolismo de fármacos: Cambios bioquímicos que sufren los fármacos para eliminarse más fácilmente del organismo. (69)

Muestra blanco: Matriz biológica libre del compuesto que se va a analizar. (23)

Plasma sanguíneo: Líquido obtenido después de separar los componentes celulares de sangre anticoagulada mediante centrifugación. (69)

Precisión: Grado de concordancia entre resultados cuando se realizan análisis repetidos en una muestra homogénea. (23)

Repetibilidad: Precisión bajo las mismas condiciones de operación en un intervalo corto de tiempo. (23)

Reproducibilidad: Precisión bajo condiciones de operación distintas entre sí. (23)

Selectividad: Capacidad de un método analítico de diferenciar y cuantificar un compuesto de interés, sin presentar interferencia de otras sustancias presentes en la muestra. (23)

Vida media (o semivida) de eliminación: Tiempo que tarda en reducirse a la mitad la concentración de un fármaco en plasma. (69)

Volumen de distribución: Volumen hipotético necesario para disolver la cantidad de fármaco presente en el organismo y obtener una concentración plasmática medida. (69)