



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Facultad de Medicina

Departamento de Medicina

TESIS DOCTORAL

***FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA DE
PIPERACILINA/AZOBACTAM Y FOSFOMICINA EN PACIENTES CON
BACTERIEMIA POR ENTEROBACTERIACEAE.***

Trabajo realizado para alcanzar el grado de Doctor por el Licenciado en Farmacia D.
Vicente Merino Bohórquez.

Sevilla, febrero de 2024

AGRADECIMIENTOS

Parecía que no, pero si, llegó el momento más esperado del año o mejor dicho de años, después de mucho trabajo, esfuerzo y sacrificio, estamos al final del camino y este es el resultado. Es un documento extenso que no contempla las horas invertidas en su desarrollo, porque esto, sería muy difícil de reflejarlo en unas cuantas páginas, sin embargo, estoy seguro de que estas páginas reflejan la ilusión por lograr una meta, el desarrollar un proyecto de tesis para conseguir el título de Doctor en Farmacia, con el aprendizaje asociado que lleva en su camino.

A mis directores de tesis...

A Jesús por haber depositado toda la confianza en mí para el desarrollo de este proyecto cuando iniciábamos, allá por el año 2012, las primeras andaduras en este "mundillo" maravilloso del PK-PD y que me ha permitido, por un lado, acercarme al mundo de los antimicrobianos con una perspectiva más farmacológica y, por otro lado, hacer muy buenos amigos con intereses comunes dentro de este mundo. Gracias Jesús por los ánimos, por la persistencia y por la pasión que le pones en el día a día, ya sea en el ámbito de la docencia, la investigación o la clínica, porque consigues que los que estemos a tu alrededor nos contagiemos de ella.

A Álvaro por ser ese maestro que quiere que el discípulo siempre vaya a más y que, aunque el enfoque de este documento quizás sea más farmacológico que microbiológico, nunca ha dudado en hacer una aportación que siempre ha aumentado el valor de lo aprendido. Gracias, por el ánimo y el interés que siempre has mostrado para que este momento llegara. Álvaro, lo celebraremos como Dios manda...

Gracias por implicarme en proyectos de altísimo nivel e integrarme en vuestro equipo.

No puedo olvidar el agradecimiento a mi amigo el Prof. Dr. Fernando Docobo, por la generosidad y la implicación que ha tenido desde el principio, una generosidad que no duda en compartirla con todos y que le caracteriza, como buen profesional, pero yo diría que aún más, como buena persona. Gracias Fernando, por las horas intensas de charla sobre modelado farmacocinético poblacional y de otros temas apasionantes relacionados con el mundo de la microbiología. Esto es un suma y sigue...

A Manuel Cameán, mi padre "profesional", porque gracias a él, soy Farmacéutico Especialista en Farmacia Hospitalaria y estoy escribiendo estas palabras. Por su apoyo

incondicional desde que fui alumno de prácticas tuteladas en el Servicio de Farmacia del Hospital Universitario Virgen Macarena. Manolo, lo prometido es deuda, va por ti.

A Miguel Ángel Calleja por su apoyo, confianza y ánimo para que fuera Doctor, muchas gracias por estar ahí.

A mis compañeros de la Farmacia: María José, Alejandro, Diana y Fran por ayudarme a conseguirlo.

A mis padres, tíos y hermana, que me enseñaron desde pequeño el valor de esfuerzo y el sacrificio. Por los valores que he heredado de ellos y la pasión que me enseñaron a poner en lo que hiciera. Y a mi padre, en especial, que siempre que tenía oportunidad, me preguntaba que cuándo sería doctor...

A Paloma, mi mujer, porque sin su generosidad, este trabajo no se hubiera culminado. Muchas gracias por entender lo importante que es esto para mí.

A lo que más quiero en este mundo, mi hija Celia, por las horas de parque que le debo y que probablemente no recuperaré.

Índice de contenidos

ABREVIATURAS	11
RESUMEN	13
1. Introducción	19
1.1 Relación farmacocinética/farmacodinámica (PK/PD) de antimicrobianos _____	19
1.2 Las resistencias bacterianas y el rescate de viejos antimicrobianos _____	23
1.2.1 Las resistencias bacterianas como problema global	23
1.2.2 Viejos antimicrobianos potencialmente útiles en las infecciones causadas por bacterias Gram negativas	28
1.3 Optimización de la dosificación de antimicrobianos _____	57
1.3.1 Dosificación en poblaciones especiales	57
1.3.2 Papel de las alteraciones farmacocinéticas	58
1.3.3 Sensibilidad bacteriana alterada	63
1.3.4 PK/PD y dosificación de antibióticos betalactámicos	64
1.3.5 PK/PD y dosificación de fosfomicina	77
1.4 Farmacocinética poblacional de antimicrobianos. Aplicaciones clínicas. _____	79
1.4.1 Principios PK-PD de los antimicrobianos	80
1.4.2 Análisis y simulaciones PK	83
1.4.3 Aplicaciones clínicas de modelos farmacocinéticos poblacionales.	90
1.5 Técnicas de determinación de antimicrobianos en fluidos biológicos _____	101
1.5.1 Técnicas analíticas para realizar TDM de antibióticos betalactámicos	102
1.5.2 Técnicas para determinación de fosfomicina en fluidos biológicos	116
2. Hipótesis	121
2.1 Piperacilina/tazobactam _____	121
2.2 Fosfomicina _____	121
3. Objetivos	122
4. Métodos	126
4.1 Piperacilina-tazobactam _____	126
4.1.1 Diseño del estudio y pacientes	126
4.1.2 Terapia antimicrobiana	127
4.1.3 Determinación de la concentración plasmática de piperacilina	127
4.1.4 Análisis farmacocinético	128
4.1.5 Simulaciones y probabilidad de consecución del objetivo	129
4.1.6 Análisis toxicodinámico	130

4.2 Fosfomicina	130
4.2.1 Diseño del estudio y población de pacientes.	130
4.2.2 Farmacocinética	131
4.2.3 Modelo matemático	132
4.2.4 Simulaciones y probabilidad de consecución del objetivo.	133
5. Resultados	138
5.1 Piperacilina-tazobactam	138
5.1.1 Pacientes	138
5.1.2 Modelo farmacocinético	140
5.1.3 Probabilidad de logro del objetivo	144
5.1.4 Neurotoxicidad y nefrotoxicidad de la piperacilina	146
5.2 Fosfomicina	147
5.2.1 Pacientes	147
5.2.2 Farmacocinética y modelo matemático	148
5.2.3 Simulaciones de Monte Carlo y probabilidad de consecución del objetivo.	155
6. Discusión	161
6.1 Piperacilina-tazobactam	161
6.2 Fosfomicina	164
7. Conclusiones	171
7.1 Piperacilina-tazobactam	171
7.2 Fosfomicina	172
8. Bibliografía:	176
ANEXO: GENERACIÓN CIENTÍFICA DE LA TESIS	233
ANEXO: DICTAMEN CEIC	260

ABREVIATURAS

AUC: área bajo la curva

BMR: bacterias multirresistentes

BGN: bacilos Gram-negativos

BL: betalactámicos

BL/IBL: betalactámico/inhibidor de betalactamasas

IBL: inhibidor de betalactamasas

BLEE: Betalactamasa de espectro extendido

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

C_{\max} : concentración máxima

C_{\min} : concentración mínima

CMI: concentración mínima inhibitoria

EUCAST: European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing

PK/PD: pharmacokinetic/pharmacodynamic

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos

PTZ: piperacilina/tazobactam

OMS: Organización Mundial de la Salud

PTA: probabilidad de alcanzar el objetivo

UE: Unión Europea

RESUMEN

En esta tesis se aborda el estudio de la farmacocinética y farmacodinamia de dos antimicrobianos en bacteriemias por enterobacterias. Por un lado, piperacilina-tazobactam (PTZ), donde se analiza la variabilidad farmacocinética de este antimicrobiano en pacientes no críticos con bacteriemias por enterobacterias (BE) y donde se explora los resultados clínicos previstos y la neurotoxicidad relacionada con la piperacilina en diferentes situaciones relacionadas con la función renal de los pacientes. Se incluyeron pacientes hospitalizados, no críticos, tratados con piperacilina-tazobactam para BE. Se recogieron y analizaron cuatro muestras de suero por paciente y posteriormente, se desarrolló un modelo farmacocinético poblacional utilizando el paquete Pmetrics® (software R) para realizar simulaciones de Monte Carlo de varios regímenes de dosificación de PTZ: 4 g de piperacilina, administrados cada 8 h o cada 12 h mediante infusión corta (0,5 h) o larga (4 h), ajustadas a las diferentes filtraciones glomerulares (TFG) según las categorías utilizadas para clasificar la enfermedad renal crónica (Kidney Disease: Improving Global Outcomes, KDIGO). Para ello, se calculó la probabilidad de alcanzar el objetivo (PTA) utilizando concentraciones de fármaco libre por encima de la concentración inhibitoria mínima ($fT > CMI$) del 5% para eficacia y los objetivos para la neuro y nefrotoxicidad asociada a piperacilina. Se incluyeron 27 pacientes (102 muestras), donde las infusiones prolongadas de piperacilina alcanzaron un $PTA > 90\%$ ($50\% fT > CMI$) dentro del rango de sensibilidad, aunque una dosis de carga no mejoró en gran medida el resultado esperado. Por otro lado, las infusiones prolongadas redujeron la toxicidad esperada en pacientes con insuficiencia renal grave y el estudio respalda el uso de infusiones prolongadas de PTZ en pacientes no críticos con EB. El otro antimicrobiano estudiado es la fosfomicina y en este estudio describimos la farmacocinética poblacional de fosfomicina en pacientes con infección bacteriémica de origen urinario (IBTU). El

análisis realizado identificó regímenes óptimos sobre la base de objetivos farmacodinámicos y evaluó la idoneidad de los puntos de corte de susceptibilidad para *Escherichia coli* del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) y del Comité Europeo sobre Pruebas de Susceptibilidad a los Antimicrobianos (EUCAST). Para ello, se analizaron los datos de 16 pacientes con IBTU causada por *E. coli* multirresistente (ensayo clínico FOREST) que recibieron fosfomicina intravenosa (4 g cada 6 horas). Se realizó un análisis farmacocinético poblacional y se realizaron simulaciones de Monte Carlo utilizando 4 g cada 6 horas y 8 g cada 8 horas. La probabilidad de alcanzar el objetivo farmacodinámico se evaluó utilizando objetivos farmacodinámicos para *E. coli* para el efecto estático, la caída de 1 log en la carga bacteriana y la supresión de la resistencia. El análisis de consecución del objetivo farmacodinámico mostró una leve mejoría al aumentar la dosis de fosfomicina (4 g cada 6 horas frente a cada 8 horas), demostrándose el éxito para disminuir la carga bacteriana de 1 log en 89 % a 96 % (puntos de corte EUCAST) y 33 % a 54 % (puntos de corte CLSI) de los pacientes, sin embargo, no pudieron alcanzar los objetivos de supresión de la resistencia bacteriana. Las concentraciones de fosfomicina son muy variables, hecho que se explica parcialmente por la insuficiencia renal. Por tanto, el presente trabajo respalda el uso de 4 g cada 6 horas como un régimen eficaz para el tratamiento de pacientes no críticos con IBTU causada por *E. coli* multirresistente, ya que dosis más altas podrían aumentar la toxicidad, pero no aumentar significativamente la eficacia.

Como conclusiones sobre PTZ, se ha desarrollado un modelo farmacocinético poblacional de PTZ en pacientes con bacteriemias por enterobacterias, donde el aclaramiento de creatinina la única covariable que explica la variabilidad en las concentraciones observadas, además los datos obtenidos muestran que es menos probable que el régimen de dosificación sugerido actualmente en la ficha técnica del fármaco (infusión corta) alcance el objetivo farmacodinámico en pacientes con función

renal normal o insuficiencia renal grave, siendo la administración en infusión prolongada la forma óptima para la consecución del objetivo PK-PD y el impacto de las estrategias de administración en infusión prolongada tienen un riesgo bajo de desarrollar eventos adversos (neurotoxicidad o nefrotoxicidad). En cuanto a fosfomicina, las concentraciones de fosfomicina son muy variables y dependen en cierta medida del grado de disfunción renal, siendo las pautas de dosificación de fosfomicina de 4 g cada 6 horas u 8 g cada 8 horas suficientes para alcanzar el objetivo farmacodinámico definido como predictor de eficacia, pero también dosis más altas podrían aumentar la toxicidad sin beneficio asociado. Este estudio sugiere que puede ser necesaria una revisión de los puntos de corte de EUCAST y CLSI para algunos contextos clínicos y subgrupos de pacientes.

INTRODUCCIÓN

1. Introducción

1.1 Relación farmacocinética/farmacodinámica (PK/PD) de antimicrobianos

A mediados del siglo XX comenzó a crearse una conciencia creciente de la necesidad de ir más allá del concepto básico de la relación dosis-respuesta cuando un antimicrobiano era administrado a un paciente, para reconocer que la explicación última de la respuesta biológica estaba más allá. Esto inició el movimiento que intentaba vincular la respuesta con la concentración de fármaco en un fluido biológico, constituyendo el comienzo de la era farmacocinética-farmacodinámica (PK-PD)^{1,2}. Las investigaciones desarrolladas en este campo han permitido la generación de conocimientos relevantes sobre la naturaleza de la relación PK-PD que describe el vínculo entre la exposición *in vivo* a un antibiótico y el efecto antimicrobiano resultante. Comprender esa relación es fundamental en el desarrollo preclínico y clínico de un nuevo antibiótico ya que es la clave para la decisión sobre los regímenes de dosificación que se evaluarán en los ensayos clínicos y, posteriormente, los que serán incluidos en la ficha técnica del producto en el momento que se aprueba para una indicación por parte de las agencias reguladoras^{3,4}. Una vez autorizado el antibiótico para su uso clínico, el conocimiento de la relación PK-PD permite el seguimiento de la exposición al mismo en un paciente en tratamiento, comúnmente evaluado mediante la medición de la concentración del fármaco en plasma y la optimización del régimen de dosificación con el objetivo de lograr un nivel de exposición que se considera probable que maximice la eliminación de bacterias y minimice la aparición de resistencias al antibiótico^{5,6}.

Los primeros estudios sobre la administración oral y parenteral exitosa de penicilina, el primer antibiótico betalactámico utilizado clínicamente, a pacientes infectados se desarrollaron durante la Segunda Guerra Mundial^{7,8}. En los años posteriores, algunos autores publicaron los resultados de estudios desarrollados en modelos de infección animal y en los que se investigaron una multitud de factores que consideraron clave por su influencia en la respuesta antibacteriana de la penicilina⁹⁻¹⁵. En los años cincuenta, el Dr. Harry Eagle fue uno de los máximos exponentes en este campo, llevando a cabo el desarrollo de experimentos relevantes que demostraron que la supervivencia de animales con una variedad de modelos de infecciones animales diferentes dependía no solo de la dosis de penicilina sino también del intervalo de dosificación, del sitio de infección, de la duración de la infección, del estado inmunológico del huésped y del inóculo bacteriano^{10,12,13}. Aunque es cierto que Eagle no midió las concentraciones de penicilina en los modelos de infecciones animales, se percató claramente de la relación del patrón temporal de exposición *in vivo* al antibiótico con los diferentes regímenes de dosificación. En base a estas observaciones experimentales afirmó que “el principal determinante de la actividad terapéutica es el tiempo durante el cual el fármaco permanece en concentraciones efectivas en el foco de la infección” y, sorprendentemente, fue el primero en sugerir que la perfusión continua de penicilina probablemente sea la más forma más efectiva de administrar este fármaco a los pacientes¹². Desde hace pocos años, se ha demostrado que esta forma de administrar los antibióticos betalactámicos se relaciona con una menor mortalidad hospitalaria en comparación con la dosificación intermitente en pacientes críticos con sepsis grave¹⁶.

Estos estudios desarrollados por Eagle y los de otros pioneros de la farmacología antimicrobiana fueron el origen del concepto de relaciones PK-PD de los antimicrobianos que dieron lugar a la definición de la actividad antibacteriana dependiente del tiempo y de la concentración^{12,17}. Posteriormente, el grupo de

William Craig publicó los primeros estudios PK-PD sobre rangos de dosis y de fraccionamiento de dosis en un modelo de infección murino neutropénico. Usando este enfoque, el equipo investigador buscó la diferenciación y clasificación entre tres posibles índices PK-PD de actividad antimicrobiana, los cuales fueron: la razón entre la concentración máxima (C_{max}) del antimicrobiano en plasma y la concentración mínima inhibitoria (CMI) del mismo (es decir, C_{max}/CMI), la razón entre el área bajo la curva (AUC) de concentración plasmática-tiempo y la CMI (es decir, AUC/CMI) y el porcentaje de tiempo durante el cual la concentración plasmática excede la CMI (es decir, $\%fT > CMI$). En los estudios en animales de referencia, los autores consideraron que la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos se correlaciona mejor con el parámetro AUC/CMI , mientras que para los betalactámicos la actividad antibacteriana se correlacionó con $\%fT > CMI$ ¹⁸. Desde ese momento, diferentes estudios han identificado el índice PK-PD relevante de numerosos antimicrobianos en una variedad de clases, y utilizando esa información en su desarrollo y uso clínico, tal y como se puede ver en la tabla 1¹⁹⁻²³.

Tabla 1. Índice PK-PD relacionados con eficacia clínica antimicrobiana y toxicidad.

Adaptado de Abdul-Aziz *et al*²³.

Clase de antimicrobiano	Índice PK-PD	Objetivo PK-PD predictor eficacia preclínico	Objetivo PK-PD predictor eficacia clínico	Umbral PK-PD predictor de toxicidad
Aminoglucósidos				
Amikacina	AUC_{0-24}/CMI	$AUC_{0-24}/CMI:80-100$	$C_{max}/CMI \geq 8-10$	$C_{min} > 5$ mg/L ^a
Gentamicina/tobramicina	AUC_{0-24}/CMI	$AUC_{0-24}/CMI:80-100$	$C_{max}/CMI \geq 110$ $C_{max}/CMI \geq 8-10$	$C_{min} > 5$ mg/L ^a
Betalactámicos				
Carbapenémicos	$\%fT > CMI$	$40\% fT > CMI$	$50-100\% fT > CMI$	$C_{min} > 44$ mg/L ^b

Cefalosporinas	% $fT > CMI$	60-70% $fT > CMI$	45-100% $fT > CMI$	$C_{min} > 20$ mg/L ^c
Penicilinas	% $fT > CMI$	50% $fT > CMI$	50-100% $fT > CMI$	$C_{min} > 361$ mg/L ^d
Cotrimoxazol	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro
Daptomicina	AUC_{0-24}/CMI	$AUC_{0-24}/CMI \geq 517$	$AUC_{0-24}/CMI \geq 666$	$C_{min} > 24$ mg/L ^e
Fluorquinolonas	AUC_{0-24}/CMI	$AUC_{0-24}/CMI \geq 100$ $C_{max}/CMI \geq 8$	$AUC_{0-24}/CMI \geq 125-250$ $C_{max}/CMI \geq 12$	Poco claro
Glicopéptidos				
Teicoplanina	AUC_{0-24}/CMI	$AUC_{0-24}/CMI \geq 610$	$C_{min} > 10$ mg/L	Poco claro
Vancomicina	AUC_{0-24}/CMI	$AUC_{0-24}/CMI: 86-460$	$AUC_{0-24}/CMI \geq 400$ $C_{min} > 10-20$ mg/L	$AUC_{0-24} > 700$ mg*h/L ^f $C_{min} > 20$ mg/L ^f
Linezolid	AUC_{0-24}/CMI	$AUC_{0-24}/CMI \geq 100$	$AUC_{0-24}/CMI: 80-120$ $\geq 85\% fT > CMI$	$AUC_{0-24} > 300^g$ mg*h/L $C_{min} > 7$ mg/L ^g
Polimixinas				
Colistina	AUC_{0-24}/CMI	$fAUC_{0-24}/CMI: 6,6-13,7$ $fAUC_{0-24}/CMI: 3,5-17,6$	No disponible	$C_{min} > 2,4$ mg/L ^f
Polimixina B	AUC_{0-24}/CMI	$fAUC_{0-24}/CMI: 6,6-13,7$ $fAUC_{0-24}/CMI: 3,7-28$	No disponible	$AUC_{0-24} > 100$ mg*h/L ^f

AUC_{0-24}/CMI =relación entre el área bajo la curva de concentración-tiempo durante un período de 24 horas y la concentración mínima inhibitoria; C_{max}/CMI = relación entre la concentración máxima del fármaco y la concentración mínima inhibidora; C_{min} =concentración mínima del fármaco; $fAUC_{0-24}/MIC$ =fracción libre (concentración del fármaco no unido) del área bajo la curva de concentración-tiempo durante un período de 24 h hasta la concentración mínima inhibitoria; $fT > CMI$ = duración del tiempo en que la concentración del fármaco libre permanece por encima de la CMI

*durante un intervalo de dosificación; ^a Nefrotoxicidad u ototoxicidad; ^b Sólo hay datos disponibles para meropenem y relacionados con nefrotoxicidad o neurotoxicidad; ^c Datos sólo disponibles para cefepima y relacionados con neurotoxicidad; ^d Datos principalmente sobre piperacilina y relacionados con nefrotoxicidad y neurotoxicidad; ^e Miopatía indicada por elevación de la creatinfosfoquinasa; ^f Relacionado con la nefrotoxicidad; ^g Relacionado con la toxicidad hematológica; ^h Exposición contra *Pseudomonas aeruginosa*; ⁱ Exposición contra *Acinetobacter baumannii*.*

Actualmente, las agencias reguladoras requieren la inclusión de datos de estudios no clínicos de PK-PD para la aprobación de nuevos antibióticos^{3,4}. El índice PK-PD predictor de eficacia y el valor objetivo de ese índice para diversas magnitudes de actividad antibacteriana (generalmente considerada como estasis o reducción de 1 o 2 log₁₀ en los recuentos de células bacterianas viables) han sido utilizados durante muchos años para este objetivo. Las utilidades de los índices PK-PD predictores de eficacia incluyen la información que proporcionan sobre varios pasos importantes en el desarrollo de nuevos antibióticos, especialmente la elección de regímenes de dosificación que se explorarán en estudios clínicos²⁴, la posibilidad de determinar los “puntos de corte PK-PD” de antimicrobiana^{25,26} y, finalmente, la traducción al entorno clínico para seleccionar un objetivo de exposición del antimicrobiano, generalmente en plasma, en la atención de rutina de los pacientes^{6,21}.

1.2 Las resistencias bacterianas y el rescate de viejos antimicrobianos

1.2.1 Las resistencias bacterianas como problema global

Estudios en muestras de permafrost han demostrado la existencia de genes de bacterianos de resistencia de hace 30.000 años, lo que se interpreta como que el origen de la mayoría de mecanismos de resistencia en las bacterias no se debe al

uso clínico de los antimicrobianos, sino que este uso favorece la diseminación de las resistencias mediante la presión de selección^{27,28}. Este complejo fenómeno ecológico, depende de los individuos, de las cepas bacterianas y de los mecanismos de resistencia²⁹. Por otro lado, los “viejos” antimicrobianos y los más novedosos se diferencian en el impacto sobre la aparición y propagación de bacterias resistentes³⁰.

Por tanto, la resistencia a los antimicrobianos representa un desafío permanente con un enfoque multidisciplinar que incluya: la innovación en el campo de la biomedicina, la mejora de la vigilancia sobre el consumo de antimicrobianos y de las tasas de resistencia a los mismos, la prevención de las infecciones relacionadas con la asistencia sanitaria y la transmisión de bacterias multirresistentes (BMR) y la diseminación ambiental, el diagnóstico microbiológico rápido, y la reducción debida al mal uso de antimicrobianos en humanos y en animales. Actualmente, un tema preocupante es que la resistencia bacteriana a los antimicrobianos sigue aumentando, pero desafortunadamente el ritmo de desarrollo de nuevos antimicrobianos está disminuyendo.

Por otro lado, el descubrimiento de la penicilina por parte de Alexander Fleming en 1928 fue un crucial para la entrada en la era moderna del tratamiento de las infecciones bacterianas³¹. El origen de los antimicrobianos se remonta a algunas décadas atrás y desde entonces han sido muy relevantes para impedir el crecimiento de microorganismos patógenos. No fue hasta la década de 1960 cuando la resistencia a los antimicrobianos comenzó a tomar relevancia, cuando varias enterobacterias y otras Gram-negativas desarrollaron resistencia a fármacos comúnmente utilizados. Actualmente, la resistencia a los antimicrobianos es una de las mayores amenazas para la salud humana en todo el mundo, puesto que reduce drásticamente las posibilidades de tratar eficazmente las infecciones con los antibióticos disponibles y esto se asocia con un aumento en la morbilidad y la mortalidad relacionadas con las enfermedades

bacterianas comunes³². El gobierno del Reino Unido encargó la elaboración del informe O'Neill, el cual reveló que, sin una repuesta urgente al aumento de las resistencias, en el año 2050, morirán 10 millones de personas al año a causa de infecciones generadas por bacterias multirresistentes a los antimicrobianos³³.

En la figura 1 se pretende reflejar la cronología del descubrimiento de antimicrobianos y la aparición de resistencias.

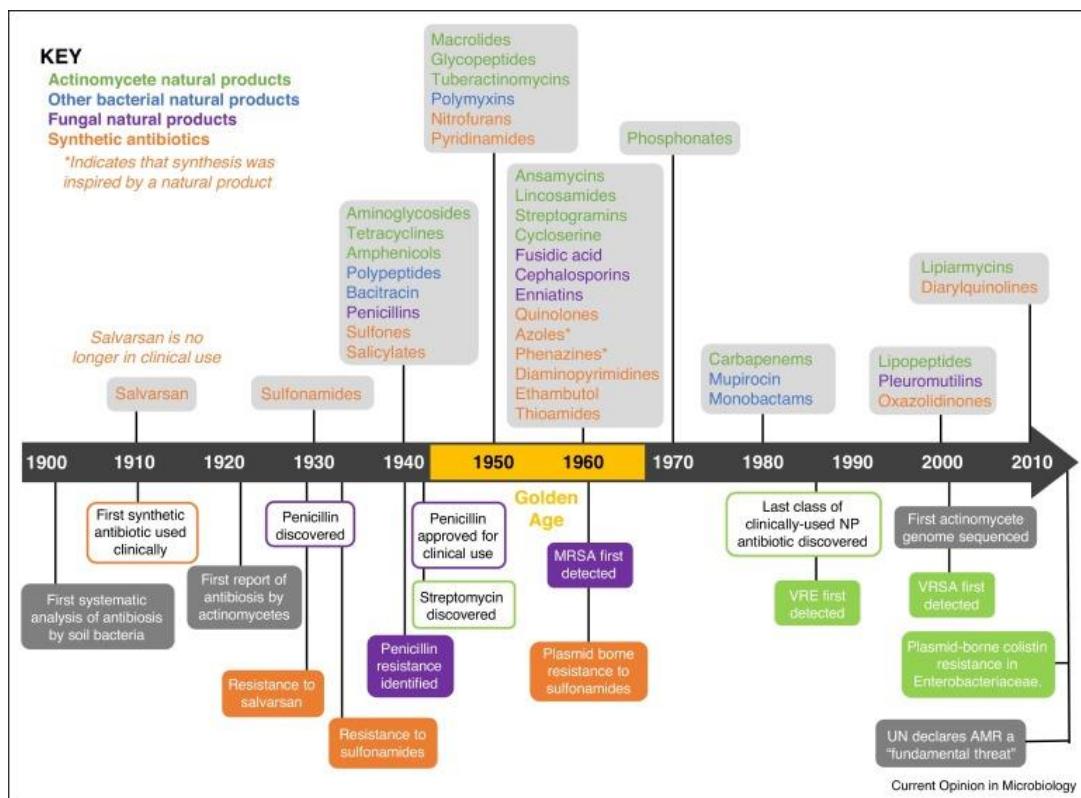


Figura 1. Evolución cronológica que muestra la década en que aparecieron nuevas clases de antimicrobianos a la práctica clínica³⁴. Los antimicrobianos aparecen en color según sea su origen: verde=actinomicetos, azul=otras bacterias, morado=hongos y naranja=sintético. En la parte inferior de la línea temporal, aparecen fechas clave relacionadas con el descubrimiento de antibióticos y la resistencia a los antimicrobianos, incluidos los primeros informes de cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA), enterococos resistentes a la vancomicina (VRE), *S. aureus* resistente a la vancomicina (VRSA) y la resistencia a Enterobacteriaceae.

El ritmo de descubrimiento de nuevos antimicrobianos se ha enlentecido de manera alarmante. A ello contribuyen la dificultad de encontrar nuevas dianas terapéuticas y la falta de inversión en el desarrollo de nuevos fármacos por parte de la industria farmacéutica. La incorporación de herramientas genómicas y técnicas bioinformáticas puede ayudar a la identificación de nuevas dianas mediante el conocimiento de los genomas bacterianos; la búsqueda de estrategias no antibióticas (fagos, anticuerpos monoclonales, fármacos antivirulencia, vacunas, etc.) podría permitir encontrar soluciones diferentes a las que hasta ahora se han utilizado. Sin embargo, el problema es acuciante: el sobreuso de antibióticos en medicina humana, la eliminación de antibióticos o productos relacionados sin respetar las normas y reglamentos al respecto, la transmisión de microorganismos y genes de resistencias a los antibióticos entre pacientes en los hospitales y centros sociosanitarios, los sistemas de higiene y saneamiento inadecuados, la utilización excesiva de antibióticos en la agricultura y ganadería (animales de corral, acuáticos, etc.) y los viajes internacionales son algunos de los factores que contribuyen al aumento de resistencias en la comunidad humana y animal³⁵. Por tanto, estos hechos contribuyen a un aumento importante de las resistencias a nivel ambiental, lo cual constituye una grave preocupación mundial³⁶.

La resistencia a los antimicrobianos, por tanto, se considera una amenaza a la esencia misma de la medicina moderna y a la sostenibilidad de una respuesta de salud pública mundial eficaz ante la amenaza persistente de las enfermedades infecciosas³⁵. Los antimicrobianos eficaces son imprescindibles para las medidas preventivas y curativas, para proteger a los pacientes frente a enfermedades potencialmente mortales y para garantizar que se puedan llevar a cabo procedimientos complejos, como la cirugía y la quimioterapia, con riesgos asumibles. Sin embargo, la mala utilización y el abuso continuado y sistemático de los antimicrobianos, tanto en la medicina como en la producción de alimentos,

han puesto en riesgo a todas las naciones³⁷. Sin medidas armonizadas e inmediatas a escala mundial avanzamos hacia una era post-antibiótica en la que infecciones comunes podrían volver a ser mortales.

En España, en el año 2014, se creó el *Plan Estratégico y de Acción para Reducir el Riesgo de Selección y Diseminación de la Resistencia a los Antibióticos* dentro del primer Plan Nacional de Resistencias a Antibióticos, que surgió de la necesidad a nivel europeo de establecer una estrategia común para valorar y afrontar el problema de desarrollo de resistencias a los antibióticos, concretándose una serie de acciones, necesarias para afrontar este grave problema³⁸.

Por otro lado, la Asamblea Mundial de la Salud de mayo de 2015 adoptó un plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos en el que se establecen cinco objetivos³⁹:

- Mejorar la comprensión y concienciación con respecto a la resistencia a los antimicrobianos a través de una educación, comunicación y formación efectivas.
- Reforzar la base científica y los conocimientos a través de la vigilancia y la investigación.
- Disminuir la incidencia de las infecciones con medidas eficaces de saneamiento, higiene y prevención de las infecciones.
- Utilizar de forma adecuada los medicamentos antimicrobianos en la salud humana y animal.
- Preparar argumentos económicos a favor de una inversión sostenible que tenga en cuenta las necesidades de todos los países, y aumentar la inversión en nuevos medicamentos, medios de diagnóstico, vacunas y otras intervenciones.

Por otro lado, el 11 de marzo de 2020, la OMS declaró de manera global, la pandemia de la enfermedad por coronavirus (COVID-19) causada por un nuevo

coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2)^{40,41}. Sin embargo, en noviembre del mismo año, se desarrolló la Semana Mundial de Concienciación sobre los Antimicrobianos, donde se destacó el lema 'Antimicrobianos: manéjelos con cuidado' cuyo objetivo, era alertar sobre el uso correcto de los antimicrobianos, ya que, durante la pandemia, el uso indebido o excesivo de antibióticos podría aumentar, aumentando también las resistencias⁴².

1.2.2 Viejos antimicrobianos potencialmente útiles en las infecciones causadas por bacterias Gram negativas

En un contexto de falta de alternativas terapéuticas motivada por la diseminación de resistencia y falta de desarrollo de nuevos antimicrobianos, la reintroducción de antibióticos “olvidados” (generalmente debido a que fueron sustituidos por fármacos muy activos y bien tolerados) que mantienen actividad contra las BMR representa una estrategia atractiva⁴³. Sin embargo, dado que estos antimicrobianos “antiguos” no fueron sometidos a los procedimientos actuales de desarrollo de fármacos antimicrobianos, o no se han comparado con los antimicrobianos actuales de uso común, se suelen tener menos en cuenta en la práctica clínica y, por lo tanto, su eficacia y seguridad deben ser reevaluadas para optimizar la terapia.

Dentro de las resistencias, quizás la mayor preocupación actual está en las infecciones causadas por BMR Gram-negativas, cuya incidencia ha aumentado en todo el mundo de forma alarmante durante las últimas décadas. Así, la Red Europea de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (EARS-Net), informó en 2020, que más de la mitad de los aislados de *Escherichia coli* notificados y más de un tercio de los aislados de *Klebsiella pneumoniae* eran resistentes, al menos, a un grupo de antimicrobianos bajo vigilancia, y que la resistencia combinada a varios grupos de antimicrobianos estaba siendo un hecho frecuente.

De hecho, entre los grupos de antimicrobianos bajo vigilancia para ambas especies, el número de resistencias fueron generalmente más altos en *K. pneumoniae* que en *E. coli*. Así, la resistencia a los carbapenémicos siguió siendo rara en *E. coli*, pero casi una cuarta parte de los países de la UE, notificaron porcentajes de resistencia a carbapenémicos superiores al 10% para *K. pneumoniae*. Esta resistencia a los carbapenémicos también fue común en *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* spp. y en un porcentaje mayor que en *K. pneumoniae*⁴⁴. De especial importancia para la salud pública es la propagación de betalactamasas de espectro ampliado, que confieren resistencia a la mayoría de los betalactámicos (incluso a los carbapenémicos en el caso de algunos de ellos) y se asocian con frecuencia a la resistencia a otros grupos de antibióticos en aislados de Enterobacteriaceae tanto de la comunidad como de entornos sanitarios. En este contexto, es esencial optimizar nuestro arsenal antibacteriano y reconsiderar los antibióticos disponibles que puedan ser útiles mediante un mejor conocimiento de su eficacia, seguridad y dosificación^{45,46}. Pasamos a describir algunos antibióticos “olvidados” que pueden resultar potencialmente útiles para el tratamiento de infecciones causadas por BMR Gram-negativas, ya sea en monoterapia o en combinación y puesto que los antimicrobianos objetivo de esta tesis son piperacilina-tazobactam (PTZ) y fosfomicina, los abordaremos a continuación.

Betalactámicos /Inhibidores de betalactamasas (BL/BLI)

En general, se considera que los carbapenémicos son los fármacos de referencia para el tratamiento de infecciones invasivas causadas por Enterobacterales resistentes a cefalosporinas de tercera y cuarta generación. De hecho, dada su alta eficacia, cabe preguntarse si es necesario disponer de alternativas a los mismos. La respuesta es que sí. La alta incidencia de infecciones causadas por Enterobacterales resistentes a cefalosporinas ha conllevado un muy importante

aumento en el consumo de carbapenemes;⁴⁷ por otro lado, la resistencia a los mismos está claramente en aumento⁴⁸. Aunque pueda ser discutible hasta qué punto la diseminación de organismos resistentes a los carbapenémicos está causada por el aumento en el consumo de estos fármacos, es evidente que existe, al menos, un efecto causal parcial. De hecho, hace tiempo que se sabe que *“to squeeze the ballon”* (estrujar el globo) en el uso de antibióticos, es decir, usar un solo grupo de antibióticos para tratar bacterias resistentes, es una mala idea dado que originará diseminación de las resistencias a este grupo⁴⁹ y esto es probablemente lo que está sucediendo. Por tanto, consideramos que es absolutamente necesario encontrar alternativas a los carbapenémicos para estos microorganismos⁴⁵.

En la discusión sobre qué antibiótico usar en estas infecciones, es clave reconocer que el espectro clínico de estas infecciones es amplio, así, en un extremo tendríamos pacientes con infecciones difíciles de tratar y/o pacientes con shock séptico, como la neumonía asociada a la ventilación mecánica o la meningitis. En cuyo caso, es crucial alcanzar una exposición temprana eficaz a un fármaco completamente activo en el lugar de la infección. Sin embargo, en el otro extremo, tenemos pacientes con infecciones urinarias o biliares leves o en las que es posible un control adecuado y precoz del foco de infección y para los cuales disponemos de antibióticos que alcanzan concentraciones adecuadas en el lugar de la infección. En la era moderna donde el rumbo es claro hacia una medicina individualizada, el tratar a todos los pacientes de la misma forma, probablemente no estaría justificado. Por ello, se ha sugerido que se deben considerar alternativas a los carbapenémicos según las características del paciente y el tipo de infección⁵⁰.

La lista de alternativas potenciales incluye medicamentos que son activos contra la mayoría de las Enterobacterales resistentes a las cefalosporinas, incluyendo algunos betalactámicos (combinaciones antiguas y nuevas de -

betalactámicos/inhibidores de betalactamasas [BL/IBL], cefamicinas para los productores de BLEE y cefepima para los productores de AmpC, temocilina para ambos) y no betalactámicos (tigeciclina, aminoglucósidos, fosfomicina, trimetoprim/sulfametoxazol y fluoroquinolonas). Actualmente genera controversia que alguno de estos fármacos puede usarse para tratar a algunos pacientes con infecciones por Enterobacterales resistentes a cefalosporinas y esta es la razón de este debate⁴⁵.

- **Piperacilina-tazobactam**

o *Estructura química*

La piperacilina sódica es un antibiótico betalactámico desarrollado en 1977 por Ueo *et al* en Toyama Chemical Company Ltd de Japón. El nombre químico de la piperacilina sódica es [2S-[2a, 5a, 6p(S*)]]-6-[[[(4-etil-2,3-dioxo1-piperazinil)carbonil-amino] fenilacetil]amino] de sodio-3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]heptano-2-carboxilato y que originalmente se la conocía como T1220. La piperacilina es un derivado de la acilampicilina y es similar en muchos aspectos a las carboxipenicilinas, carbenicilina y ticarcilina comercializadas anteriormente en Estados Unidos, la dos ureidopenicilinas, mezlocilina y azlocilina, y los agentes (similares) a las cefalosporinas de tercera generación cefotaxima, moxalactam y cefoperazona (esta última no se comercializó y es estructuralmente similar a piperacilina)⁵¹. Por otro lado, tazobactam pertenece a la familia ácidos penicilánicos y de los triazoles y está relacionado funcionalmente con sulbactam (ácido conjugado de tazobactam)⁵².

Las estructuras químicas están representadas en la figura 2.

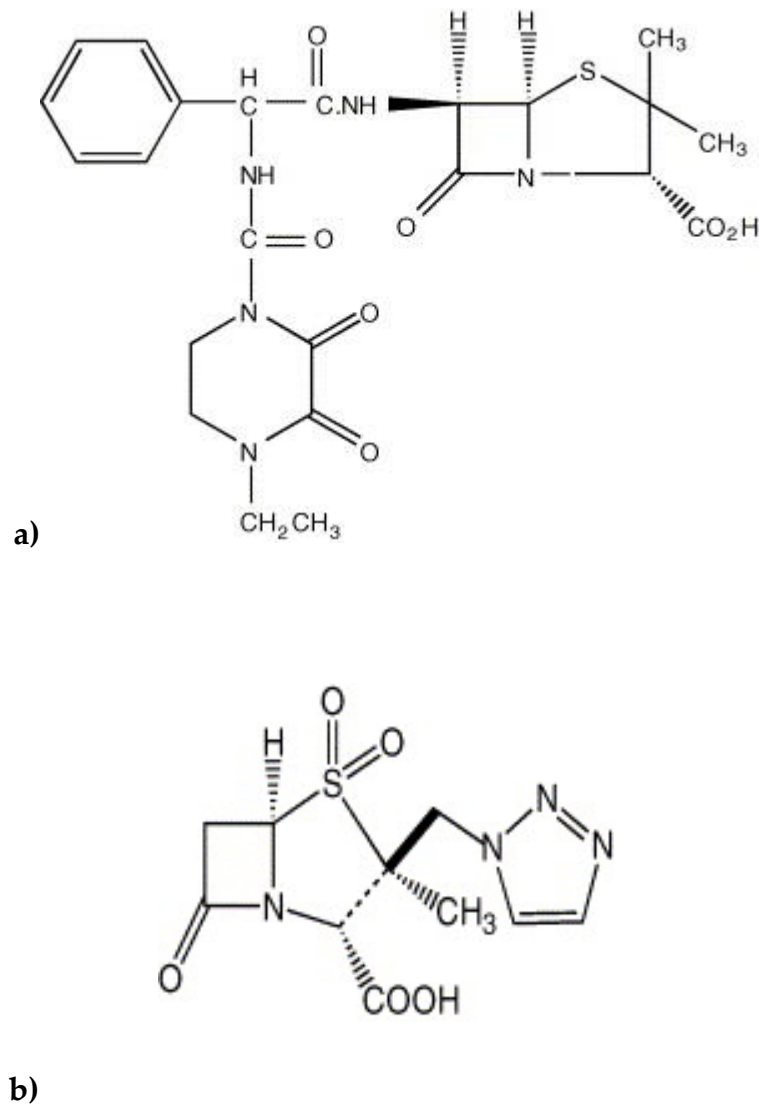


Figura 2. Estructura química de: a) piperacilina b) tazobactam⁵³.

o *Mecanismo de acción*

La piperacilina es una penicilina semisintética de amplio espectro, que ejerce su actividad bactericida mediante la inhibición de la síntesis de la pared celular y de los septos. Por otro lado, el tazobactam tiene la capacidad de inhibir varias betalactamasas, que suelen producir resistencia a las penicilinas y a las cefalosporinas, sin embargo, no tiene capacidad inhibitoria de las enzimas AmpC o metalobetalactamasas. Tazobactam amplía el espectro antibiótico de la

piperacilina, de forma que incluye numerosas bacterias productoras de betalactamasas que han adquirido resistencia a la piperacilina sola⁵⁴.

○ *Espectro de actividad antimicrobiano*

La combinación de tazobactam, un inhibidor de la betalactamasa, con la piperacilina restablece con éxito la actividad de la piperacilina contra las bacterias productoras de betalactamasas. Tazobactam tiene buena actividad inhibidora contra las betalactamasas de tipo II, III, IV y V de Richmond y Sykes, la penicilinasa estafilocócica y las betalactamasas de espectro extendido. Además, ha demostrado tener actividad contra las betalactamasas cromosómicas de clase Ic, sin embargo, su actividad es limitada contra el resto de las enzimas de clase I. Así, los estudios de cinética enzimática confirman que el tazobactam actúa como un inhibidor irreversible contra las principales clases estructurales de betalactamasas. A diferencia del ácido clavulánico, que tiene una actividad inductora de moderada a fuerte frente a las betalactamasas cromosómicas de las enterobacterias, el tazobactam sólo tiene una actividad inductora de enzimas de débil a moderada, teniendo, además, poca actividad antibacteriana intrínseca y demostrándose que amplía el espectro de actividad de la piperacilina contra bacterias que producen betalactamasas mediadas por cromosomas y plásmidos⁵⁵. De hecho, en varios estudios se ha observado sinergia entre ambos agentes, siendo, la combinación de 4 a 32 veces menos activa contra cepas productoras de enzimas cromosómicas en comparación con enzimas mediadas por plásmidos, y teniendo una actividad específica de cepa contra bacterias Gram-negativas con betalactamasas cromosómicas de clase I inducibles⁵⁶. Sin embargo, se ha observado una sensibilidad disminuida a PTZ en microorganismos que desarrollan más de un mecanismo de resistencia. Además, PTZ posee un amplio espectro de actividad que engloba a muchas enterobacterias y otras bacterias Gram-negativas, de hecho, las cepas resistentes incluyen *Enterobacter spp.*, *P.*

aeruginosa que es sensible a PTZ, sin embargo, la combinación tiene poca actividad frente *Stenotrophomonas maltophilia*. Las bacterias Gram-positivas sensibles a PTZ, incluyen *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes* y estreptococos. Además, es importante destacar que la PTZ tiene buena actividad contra *Bacteroides fragilis* y otras bacterias anaerobias^{57,58}.

o *Mecanismos de resistencia a betalactámicos*

La resistencia de las enterobacterias a los antibióticos BL puede ser debida a varios mecanismos, que en ocasiones se asocian:

- a) Hidrólisis del antibiótico mediante betalactamasas: la producción de betalactamasas es el mecanismo de resistencia más importante en enterobacterias a los antibióticos. Las betalactamasas son responsables de la mayor parte de fracasos terapéuticos debido a que hidrolizan el anillo betalactámico al unirse al grupo carboxilo y romper el enlace amídico del anillo, lo cual hace que se pierda la capacidad de unión a las proteínas de unión a la penicilina (PBP)^{59,60}. En función de su estructura molecular, se conocen cuatro grupos de betalactamasas: clase A (serin-betalactamasas), B (metaloenzimas), C (serin-cefalosporinasas) y D (serin-oxacilinasas)⁶¹. Por otro lado, la actividad enzimática depende de un residuo de serina en las betalactamasas de las clases A, C y D y de uno o dos iones de zinc en las de la clase B, hecho, por el que a estas últimas se les denominan también metalobetalactamasas⁶². Por otro lado, las betalactamasas pueden clasificarse atendiendo a su capacidad para hidrolizar diversos sustratos y a la inhibición por diferentes compuestos en tres grupos funcionales: 1, 2 y 3 (tabla 2)^{60,63}. Atendiendo a sus aspectos clínicos, las enzimas de mayor interés en enterobacterias corresponden a tres grupos: betalactamasas de espectro extendido (BLEE), enzimas de clase C y carbapenemasas^{64,65}.

Tabla 2. Clasificación de betalactamasas de interés clínico⁶⁶.

Grupo funcional ^a	Clase molecular	Sustratos de referencia	Inhibición		Tipo de enzima	Ejemplos (familias/representantes)
			AC-TZB	EDTA		
1	C	Cefalosporinas	-	-	Cefalosporinas cromosómicas Cefamicinas plasmídicas	AmpCsFOX, DHA, ACT...
2a	A	Penicilinas	+	-	Penicilinasas	PC1
2b	A	Penicilinas Cefalosporinas-1G	+	-	Penicilinasas de amplio espectro	TEM-1, SHV-1
2be	A	Cefalosporinas-EE Monobactámicos	+	-	BLEE	TEM, SHV, CTX-M...
2br	A	Penicilinas	-	-	TEM resistentes a inhibidores	TEM-30...
2ber	A	Cefalosporinas-EE Monobactámicos	-	-	BLEE resistentes a inhibidores	TEM-50...
2c	A	Carbencilina	+	-	Penicilinasas	PSE-1
2ce	A	Carbencilina Cefepima	+	-	Penicilinasas-cefepimasas	RTG-4
2d	D	Oxacilina	±	-	Oxacilinasas	OXA-1, OXA-10...
2de	D	Cefalosporinas-EE	±	-	Oxacilinasas de espectro extendido	OXA-11...
2df	D	Carbapenémicos	±	-	Carbapenemasas tipo OXA	OXA-23, OXA-48...
2e	A	Cefalosporinas-EE	+	-	Carbapenemasas	CepA
2f	A	Carbapenémicos	±	-	Carbapenemasas	KPC, IMI, GES-6...
3	B	Carbapenémicos	-	+	Carbapenemasas	IMP, VIM, NDM...LI, CphA...

AC/TZB: ácido clavulánico/tazobactam; BLEE: betalactamasas de espectro extendido; Cefalosporinas-EE: cefalosporinas de espectro expandido; Cefalosporinas-1G: cefalosporinas de primera generación. Los grupos de especial importancia aparecen en **negrita**.

a La última clasificación funcional no incluye un grupo 4 previamente reconocido que integraba enzimas mal caracterizadas

- b) Alteraciones en la permeabilidad de la membrana externa: los antibióticos BL atraviesan la membrana a través de canales proteicos denominados porinas y, una vez en el espacio periplásmico, se unen a las PBP diana. Las mutaciones en las porinas originan una disminución de la concentración de antibiótico en el interior de la célula, lo que reduce significativamente su capacidad de acción⁶⁷.

- c) Bombas de expulsión activa: el fármaco que entra en el espacio periplásmico se bombea de vuelta a través de la membrana externa por medio de bombas de expulsión⁶⁸.
- d) Disminución de la afinidad del antibiótico a las PBP: las PBP pueden sufrir pérdida de afinidad por los BL a consecuencia de las mutaciones que afectan a su estructura terciaria.

En los años setenta y ochenta se investigaron moléculas con capacidad de resistir la acción de las betalactamasas (como determinadas cefalosporinas o carbapenemas) o de inhibir su acción (IBL). Los IBL son eficaces en la inhibición de las denominadas de amplio espectro como TEM-1, TEM-2 y SHV-1 y sus variantes de espectro extendido (BLEE), así como las BLEE tipo CTX-M. Sin embargo, las enterobacterias rápidamente desarrollaron variantes de betalactamasas capaces de evitar la acción de los IBL. La resistencia a los inhibidores de las betalactamasas de clase A y sus combinaciones comerciales con antibióticos betalactámicos (amoxicilina-ácido clavulánico, ampicilina-sulbactam, ticarcilina-ácido clavulánico, cefoperazona-sulbactam y piperacilina-tazobactam) puede surgir como consecuencia de diferentes mecanismos. En algunos casos, pueden existir mecanismos de resistencia intrínsecos debidos a la producción natural de diferentes betalactamasas cromosómicas que no son inhibidas (o lo son débilmente) por estos IBL, como las betalactamasas AmpC en *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Morganella* y *P. aeruginosa*, o metalobetalactamasas como L1 en *Stenotrophomonas maltophilia*⁶⁹. En otros casos, la hiperproducción de betalactamasas cromosómicas constitutivas también puede reducir la actividad de las combinaciones de BL/BLI de betalactamasas, como, por ejemplo, ocurre con la hiperproducción de AmpC en *E. coli* y la hiperproducción de SHV-1 en aislados de *K. pneumoniae*⁷⁰⁻⁷². La hiperproducción de betalactamasa TEM-1 debido a la presencia de promotores altamente

eficientes o a la presencia del gen *bla* correspondiente en diferentes copias puede resultar en la pérdida de sensibilidad a la amoxicilina-ácido clavulánico (AMC) y otras combinaciones de BL/BLI. En el primer caso, se han descubierto fuertes promotores con las enzimas TEM-1 y TEM-2 y sus correspondientes variantes de BLEE, así como con SHV BLEE⁷³⁻⁷⁵. También se ha descrito hiperproducción de variantes SHV-1 o SHV BLEE, pero con menor frecuencia que la de TEM-1^{74,76}. Sin embargo, la presencia simultánea de una BLEE y una betalactamasa de amplio espectro no es un evento infrecuente, este hecho, aumenta la cantidad neta de betalactamasa que debe ser inhibida por el IBL, reduciéndose ligeramente la sensibilidad a las combinaciones de BL/BLI⁷⁷. En *E. coli*, puede surgir resistencia a BL/BLI si se producen enzimas sensibles en combinación con deficiencias de permeabilidad que involucran las porinas OmpF y/o OmpC⁷⁸. Así, la falta de una o dos de estas porinas no afecta significativamente la sensibilidad de ninguno de los antibióticos BL, solos o combinados, sin embargo, cobra especial relevancia cuando ambos se asocian en presencia de una betalactamasa. Además, la presencia concomitante de diferentes betalactamasas también afecta a las combinaciones de BL/BLI. Este hecho cobra especial relevancia cuando se expresan betalactamasas de tipo OXA, ya que estas enzimas sólo son inhibidas débilmente por el ácido clavulánico y otros IBL de clase A y en consecuencia, la presencia de estas enzimas reduce la actividad de las combinaciones de inhibidores⁷⁹⁻⁸¹.

Los dos mecanismos principales de resistencia a PTZ son:

- Inactivación de la piperacilina por aquellas betalactamasas que no son inhibidas por el tazobactam: betalactamasas de las clases moleculares B, C y D. Además, el tazobactam no confiere protección contra las BLEE de los grupos enzimáticos de las clases moleculares B y D.

- Alteración de las (PBPs), lo que produce una reducción de la afinidad de la piperacilina por objetivo la diana molecular de la bacteria.

Por otra parte, las alteraciones de la permeabilidad de la pared bacteriana, así como la expresión de bombas de expulsión de multirresistencia, podrían causar o contribuir a producir la resistencia bacteriana a PTZ, especialmente en bacterias Gram-negativas⁵⁴.

- o *Utilidad clínica y aspectos clave*

Las BLEE son inhibidas por inhibidores de la β -lactamasa⁸²⁻⁸⁴, aunque la hiperproducción de betalactamasas o mecanismos de resistencia adicionales pueden obstaculizar la actividad de estos compuestos, las combinaciones de BL/BLI, como PTZ, siguen siendo activas contra un número considerable de enterobacterias productoras de BLEE, particularmente *E. coli*⁸⁵⁻⁸⁸, además la formulación de PTZ está disponible en forma intravenosa⁵⁴. Por otro lado, la actividad de PTZ contra *E. coli* que producen diferentes tipos de BLEE se reduce significativamente in vitro cuando se utiliza un alto inóculo de bacterias⁸⁹⁻⁹¹. Sin embargo, se ha observado un efecto similar con aislados que no producen BLEE⁹⁰, lo que sugiere que la importancia clínica del efecto del inóculo, si lo hubiera, también se aplicaría a los aislados que no producen BLEE. Otra cuestión de interés es la CMI de los aislados y la dosis de BL/BLI, así, los modelos matemáticos han mostrado una probabilidad del 99 % de alcanzar el objetivo farmacocinético/farmacodinámico ($fT > CMI > 50\%$) frente a los productores de BLEE utilizando 4/0.5g de PTZ/6 h cuando la CMI del aislado es ≤ 8 mg/L, en comparación con una probabilidad de sólo el 57% cuando la CMI es de 16 mg/L⁹². Esto se relaciona con otros estudios que mostraron una mayor mortalidad para las CMI más altas de PTZ., además, se ha demostrado que utilizando dosis más frecuentes (3/0.375 g/4 h) o infusiones prolongadas de PTZ se alcanza un objetivo

PK-PD más adecuado^{92,93}. En muchos países, la dosis habitual de PTZ es de 3/0.375 g cada 6 u 8 horas, mientras que en España la dosis utilizada es de 4/0.5 g/6h. Otro aspecto importante a la hora de seleccionar el tratamiento con un BL/BLI en monoterapia empírica es la sensibilidad de las cepas locales a estas moléculas. De hecho, varios estudios, demostraron prevalencias de sensibilidad a PTZ en *E. coli* productora de BLEE que oscilaban entre el 62% y el 87% en diferentes áreas del mundo y para *K. pneumoniae* productora de BLEE oscilaron entre el 26% y el 47%^{85,94}. En un estudio realizado en España, demostró que el 69% de los aislados de *E. coli* productora de BLEE fueron susceptibles a AMC⁸⁸, no obstante, la mayoría de los aislados son resistentes a ampicilina-sulbactam y por tanto, algunos autores no respaldan el uso de BLBLI como monoterapia para infecciones graves potencialmente causadas por *E. coli* productora de BLEE. Sin embargo, este hecho no resta valor a que PTZ o AMC sean opciones terapéuticas a tener en cuenta para el tratamiento definitivo, una vez que se conozcan los resultados de sensibilidad, brindando así una oportunidad para utilizar una terapia antimicrobiana alternativa a los carbapenémicos. De esta manera, la terapia con carbapenemas podría reducirse a terapia con un BL/BLI activo, y cualquier terapia empírica inadecuada podría reemplazarse con un BL/BLI activo en lugar de una carbapenema⁹⁵.

- *Controversias en el uso de BL/BLI vs carbapenémicos*

La controversia es particularmente importante para los BL/BLI principalmente debido a los resultados del ensayo MERINO, que concluyó que entre los pacientes con bacteriemias por *E. coli* o *K. pneumoniae* resistentes a ceftriaxona, el tratamiento con piperacilina-tazobactam no demostró la no inferioridad respecto a meropenem para la variable resultado mortalidad a los 30 días y por tanto, concluyó que estos hallazgos no respaldarían el uso de piperacilina-tazobactam

en estas infecciones⁹⁶. Sin embargo, a pesar de sus muchas virtudes, el ensayo MERINO tiene algunas limitaciones⁹⁷. Se trata de un ensayo abierto, en el que piperacilina/tazobactam se administró a una dosis de 4,5 g/8 h en 30 minutos, mientras que la mayoría de la evidencia disponible en la actualidad sugiere que para las CMI de alrededor de 16 mg/L se necesita una dosificación cada 6 horas y una infusión prolongada⁹⁸. El ensayo se detuvo prematuramente, y el desbalance de grupos para algunas variables confusoras podría no haber sido corregido en el análisis. La mortalidad, en la mayoría de los casos, no estuvo relacionada con la infección. Más allá de estos problemas, el más importante es que una proporción significativa de los microorganismos no era realmente sensible a piperacilina/tazobactam cuando se usó la técnica de referencia (microdilución en caldo)⁹⁹ a pesar de haber sido clasificado como sensible por los laboratorios locales mediante tiras de gradiente⁹⁶. De hecho, cuando se excluyeron los pacientes con aislamientos que tenían CMI de piperacilina/tazobactam >16 mg/L o >8 mg/L mediante microdilución en caldo, las diferencias en la mortalidad se redujeron del 9 % en el análisis inicial (IC 95% 3 a 15) al 5 % (IC 95 % -1 a 11) y 4 % (IC 95% -2^a 11), respectivamente. Además, se encontró que la CMI de piperacilina/tazobactam >16 mg/L se asoció de forma independiente con un mayor riesgo de mortalidad.⁹⁹ Este hecho se produjo porque los aislamientos que coproducen una BLEE y OXA-1 pueden mostrar una sensibilidad falsa a la piperacilina/tazobactam cuando se estudian mediante métodos automáticos¹⁰⁰ o tiras de gradiente.

De hecho, estos resultados podrían reforzar la hipótesis de que el fármaco es eficaz frente a cepas verdaderamente sensibles. También explica la discrepancia entre algunos estudios observacionales y MERINO, ya que algunos de los primeros incluían una alta proporción de infecciones causadas por *E. coli* no coproductora de OXA-1^{95,101}, para las cuales las CMI de piperacilina/tazobactam están alrededor de 2-4 mg/L.

Por tanto, podemos concluir que piperacilina/tazobactam puede ser una alternativa para infecciones bacteriémicas causadas por cepas realmente sensibles, particularmente infecciones del tracto urinario (ITU) y en pacientes sin sepsis grave o shock. Se recomienda utilizar 4,5 g cada 6-8 h en infusión prolongada de 3-4 h, salvo, en el caso de pacientes con neumonía o shock séptico, en los que la recomendación se centra en un carbapenémico⁴⁵. En este momento se está realizando un nuevo ensayo aleatorizado (PETERPEN) para corroborar estos datos.

Sin embargo, existen menos datos para otros BL/BLI como amoxicilina/ácido clavulánico, combinación que no sufre el efecto inóculo⁸⁹ y que se ha mostrado útil para la cistitis causada por productores sensibles de BLEE¹⁰², lo que permite evitar el uso de carbapenémicos intravenosos en estas infecciones, aunque, la proporción de aislados sensibles es menor que la de piperacilina/tazobactam. Los datos disponibles sugieren que ceftazidima/avibactam y ceftolozano/tazobactam, que son activos contra la mayoría de las Enterobacterales resistentes a la ceftriaxona, tendrían una eficacia comparable a los carbapenémicos,^{103,104} pero en general se aconseja reservarlos para enterobacterias productoras de carbapenemasas o *P. aeruginosa* multirresistente, respectivamente⁴⁵.

En general, los datos anteriores respaldan la consideración de fármacos diferentes a los carbapenémicos en pacientes seleccionados con infecciones por Enterobacterales resistentes a la ceftriaxona y en todas las demás situaciones, parece prudente utilizar una carbapenema⁴⁵.

- **Fosfomicina**

o *Estructura química*

La fosfomicina, originalmente llamada fosfonomicina, fue descubierta en España en 1969. Es un derivado del ácido fosfónico, con un peso molecular

extremadamente bajo (138,059 g/mol), y casi no muestra unión a proteínas. La fosfomicina es un antibiótico único que no tiene relación química con ningún otro agente antibacteriano conocido. Su fórmula empírica es $C_3H_7O_4P$ y su estructura química se muestra en la Figura 2¹⁰⁵.

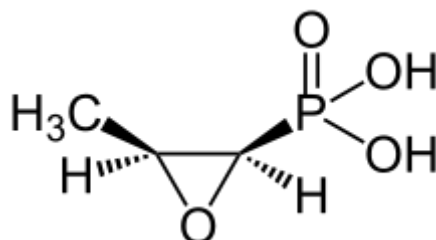


Figura 2. Estructura química de la fosfomicina¹⁰⁵.

Es un análogo del fosfoenolpiruvato (PEP) producido por *Streptomyces spp* como *Streptomyces fradiae* (ATCC 21096) *S. viridochromogenes* (ATCC 21240) y *S. wedmorensis* (ATCC 21239)¹⁰⁵. También se puede producir sintéticamente¹⁰⁶.

La fosfomicina está disponible en dos formulaciones orales: fosfomicina trometamina (sinónimo de trometamol), una sal soluble con biodisponibilidad mejorada sobre la fosfomicina, que se prepara sintéticamente, y fosfomicina cálcica. La fosfomicina trometamol es la formulación preferida para la administración oral de fosfomicina porque se absorbe más fácilmente en la sangre en comparación con la fosfomicina cálcica^{107,108}. También, existe una formulación intravenosa de fosfomicina disódica en dosificación de 1 gramo¹⁰⁹ y 4 gramos¹¹⁰. En la figura 3 se representa la estructura química de todas las sales de fosfomicina.

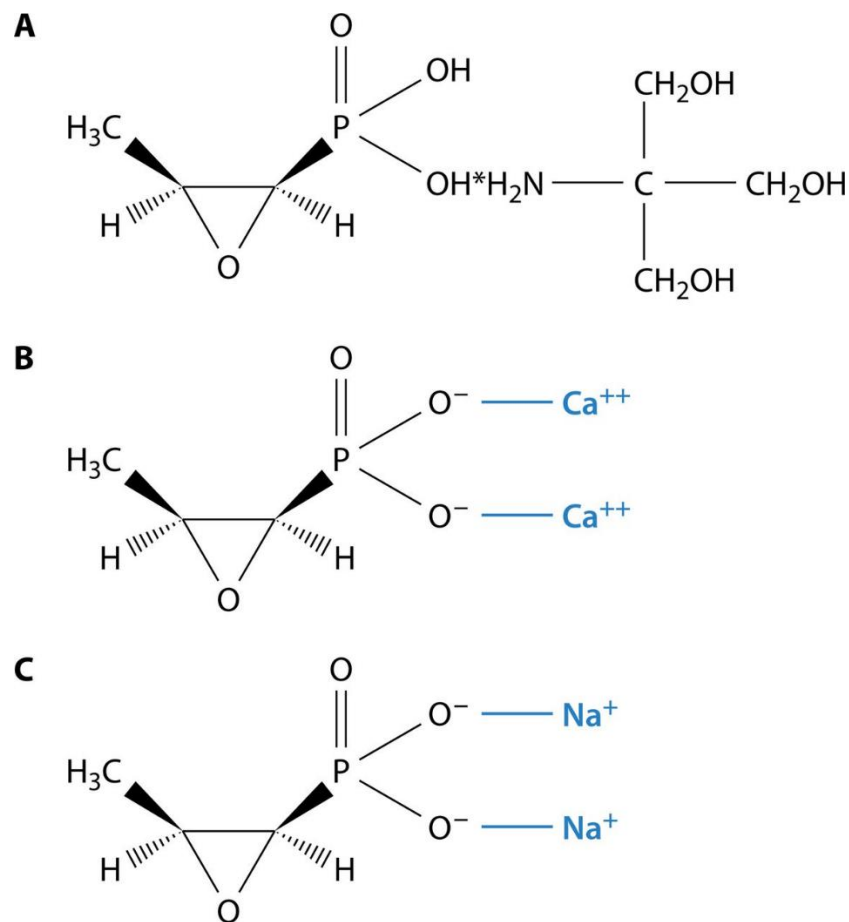


Figura 3. A) Estructura molecular de fosfomicina trometamol. (B) Estructura molecular de fosfomicina cálcica. (C) Estructura molecular de fosfomicina disódica¹¹¹.

o *Mecanismo de acción*

La fosfomicina es un agente antibiótico bactericida que inhibe una reacción catalizada por enzimas en el primer paso de la síntesis de la pared celular bacteriana¹¹². La fosfomicina interfiere con el primer paso citoplasmático de la biosíntesis de la pared celular bacteriana, la formación del precursor del peptidoglicano UDP N-ácido acetilmurámico (UDP-MurNAc)¹¹³. Específicamente, la enzima UDP- N -acetilglucosamina enolpiruvil transferasa (MurA) está involucrada en la biosíntesis de peptidoglicanos al catalizar la transferencia del resto enolpiruvilo del fosfoenolpiruvato (PEP) al grupo 3'-hidroxilo de UDP-N-acetilglucosamina (UNAG). Fosfomicina se une

covalentemente al grupo tiol de una cisteína (en posición 115) en el sitio activo de MurA y, como consecuencia, lo inactiva (Figura 4)¹¹⁴. Esta acción inhibitoria tiene lugar en un paso anterior a la acción de los betalactámicos o de los glicopéptidos^{111,115}.

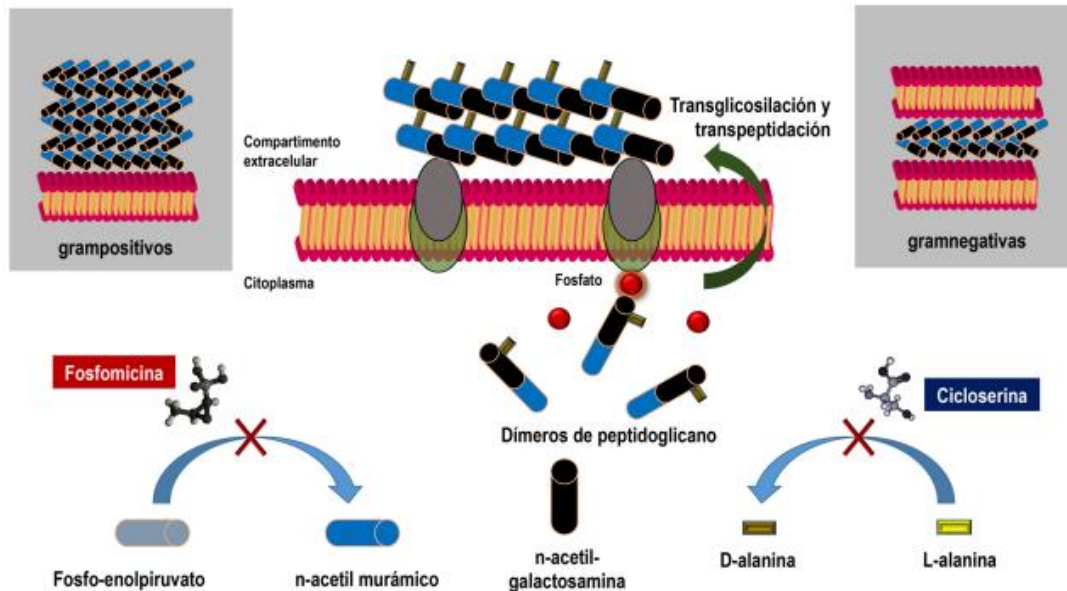


Figura 4. Mecanismo de acción de fosfomicina. Efecto en la síntesis de la pared bacteriana¹¹⁴.

Para la entrada en el interior de la bacteria, la fosfomicina utiliza dos vías de captación diferentes (identificadas al menos para *E. coli*), los sistemas transportadores de l-alfa-glicerofosfato y hexosa-6-fosfato. La actividad del segundo sistema de captación es inducida por glucosa-6-fosfato (G-6-P). Además, la expresión de los genes de ambos sistemas de captación mencionados anteriormente requiere la presencia de AMP cíclico (AMPc), junto con su complejo de proteína receptora¹¹⁶. Finalmente, la fosfomicina reduce la adherencia de las bacterias a las células epiteliales urinarias¹¹⁷. De manera similar, la fosfomicina suprime los receptores del factor activador de plaquetas en las células epiteliales respiratorias, lo que reduce la adhesión de *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*¹¹⁸.

- *Espectro de actividad*

Los datos de sensibilidad in vitro sugieren que la fosfomicina es considerablemente activa frente a patógenos Gram-negativos y Gram-positivos. En concreto, la fosfomicina se considera activa frente a *Enterococcus spp.* (incluyendo *E. faecalis* y *E. faecium* independientemente de la resistencia a la vancomicina), *S. aureus* (independientemente de la resistencia a la meticilina) y *S. epidermidis*. Fosfomicina también exhibe una actividad considerable contra patógenos Gram-negativos, incluyendo *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Citrobacter spp.* y *Proteus mirabilis*. También se ha encontrado que la fosfomicina es activa contra *Listeria monocytogenes*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Aerococcus urinae* y *Helicobacter pylori*. La fosfomicina no es activa frente a anaerobios, como *Bacteroides spp.*, pero sí frente a *Peptococcus spp.* y *Peptostreptococcus spp.* *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *S. capitis*, *S. saprophyticus* y *Mycobacterium tuberculosis* son intrínsecamente resistentes a la fosfomicina. *Morganella morganii* también es resistente a la fosfomicina¹¹¹.

- *Mecanismos de resistencia*

El mecanismo de acción y la estructura de la fosfomicina son únicos, lo que hace que la resistencia cruzada con otros antimicrobianos sea poco común. Sin embargo, se han identificado varios mecanismos que confieren resistencia a la fosfomicina¹¹⁹. Hay que distinguir entre tres tipos de resistencias:

a) Resistencia intrínseca o natural

Algunas bacterias son intrínsecamente resistentes a la fosfomicina. En primer lugar, las mutaciones en *murA* que provocan un cambio de cisteína a aspartato hacen que las bacterias como *Chlamydia spp.*, *Mycobacterium tuberculosis* y *Vibrio fischeri* sean resistentes a este agente antimicrobiano¹²⁰⁻¹²². En segundo lugar, un estudio identificó una vía de recuperación en la síntesis de peptidoglicanos en *Pseudomonas putida*, mediante la cual, se logra el reciclaje del peptidoglicano en lugar de su síntesis de novo a partir de UDP-MurNAc, que es el primer precursor de peptidoglicano (cuya producción es catalizada por *MurA*)¹²³. En consecuencia, la diana de fosfomicina (*MurA*) no está implicada en la síntesis de peptidoglicanos, lo que da lugar a una resistencia inherente a la fosfomicina. Esta vía se ha descrito de manera similar para *P. aeruginosa*¹¹³.

b) Resistencia adquirida

En bacterias comúnmente sensibles a la fosfomicina, como *E. coli*, se desarrolla resistencia cuando se producen mutaciones en los sistemas de captación utilizados como medio de entrada de la fosfomicina en el interior de la bacteria¹²⁴. Las mutaciones en los genes cromosómicos *glpT* y *uhpT*, que codifican los transportadores de fosfomicina, dan como resultado el bloqueo o disminución de la captación de fosfomicina¹²⁵. Las proteínas codificadas son transportadores de glicerol o carbohidratos que son esenciales para las funciones metabólicas o la virulencia en *E. coli* y otras bacterias y fueron los mecanismos de resistencia más comunes en las series más antiguas¹¹⁹. Por otro lado, las mutaciones en los genes *cyaA* y *ptsI*, que dan como resultado niveles más bajos de AMPc y regulación a la baja de los transportadores de fosfomicina, también se han descrito y asociado con una disminución en la biosíntesis de pilus y en la capacidad de adherirse a las células epiteliales¹¹⁹. Las mutaciones en *murA* dan como resultado una menor afinidad de la enolpiruvil transferasa por la fosfomicina, mientras que también se demostró que la sobreexpresión de la enolpiruvil transferasa da como resultado una resistencia a la fosfomicina¹²⁶.

Se han descrito varias enzimas modificadoras de fosfomicina, como por ejemplo, FosA (glutatión S-transferasa), la primera en ser descrita en 1988, es una metaloenzima transferida a través de plásmidos en *Enterobacteriaceae* y su función es catalizar la reacción entre el glutatión y la fosfomicina a un aducto que es inactivo^{127,128}. Se han descrito nuevos subtipos, con estructura similar, del gen (*fosA2*, *fosA3*, *fosA4* y *fosA5*)^{129,130}.

FosB es una enzima similar (su secuencia de aminoácidos es 48% idéntica a la de FosA) y en este caso, cataliza la reacción entre cisteína y fosfomicina en bacterias Gram-positivas (plásmidos codificados en *Staphylococcus spp.* y *Enterococcus spp.* y cromosómicamente en *Bacillus subtilis*)^{128,131}. Por otro lado, FosX es una enzima cromosómica de *Listeria monocytogenes* que cataliza la reacción de fosfomicina con agua¹³². Finalmente, FosC, que se encuentra en *Pseudomonas syringae*, es una enzima similar a la glutatión S-transferasa que cataliza la fosforilación con ATP y la inactivación de fosfomicina¹³³.

c) Heterorresistencia

La heterorresistencia es un fenómeno fenotípico que se define de muchas maneras y que a veces puede ser heterogénea y controvertida, y su frecuencia en aislados clínicos varía ampliamente según el estudio^{134,135}. En general, se considera heterorresistencia a la presencia de subpoblaciones que presentan diferentes niveles de sensibilidad a un antibiótico, así El-Halfawy y Valvano¹³⁶ la definieron como la presencia de una subpoblación de células con capacidad de crecer a concentraciones de antibiótico al menos 8 veces superiores a la concentración más alta que no afecta la replicación de la población dominante. Nicoloff *et al.* demostraron para varios agentes antimicrobianos, pero no específicamente para la fosfomicina, que la alta prevalencia de heterorresistencia a los antibióticos se debe principalmente a la amplificación espontánea en tándem, que generalmente involucra genes de resistencia conocidos¹³⁷. Hay estudios que sugieren que la heterorresistencia a fosfomicina puede estar

relacionada con un fenotipo hipermutador, a veces basado en antecedentes genéticos de mutaciones en los genes del sistema de reparación del ADN, que cuando se combinan con mutaciones preexistentes en genes relacionados con la resistencia a fosfomicina pueden aumentar la posibilidad de resistencia a fosfomicina, subpoblaciones que aparecen en la población bacteriana total¹³⁸.

Además, los estudios *in vitro* no farmacocinéticos/farmacodinámicos (no PK/PD) han demostrado que los aislados heterorresistentes a fosfomicina pueden sobrevivir a concentraciones altas de fosfomicina, dependiendo de las CMI de fosfomicina de las subpoblaciones, las tasas de mutación y el inóculo bacteriano. Sin embargo, aún se desconoce el impacto real de los aislados heterorresistentes a fosfomicina en el resultado clínico¹³⁹.

Un estudio demostró que la resistencia a la fosfomicina se produce de forma escalonada, en función de las vías metabólicas o de señalización afectadas¹⁴⁰. Actualmente, las pruebas de sensibilidad a la fosfomicina requieren la adición de glucosa-6-fosfato (G6P) para activar la ingesta rápida de fosfomicina a través del transportador UhpT¹⁴¹. Esta metodología, sin embargo, enmascara otras mutaciones relevantes para la resistencia a fosfomicina, como la pérdida del transportador de glicerol-3-fosfato (GlpT), el otro transportador transmembrana de fosfomicina, o la pérdida de componentes del sistema azúcar fosfotransferasa PTS (PtsI)¹⁴⁰. Estas consideraciones hacen que los resultados de las pruebas de sensibilidad a fosfomicina dependan en gran medida de múltiples factores, como el crecimiento bacteriano, las condiciones metabólicas y la existencia de mutaciones silenciosas con impacto en la resistencia a fosfomicina¹⁴².

Además de esto, los microorganismos hipermutables (o mutadores) han aumentado las tasas de mutación espontánea como resultado de defectos en los sistemas de reparación o evitación de errores del ADN. Las cepas con tasas de mutación muy elevadas evolucionan fácilmente en poblaciones bacterianas naturales y de laboratorio^{143,144}. En entornos clínicos, varios estudios de una

amplia variedad de agentes etiológicos, como *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*, entre otros, han demostrado la prevalencia de mutadores en hasta el 1%-60% de los pacientes¹⁴⁵. La caracterización molecular de estos aislados ha descubierto que la base genética de la hipermutabilidad incluye alteraciones en los sistemas de guanina oxidada (GO), reparación de desajustes dirigidos por metilo (MMR) y reparación por escisión de nucleótidos (NER), entre otros¹³⁹. Así, Portillo-Calderon *et al.* demostraron que el origen y la variabilidad observada en el fenotipo de la heterorresistencia a fosfomicina con cepas mutantes de *E. coli* se explica en parte por el aumento de la mutabilidad en las cepas bacterianas y por lo tanto, estas subpoblaciones deben tenerse en cuenta, no solo para las pruebas de sensibilidad a la fosfomicina, sino también para otros antimicrobianos. La importancia clínica de estos resultados para el tratamiento de infecciones causadas por subpoblaciones heterorresistentes debe evaluarse en estudios posteriores, considerando la farmacocinética y farmacodinámica de fosfomicina en modelos animales o de infección de fibra hueca, o incluso en estudios clínicos observacionales¹³⁹.

- *Uso clínico*

- *Fosfomicina oral para el tratamiento de infecciones urinarias*

La fosfomicina se utiliza principalmente en el tratamiento de las infecciones del tracto urinario (ITU), en particular las causadas por *E. coli* y *E. faecalis*, y en combinación con otros antibióticos en el tratamiento de infecciones nosocomiales debidas a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas resistentes^{146,147}. En la mayoría de los países europeos, la fosfomicina oral se ha utilizado durante muchos años, principalmente en el tratamiento de la cistitis no complicada u otras infecciones urinarias, en particular las causadas por *E. coli* y *E. faecalis*. En EEUU, la Food and Drug Administration (FDA) aprobó la fosfomicina oral sólo para las ITU no complicadas^{111,148}.

Rudenko y Dorofeyev¹⁴⁶ examinaron a 317 mujeres no embarazadas que sufrían ITU bajas recurrentes (al menos tres episodios en los 12 meses anteriores) para evaluar la eficacia y seguridad de la fosfomicina trometamol en la prevención de las recurrencias infecciosas de ITU bajas, 166 pacientes fueron aleatorizados para recibir tratamiento con fosfomicina y 151 para recibir tratamiento con placebo. Los pacientes recibieron 3 g de fosfomicina o placebo cada 10 días durante 6 meses y posteriormente se les hizo un seguimiento durante otros 6 meses consecutivos, encontrándose 0,14 infecciones por paciente y año en el grupo de fosfomicina y 2,97 infecciones por paciente y año en el grupo de placebo ($p < 0,001$). El tiempo transcurrido hasta la primera recurrencia de la infección fue significativamente mayor en el grupo de fosfomicina (38 días) que en el grupo placebo (6 días) ($p < 0,01$). El número de pacientes con al menos un episodio de infección recurrente y el número de episodios por paciente durante el tratamiento, así como durante el periodo de seguimiento, fueron significativamente menores en el grupo de fosfomicina que en el de placebo.

Falagas *et al.*¹⁴⁹ publicaron los resultados de un metaanálisis de 27 ensayos controlados aleatorizados (ECA) sobre la eficacia y seguridad de la fosfomicina para el tratamiento de la cistitis en mujeres embarazadas y no embarazadas, incluyéndose en dieciséis de estos ensayos exclusivamente pacientes no embarazadas y cinco incluyeron pacientes embarazadas. En cuanto al éxito clínico, no se encontraron diferencias en el análisis exhaustivo con respecto a todos los comparadores combinados en los ensayos que incluyeron mujeres no embarazadas, mientras que no se proporcionaron suficientes datos relevantes de los ensayos que incluyeron pacientes embarazadas. Tampoco se encontraron diferencias entre la fosfomicina y los comparadores en todas las comparaciones con respecto a los resultados de efectividad restantes, es decir, éxito microbiológico/recaída/reinfección. La fosfomicina tuvo un perfil de seguridad

comparable al de los comparadores evaluados en las mujeres no embarazadas, mientras que se asoció a un número significativamente menor de acontecimientos adversos en las embarazadas.

Pullukcu *et al.*¹⁵⁰ examinaron el efecto de la fosfomicina trometamol en el tratamiento de la ITU baja relacionada con *E. coli* productora de BLEE en 52 pacientes adultos que recibieron 3 g al día de fosfomicina trometamol, tres veces. El éxito clínico global fue del 94,3% y el microbiológico del 78,5%. Resultados similares se hallaron en el estudio español realizado por Rodríguez-Baño *et al.*¹⁰².

En cuanto a dosificación, se ha demostrado que una dosis única de fosfomicina trometamol se absorbe bien y produce una concentración terapéutica en orina durante 1-3 días. Los ensayos clínicos comparativos demostraron que una dosis única de 3 g de fosfomicina trometamol es tan eficaz clínicamente como los regímenes de tratamiento de 7 a 10 días de otros antimicrobianos estándar como la nitrofurantoína, la norfloxacin y el trimetoprim/sulfametoxazol utilizados para tratar las ITU. La fosfomicina trometamol se tolera bien y parece segura durante el embarazo¹⁵¹. Según Schito, la fosfomicina trometamol sigue siendo una opción terapéutica fiable para la ITU no complicada debido a sus principales ventajas, como el uso de una sola dosis y concentraciones urinarias muy altas y sostenidas que eliminan rápidamente las bacterias, reduciendo la oportunidad de selección de mutantes. Además, no hay alimentos para animales que contengan el fármaco, y, por tanto, la resistencia se adquiere más comúnmente por mutaciones cromosómicas que no se propagan fácilmente, siendo el coste biológico de estas modificaciones genéticas muy elevado. Además, la fosfomicina trometamol presenta una tolerabilidad y una seguridad excelentes¹⁵².

Respecto a las infecciones urinarias, fosfomicina se excreta de forma inalterada en orina en torno al 93 a 99% y apenas se une a proteínas plasmáticas, distribuyéndose ampliamente al parénquima renal, vejiga o próstata no inflamadas. Así, por ejemplo, a las 2 horas de administrar una dosis de

fosfomicina trometamol de 3 g por vía oral se alcanzan concentraciones máximas en orina que oscilan entre 1.053 mg/l y 3.749 mg/l, manteniéndose con una concentración media por encima de 128 mg/l¹⁵³.

En España, fosfomicina representa el tratamiento empírico de elección en cistitis aguda, en el paciente inmunocompetente y en el paciente trasplantado, según recomendaciones la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología clínica^{154,155}. En el ámbito pediátrico, fosfomicina presenta múltiples ventajas para su uso en la infección del tracto urinario, ya que, es fácil de dosificar, alcanza concentraciones elevadas en orina, los efectos adversos son poco frecuentes y no afecta a la flora intestinal. Además, debido al excelente patrón de sensibilidad frente a *E. coli* y otras enterobacterias, se considera uno de los tratamientos de elección para la cistitis pediátrica afebril, especialmente en su forma trometamol¹⁵⁶.

Recientemente, se han publicado los resultados de un análisis posthoc del ensayo clínico FOREST¹⁵⁷, que es un ensayo controlado aleatorio de fase III, abierto y multicéntrico, cuyo objetivo principal fue demostrar la no inferioridad clínica de la fosfomicina intravenosa con respecto al meropenem o ceftriaxona para el tratamiento de las infecciones urinarias bacteriémicas (ITU) causadas por *E. coli* BLEE, pero que este subanálisis tratan de comparar la efectividad y seguridad de fosfomicina trometamol y otros fármacos orales como terapia de reducción en pacientes con ITU por *E. coli* BLEE y en el que se incluyeron 61 pacientes que cambiaron a fosfomicina trometamol oral y 47 a otros fármacos (cefuroxima axetilo, 28; amoxicilina/ácido clavulánico y trimetoprim/sulfametoxazol, 7 cada uno; ciprofloxacino, 5). La curación clínica y microbiológica fue alcanzada por 48/61 pacientes (78,7%) tratados con fosfomicina trometamol y 38/47 (80,9%) con otros fármacos (diferencia, -2,2; IC del 95%: -17,5 a 13,1; p=0,38). Los análisis de subgrupos proporcionaron resultados similares. Se produjeron recaídas en 9/61 (15,0%) y 2/47 (4,3%) de los pacientes, respectivamente (p=0,03), no observándose

diferencias relevantes en los eventos adversos. Por tanto, la fosfomicina trometamol podría ser una opción razonable como tratamiento de reducción en pacientes con ITU debido a *E. coli* BLEE, aunque la mayor tasa de recaídas necesitaría una evaluación adicional¹⁵⁸.

- *Fosfomicina intravenosa*

Respecto a la administración intravenosa de fosfomicina, Falagas *et al.*¹⁰⁶ estudiaron 1.604 pacientes con infecciones Gram-positivas y Gram-negativas (incluyendo neumonía, osteomielitis, meningitis, infecciones quirúrgicas, infecciones obstétricas y ginecológicas, artritis, sepsis, peritonitis, linfadenitis cervical, infecciones de oído, nariz y garganta, infecciones oculares, diabetes infecciones de los pies y fiebre tifoidea). Los pacientes fueron tratados con fosfomicina intravenosa sola o en combinación con otros antibióticos. Se logró la curación en el 81,1% de los pacientes y la mejoría en aproximadamente el 3%.

Otros estudios han demostrado el beneficio clínico de fosfomicina intravenosa en pacientes críticos con sepsis o infecciones nosocomiales debidas a MRSA, enterococos resistentes a la vancomicina y BGN especialmente *K. pneumoniae* resistente a los carbapenémicos, en combinación con otros antibióticos, debido a su mecanismo de acción único y su efecto protector frente a la nefrotoxicidad inducida por aminoglucósidos o colistina^{159,160}. Michalopoulos *et al.*¹⁶⁰ examinaron la eficacia y seguridad de la fosfomicina en pacientes críticos que padecían infecciones adquiridas en la UCI debido a *K. pneumoniae* resistente a los carbapenémicos. Concluyeron que la fosfomicina puede considerarse una alternativa para el tratamiento de infecciones por *K. pneumoniae* resistente a carbapenemas en pacientes adultos, especialmente en combinación con otros antibióticos. Los datos también sugieren que la formulación intravenosa de fosfomicina podría ser útil para las infecciones oculares¹⁶¹.

Fosfomicina tiene un efecto sinérgico en combinación con otros antimicrobianos, especialmente daptomicina e imipenem, frente a cepas de Gram-positivos multirresistentes y ha demostrado una difusión superior a otros antibióticos a través de biopelículas^{162,163}. Esta doble circunstancia, podría ser útil en el tratamiento de la infección osteoarticular. Clínicamente existe evidencia del beneficio clínico en asociación con daptomicina e imipenem en bacteriemia y endocarditis causada por *S. aureus* resistente a meticilina (SARM)^{164,165}. En España, la combinación de fosfomicina y daptomicina se ha recomendado en el tratamiento de la infección persistente o complicada por SARM en las guías de manejo de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica¹⁶⁶. También en el ámbito pediátrico, podría plantearse una alternativa a los pacientes con osteomielitis aguda hematógena producida por SARM o en alérgicos a betalactámicos¹⁶⁷.

Por otro lado, el estudio INCREMENT demostró el beneficio de las terapias de combinación en el caso de bacterias Gram-negativas multirresistentes, cuyos resultados demostraron tener menor impacto sobre la mortalidad en los pacientes más graves (scores mayores de 7) con bacteriemia causada por enterobacterias productoras de carbapenemasas¹⁶⁸. Fosfomicina por vía intravenosa a altas dosis y en combinación con otros antimicrobianos se ha mostrado útil en el tratamiento de las infecciones por Gram-negativos multirresistentes como enterobacterias portadoras de carbapenemasas y *P. aeruginosa* extensamente resistentes o panresistentes, especialmente en infección del tracto urinario, aunque también en infección abdominal y de piel y partes blandas y también existe recomendación de uso como alternativa terapéutica en combinación frente a infecciones del tracto urinario producidas por enterobacterias portadoras de carbapenemasas con CMI superior a 8 mg/L y en inmunosuprimidos trasplantados de órgano sólido¹⁶⁹⁻¹⁷².

En el tratamiento con fosfomicina en monoterapia se ha observado a veces la aparición de resistencia a la misma, aunque esto depende en gran medida del microorganismo. Los mecanismos de resistencia incluyen la reducción del transporte intracelular de los cambios del antibiótico en las dianas y la inactivación directa por metaloenzimas y quinasas¹⁷³. Algunos estudios PK-PD realizados in vitro sobre distintos aislados de *E. coli* productor de BLEE con diferentes dosis de fosfomicina apuntan a que dosis altas de la misma podrían prevenir la aparición de mutantes resistentes, y la combinación fosfomicina/meropenem podría actuar de forma sinérgica contra las cepas de *E. coli* resistentes¹³⁸. Estas características de la fosfomicina tradicionalmente han apoyado la necesidad de, en el caso de infecciones invasivas, combinarla con otros antimicrobianos como los betalactámicos, los aminoglucósidos o daptomicina, o bien con moléculas más nuevas como ceftarolina, ceftobiprol y ceftazidima-avibactam. Sin embargo, parece en infecciones urinarias podría ser utilizada en monoterapia, sobre todo cuando el patógeno implicado es *E. coli* tal y como se ha demostrado en los estudios FOREST y ZEUS y que vamos a comentar a continuación.

Por un lado, los resultados del estudio ZEUS, que comparaba fosfomicina contra piperacilina-tazobactam en el tratamiento de la infección urinaria complicada, incluida la pielonefritis. Se trataba de un estudio aleatorizado de 465 pacientes, 233 de ellos tratados con fosfomicina (6 g cada 8 horas) y 231 con piperacilina-tazobactam (4/0.5 gramos cada 8 horas). En la población microbiológicamente elegible fosfomicina cumplió con el objetivo principal de no inferioridad respecto a piperacilina-tazobactam con tasas de éxito generales del 64,7% (119/184 pacientes) versus 54,5% (97/178 pacientes), respectivamente. Las tasas de curación clínica en el test de curación (TOC) en los días 19 a 21 fueron altas y similares entre ambos tratamientos, 90,8% en fosfomicina (167/184) versus 91,6% en piperacilina-tazobactam (163/178), respectivamente. En el análisis post-hoc

con patógenos tipificados a través de electroforesis en gel de campo pulsado, las tasas de éxito globales en TOC por intención de tratar modificada fueron 69,0% (127/184) para fosfomicina versus 57,3% (102/178) para piperacilina-tazobactam (diferencia 11,7% IC 95%: 1,3, 22,1)¹⁷⁴. Por otro lado, los resultados del ensayo clínico FOREST, anteriormente mencionado, en el que se incluyeron a 143 pacientes con bacteriemia por *E. coli* multirresistente de origen urinario en la población por intención de tratar modificada, 48 de 70 pacientes (68,6%) tratados con fosfomicina y 57 de 73 los pacientes (78,1%) tratados con los comparadores (meropenem o ceftriaxona) alcanzaron la curación clínica y microbiológica. Mientras que se produjo fracaso clínico o microbiológico en 10 pacientes (14,3%) tratados con fosfomicina y 14 pacientes (19,7%) tratados con los comparadores, produciéndose una mayor tasa de interrupciones relacionadas con eventos adversos relacionados con fosfomicina frente a los comparadores (8,5 % interrupciones frente a 0% interrupciones; $p=0,006$). Este estudio no pudo demostrar la no inferioridad de fosfomicina, aunque esto no fue por falta de eficacia sino por mayor número de pacientes retirados por eventos adversos (descompensación de insuficiencia cardíaca en pacientes mayores de 80 años con esta patología crónica) y pacientes no evaluables¹⁵⁷.

Finalmente, la fosfomicina es un fármaco generalmente bien tolerado, siendo sus reacciones adversas más comunes las náuseas, los vómitos y la diarrea, y las erupciones cutáneas. Sin embargo, los tratamientos con dosis altas de fosfomicina por vía intravenosa se asocian a una importante retención de agua debido a su alto contenido en sodio, que puede ser difícil de manejar en pacientes con insuficiencia cardíaca descompensada, insuficiencia renal o cirrosis hepática concurrentes. Las alteraciones electrolíticas también son comunes durante la administración de altas dosis de fosfomicina¹¹¹.

1.3 Optimización de la dosificación de antimicrobianos

Son varios los estudios que han demostrado una exposición subóptima a diversos antibióticos cuando se usan regímenes de dosificación estándar en pacientes críticos¹⁷⁵⁻¹⁷⁷, siendo necesaria una cuidadosa optimización de los regímenes de dosificación para evitar la subexposición y asegurar la reintroducción exitosa de los antibióticos antiguos. La subexposición suele estar motivada por la alteración de los parámetros fisiopatológicos que afectan a la farmacocinética (PK) de los antibióticos, aunque también puede ser debida a la disminución de la sensibilidad de los organismos en los entornos clínicos, alterando su farmacodinámica (PD). Para aumentar el reto clínico que esto supone, las alteraciones en la PK son difíciles de predecir entre grupos de pacientes distintos, entre pacientes de un mismo grupo e incluso a lo largo del día en un paciente individual¹⁷⁸. Diversos estudios sugieren que los enfoques actuales de la dosificación no tienen en cuenta esta cuestión¹⁷⁹. Dado que desde el punto de vista clínico es difícil predecir qué paciente necesita una dosis diferente y en qué medida debe modificarse, hay un creciente interés en la individualización de la dosificación de los antibióticos, teniendo en cuenta los cambios específicos de PK/PD^{180,181}.

1.3.1 Dosificación en poblaciones especiales

Algunas poblaciones de pacientes requieren consideraciones especiales de dosificación como resultado de una fisiopatología característica y compleja. Entre ellos se encuentran los pacientes en estado crítico con sepsis, shock séptico, traumatismos graves o lesiones por quemaduras, cirugía mayor, neutropenia febril, fibrosis quística, disfunción orgánica y obesidad^{177,182-184}. Muchos de estos pacientes presentan un estado de inflamación sistémica. En particular, en los pacientes con infecciones invasivas, traumatismos, quemaduras, pancreatitis, cirugía mayor e isquemia, es frecuente la presencia de un síndrome de respuesta

inflamatoria sistémica (SRIS) grave. Durante el SIRS, diversos mediadores inflamatorios modifican la fisiología del paciente, causando efectos hiperdinámicos en el sistema cardiovascular y un aumento de la permeabilidad capilar^{185,186}. El SRIS también puede dar lugar a un espectro de fallos multiorgánicos que puede llevar a requerir procedimientos invasivos como ventilación mecánica, oxigenación por membrana extracorpórea o terapias de sustitución renal^{187,188}. El drenaje quirúrgico puede desempeñar un papel similar al proporcionar una vía adicional de pérdida de fluidos inflamatorios e incluso de antibióticos¹⁸⁹. Además, la mayoría de estos pacientes tienen volúmenes alterados del balance hídrico corporal, asociados a una intensa administración de sueroterapia o a una función cardiovascular y renal alterada^{190,191}. Los principales cambios que afectan a la FC de muchos antibióticos están asociados a la dinámica del agua corporal; así el exceso de agua se desplaza hacia el espacio extracelular lo que, en última instancia, actúa como agente diluyente con la consecuente disminución de la concentración de antibióticos. Además, el aumento del flujo sanguíneo renal a consecuencia del elevado gasto cardíaco puede conducir a una tasa de eliminación de solutos más alta de lo normal, incluyendo a los antibióticos¹⁹². Otros pacientes tienen una relación grasa/músculo alterada como resultado de la obesidad, y esto también puede influir de manera importante en las propiedades de distribución de los fármacos¹⁹³.

1.3.2 Papel de las alteraciones farmacocinéticas

Los cambios fisiopatológicos más importantes que requieren consideraciones especiales de dosificación de antibióticos suelen estar producidos por cambios en el volumen de distribución (Vd) y en el aclaramiento de los fármacos (CL) en función de si éstos son hidrofílicos o lipofílicos, tal y como se muestra en la tabla 3¹⁹⁴.

Tabla 3. Factores que afectan a la farmacocinética de los antibióticos¹⁹⁴.

Carácter fisicoquímico	Antibiótico	Sitio de mayor distribución	Vía de eliminación predominante	Factores que incrementan el Vd	Factores que incrementan el CL	Factores que disminuyen el CL
Hidrofílico	Betalactámicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos) Aminoglucósidos Glucopéptidos	Fluido extracelular	Excreción Renal	Fragilidad capilar Hipoalbuminemia Fluidoterapia Fármacos vasoactivos Derrame pleural Ascitis Mediastinitis	Aumento del aclaramiento renal (gasto cardíaco elevado, flujo sanguíneo renal elevado, resistencia vascular reducida, hipoalbuminemia, fármacos vasoactivos, fluidoterapia)	Insuficiencia Renal Aguda
Lipofílico	Fluoroquinolonas Macrólidos Tetraciclinas Oxazolidinonas Streptograminas Lincosamidas Metronidazol	Fluido extracelular e intracelular	Metabolismo Hepático	No se afectan	Aumento del flujo sanguíneo hepático Inducción enzimática (debido a las interacciones con otros medicamentos)	Daño hepático e insuficiencia renal aguda

1.3.2.1 Alteraciones en el volumen de distribución

El aumento del Vd de los antibióticos hidrofílicos se produce como resultado de la expansión del volumen del líquido extracelular (LEC) relacionado con el SRIS. La hipoalbuminemia es otro factor que aumenta el volumen del LEC (y por tanto el Vd) al reducir la presión oncótica del plasma. Por otro lado, la hipoalbuminemia también aumenta la concentración libre del fármaco en el plasma que puede distribuirse en el LEC con el movimiento del líquido en ese compartimento¹⁹⁵. Por ejemplo, para la ceftriaxona (que presenta un 83-95% de unión a proteínas), el Vd puede aumentar hasta un 90% en los enfermos críticos¹⁹⁶. Otros factores que aumentan la Vd son las acumulaciones de líquido en terceros espacios, como ocurre con los derrames pleurales o la ascitis¹⁹⁷⁻¹⁹⁹. Los aumentos del Vd se asocian a concentraciones plasmáticas y tisulares reducidas.

Esto es especialmente problemático en el caso de los antibióticos concentración-dependientes, debido a la importante reducción de la concentración máxima que determina la actividad antibacteriana de este tipo de antibióticos^{200,201}.

1.3.2.2 Aclaramiento renal aumentado

El estado hiperdinámico que ocurre en pacientes con leucemia aguda, en enfermos críticos con sepsis, traumatismos, lesiones por quemaduras o sometidos a cirugía mayor se asocia con un gasto cardíaco elevado que provoca un aumento del flujo sanguíneo renal y, posteriormente, un aumento de la filtración glomerular²⁰²⁻²⁰⁴. Otros factores, como la fluidoterapia agresiva y el uso de fármacos vasoactivos, también pueden contribuir a aumentar el flujo sanguíneo renal y la tasa de filtración glomerular. Es probable que también se produzcan efectos similares en pacientes con fibrosis quística y obesidad. Además de estos efectos, la hipoalbuminemia aumenta las proporciones del fármaco no unido disponibles para la filtración. En última instancia, se produce un aumento del aclaramiento renal de los antibióticos eliminados por vía renal, un fenómeno denominado aclaramiento renal aumentado (ARC). El ARC se define como un aclaramiento de creatinina $>130 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ y la prevalencia es apreciablemente alta en la población críticamente enferma ($>50\%$) y es probablemente más común en aquellos pacientes con lesiones traumáticas (alrededor del 85%). El aumento de la eliminación a través del ARC tiene una influencia especialmente marcada en los antibióticos tiempo-dependientes, que requieren el mantenimiento de concentraciones óptimas por encima de la CMI durante un tiempo prolongado dentro de un intervalo de dosificación^{117,126,129}.

1.3.2.3 Insuficiencia renal aguda

El impacto de la insuficiencia renal aguda (IRA) sobre la dosificación de antimicrobianos es compleja. Por ejemplo, en caso de insuficiencia renal grave, cefepime puede acumularse hasta tal punto que, si no se reduce la dosis, se producirá neurotoxicidad, incluidas convulsiones^{206,207}. En el caso de algunos antibióticos, como la flucloxacilina y la ciprofloxacina, que están sujetos a un aclaramiento tanto renal como no renal, la IRA puede no dar lugar a la acumulación como resultado de la regulación al alza de los mecanismos de aclaramiento alternativos, por lo que una reducción excesiva de la dosis basada en la función renal puede dar lugar a concentraciones subterapéuticas en algunos casos. Sin embargo, cuando se producen alteraciones multiorgánicas que afectan a las vías alternativas de eliminación, pueden producirse un aumento de las concentraciones de antibióticos con dosis no ajustadas^{208,209}. Sin embargo, el efecto de dilución de la por los fenómenos anteriormente explicados que alteran el Vd puede ser profundo, de modo que las concentraciones pueden seguir siendo subterapéuticas durante las primeras 24 a 48 horas. Otra complicación de la IRA es la disfunción tubular que afecta tanto a la secreción como a la reabsorción; el aclaramiento de antibióticos betalactámicos, que pueden sufrir parcialmente secreción tubular, puede disminuir. La alteración de estos procesos puede aumentar el aclaramiento de otros fármacos como el fluconazol, que sufre una reabsorción sustancial. En consecuencia y paradójicamente, puede ser necesario aumentar la dosis de fluconazol en pacientes con IRA ^{210,211}.

Por otro lado, en la IRA, la dosificación de medicamentos basada en la depuración de creatinina (ClCr) de Cockcroft-Gault o en las tasas de filtración glomerular estimada (TFGe) de la *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* (CKD-EPI) no son válidas cuando la creatinina sérica (Cr_s) no está en estado estacionario. Actualmente se están reformulando las ecuaciones que rigen el cálculo de la tasa de filtración glomerular (TFG), ya que las ecuaciones

actuales para calcular la TFG estiman la función renal cuando la creatinina plasmática es estable, pero no funcionan si la creatinina plasmática cambia rápidamente. Esto es problemático, especialmente durante el desarrollo de IRA, ya que el ClCr o TFGe sobreestiman la función renal y pueden conducir a la acumulación de fármaco y toxicidad potencial, así como durante la recuperación de la función renal, cuando ClCr o TFGe infraestiman la función renal y es posible que no se alcancen los niveles terapéuticos del fármaco. Para analizar la función renal en el entorno agudo, se ha propuesto una fórmula simple que requiere solamente una cantidad modesta de entradas que se pueden obtener fácilmente a partir de datos de laboratorio clínico²¹². De hecho, en un estudio reciente, sobre una población gravemente enferma con síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), el uso de estas nuevas estimaciones cinéticas de la función renal afectó a la dosificación de diversos medicamentos, concretamente a más del 30% de enfermos que desarrollaron IRA, concluyéndose, que el uso de estas nuevas ecuaciones cinéticas en la práctica clínica debería reducir la incidencia de toxicidad del medicamento y evitar la infradosificación durante la recuperación de la función renal¹³⁸.

1.3.2.4 PK/PD alterada en poblaciones especiales

Además de los cambios relacionados con la PK, los estudios que están surgiendo indican que los objetivos convencionales que se persiguen al tratar a pacientes no críticos pueden no ser adecuados en los enfermos críticos. En condiciones de enfermedad grave, puede ser necesaria una mayor exposición para conseguir los resultados clínicos deseados. Por ejemplo, aunque los pacientes que no estén en estado crítico, a priori, sólo necesitan una exposición mínima a los antibióticos betalactámicos de entre el 40% y el 70% de $fT > CMI$, estudios clínicos recientes sugieren que el 100% de $fT > CMI$ puede ser un objetivo mínimo necesario para garantizar resultados óptimos en los enfermos críticos o incluso unos valores muchos más exigentes (100% $fT > 4 \times CMI$ o 100% $fT > 8 \times CMI$)^{179,214,215}. El estado de la

inmunidad del huésped también puede influir significativamente en la magnitud del objetivo de PK/PD que predice un resultado óptimo. Roosendaal *et al.*²¹⁶, por ejemplo, demostraron que la dosis de ceftazidima necesaria para prevenir la mortalidad era 70 veces mayor en ratas leucopénicas que en ratas normales. Otros estudios en animales también han demostrado que es necesaria una exposición elevada (90-100% $fT > MIC$) en el contexto de una neutropenia profunda. Los datos de los estudios clínicos apoyan el aumento de $fT > MIC$ para una respuesta óptima^{217,218}. Sin embargo, las dosis estándar de muchos betalactámicos con frecuencia no alcanzan ni siquiera los objetivos tradicionales de PK/PD^{179,180}, y como consecuencia, esta infraexposición supone un alto riesgo de aparición de bacterias con sensibilidad reducida²¹⁹.

1.3.3 Sensibilidad bacteriana alterada

El patrón de sensibilidad bacteriana en poblaciones especiales de pacientes es otra preocupación emergente y por tanto, es probable que la disminución de la sensibilidad de los microorganismos en los pacientes requiera un aumento de la dosificación del antimicrobiano en cuestión²²⁰. Podemos encontrar una sensibilidad disminuida al comienzo de la terapia antimicrobiana o puede surgir durante la misma. Si se determina la CMI específica, una dosificación optimizada basada en objetivos PK/PD puede aumentar la probabilidad de alcanzar el parámetro PK/PD predictor de eficacia. Sin embargo, en la dosificación empírica rara vez se tiene en cuenta esto, con el riesgo de selección o inducción de resistencias. De hecho, para suprimir la aparición de microorganismos resistentes en los casos en que esto puede ocurrir (dado que esto puede ocurrir para determinados microorganismos y antibióticos), se ha sugerido una dosificación dirigida a alcanzar la concentración preventiva de mutantes (CPM) en lugar de la CMI²²¹. Sin embargo, la alta dosis requerida para ello inevitablemente genera mayor riesgo de toxicidad, lo que hace que este enfoque

pueda no ser posible en todos los casos²²². Hasta donde sabemos, no existe ningún estudio clínico que haya utilizado la CPM como objetivo para un umbral de dosificación²²³.

1.3.4 PK/PD y dosificación de antibióticos betalactámicos

Como ya se ha comentado anteriormente, los antibióticos betalactámicos demuestran una actividad bactericida dependiente del tiempo, y el parámetro predictor PK-PD ($\%fT > CMI$) se correlaciona bien con los resultados clínicos y la actividad bactericida¹⁹. Los valores tradicionales de $fT > MIC$ recomendados para un efecto óptimo son 40, 50 y 60-70% para carbapenémicos, penicilinas y cefalosporinas, respectivamente¹⁹. Sin embargo, es probable que estos valores propuestos sean insuficientes para obtener resultados óptimos en determinados grupos de pacientes, y se ha propuesto que se requieren objetivos PK-PD más exigentes de hasta el 100 $\%fT > 2-5 \times MIC$ para maximizar la eficacia clínica^{179,224}. La evidencia de la importancia de la dosificación en la supresión de la aparición de resistencia en ensayos clínicos es escasa. Un estudio en pacientes con neumonía asociada a ventilación mecánica por *P. aeruginosa* no pudo identificar un índice PK/PD protector del desarrollo de resistencias para los carbapenémicos basado en la CMI ($fT > CMI$) o el CPM ($fT > CPM$). Sin embargo, la aparición de resistencia fue mayor (26%) en pacientes con una $fT > CMI < 40\%$ ²²⁵.

Sin embargo, los modelos de infección dinámica in vitro y los estudios de modelos animales in vivo sí han descrito valores PK/PD que pueden suprimir la aparición de resistencia. Se ha demostrado in vitro que las relaciones C_{min}/CMI de meropenem mayores a 6,2 con HFIM suprimen la aparición de resistencia contra *P. aeruginosa*. Curiosamente, esta proporción se redujo a menos de 1,7 cuando se utilizó meropenem en combinación con tobramicina²²⁶. Además, si la concentración de meropenem permanece dentro de la ventana de selección de

mutantes (concentraciones entre la CMI y la CPM) durante más del 80% del intervalo de dosificación, la resistencia parece amplificarse²²⁷. De hecho, el logro del $fT > CMI$ aceptada del 40 % para meropenem, la relación PK/PD tradicional recomendada para obtener resultados clínicos óptimos, se asoció con la amplificación de la resistencia de *P. aeruginosa* en un modelo de neumonía murina, a pesar de proporcionar una tasa de supervivencia de ratones del 100 % en comparación con 0% para los controles no tratados²²⁸.

Para las combinaciones de antibióticos betalactámicos e inhibidores de betalactamasas recientemente comercializados, como ceftolozano-tazobactam y ceftazidima-avibactam, los parámetros PK/PD para la supresión de la resistencia aún no están bien descritos. En el modelo dinámico HFIM, las dosis simuladas de ceftolozano-tazobactam de 2 a 1 g administradas cada 8 h (logrando un 100 % $fT > CMI$) impidieron el crecimiento de *P. aeruginosa* resistente, pero las dosis entre 125 y 62,5 mg (12,5 % $fT > CMI$) y 1–0,5 g (100% $fT > CMI$) se asociaron con la amplificación de la resistencia. Esta discrepancia probablemente se deba a las diferentes AUC de ceftolozano entre 2 y 1 g (AUC de 0 a 241.032,6 mg/Lh) y 1–0,5 g (AUC 0–24.456,2 mg/Lh), lo que probablemente daría lugar a una proporción elevada del índice C_{min}/CMI que se ha asociado con la supresión de la aparición de resistencias²²⁹. En un estudio similar con *E. coli*, un umbral de dosis más bajo de 750–375 mg administrado cada 8 h (100 % $fT > CMI$) dio como resultado la supresión de la resistencia²³⁰. La diferencia entre estos estudios es la CMI más baja de *E. coli* (0,25 mg/L) frente a ceftolozano-tazobactam en comparación con *P. aeruginosa* (4 mg/L), además, actualmente se desconocen las exposiciones requeridas del inhibidor de la betalactamasa en productos combinados, pero la concentración mínima requerida para la inhibición de la enzima probablemente sea importante, como demuestra la inhibición de AmpC que medió la aparición de resistencia a la cefepima en un estudio que empleó un modelo dinámico HFIM²³¹. Este concepto se ve respaldado por la supresión del

nuevo crecimiento bacteriano cuando se expone a concentraciones de avibactam mayores a 0,28 mg/L cuando se combina con ceftazidima²³². Las dosis de ceftazidima-avibactam utilizadas actualmente de hasta 2-0,5 g administradas por vía intravenosa tres veces al día en una cohorte de 37 pacientes con infecciones por enterobacterias resistentes a carbapenémicos, se han asociado con fallos microbiológicos en hasta el 27 % de los pacientes, y el 30 % de estos fallos probablemente esté relacionado con la aparición de aislados resistentes a ceftazidima-avibactam. Dado que el tratamiento tenía más probabilidades de fallar en pacientes con terapia de reemplazo renal e infecciones pulmonares, la consideración de la dosificación para la penetración del antibiótico en el sitio objetivo y la eliminación extracorpórea son probablemente factores clave que influyen en los resultados del tratamiento²³³. Esto sugeriría que se debe considerar la optimización de la dosis para prevenir la aparición de resistencia a los antimicrobianos recientemente desarrollados²³⁴.

Por otro lado, existen pocos datos que describan una toxicidad significativa con concentraciones supratrapéuticas de penicilinas en pacientes críticos pero el impacto potencial en los resultados clínicos hace que se recomiende el uso de una dosis de carga inicial seguida de infusiones continuas de antibióticos betalactámicos en dosis altas para el tratamiento de estos pacientes (con sepsis o shock séptico)^{16,235}. Sin embargo, es posible que hasta el 45 % de los pacientes no logre una concentración $fT > CMI$ del 100% cuando se administran dosis diarias totales convencionales (p. ej., piperacilina-tazobactam 16/2 g) como una infusión continua, probablemente debido al aclaramiento renal aumentado y a que la exposición en el foco de la infección podría ser aún menor^{236,237}. Las dosis diarias actualmente utilizadas de antibióticos betalactámicos (piperacilina-tazobactam 16/2 g, ceftazidima 8 g, meropenem 6 g) administradas mediante infusiones continuas para el tratamiento de infecciones respiratorias pueden ser insuficientes hasta en el 40% de los pacientes para lograr una $fT > CMI$ del 100 %

en el sitio de la infección, en parte debido a la penetración muy variable en el tejido pulmonar (exposición media del 20 al 40 % de las concentraciones séricas)²³⁴. Por el contrario, cefepima, debido a su buena penetrabilidad, alcanza concentraciones aproximadamente equivalentes en el suero y los pulmones cuando se administra como infusión continua, y es probable que se puedan alcanzar los índices de supresión de la resistencia en el pulmón usando infusiones continuas de 8 g por día²³⁸. Sin embargo, dada la amplia heterogeneidad interindividual en la farmacocinética de los antibióticos betalactámicos, la monitorización farmacocinética (TDM) puede permitir la optimización de la dosis que minimice la aparición de resistencia ²³⁷.

1.3.4.1 Estrategias de administración de antibióticos betaláctamicos

Para abordar la exposición subterapéutica en pacientes en tratamiento con antibióticos betalactámicos, se han desarrollado distintas estrategias como aumentar la dosis, acortar el intervalo de dosificación, prolongar el tiempo de perfusión ya sea durante todo el intervalo de dosificación (infusión continua) o durante el 40-50% del intervalo de dosificación (3-4 horas; infusión extendida), o una combinación de estos (figura 5). En teoría, los objetivos actuales de PK/PD se pueden alcanzar con todas las estrategias de dosificación anteriores, dependiendo de la CMI conocida o probable. Sin embargo, las desventajas del aumento de dosis incluyen concentraciones máximas innecesariamente altas (que pueden aumentar el riesgo de efectos secundarios, incluidas convulsiones) y costes más elevados, esto último también se aplica a una administración más frecuente. La estabilidad limitada de los fármacos, las incompatibilidades entre fármacos o la necesidad de una disponibilidad constante de acceso vascular pueden presentar un desafío para implementar la dosificación de infusión continua. Sin embargo, la dosificación en infusión continua ha ganado gran popularidad como una solución prometedora para mejorar la actividad de los

antibióticos betalactámicos actuales contra bacterias Gram-negativas cada vez más resistentes²³⁹.

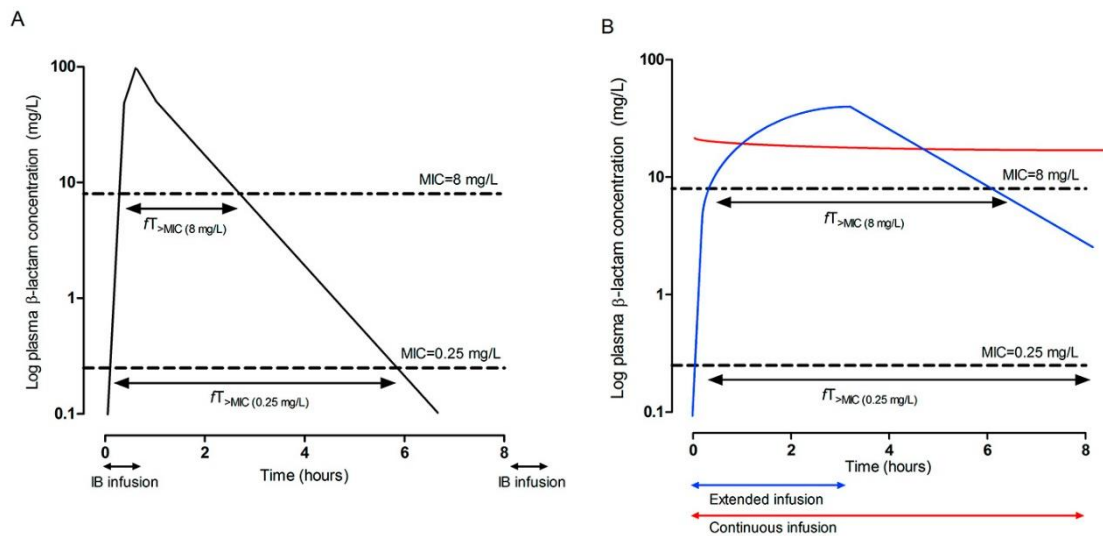


Figura 5. Diferencias en el tiempo en que las concentraciones de betalactámicos superan la CMI ($fT > CMI$) de dos patógenos diferentes (CMI de 0,125 mg/L y 8 mg/L, respectivamente) según el modo de administración de betalactámicos. (A) Administración en bolo intermitente. (B) Infusión extendida (línea azul) e infusión continua (línea roja)²³⁹.

La mayoría de los estudios han demostrado que la dosificación en infusión prolongada de antibióticos betalactámicos mejora el logro de los objetivos de PK/PD, aunque a menudo utilizan simulaciones de Monte Carlo basadas en mediciones de la concentración del fármaco en un número limitado de pacientes^{240,241}. Una característica única de estas simulaciones es la predicción del logro del objetivo para una estrategia de dosificación elegida frente a la distribución de las CMI y el aclaramiento renal, que puede usarse para seleccionar la población objetivo que probablemente se beneficiará de una infusión prolongada. Por ejemplo, Asín-Prieto *et al.*²⁴² demostraron que la administración en bolo intermitente estándar de piperacilina/tazobactam (4,5 g

cada ocho horas) puede ser suficiente para alcanzar 100% $fT > CMI$ en pacientes con insuficiencia renal moderada hasta una CMI de 4 mg/L (que es el caso de la mayoría de los pacientes con infección por Enterobacteriaceae en Europa), mientras que se requieren infusiones prolongadas o incluso continuas para tratar microorganismos con CMI más altas o en pacientes con aclaramiento renal aumentado. Esto fue ilustrado por Udy *et al.*²⁴³, quienes encontraron que no se alcanzó el objetivo (100% $fT > CMI$) para la dosificación en bolo intermitente en la mayoría de los pacientes con un aclaramiento de creatinina >90 mL/min cuando la CMI era de al menos 8 mg/L.

En cuanto a impacto de estas estrategias de administración a nivel clínico, tenemos que decir que varios ensayos controlados aleatorios y observacionales han comparado la infusión prolongada con la dosificación en bolo intermitente de betalactámicos en diferentes poblaciones de pacientes. En general, dos meta-análisis han documentado un beneficio en la mortalidad que favorece la infusión prolongada sobre la dosificación en bolo intermitente, pero con resultados contradictorios en términos de curación clínica y con una falta de beneficio en la mortalidad cuando el análisis se limitó al tratamiento con meropenem únicamente²⁴⁴⁻²⁴⁶. La reducción observada en la mortalidad por todas las causas se debió principalmente a los resultados de los ensayos observacionales, mientras que no hubo beneficio en la mortalidad si solo se incluían datos de ensayos controlados aleatorizados. Los eventos adversos fueron similares y la inclusión de una población de pacientes homogénea que probablemente se beneficiaría de una administración optimizada (infecciones por Gram-negativos, mayor gravedad de la enfermedad, patógenos multirresistentes) en estudios observacionales puede explicar las diferencias observadas^{246,247}.

Otros estudios importantes publicados son dos ensayos clínicos que comparan la infusión continua versus la administración en bolo intermitente en pacientes con sepsis grave. Uno de ellos es un ensayo multicéntrico, doble ciego y controlado

con placebo, donde Dulhunty *et al.*²⁴⁸ aleatorizaron a 443 pacientes con sepsis grave a infusión continua o a dosis en bolo intermitente de antibióticos betalactámicos, de los cuales se analizaron 432 y cuyos resultados no lograron demostrar ningún beneficio de la infusión continua sobre la administración en bolo intermitente con respecto a todos los criterios de valoración analizados, incluida la mortalidad por todas las causas a los 90 días y la curación clínica después de 14 días de suspender los antibióticos. Esto es debido a varias limitaciones del estudio, como que el 26% de los pacientes estaban en terapia de reemplazo renal, lo que se asocia con una probabilidad reducida de concentraciones subterapéuticas de betalactámicos en pacientes que reciben dosis en bolo intermitente en comparación con los pacientes que no reciben terapia de reemplazo renal¹⁸⁰. Otro matiz es que los pacientes recibieron un tratamiento en infusión continua en promedio durante solo 3,2 días, una duración que puede haber sido demasiado corta para probar una diferencia significativa entre los grupos de tratamiento. Además, se identificaron microorganismos causantes en menos del 20% (solo se informaron aislados del torrente sanguíneo) sin una determinación exacta de la CMI y no se realizó un seguimiento terapéutico del antimicrobiano y por tanto, no se pudo verificar el logro de concentraciones terapéuticas. Esto es importante, ya que incluso algunos pacientes que reciben terapia de infusión continua pueden no alcanzar niveles suficientes del antimicrobiano y los resultados de la monitorización terapéutica del mismo, pueden haber proporcionado explicaciones para la falta de beneficio observada²⁴⁹. Así, el logro de concentraciones terapéuticas puede haber sido el mismo en ambos grupos o sólo ligeramente diferente (sin relevancia clínica), dado que la mayoría de los casos de sepsis grave en la región del estudio son causados por patógenos susceptibles con CMI bajas²⁵⁰. Por último, se utilizó un tratamiento combinado en un número sustancial de participantes (infusión continua versus administración en bolo intermitente: uso de aminoglucósidos en el 11 y 15 %, uso de quinolonas en el 9 y 14 %, uso de glicopéptidos en el 36 y 31

%, respectivamente), lo que podría haber alterado cualquier efecto del tratamiento²³⁹.

El segundo estudio de Abdul-Aziz *et al.*²⁵¹ fue un ensayo controlado aleatorizado, abierto, para comparar la infusión continua versus dosis en bolo intermitente de antibióticos betalactámicos en 140 pacientes con sepsis grave en dos UCI de Malasia. La curación clínica a los 14 días después de la interrupción del tratamiento antimicrobiano fue mayor en el grupo de infusión continua (56% vs 34%, $p=0,011$), particularmente en pacientes que recibieron piperacilina/tazobactam, sin tratamiento antibiótico concomitante y con infección pulmonar. La supervivencia y la estancia en UCI fueron similares. Es importante destacar que este estudio también demostró que el logro del objetivo de PK/PD fue mayor para los pacientes con infusión continua, particularmente cuando se analizó el objetivo más exigente ($100\%fT>CMI$). Las limitaciones de este estudio incluyen el diseño abierto, una dosis mayor de antimicrobianos el día 1 en el grupo de infusión continua (debido a la administración de una dosis de carga solo en este grupo), terapia antibiótica concomitante en el 47% de los pacientes y falta de determinación de la CMI exacta. Las principales diferencias con respecto al primer estudio son una mayor duración del tratamiento (mediana 7, rango intercuartílico [IQR] 5 a 9 días frente a 3, IQR 2 a 6 días), exclusión de pacientes en terapia de reemplazo renal, uso poco frecuente de terapia combinada con Gram-negativos. (6% vs >15%) y aislamiento más frecuente de patógenos causantes (74% vs 20%) con una mayor incidencia de organismos Gram-negativos difíciles de tratar (41% vs <10% de los aislados fueron *A. baumannii* o *P. aeruginosa*)²³⁹.

Otro metaanálisis publicado incluye datos de pacientes individuales (632 pacientes con sepsis grave)¹⁶ de los dos ensayos controlados aleatorizados mencionados anteriormente añadiendo un estudio piloto previo de infusión continua versus dosificación en bolo intermitente de antibióticos betalactámicos

en pacientes con sepsis grave²⁴⁹. En este análisis, la infusión continua fue superior a la dosificación en bolo intermitente con respecto a la mortalidad hospitalaria a los 30 días (odds ratio 0,62, $p = 0,03$), pero no con respecto a la curación clínica, los días de estancia en UCI el día 28 y la mortalidad en la UCI. El impacto de la infusión continua fue más evidente en pacientes con puntuaciones APACHE II más altas, que no estaban en terapia de reemplazo renal y tratados con piperacilina/tazobactam²³⁹.

1.3.4.2 Implicaciones de la infusión prologada de betalactámicos

Tal y como hemos comentado anteriormente, la infusión prolongada (IP) de antibióticos betalactámicos, ya sea como infusión extendida (IE) (definida como una infusión discontinua de mayor o igual a 2 horas) o como infusión continua (IC), se está usando en la práctica clínica cada vez más en un intento por optimizar el uso de antibióticos²⁵². A medida que aumenta la popularidad de estas técnicas, es importante tener en cuenta una serie de aspectos prácticos importantes a la hora de administrar antibióticos mediante IP. A continuación detallaremos cuestiones clave como: la importancia de una dosis de carga, la estabilidad fisicoquímica de los fármacos y las advertencias relacionadas con la infusión.

- Importancia de la dosis de carga

La dosis de carga de un fármaco se utiliza para alcanzar rápidamente las concentraciones objetivo desde el inicio de la terapia. Aunque se aplica comúnmente cuando se administran fármacos sedantes, antiepilépticos o vasoactivos, esta práctica rara vez se ha utilizado en el pasado cuando se han administrado antibióticos betalactámicos. En este contexto, la dosis de carga se utiliza para compensar el aumento del volumen de distribución que suele

encontrarse en los enfermos críticos particularmente¹⁷⁵. Así para los glicopéptidos, varios estudios han demostrado la importancia de una dosis de carga en pacientes críticos para alcanzar rápidamente concentraciones terapéuticas adecuadas²⁵³ y las lecciones aprendidas son extrapolables a los antibióticos betalactámicos. Para los antibióticos betalactámicos administrados por IP, no administrar una dosis de carga puede retrasar el logro de concentraciones adecuadas desde el inicio del tratamiento, tal y como se puede ver en la figura 6 donde se representan dos simulaciones, con y sin dosis de carga al inicio de la terapia utilizando un modelo establecido²⁴³. Especialmente cuando se utiliza la IC, no se puede subestimar la importancia que tiene la dosis de carga, puesto que, si no se administra, el tiempo para alcanzar las concentraciones adecuadas puede llevar horas²⁵⁴.

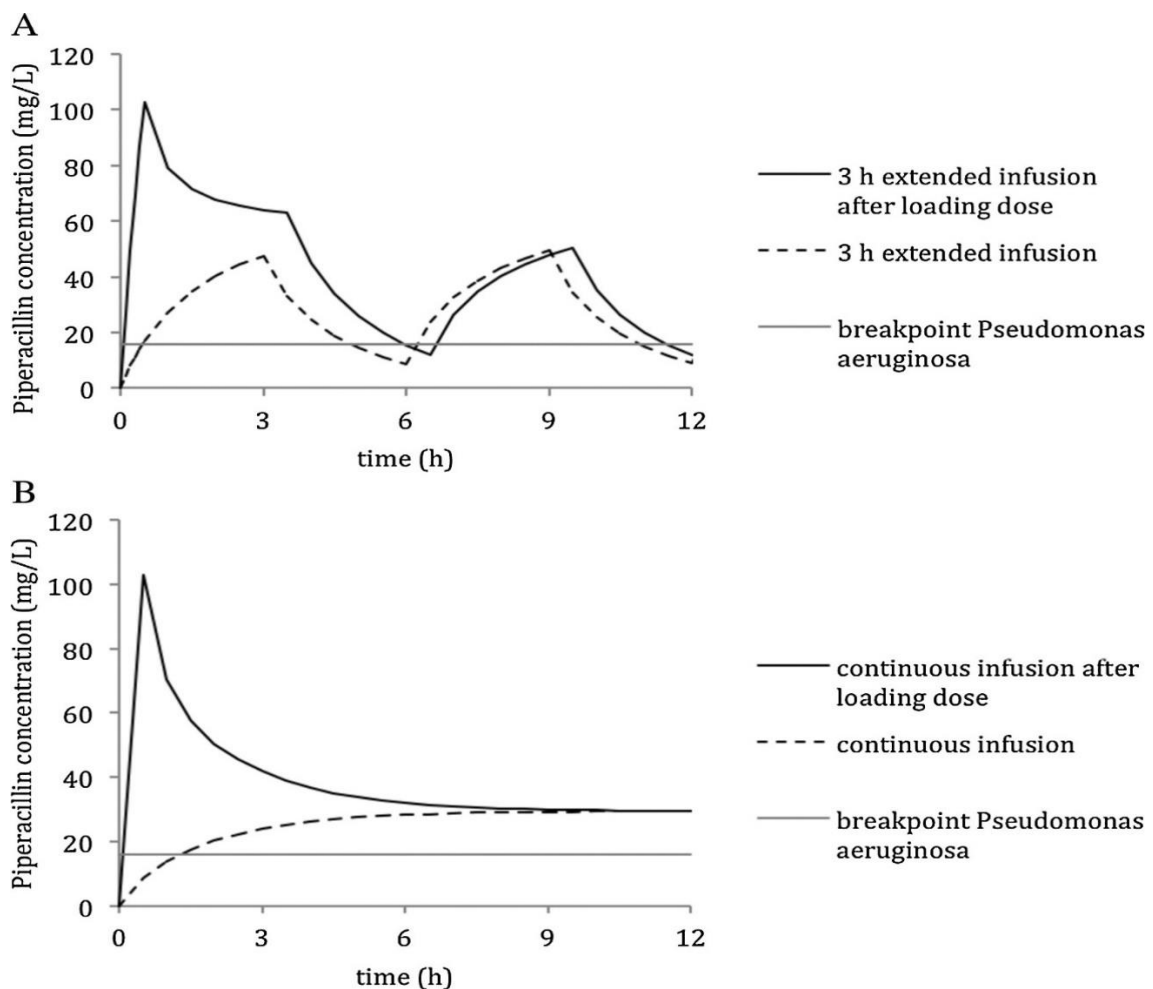


Figura 6. Concentraciones de piperacilina simuladas en las primeras 12 h de tratamiento en un paciente crítico con un aclaramiento de creatinina (CLCr) de 130 mL/min. (A) Infusión extendida de 3 h. Dosificación de piperacilina de 4 g, cuatro veces al día; cuando se añade una dosis de carga a la simulación, se administra una dosis de carga adicional de 4 g antes del inicio de la infusión prolongada. La mediana del tiempo para alcanzar una concentración de 16 mg/l sin una dosis de carga es de 33 min (RIC 27-42 min) según una simulación Monte Carlo de 1000 pacientes con una CLCr de 130 mL/min frente a 3 min (RIC 3-6 min) con una dosis de carga. (B) Infusión continua. Dosificación de piperacilina de 16 g en 24 h; cuando se añade una dosis de carga a la simulación, se administra una dosis de carga adicional de 4 g antes del inicio de la infusión continua. La mediana del tiempo para alcanzar una concentración de 16 mg/l sin una dosis de carga es de 1 h 54 min (RIC 1 h 18 min – 2 h 42 min) según una simulación de Monte Carlo con 1.000 pacientes con una CLCr de 130 mL/min. mín. RIC: rango intercuartílico²⁵⁴.

- **Estabilidad fisicoquímica de los fármacos**

La estabilidad fisicoquímica del antibiótico a temperatura ambiente también es crucial cuando se considera la IP. Hasta hace poco, los datos sobre la estabilidad de los antibióticos betalactámicos eran limitados. En el caso del meropenem, se considera no apto para IP debido a su inestabilidad, ya que se demostró que la estabilidad de diferentes formulaciones de meropenem era adecuada durante hasta 12 h en soluciones de NaCl al 0,9% con concentraciones ≤ 20 mg/ml a temperaturas inferiores a 25°C y sólo de 8 horas si la concentración es de 40 mg/mL a 25°C²⁵⁵. Una reciente revisión sistemática, muestra datos que permitirían el uso de al menos 12 antibióticos betalactámicos en IP más allá de lo detallado en la ficha técnica²⁵⁶.

- **Precauciones relacionadas con la infusión**

El método utilizado para la IP también podría afectar la administración de antibióticos al paciente. De hecho, cuando se utiliza IE, se debe tener cuidado de que se administre la dosis completa del antibiótico y no quede en el sistema de infusión, ya que el volumen muerto del sistema de infusión puede llegar a 22 mL y cuando se utilizan volúmenes de infusión pequeños (≤ 100 mL), este volumen puede representar una parte importante de la dosis del fármaco. Por esta razón, cuando se administra un antibiótico como IE, se recomienda el uso de bombas de jeringa donde el espacio muerto es más limitado (≤ 2 mL), aunque es cierto, que para la IC esto puede no ser relevante. Alternativamente, se debe considerar el lavado de la vía después de completar la infusión²⁵⁷.

- **Incompatibilidad con otros fármacos**

Los pacientes ingresados en la UCI suelen recibir una multitud de medicamentos al mismo tiempo y puede resultar difícil utilizar una línea dedicada para la infusión de antibióticos. Sin embargo, es importante evitar las incompatibilidades entre medicamentos y una solución sería tener una línea dedicada cuando se utiliza la IC. Cuando se utiliza IE, la vía se puede utilizar para la infusión de otros medicamentos fuera de los horarios en los que se esté administrando el antibiótico. El uso de un catéter periférico exclusivo también puede ofrecer una solución, debiéndose evitar las interrupciones de la IP a menos que la interrupción sea breve. Hay que tener precaución en pacientes con IC, ya que las interrupciones pueden hacer disminuir las concentraciones rápidamente y en el reinicio, estas concentraciones pueden permanecer más bajas²⁵⁸.

1.3.4.3 Toxicidad de antibióticos betalactámicos

Los betalactámicos son los antimicrobianos más usados en las UCI y siguen siendo uno de los antimicrobianos más seguros. Sin embargo, el diagnóstico erróneo de eventos adversos relacionados con los betalactámicos puede alterar el manejo de los pacientes en la UCI y afectar los resultados clínicos^{259,260}. Una revisión relativamente reciente, se ha centrado en describir las manifestaciones clínicas, los factores de riesgo y los efectos adversos neurológicos y renales inducidos por los betalactámicos en la UCI. Los resultados de la misma fue que la neurotoxicidad por betalactámicos ocurre en 10-15% de los pacientes de la UCI y puede ser responsable de una gran variedad de manifestaciones clínicas, que van desde confusión, encefalopatía y alucinaciones hasta mioclonías, convulsiones y estado epiléptico no convulsivo. También hacen hincapié en que la insuficiencia renal, las anomalías cerebrales subyacentes y la edad avanzada son los principales factores de riesgo de neurotoxicidad. Estableciendo concentraciones límite de toxicidad en estos pacientes críticos, como concentraciones mínimas superiores a 22 mg/L de cefepima, 64 mg/L de meropenem, 125 mg/L de flucloxacilina y 360 mg/L de piperacilina-tazobactam se asocian con neurotoxicidad en el 50% de los pacientes. Aunque las complicaciones renales (especialmente las graves, como la nefritis intersticial aguda, el daño renal asociado con la anemia hemolítica inducida por fármacos y la obstrucción renal por cristalización) siguen siendo raras, existe evidencia convincente de un aumento de la nefrotoxicidad utilizando fármacos nefrotóxicos bien conocidos, como la vancomicina combinada con betalactámicos. Concluyen que el tratamiento se basa principalmente en la interrupción del fármaco causante y que en un futuro próximo se deben definir regímenes de dosificación antimicrobianos óptimos, no sólo basados en los objetivos PK/PD asociados con la eficacia clínica y microbiológica, sino también

en los objetivos PK/toxicodinámicos y que este caso, el uso de software de dosificación puede ayudar a logra estos objetivos²⁶¹.

1.3.5 PK/PD y dosificación de fosfomicina

La fosfomicina se ha utilizado ampliamente como antibiótico oral en su formulación de fosfomicina trometamol para el tratamiento de las infecciones urinarias en Europa y ahora también se utiliza cada vez más por vía intravenosa en el tratamiento de infecciones invasivas causadas por bacterias multirresistentes^{148,157}. Sin embargo, se sabe poco sobre la mejor estrategia de dosificación óptima para alcanzar la curación clínica o la supresión del desarrollo o selección de mutantes resistentes. No obstante, los modelos de infección de muslo en ratones sugieren que una relación AUC/CMI de $> 8,5 \text{ h}^{-1}$ es la exposición mínima requerida para la actividad bacteriostática frente a *E. coli*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa*, y la supervivencia de los ratones, pero esto varía según la especie y el aislado bacteriano²⁶². El parámetro AUC/CMI se ha relacionado con la supresión de la aparición de resistencias; de hecho, en un modelo dinámico de infección de fibra hueca (HFIM) que simulaba una dosis diaria total de fosfomicina intravenosa de 24 g, ya sea como dosis única o administrada en dosis divididas, contra un aislado de *E. coli* con una CMI de fosfomicina de 1 mg/L, demostró suprimir la aparición de resistencias (AUC₀₋₂₄/CMI de 3136 h⁻¹)¹³⁸. También se ha postulado que el tiempo por encima de la CMI de cualquier subpoblación resistente puede ser importante como parámetro predictor de eficacia de la fosfomicina y la reducción de la aparición de resistencias. Así, VanScoy *et al*²⁶³, postularon en un modelo in vitro de fosfomicina con aislados de *E. coli*, que cuando la concentración libre de fosfomicina está por encima de la CMI de estos aislados durante el 32,8 % del intervalo de dosificación, la concentración bacteriana se reduce en 2 log, sin embargo, no se pudo cuantificar

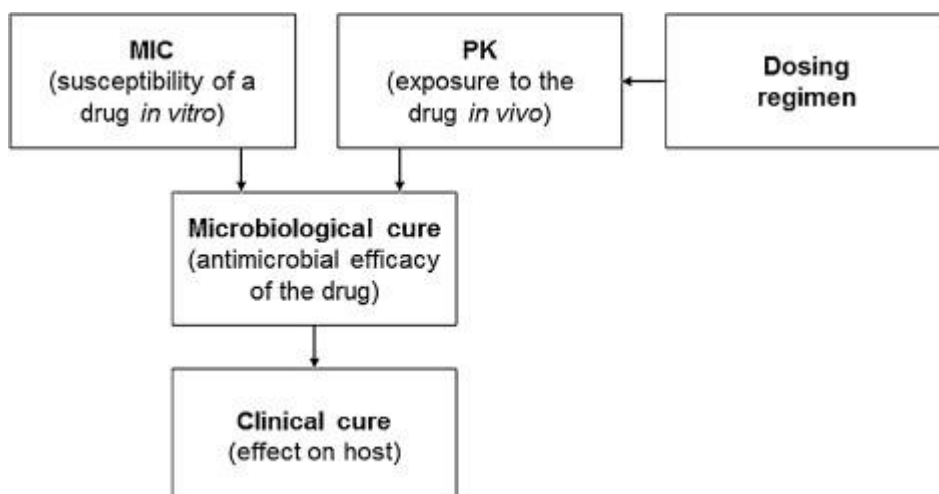
el tiempo que debía de estar por encima de la CMI de la subpoblación inherentemente resistente por limitaciones de la propia metodología empleada.

La fosfomicina tiende a concentrarse en la orina con un AUC_{0-∞} de 31.995 mg/Lh después de una dosis oral única de 3 g, que probablemente exceda la relación AUC/CMI potencialmente requerida para la supresión de la resistencia para aislados con una CMI <8 mg/L²⁶⁴. Por otro lado, se han obtenidos resultados parecidos en una simulación dinámica in vitro de las concentraciones de fosfomicina en la vejiga, que demuestran que tras una dosis oral única de 3 g de fosfomicina contra aislados de *E. coli* y *E. cloacae* con CMI ≤4 mg/L probablemente sea suficiente para suprimir la aparición de resistencias. Sin embargo, la aparición de resistencias ocurrió con todos los aislamientos de *K. pneumoniae* testados (rango de CMI de 2 a 8 mg/L)²⁶⁵.

En general, las altas concentraciones alcanzadas en el tracto urinario pueden explicar en parte la falta de aparición de resistencia cuando se usan para estas infecciones, al menos para algunos aislados. Es poco probable que estas exposiciones tan elevadas se alcancen en plasma o líquido intersticial con una terapia oral o intravenosa de fosfomicina, lo que puede explicar en parte las tasas de aparición de resistencia que se han descrito durante el tratamiento de infecciones sistémicas en monoterapia, lo cual puede ocurrir hasta en un 20 % de pacientes con infecciones distintas de una ITU²⁶⁶⁻²⁶⁸. La fosfomicina nebulizada para el tratamiento de la neumonía puede ser una administración alternativa que podría dar lugar a las concentraciones necesarias para minimizar la aparición de resistencias²⁶⁹, aunque es cierto que en el caso de la neumonía asociada a ventilación mecánica por bacterias gram negativas, el ensayo clínico aleatorizado IASIS no demostró buenos resultados con la antibioterapia inhalada combinada (amikacina y fosfomicina) comparado frente a placebo en términos de resolución más rápida de la infección y mortalidad²⁷⁰.

1.4 Farmacocinética poblacional de antimicrobianos. Aplicaciones clínicas.

Ya se ha comentado anteriormente que el aumento de la resistencia a los antimicrobianos y la escasez de nuevos antimicrobianos han enfatizado la importancia de optimizar los regímenes de dosificación de los antimicrobianos nuevos y antiguos para mejorar los resultados clínicos en patologías infecciosas. El modelado de las características PK/PD de los antimicrobianos puede respaldar la optimización de los regímenes de dosificación, así, los parámetros PK/PD de los antibióticos describe la relación entre la eficacia, la *sensibilidad in vitro* de un fármaco al microorganismo (generalmente expresada como CMI) y la exposición *in vivo* al fármaco, que depende de la PK y la dosis (figura 7). A partir de esta relación se deduce que, si se conoce la CMI, el resultado microbiológico y clínico del tratamiento está determinado por el perfil farmacocinético y las dosificaciones individuales. Para predecir esa exposición, se pueden utilizar, y de hecho se están utilizando, modelos farmacocinéticos poblacionales, cuya calidad determinará el potencial de los valores de exposición estimados a partir del mismo²⁷¹.



*Figura 7. Relación entre la CMI, PK, dosis y efectos del fármaco*²⁷¹.

Durante el desarrollo de nuevos fármacos, se recomienda el uso de modelos farmacocinéticos poblacionales de antimicrobianos para optimizar los regímenes de dosificación³. Estos modelos poblacionales también se utilizan para mejorar los regímenes de dosificación de antimicrobianos antiguos que se utilizan actualmente y para individualizar el tratamiento en el entorno clínico. Muchos de los antibióticos utilizados actualmente se desarrollaron y aprobaron hace décadas, cuando los principios PK/PD eran en gran medida desconocidos y no existían técnicas sofisticadas de modelado PK poblacional²⁷². Hoy en día, algunos de estos antiguos antimicrobianos se vuelven a estudiar y se publica un número cada vez mayor de modelos farmacocinéticos poblacionales con nuevas recomendaciones de dosificación para poblaciones específicas. Por tanto, es esencial tener una comprensión suficiente de la interpretación de los resultados de los modelos para una buena implementación de estas recomendaciones de dosificación²⁷³.

1.4.1 Principios PK-PD de los antimicrobianos

A continuación, vamos a ir desgranando cada uno de los puntos y retos implicados en los principios PK-PD de los antimicrobianos:

1.4.1.1 Índices PK-PD

Como se ha comentado anteriormente en el punto 1.1, los índices PK/PD describen las relaciones exposición-respuesta, por tanto, un índice PK/PD representa la relación entre una medida PK de la exposición a los agentes antimicrobianos (como la AUC o la C_{max}) y una medida PD de sensibilidad bacteriana al fármaco (generalmente la CMI). Así, únicamente la fracción no unida a proteínas de un antimicrobiano es microbiológicamente activa y puede

penetrar en el espacio extravascular²⁷⁴. Por lo tanto, los índices PK/PD se basan en concentraciones no consolidadas y para cada antibiótico, se prueban diferentes índices PK/PD, como AUC/CMI, C_{max}/CMI y $T > CMI$ (Figura 8) en estudios preclínicos para identificar qué índice PK/PD tiene más probabilidades de estar asociado con la eficacia. Los índices PK/PD son diferentes para cada clase de antimicrobiano. Por ejemplo, el índice PK/PD de los betalactámicos es el porcentaje del intervalo de dosificación en el que la concentración del antibiótico libre (libre) está por encima de la CMI ($\%T > CMI$) y el índice PK/PD de la vancomicina es $f AUC_{0-24} / MIC$ ²⁷³.

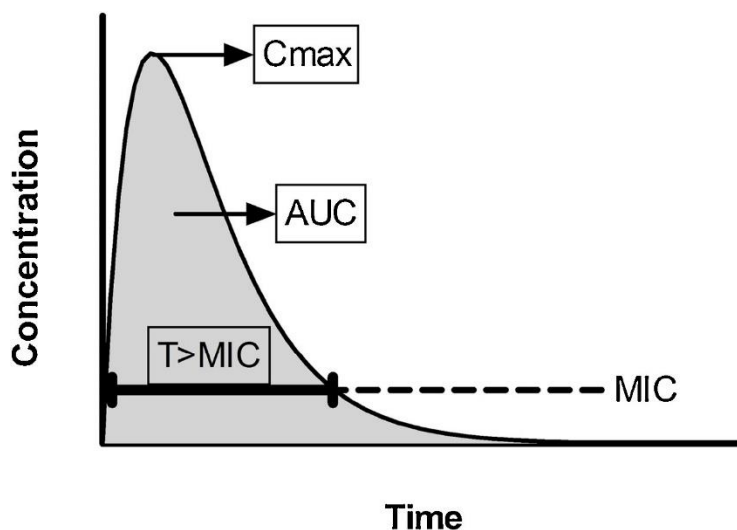


Figura 8. Curva de concentración-tiempo que muestra los parámetros farmacocinéticos C_{max} , AUC (área sombreada) y el índice PK/PD $T > CMI$ ²⁷³.

1.4.1.2 Objetivos PK-PD

El objetivo de PK/PD es el valor mínimo del índice PK/PD que garantiza una alta probabilidad de éxito del tratamiento, por tanto, no existe un valor objetivo PK/PD único para cada antimicrobiano y los valores objetivo de PK/PD varían

entre los criterios de valoración elegidos, como estasis, muerte microbiana máxima o supresión de resistencia (para estudios preclínicos) y curación microbiológica o clínica (para estudios clínicos) ^{20,21}.

Para alcanzar un objetivo PK/PD específico, la exposición del microorganismo al agente antimicrobiano debe ser adecuado y esta exposición depende fundamentalmente de la dosis y las propiedades farmacocinéticas del fármaco²⁷³.

1.4.1.3 Valores objetivo de PK/PD

El valor objetivo óptimo de PK/PD aún no está claramente definido para todos los antibióticos, en parte porque esto depende de su indicación clínica o uso²³⁷. Por ejemplo, para los antibióticos betalactámicos, los objetivos utilizados varían entre 40-100% $fT > MIC$ y 50-100% $fT > 4xMIC$ ^{5,21,275}. Actualmente, existe una tendencia hacia el uso de objetivos más ambiciosos para los pacientes críticos que para los menos críticos²¹⁵. Es evidente que se requiere más investigación en esta área. También es importante darse cuenta de que los valores objetivo de PK/PD derivados preclínicos difieren de los valores derivados clínicos en pacientes críticamente enfermos²¹.

1.4.1.4 Impacto de la unión a proteínas

Los índices y objetivos de PK/PD se definen en la mayoría de los casos como concentraciones libres (no unidas a proteínas plasmáticas), mientras que muchos ensayos miden concentraciones totales (no unidas y unidas a proteínas)^{274,276}. Sin embargo, la unión a proteínas suele ser muy variable y la hipoalbuminemia ocurre con frecuencia en pacientes críticos, lo que podría conducir a resultados poco confiables si se calcula una concentración libre utilizando un valor publicado en la literatura para la unión a proteínas²⁷⁷. Además, la unión a proteínas puede depender de la concentración e incluso ser no lineal²⁷⁸.

1.4.1.5 Lugar de la medición de las concentraciones

La mayoría de los objetivos de PK/PD se basan en los niveles en sangre, no obstante, otros sitios del cuerpo también pueden ser importantes, aunque la interpretación de estos otros sigue siendo incierta³. Si existe una buena correlación entre los niveles plasmáticos y los niveles en las otras zonas corporales, esto no supone un problema importante, ya que se trata simplemente de un cambio en los valores objetivo, pero si la correlación es menos predecible, esto puede convertirse en un problema importante²⁷⁹. Por ejemplo, en pacientes muy obesos, las concentraciones tisulares pueden ser mucho más bajas de lo esperado²⁸⁰ o bien en pacientes con neumonías en los que la baja penetración del antibiótico en los pulmones puede impactar en alcanzar las concentraciones objetivo²⁸¹.

1.4.1.6 Puntos de corte clínicos

Se necesita información sobre el objetivo PK/PD, las características PK, la exposición, la variabilidad y los regímenes de dosificación para establecer puntos de corte clínicos. Así, los puntos de corte clínicos son CMI que definen a los microorganismos como susceptibles, intermedios o resistentes a antibióticos específicos y determinan la elección antimicrobiana durante la terapia empírica y dirigida²⁶.

1.4.2 Análisis y simulaciones PK

La PK describe el comportamiento de los fármacos y sus metabolitos en el organismo en términos de absorción, distribución, metabolismo y excreción, así las curvas de concentración-tiempo están relacionados con la dosis recibida y las características del sujeto. Los métodos de análisis PK se pueden distinguir

entre enfoques individuales (punto 1.4.2.1) y poblacionales (1.4.2.2), que, a su vez, pueden clasificarse como métodos paramétricos, no paramétricos, de máxima verosimilitud y bayesianos (Figura 7). Los modelos farmacocinéticos poblacionales se pueden utilizar para realizar simulaciones con el fin de evaluar modelos (validación interna o externa) y regímenes de dosificación. Para este último propósito, se puede calcular la probabilidad de alcanzar el objetivo (PTA)²⁷³.

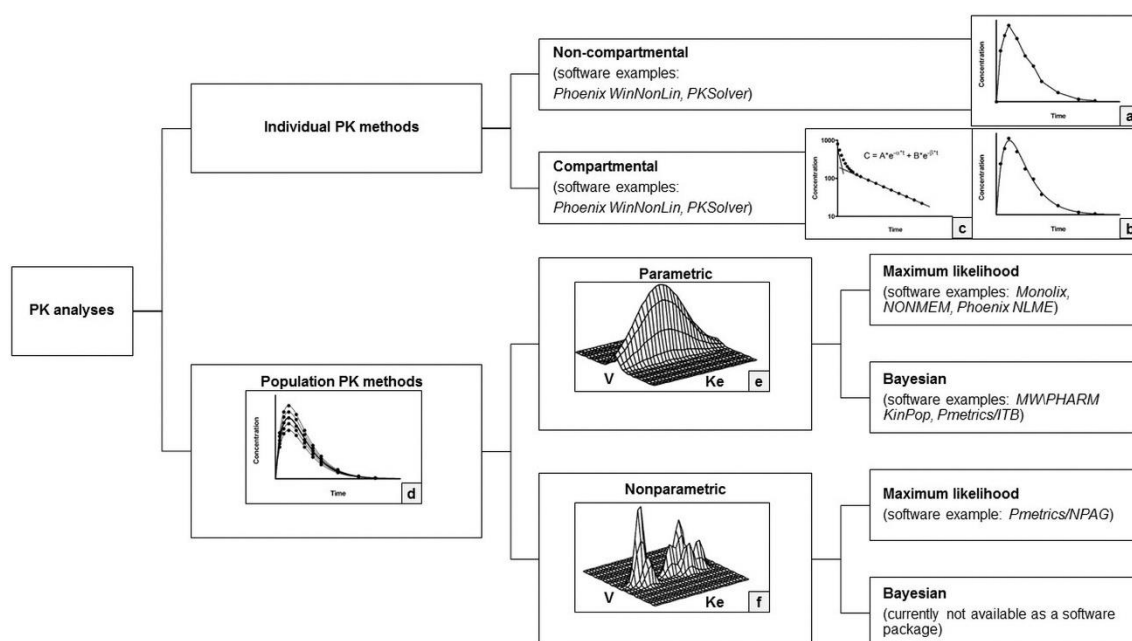


Figura 7. Esquema general de los métodos de análisis PK. a) Análisis no compartimental: conexión de concentraciones individuales mediante interpolación lineal; b) y c) Análisis compartimental: ajuste de concentraciones individuales en una ecuación de modelo compartimental (b: eje "y" lineal, administración oral, 1 compartimento de distribución. c: eje "y" logarítmico, administración intravenosa, 2 compartimentos de distribución); d) datos farmacocinéticos de la población; e) Análisis paramétrico y f) No paramétrico de datos farmacocinéticos de la población con 2 subpoblaciones de metabolizadores lentos (K_e baja, constante de eliminación) y rápidos (K_e alta). El método paramétrico supone que los datos se distribuyen normalmente, mientras que el método no paramétrico identifica las 2 subpoblaciones²⁸².

1.4.2.1 Método PK individuales

Los métodos de PK individuales analizan cursos de tiempo de concentración por cada sujeto individual, así, algunos ejemplos de métodos PK individuales son el análisis no compartimental y el método estándar de dos etapas. El análisis no compartimental (NCA) es el método PK individual más sencillo, ya que no aplica ningún modelo a los datos, pero conecta las concentraciones individuales observadas mediante interpolación lineal, sin embargo, el método estándar de dos etapas (STS) ajusta los datos de cada individuo por separado en una ecuación de modelo compartimental y luego combina estimaciones de parámetros individuales para generar parámetros medios (poblacionales) y desviaciones estándar²⁸³.

Los métodos PK individuales usan técnicas relativamente simples y útiles para explorar conjuntos de datos y calcular medidas PK como AUC y C_{max}. Sin embargo, no proporcionan información detallada (por ejemplo, covariables) sobre la variación de los parámetros farmacocinéticos en una población. Otra desventaja es que estos métodos requieren un muestreo intensivo. Algunos ejemplos de paquetes de software para desarrollar PK individuales son Phoenix WinNonlin y PKSolver. A parte de los métodos NCA y STS, algunos de los paquetes PK individuales también ofrecen métodos PK poblacionales²⁸⁴.

1.4.2.2 Métodos PK poblacionales

Los métodos de PK poblacional analizan los cursos de concentración-tiempo de una población en su conjunto, evaluándose durante el proceso de modelización varios modelos con diferente número de compartimentos, tipos de eliminación y variabilidad. El modelo final proporciona parámetros PK poblacionales medios (por ejemplo, volumen de distribución o aclaramiento) y describe la variabilidad entre sujetos (variabilidad interindividual o entre sujetos, BSV) y la variabilidad

entre las dosis de un sujeto individual (intraindividual, BOV). La variabilidad observada se explica por covariables, que son características del sujeto como peso corporal, función renal o edad, teniéndose en cuenta la variabilidad residual (por ejemplo, la varianza del ensayo o las incertidumbres del muestreo)^{283,285}.

La evaluación y validación exhaustiva del modelo es importante para ofrecer un modelo sólido y confiable, así, algunos ejemplos de métodos y técnicas de evaluación/validación de modelos son las funciones objetivas basadas en la probabilidad (como el *Akaike Information Criterium* -AIC-), gráficos, *bootstrapping* para estimar la precisión de los parámetros, simulaciones (p. ej., *Visual Predictive Check* [VPC] o los Errores de Distribución de Predicción Normalizada (NPDE) y por otro lado, la validación externa, usada cuando el modelo desarrollado se aplica a un nuevo conjunto de datos^{285,286}.

Tradicionalmente, los parámetros farmacocinéticos de la población se estimaban mediante el enfoque “individual” estándar de dos etapas, que no puede describir ni explicar los tipos de variabilidad. Los métodos farmacocinéticos poblacionales más sofisticados implican el desarrollo de modelos no lineales de efectos mixtos. Estos modelos se denominan "no lineales" porque las ecuaciones PK no son lineales y el término “Efectos mixtos” implica la descripción de efectos fijos (que son los mismos para cada individuo) y efectos aleatorios (específicos de cada individuo).

Por otro lado, los métodos de modelado PK de la población se pueden clasificar estadísticamente como paramétricos o no paramétricos. Las clasificaciones paramétricas y no paramétricas se pueden dividir en enfoques de máxima verosimilitud o bayesianos^{287,288}. A continuación, describiremos brevemente los diferentes enfoques de modelado:

a) Métodos paramétricos de máxima verosimilitud

Los métodos paramétricos de máxima verosimilitud asumen que la distribución de los parámetros de la población se obtiene con parámetros de población desconocidos²⁸⁸. Estos métodos estiman el conjunto de parámetros que maximizan la probabilidad conjunta de observaciones. La mayoría de los paquetes de software actuales para el modelado PK de poblaciones son métodos paramétricos de máxima verosimilitud (por ejemplo, Monolix, NONMEM y Phoenix NLME). Cada paquete ofrece uno o más algoritmos matemáticos para facilitar el modelado de máxima verosimilitud, como FOCE, SAEM o QRPEM²⁸⁹.

b) Métodos no paramétricos de máxima verosimilitud

A diferencia de los métodos paramétricos, los métodos no paramétricos no hacen suposiciones sobre las formas de las distribuciones de parámetros subyacentes, lo que teóricamente es una ventaja para detectar subpoblaciones. Los métodos no paramétricos utilizan una función de probabilidad exacta, mientras que los métodos paramétricos utilizan una aproximación. Un inconveniente de los métodos no paramétricos es que los intervalos de confianza sobre las estimaciones de los parámetros no se determinan fácilmente^{287,288}. Por ejemplo, el algoritmo NPAG del paquete de software Pmetrics (antiguo MM-USCPACK/USC*PACK, anteriormente basado en el algoritmo NPEM), es un método de máxima verosimilitud no paramétrico²⁹⁰.

c) Métodos bayesianos

El método bayesiano iterativo paramétrico de dos etapas (ITB) utiliza los valores medios de los parámetros y sus desviaciones estándar (obtenidas a partir de un método STS o cualquier suposición inicial razonable) como antecedentes bayesianos. Posteriormente, se examinan los datos individuales de los pacientes para obtener valores de parámetros posteriores bayesianos basados en el

procedimiento bayesiano de máxima probabilidad a posteriori (MAP). Los valores medios de los parámetros se pueden calcular nuevamente y utilizar como valores anteriores bayesianos para obtener nuevos valores posteriores bayesianos. Este proceso iterativo se repite hasta que la diferencia entre la población y los valores estimados alcanza un valor mínimo^{291,292}. Ejemplos de paquetes de software que incluyen el método ITB son el módulo KinPop en MWPHARM y el algoritmo ITB en Pmetrics, que se utiliza principalmente para estimar rangos de parámetros que se pasarán a NPAG^{290,291}.

Algunos desafíos de la PK poblacional, son que aún se desconoce qué enfoque PK poblacional (paramétrico o no paramétrico) es el más adecuado para preguntas de investigación específicas y que hacen falta más estudios que comparen ambos métodos. Por otro lado, un inconveniente de muchos estudios de modelización es que el tamaño de la muestra suele ser pequeño y que se omite el cálculo del tamaño muestral^{21,293}.

1.4.2.3 Simulaciones

Cuando se trata de aplicaciones clínicas, las simulaciones que utilizan modelos farmacocinéticos poblacionales generalmente se realizan con dos propósitos: 1) evaluación del modelo y 2) evaluación de la dosificación. Para la evaluación del modelo, los datos de concentración-tiempo se simulan y se comparan con un subconjunto del conjunto de datos original (validación interna) o datos nuevos (validación externa). Para la evaluación de la dosificación, se simulan datos de concentración-tiempo para varios regímenes de dosificación con el fin de estudiar la exposición y la probabilidad de alcanzar el objetivo (PTA), por ejemplo, en subpoblaciones específicas como pacientes de UCI o pacientes con insuficiencia renal o durante el proceso de definición de puntos de corte microbiológicos^{26,283,294}.

La simulación estocástica a partir de modelos PK poblacionales con parámetros de efectos fijos y aleatorios es más compleja que la simulación no estocástica a partir de modelos simples de efectos fijos. Sin embargo, la simulación estocástica de Monte Carlo puede manejar la variabilidad aleatoria y, por lo tanto, es el tipo de simulación más utilizado para los modelos PK de población^{294,295}.

- **Probabilidad de consecución del objetivo (PTA)**

Las simulaciones de Monte Carlo basadas en modelos farmacocinéticos poblacionales se pueden utilizar para calcular la PTA de objetivos específicos de PK/PD para varios regímenes de dosificación y una distribución de CMI determinadas^{294,296}. Para ello, se utilizan diferentes métodos para presentar los resultados de la PTA, por ejemplo, una opción sería trazar o tabular el PTA de un objetivo PK/PD específico como una función de la CMI (Fig. 8a). Se pueden incluir varios regímenes de dosificación en dicho gráfico, pero una desventaja de este enfoque es que sólo se puede incluir un valor objetivo de PK/PD por gráfico. Dado que los valores objetivo-óptimos de PK/PD no están definidos para todos los antibióticos e indicaciones, puede resultar útil mostrar varios valores objetivo en un gráfico. Esto último es posible en el gráfico que se muestra en la Fig. 8b, donde el objetivo de PK/PD (aquí: %fT>CMI) se representa como una función de la CMI para un régimen de dosificación específico. Al incluir la media (o mediana) de la población y las estimaciones (percentiles) del intervalo de confianza (IC) en el gráfico, se pueden leer los PTA para varios valores objetivo de PK/PD. El límite inferior de un IC del 95 % corresponde a un PTA del 97,5 %. Por ejemplo, en Fig. 8b, el PTA para el 40% fT>CMI es 97,5% para 250 mg cada 8 h y una CMI de 0,25 mg/L. De hecho, EUCAST (Comité Europeo sobre Pruebas de Sensibilidad a los Antimicrobianos) utiliza estos gráficos para determinar los puntos de corte microbiológicos²⁶.

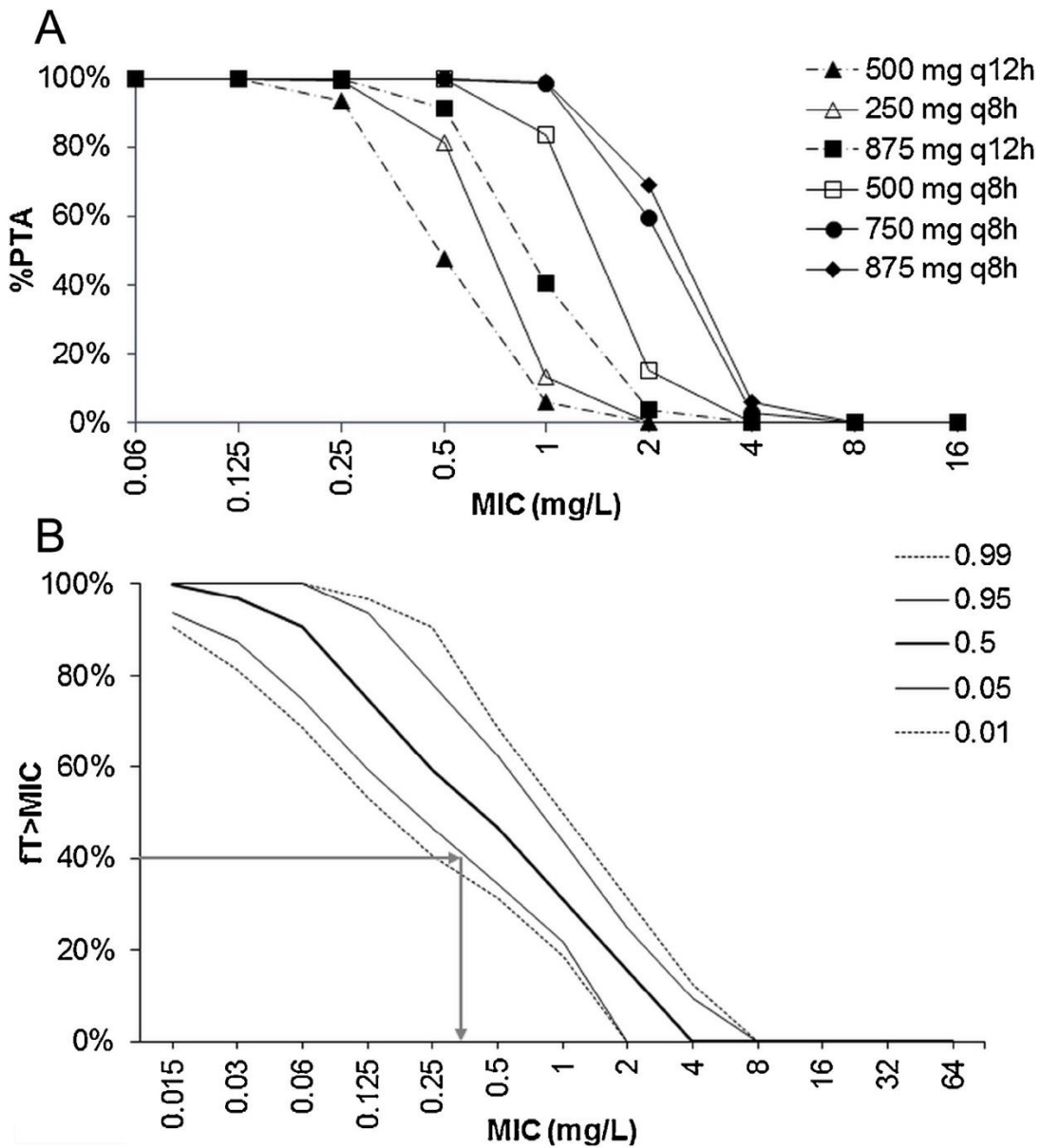


Figura 8. (a) PTA para diversos regímenes de dosificación de amoxicilina para alcanzar el objetivo del 40% fT>CMI para una variedad de CMI. (b) % fT>CMI mostrado como una función de la CMI para amoxicilina 250 mg cada 8 h²⁹⁷.

1.4.3 Aplicaciones clínicas de modelos farmacocinéticos poblacionales.

Los modelos farmacocinéticos poblacionales no solo se utilizan durante el desarrollo de nuevos fármacos³, sino que también tienen diversas aplicaciones clínicas una vez que el fármaco está disponible en el mercado. Desde la perspectiva de los antimicrobianos, se pueden especificar tres aplicaciones

clínicas principales: evaluación de la dosificación de antimicrobianos antiguos, establecimiento de puntos de corte clínicos y monitorización de fármacos terapéuticos²⁷³. Vamos a describir cada una de ellas a continuación:

1.4.3.1 Evaluación de dosificación de antibióticos antiguos.

Como se describió anteriormente, se pueden realizar simulaciones utilizando modelos farmacocinéticos poblacionales para evaluar los regímenes de dosificación y posteriormente predecir los PTA para diferentes regímenes de dosificación y CMI. Cada vez se publican más investigaciones con recomendaciones de dosificación basadas en simulaciones de PTA²³¹⁻²³³. Aunque estas publicaciones rellenan la brecha de conocimiento en lo referente a la dosificación en subgrupos específicos, sus recomendaciones deben considerarse cuidadosamente porque a menudo falta la validación clínica y la correcta elección del valor objetivo de PK/PD, siendo cuestionables los niveles de aceptación de los PTA²⁷³.

Por tanto, la preocupación más importante es que a menudo falta la validación clínica de las nuevas recomendaciones de dosificación. Es deseable que futuros estudios de validación clínica no sólo se centren en el logro de objetivos, sino que también relacionen la exposición con los resultados clínicos. Una revisión reciente sobre la PK/PD de la gentamicina y otros aminoglucósidos encontró que sólo un estudio evaluó prospectivamente las recomendaciones de dosificación basadas en modelos para ver qué exposición se logró realmente en la práctica clínica^{293,298}.

Otro ejemplo de recomendación posológica que apenas ha sido validada prospectivamente es la ciprofloxacina. La ciprofloxacina es una fluoroquinolona que se receta con frecuencia. El objetivo farmacodinámico de $AUC_{0-24}/CMI > 125$ (o $fAUC_{0-24}/CMI > 100$) para *P. aeruginosa* está bien establecido en estudios *in vitro*, en animales y clínicos²⁹⁹⁻³⁰¹. Según el laboratorio comercializador, para la mayoría

de las indicaciones, el régimen de dosificación recomendado de ciprofloxacino intravenoso es de 400 mg dos o tres veces al día en pacientes con función renal normal, lo que implica que el médico que prescribe puede elegir la frecuencia de dosificación³⁰². Sin embargo, un número cada vez mayor de estudios de simulación que utilizan modelos farmacocinéticos poblacionales muestran que es necesario un régimen de dosificación de 1200 mg/día para alcanzar el objetivo farmacodinámico de $AUC_{0-24}/CMI > 125$ (o 100 para la concentración de fármaco libre) para patógenos Gram-negativos con una $CMI \geq 0,5 \text{ mg/L}$ ^{209,303,304}.

Un inconveniente importante de estos estudios es que las recomendaciones de dosificación de 400 mg cada 8 h para $CMI \geq 0,5 \text{ mg/L}$ se basaron en simulaciones y no se validaron prospectivamente. La mayoría de la población del estudio recibió una dosis diaria máxima de 800 mg/día. A pesar de que estos estudios llegaron a la misma conclusión, los diseños de los estudios fueron notablemente diferentes, de hecho, algunas poblaciones de estudio fueron sólo pacientes de la UCI^{209,305}, mientras que otras poblaciones de estudio también incluyeron pacientes hospitalizados no críticos^{299,303,304}. Algunos estudios redujeron la dosis en pacientes con insuficiencia renal, cada uno utilizando un algoritmo de dosificación diferente^{299,303,304}, mientras que en otros estudios no se aplicó la reducción de la dosis^{209,305}. Por tanto, es difícil trasladar estas recomendaciones a la práctica clínica, ya que incluso la EMA y la FDA ofrecen diferentes recomendaciones de dosificación para ciprofloxacina en pacientes con insuficiencia renal^{306,307}.

Por otro lado, los objetivos PK/PD para algunos antimicrobianos y poblaciones aún no están claros²⁷². Algunos autores utilizan dos o más objetivos y dan

diferentes recomendaciones de dosificación según el objetivo³⁰⁸. De hecho, la revisión mencionada anteriormente sobre la gentamicina mostró que los objetivos elegidos en 7 estudios de simulación en adultos variaron entre $C_{max} \geq 8$ mg/L, $C_{max} \geq 10$ mg/L, $C_{max} \geq 22$ mg/L, $C_{max}/CMI > 8$, $C_{max}/CMI \geq 10$, $AUC_{24} = 70-120$ mg h/L y $AUC_{48} > 140$ mg h/L²⁹³.

Por último, la interpretación de la PTA supone otro desafío, ya que no está estandarizada, debido a que los niveles de aceptación de la PTA utilizados varían entre el 90% y el 100% y, a veces, ni siquiera se mencionan. Sin embargo, es importante tener en cuenta que un PTA del 90% significa que el 10% de los pacientes no alcanzan el objetivo para una CMI específica, lo que implica que la probabilidad de éxito del tratamiento disminuye. Para los nuevos antimicrobianos, la EMA indica un PTA del 90% para la selección de dosis³. Las CMI elegidas para las recomendaciones de dosificación siempre deben sopesarse con los puntos de corte clínicos de CMI publicados internacionalmente. EUCAST utiliza los valores MIC basados en PTA del 97,5% y 99% para establecer los puntos de corte²⁶.

1.4.3.2 Establecimiento de los puntos de corte clínicos

EUCAST proporciona puntos de corte clínicos relacionados con especies microbianas y PK/PD (no relacionados con especies microbianas). El procedimiento EUCAST para establecer puntos de corte PK/PD incluye simulaciones de Monte Carlo utilizando modelos PK poblacionales para estimar la exposición de un agente antimicrobiano en la población de pacientes objetivo para los regímenes de dosificación comúnmente utilizados. Después de las simulaciones, la PTA se determina para diferentes objetivos PK/PD y posteriormente, el objetivo PK/PD se traza como una función de la CMI para la media de la población y las estimaciones de IC del 95% y 99% (correspondientes

a una PTA del 97,5% y 99,5%). EUCAST utiliza los valores de CMI resultantes de ambas PTA para determinar un punto de corte PK/PD²⁶.

1.4.3.3 Monitorización terapéutica de fármacos

La monitorización farmacocinética o monitorización terapéutica de fármacos (TDM) consiste en la medición de las concentraciones de fármacos para optimizar los regímenes de dosificación para pacientes individuales con el objetivo de maximizar la eficacia y minimizar la toxicidad. Los criterios para que un fármaco sea apropiado para TDM son: gran variabilidad entre sujetos, pequeña variabilidad entre ocasiones, relación concentración-efecto definida, rango terapéutico pequeño, método de análisis disponible y ningún parámetro clínico claramente definido que permita ajustes de dosis (p. ej., glucosa o Niveles de INR)³⁰⁹.

1.4.3.3.1 Enfoques de la TDM

La TDM se puede aplicar evaluando si las concentraciones del fármaco están en el rango terapéutico, pero en caso de que las concentraciones se desvíen o cuando el objetivo terapéutico no es sólo una concentración sino, por ejemplo, un AUC, es difícil proporcionar una recomendación de dosificación de manera manual. Un enfoque más sólido para individualizar la dosificación mediante TDM es el procedimiento de ajuste bayesiano de máxima probabilidad a posteriori (MAP)²⁹² y que se implementa en varios programas de software TDM tal y como se describió anteriormente. La biblioteca de estas herramientas de software TDM incluye parámetros poblacionales, desviaciones estándar y covariables basadas en modelos PK poblacionales.^{21,310}

1.4.3.3.2 Programas de software para TDM

En términos prácticos, la monitorización terapéutica de fármacos (TDM) sirve como la aplicación de esta disciplina en un entorno clínico, que implica dosificación individualizada basada en el seguimiento de las concentraciones de fármaco. Utilizando esta información, se puede lograr la optimización de la dosis mediante una evaluación de la exposición a la concentración³¹¹. Las herramientas principales empleadas para TDM incluyen nomogramas, ecuaciones y software farmacocinéticos (PK). Desafortunadamente, los fracasos terapéuticos y las toxicidades siguen siendo frecuentes, particularmente en medicamentos y poblaciones que exhiben una variabilidad farmacocinética inter e intraindividual sustancial³¹¹.

Para abordar esta cuestión, se han desarrollado programas informáticos para ayudar a los profesionales a predecir el régimen de dosificación óptimo para cada paciente^{311,312}. La dosificación de precisión basada en modelos (MIPD) representa una disciplina avanzada dentro de la TDM, que proporciona una individualización de dosis basada principalmente en mediciones de TDM y, en segundo lugar, en modelos de población PK que tienen en cuenta las características individuales y las variabilidades intra e interpacientes. El logro de este enfoque requiere la integración del conocimiento y la optimización matemática dentro del software especializado³¹³.

Se han desarrollado varios programas de software para facilitar las predicciones de las concentraciones de fármacos en los pacientes y proporcionar recomendaciones de dosis que tengan en cuenta las variaciones individuales dentro del modelo poblacional. Estas predicciones normalmente se basan en el teorema bayesiano^{314,315}. El mayor uso del software MIPD se puede atribuir a su precisión, al avance de los modelos farmacocinéticos poblacionales y a la creciente gama de fármacos que pueden optimizarse. Además, existe un reconocimiento cada vez mayor de la importancia de la individualización de la dosis para las poblaciones vulnerables, incluidos los pacientes de edad avanzada, los que padecen insuficiencia renal o hepática, las mujeres embarazadas, los

pacientes en estado crítico y los pacientes pediátricos. En consecuencia, los programas informáticos se han convertido en una herramienta muy valorada en la práctica clínica habitual^{273,310}.

Sin embargo, la adopción generalizada del software MIPD se ve obstaculizada por la accesibilidad limitada y la falta de información completa sobre sus características y aplicabilidad clínica (entre otras razones). Esta falta de información dificulta el análisis comparativo eficiente y efectivo entre diferentes opciones de software. Además, algunos autores sostienen que la mayoría del software de seguimiento farmacocinético requiere un mayor desarrollo para mejorar la facilidad de uso, la capacidad de almacenamiento de datos y la generación de informes³¹⁴.

En una publicación del año 2012, se revisó un total 12 herramientas de software que se diferencian en la cantidad de fármacos que se ofrecen en su biblioteca (de 2 a 180) para optimización. Ocho de estos programas brindan la opción de agregar nuevos modelos de medicamentos, así como la disponibilidad de la adaptación de dosis bayesiana MAP en 10 de ellas y la propuesta de regímenes de dosificación a priori basados en ciertas covariables en 9 de ellas. Los autores de la revisión recomiendan que la mayoría de las herramientas de software se pueden mejorar, más específicamente la interfaz, la facilidad de uso, la capacidad de almacenamiento de datos y la generación de informes.

Recientemente en otra revisión³¹⁶ sobre las herramientas informáticas para realizar MIPD, concluyó que de 28 programas clasificados como software MIPD solo 18 se encuentran disponibles y que todos ellos utilizan métodos estadísticos bayesianos para estimar la exposición a los fármacos y todos proporcionan un modelo de población por defecto, excepto uno de ellos (NONMEM). Aunque también indican que sería interesante estandarizar la calidad y validar las herramientas informáticas.

1.4.3.3.3 TDM en la práctica clínica

TDM se aplica a muchas clases de antimicrobianos, como aminoglucósidos (por ejemplo, gentamicina, tobramicina y amikacina) y glicopéptidos (por ejemplo, vancomicina y teicoplanina), la TDM se ha convertido en una práctica clínica estándar para maximizar la eficacia y minimizar la toxicidad de estos fármacos. Para otros grupos, como los betalactámicos y las fluoroquinolonas, la TDM aún no se emplea comúnmente^{317,318}. Las razones más importantes por las que la TDM no se utiliza habitualmente para todas las clases de antimicrobianos son: objetivos terapéuticos poco claros (comentados anteriormente), falta de estudios con resultados clínicos relevantes y la falta de disponibilidad de las técnicas específicas para medirlos en el medio hospitalario^{223,317-319}.

A pesar de que la TDM se utiliza ampliamente en la práctica clínica, hay escasez de estudios prospectivos sobre la influencia de la TDM en los resultados clínicos³¹⁷⁻³²¹. También para los antibióticos que ya están en programas TDM, los estudios prospectivos son escasos³⁰⁹.

A continuación, detallaremos varios ejemplos sobre estudios prospectivos sobre TDM de antimicrobianos en la práctica clínica:

- *Aminoglucósidos*: dos estudios prospectivos controlados sobre TDM con aminoglucósidos utilizando software bayesiano mostraron que TDM redujo significativamente la nefrotoxicidad, la hospitalización y los costos^{322,323}. Sin embargo, estos dos estudios se realizaron antes de la introducción de la dosificación a intervalos prolongados de aminoglucósidos y es posible que no reflejen la práctica actual.
- *Vancomicina*: para la vancomicina, tres estudios controlados prospectivos mostraron que la TDM redujo significativamente la nefrotoxicidad y que la TDM es un procedimiento rentable³²⁴⁻³²⁶.

- Un estudio prospectivo controlado que incluyó amikacina, ciprofloxacina, levofloxacina, ceftazidima y cefotaxima demostró que la TDM mejoraba la probabilidad de un buen resultado clínico y la erradicación de patógenos [68]. En este estudio, el software bayesiano se utilizó sólo para la amikacina y las dos fluoroquinolonas, pero no para los dos betalactámicos³²⁷.
- *Betalactámicos*: Pai Mangalore *et al*³²⁸ realizaron una revisión sistemática y un metaanálisis sobre la dosificación guiada por TDM y la relación con los resultados clínicos (mortalidad por todas las causas, curación clínica, curación microbiológica, fracaso del tratamiento, duración de la estancia hospitalaria y en la unidad de cuidados intensivos, logro del objetivo, eventos adversos relacionados con los antibióticos, y aparición de resistencia) en pacientes críticamente enfermos con sepsis sospechada o comprobada. Se incluyeron once estudios (n=1463 pacientes), no encontrándose asociación con la mortalidad y la duración de la estancia hospitalaria, sin embargo, la dosificación guiada por TDM sí que mejoró la curación clínica y microbiológica y también la respuesta al tratamiento.
- *Fosfomicina*: en el caso de fosfomicina hay muy poca experiencia con la TDM más allá de algún caso aislado publicado, en el que se combinan con meropenem en un paciente con NAVM y bacteriemia por *K. pneumoniae* KPC/OXA-48 y en el que se monitorizaron ambos antibióticos para optimizar las dosis definidas y alcanzar el objetivo³²⁹.

1.4.3.3.4 Selección del modelo PK poblacional

Un aspecto importante de los programas TDM confiables es la elección de un modelo farmacocinético poblacional que debe ser adecuado para la población de

pacientes para la cual se va a realizar la TDM. Neef *et al*³³⁰ presentaron un caso de ajuste bayesiano MAP de vancomicina en el que 4 modelos farmacocinéticos poblacionales diferentes dieron como resultado 4 recomendaciones de esquemas de dosificación sorprendentemente diferentes y que describimos a continuación. Este caso describe a un recién nacido de 3 semanas (3,6 kg, 50 cm, creatinina sérica 25 $\mu\text{mol/L}$) que recibió 70 mg de vancomicina cada 12 h con una duración de infusión de 2 h. Se representaron gráficamente dos niveles antes y después de la tercera dosis. La figura 10 muestra el rendimiento de la TDM de 4 modelos para 4 regímenes de dosificación probados. Está claro que el modelo D tiene el peor ajuste de los niveles medidos. Los otros modelos tienen mejores ajustes, pero el modelo A predice niveles muy altos, probablemente debido a la ausencia de tolerancia en los parámetros del modelo. La conclusión de los autores es que el modelo B se ajusta mejor a los datos.

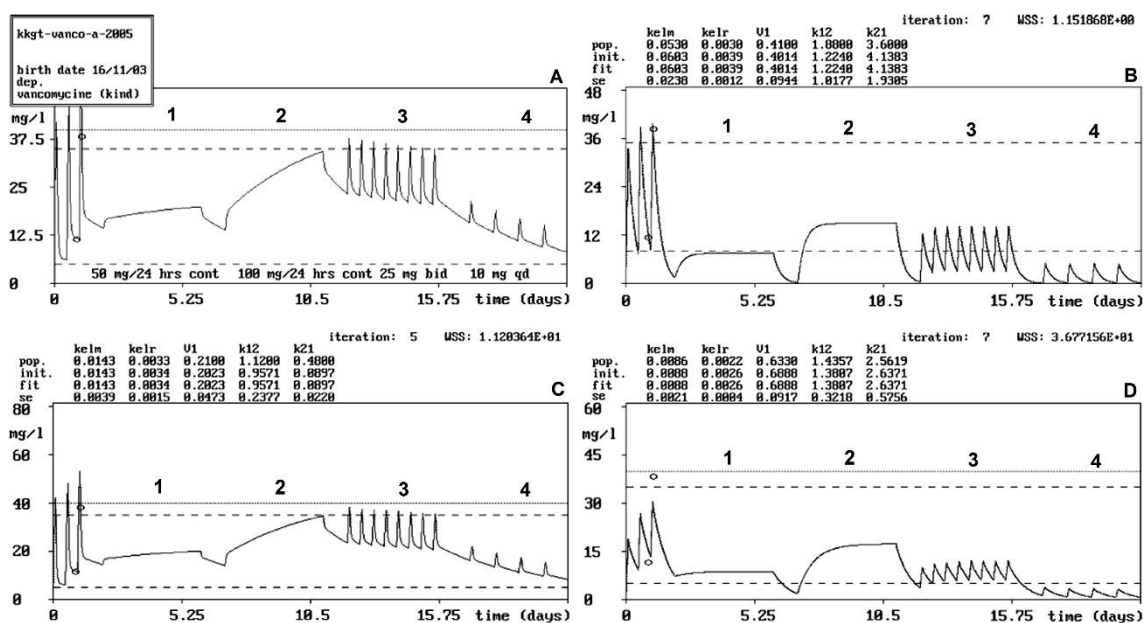


Figura 10. Rendimiento de la TDM de 4 modelos de población A–D para 4 regímenes de dosificación probados para cada modelo: 1) 50 mg/24 h en infusión continua, 2) 100 mg/24 h en infusión continua, 3) 25 mg/12 h, 4) 10 mg/24 h²⁷³.

1.4.3.3.5 Consideraciones para la realización de la TDM

Obviamente, la disponibilidad de una técnica analítica para determinación del antimicrobiano es una condición limitante para la realización de la TDM. Sin embargo, la disponibilidad de pruebas difiere según el antimicrobiano y también según el hospital. La mayoría de los hospitales tienen ensayos para aminoglucósidos y vancomicina³³⁰, pero los ensayos para betalactámicos y fluoroquinolonas son menos comunes^{5,276}. Las posibles razones que impiden que las instituciones proporcionen realización de TDM podrían ser la ausencia de un estudio prospectivo con resultados clínicos favorables o el requisito de tener técnicas específicas como los métodos cromatográficos en lugar de las técnicas de rutina como los inmunoensayos⁵. Una técnica analítica para medir las concentraciones de antimicrobianos es esencial para proporcionar información que sirva de base para los modelos farmacocinéticos poblacionales y poder utilizarlos en la práctica clínica. Por tanto, es importante medir las concentraciones libres de antimicrobianos con una gran variabilidad en la unión a proteínas. Actualmente, los ensayos de concentraciones plasmáticas son suficientes para uso clínico porque la mayoría de los valores objetivo de PK/PD actuales se basan en las concentraciones en el compartimento central, aunque la concentración en el sitio de la infección también podría ser importante y es un punto caliente de investigación que está en curso²⁷³.

Por otro lado, para ajustar la dosis de antimicrobianos basándose en la TDM, es necesaria tanto la medida de la concentración del antimicrobiano en sí como la CMI del patógeno responsable de la infección. Sin embargo, la mayoría de las instituciones utilizan una única determinación de CMI que es inapropiada y que potencialmente puede generar una dosis insuficiente en los pacientes. La precisión y variación de las mediciones de la CMI deben considerarse cuidadosamente durante este proceso³³¹.

Por último, es necesaria la buena interpretación de estudios de modelización farmacocinética poblacional, ya que el escaso conocimiento de PK/PD y

modelado impide una buena comprensión de las recomendaciones de dosificación resultantes de estudios de modelado y simulación, puntos de corte clínicos y TDM. Por tanto, una buena educación sobre estos temas es esencial para mejorar la dosificación de antibióticos en la práctica clínica²⁷³.

1.5 Técnicas de determinación de antimicrobianos en fluidos biológicos

El método más utilizado para el TDM actual y tradicional implica ensayos inmunológicos, que utilizan principalmente sistemas cerrados y automatizados en los laboratorios clínicos. Se suelen utilizar kits comerciales para antibióticos "tóxicos" como vancomicina y aminoglucósidos que son apreciados principalmente por su rapidez. Sin embargo, la estandarización y calibración de este tipo de pruebas no siempre es fácil y los inmunoensayos a menudo se adaptan a sistemas automatizados convencionales abiertas para reducir el coste de la determinación. Como ejemplos, podemos destacar la técnica de inmunoensayo de donantes de enzimas clonadas (CEDIA) de ThermoFisher Scientific y Roche o la técnica de inmunoensayo multiplicado por enzimas (EMIT) de Olympus Chemistry Systems³³².

La segunda tecnología más utilizada es la cromatografía líquida (LC), que a menudo se combina con la espectrometría de masas (LC-MS). Esta tecnología utiliza principalmente ensayos y protocolos desarrollados de manera local, lo que proporciona un nivel de flexibilidad experimental que se puede adaptar fácilmente a los antimicrobianos comúnmente utilizados. La LC-MS es una tecnología altamente adaptable y cuando los marcadores moleculares en forma de estándar internos están disponibles y el equipo y el personal asociado tienen una buena cobertura financiera, es una buena opción para realizar las

determinaciones. Por otro lado, la demora en la información de los resultados analíticos de estas tecnologías (24 a 96 h) puede representar un obstáculo importante para su uso clínico sumando a que el uso de la LC-MS requiere la contratación de un técnico experto y esto puede dificultar un servicio de 24 horas. Además, la tecnología no está disponible en todos los laboratorios, sino que está principalmente en los laboratorios metropolitanos, lo que a menudo provoca retrasos o prolongaciones en el tiempo para obtener resultados. De hecho, actualmente se están desarrollando diversos prototipos “point of care”. El uso de tecnologías de biosensores ha sido propuesto, explorado superficialmente siendo los primeros resultados prometedores^{333,334}. Otras publicaciones recientes se basaron en el uso exitoso de dispositivos de microfluídica para monitorizar las concentraciones de aminoglucósidos y betalactámicos en sangre total con un amplio rango dinámico^{335,336}. El desarrollo de estos métodos miniaturizados y potencialmente automatizables puede posicionar mejor la TDM en los laboratorios clínicos de rutina, particularmente si se demuestra que son rentables. Por otro lado, se está trabajando en la determinación de antimicrobianos a través de fluidos corporales, que puede hacer que la TDM sea más factible, ya que es una técnica no invasiva³³⁷.

1.5.1 Técnicas analíticas para realizar TDM de antibióticos betalactámicos

La TDM se utiliza principalmente para fármacos con un índice terapéutico estrecho (como aminoglucósidos y glicopéptidos) para maximizar la eficacia y minimizar la toxicidad³³⁸. La TDM de antibióticos betalactámicos es una técnica relativamente nueva y, aunque hasta la fecha no hay evidencia de que esto conduzca a mejores resultados clínicos, está ganando popularidad como medio

para optimizar la dosificación en poblaciones de pacientes difíciles, principalmente por razones de eficacia^{179,339}.

Sin embargo, a diferencia de la TDM de aminoglucósidos y glicopéptidos, no hay ensayos comerciales disponibles, como los inmunoensayos, para el seguimiento rutinario de los antibióticos betalactámicos. En la figura 11 se muestra una comparación de la TDM de antibióticos betalactámicos con la de aminoglucósidos y glicopéptidos³⁴⁰.

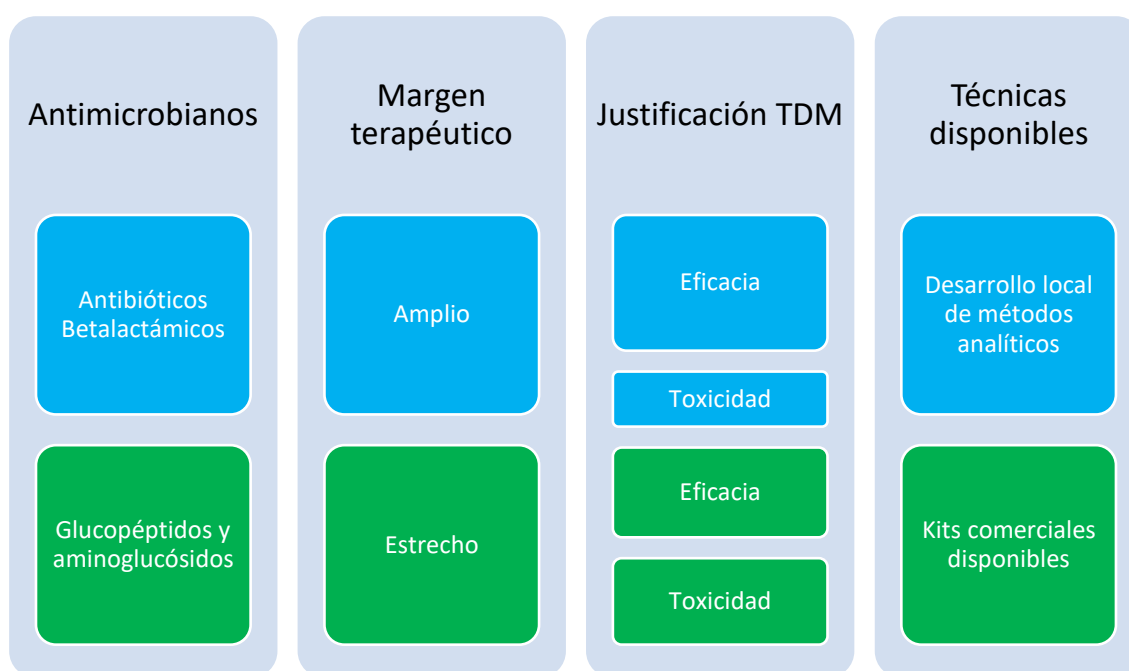


Figura 11. Comparación de la TDM: antibióticos betalactámicos vs aminoglucósidos y glicopéptidos. Adaptado de Carlier et al³⁴⁰.

1.5.1.1 Métodos para medir las concentraciones de antibióticos betalactámicos en plasma o suero.

1.5.1.1.1 Métodos cromatográficos

Utilizando métodos cromatográficos, se puede lograr una mayor variedad de antibióticos para TDM, predominando la cromatografía líquida de alto

rendimiento (HPLC) junto con detectores ultravioleta (UV) o espectrometría de masas (MS)³⁴¹. Varias empresas han desarrollado métodos de kits listos para usar para el análisis cuantitativo de varios antibióticos, incluidos los betalactámicos, en plasma. Sin embargo, dado que la instrumentación en diferentes laboratorios varía, la transferencia del método es más complicada y requiere más tiempo que con los métodos de inmunoensayo tradicionales³⁴². El bajo rendimiento de los analizadores es otra desventaja de los métodos cromatográficos y también las muestras de pacientes, así como los controles internos y los calibradores, primero deben someterse a un proceso de extracción adecuado que suele tener una alta complejidad, todo ello conduce a tiempos de respuesta prolongados que disminuyen la eficacia del proceso TDM. Sin embargo, tienen algunas ventajas que no debemos olvidar, como la posibilidad de análisis simultáneo de varios analitos con resultados sólidos que nos llevan a una alta especificidad y sensibilidad³⁴³. Otra ventaja de los métodos cromatográficos es la capacidad de desarrollar métodos in situ (internos), de modo que los laboratorios puedan proporcionar una cartera más amplia de analitos. Sin embargo, el desarrollo y la validación de métodos internos consumen mucho tiempo y requieren personal analítico capacitado³⁴⁴.

En la literatura hay muchas publicaciones sobre determinación de antibióticos betalactámicos mediante métodos cromatográficos, la mayoría de ellas con detección UV-visible³⁴³, aunque cada vez aparecen más publicaciones con determinaciones en espectrometría de masas³⁴⁵. Además, no parece haber diferencias entre si la determinación se hizo en plasma o en suero y la mayoría de los manuscritos no informaron sobre ensayos de estabilidad, aunque esto es de gran importancia para los antibióticos betalactámicos, que en algunos casos son relativamente inestables³⁴⁶.

En una revisión estructurada sobre métodos de determinación de antibióticos betalactámicos, determinó que el antibiótico betalactámico medido con mayor

frecuencia fue meropenem, seguido de piperacilina y la cantidad de betalactámicos medidos en un solo análisis osciló entre 3 y 12, con una mediana de 6 antibióticos³⁴⁰. Por otro lado, en esta misma revisión concluyen que la mediana del tiempo de análisis por muestra fue de 8 min (RIQ 5,9–21,3 min). Sin embargo, para la TDM de rutina son deseables tiempos de ejecución más cortos, ya que un lote con múltiples calibradores y muestras de control de calidad puede requerir el análisis consecutivo de una gran cantidad de muestras y alargar los tiempos de respuesta³⁴⁰.

En cuanto a la preparación de la muestra, debemos de tener en cuenta que, al desarrollar un método para determinar la concentración total en plasma, se pueden usar una variedad de procedimientos de preparación de muestras, dependiendo de la forma en que se “pretrata” la muestra (precipitación de proteínas usando solventes orgánicos o usando extracción en fase sólida) y, dependiendo de la evaporación que puede ser opcional, si queremos o no concentrar la muestra. La mayoría de los métodos publicados utilizan desnaturalización de proteínas y dilución posterior del sobrenadante^{343,347} y algunos utilizan la extracción en fase sólida y dilución posterior³⁴⁸. En los que se determinan concentraciones libres de antibióticos el método de cuantificación utilizado es la ultrafiltración^{349,350}.

Otras formas de biomuestreo son las gotas de sangre seca o dried blood spots, por sus siglas en inglés, en la que se recoge una gota de sangre como una mancha en un papel de filtro. Se utiliza más comúnmente para la detección de trastornos metabólicos en recién nacidos, pero se utiliza cada vez más para fines de TDM debido a ventajas que incluyen un bajo volumen de muestreo de sangre, un transporte más conveniente, un almacenamiento sin tratamiento especial y una mayor estabilidad del analito, ventajas que resultan muy atractivas para la TDM o para el desarrollo de estudios farmacocinéticos^{351,352}.

De hecho, se han desarrollado métodos para medir concentraciones de ertapenem a partir de gotas de sangre seca para TDM en recién nacidos, en quienes el muestreo de volúmenes altos no es práctico, también hay descritos otros métodos que midieron piperacilina-tazobactam y linezolid con esta estrategia³⁵³⁻³⁵⁵. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que utilizando esta estrategia de muestreo no es posible determinar concentraciones libres, lo que puede ser un problema para fármacos altamente unidos a proteínas como el ertapenem con aproximadamente un 90 % de unión a proteínas plasmáticas. Además, el proceso de secado después del muestreo dura más de 2 h y las gotas de sangre seca pueden sufrir alteraciones que pueden afectar la confiabilidad de los resultados, incluidas variaciones en el volumen de las gotas de sangre, la homogeneidad de las gotas de sangre y las concentraciones de hematocrito. La variabilidad del hematocrito (definido como el porcentaje en volumen de glóbulos rojos en la sangre) es un desafío que suscita mucho debate, ya que una fuerte desviación de los valores de hematocrito puede afectar significativamente a la cuantificación de analíticos usando esta estrategia³⁵². De hecho, cuando se utiliza un punzón de diámetro fijo, los punzones con un hematocrito alto contendrán un volumen de sangre mayor, lo que resulta en una sobreestimación. Sin embargo, los compuestos que no ingresan a los eritrocitos mostrarán proporciones sangre-plasma bajas (la proporción entre la concentración de un compuesto medida en sangre y la concentración medida en plasma). Por lo tanto, la presencia de eritrocitos puede verse como una dilución de la fracción plasmática de la sangre total y, por lo tanto, se necesitan estudios puente en los que se recojan tanto gotas de sangre seca como muestras de plasma para evaluar la correlación entre las concentraciones³⁵². Hay algún estudio puente publicado para comprobar esta hipótesis, con piperacilina-tazobactam y se encontró que las concentraciones en gotas de sangre seca eran en promedio un 62% y un 52% más bajas en comparación con el plasma, lo que sugiere que la piperacilina y el tazobactam no se internan en los glóbulos rojos. Se observó una

amplia variación en las proporciones de gotas de sangre seca y plasma³⁵³. Además, se ha demostrado que una de las mayores ventajas potenciales de las gotas de sangre seca, como es la estabilidad, es insuficiente para permitir el transporte a temperatura ambiente y, por tanto, este inconveniente puede limitar su uso para fines de TDM³⁵⁶.

1.5.1.1.2 Otros métodos para determinar antibióticos betalactámicos en sangre.

- Biosensores térmicos

La biodetección térmica detecta el calor generado por reacciones enzimáticas, en este caso la reacción de la penicilinas con el antibiótico betalactámico. Esta técnica fue utilizada por Chen *et al.*³⁵⁷ para determinar las concentraciones de penicilina G, penicilina V y ampicilina en sangre total y suero sin ninguna preparación de muestra.

Evitar la preparación de muestras con este método reduce drásticamente el tiempo de respuesta e incluso podría permitir pruebas en el lugar donde se esté atendiendo al paciente. Sin embargo, hay cuestiones que es necesario resolver antes, por ejemplo, Chen *et al.* determinaron penicilina V, penicilina G y ampicilina, todas ellas sensibles a la penicilinas, requisito para el principio de detección de este método. En primer lugar, no está claro si este sistema podría utilizarse para meropenem, que es uno de los antibióticos betalactámicos más prescritos y desarrollado para ser muy resistente a las betalactamasas. En segundo lugar, otros antibióticos betalactámicos de uso frecuente se formulan junto con un inhibidor de betalactamasa, como amoxicilina-ácido clavulánico, piperacilina-tazobactam y ampicilina-sulbactam. Por último, de manera similar al análisis de gotas de sangre seca, se necesitan estudios puente para

correlacionar las concentraciones en sangre total con las concentraciones plasmáticas³⁴⁰.

- Determinación espectrofluorimétrica

Algunos antibióticos betalactámicos producen productos de degradación fluorescentes. Por tanto, la cantidad de luz emitida por el producto de degradación después de la degradación ácida o alcalina se correlaciona con la concentración inicial del antibiótico betalactámico. Omar *et al.*³⁵⁸ desarrollaron un método para cuantificar siete cefalosporinas que utilizaba la determinación espectrofluorimétrica basada en una degradación alcalina. Este método es económico siempre que se disponga de un espectrómetro de luminiscencia, sin embargo, se necesita un pretratamiento de la muestra bastante complicado con un control estricto del pH y, por tanto, no es fácilmente aplicable para la TDM de rutina³⁵⁸.

- Inmunoensayos

Un inmunoensayo tiene la capacidad de medir la concentración de un analito en una solución específica utilizando un anticuerpo. Estos inmunoensayos están disponibles comercialmente para aminoglucósidos y glicopéptidos y son usados ampliamente para TDM. Actualmente, no se dispone de inmunoensayos para la cuantificación de antibióticos betalactámicos en plasma humano, sin embargo, existen múltiples ensayos disponibles para el análisis de trazas de antibióticos en la leche y otras fuentes de alimentos, con tiempos de análisis muy rápidos³⁵⁹⁻³⁶¹. La mayoría de estos inmunoensayos sólo dan resultados cualitativos, pero algunos también dan resultados cuantitativos, aunque en un rango de concentración que es demasiado bajo para fines de TDM, ya que estas pruebas están diseñadas para cuantificar en el rango de $\mu\text{g/L}$ (que es necesario para detectar residuos de antibióticos. en productos dietéticos), mientras que los

valores terapéuticos de estos antibióticos en el plasma humano son entre 100 y 1.000 veces superiores^{362,363}.

La ventaja de utilizar un inmunoensayo sobre los métodos cromatográficos descritos anteriormente es que el equipo necesario para realizar un inmunoensayo está disponible en todos los laboratorios clínicos y suele ser fácil de usar. Sin embargo, los inmunoensayos pueden verse afectados por interferencias y reactividad cruzada de compuestos similares, teniendo en cuenta que los pacientes pueden cambiar de un antibiótico a otro, la presencia del antibiótico anterior puede resultar problemática si el inmunoensayo no es suficientemente específico. Además, deberían estar disponibles muchos inmunoensayos diferentes, cada uno con calibradores y controles específicos, para cuantificar todos los antibióticos betalactámicos disponibles³⁴⁰.

- Biosensores

La cuantificación precisa de moléculas pequeñas mediante biosensores está surgiendo y parece muy prometedora. Las aplicaciones importantes de la biodetección incluyen mediciones de glucosa en pacientes diabéticos o la detección de ADN bacteriano mediante micromatrices. Un biosensor está formado por tres partes: por un lado, contiene un sensor biológico, como una enzima o una célula. En segundo lugar, contiene un transductor con el fin transducir la señal a la tercera parte, que sería el detector fisicoquímico propiamente dicho, y que por ejemplo tiene una intensidad de fluorescencia aumentada cuando se añade el ligando específico. Se han diseñado biosensores para algunos betalactámicos, pero no se han validado ni comparado adecuadamente con un método de referencia^{364,365}.

1.5.1.1.3 Determinación de concentraciones libres de antimicrobianos.

Los fármacos se unen a las proteínas séricas en diversas proporciones, estando la fracción unida en equilibrio con la fracción libre o no unida. Cada vez, existe más interés en medir esta concentración libre de antimicrobianos, dado que la concentración libre es responsable de la muerte bacteriana y también de la toxicidad.

Las dos proteínas séricas de unión a fármacos más importantes son la albúmina y la glicoproteína ácida α -1, generalmente se recomienda medir las concentraciones libres para fármacos altamente unidos ($\geq 95\%$ de unión a proteínas), aunque esta recomendación puede ser válida en el caso de voluntarios sanos y pacientes no críticos, pero no para otros grupos especiales de pacientes (como los pacientes críticos, pacientes quemados, pacientes desnutridos o pacientes con síndrome nefrótico) que sufren con frecuencia de hipoalbuminemia, la cual puede alterar significativamente la unión a proteínas y, por tanto, los parámetros farmacocinéticos básicos del antimicrobiano libre, como el volumen de distribución y el aclaramiento^{195,366}.

Uno de los métodos más simples para medir la unión a proteínas plasmáticas del antimicrobiano es la ultrafiltración, donde el plasma se transfiere a la cámara superior de un recipiente de dos piezas separadas por un filtro de un peso molecular determinado y cuando se centrifuga, separa la fracción libre del fármaco en la cámara inferior. Sin embargo, la ultrafiltración puede ser susceptible a la adsorción no específica del fármaco en el recipiente³⁶⁷ y a variaciones en las condiciones experimentales como el pH, la temperatura y la fuerza centrífuga, hecho que se ha reportado para la vancomicina pero también para los antibióticos betalactámicos, como son cefazolina y ertapenem³⁶⁸. Así Kratzer *et al.* demuestran que la fracción libre para ertapenem es del 12,5% cuando se centrifuga a 4°C, pero cambia al 20% cuando se centrifuga a 37°C³⁶⁸. Por otro lado, Briscoe *et al.* fueron los primeros en informar sobre un método para

determinar las concentraciones libres de una variedad de antibióticos betalactámicos mediante ultrafiltración³⁴⁹ y Connor *et al.* Publicaron la centrifugación a una temperatura de 4°C para determinación de las concentraciones libres de piperacilina, puede no ser la temperatura óptima para medirlas con precisión³⁶⁹.

Es importante destacar que existen pocos datos comparativos entre la ultrafiltración y la técnica que se considera el “estándar oro” como es la diálisis de equilibrio³⁷⁰. En la diálisis de equilibrio, dos cámaras están separadas por una membrana semipermeable, estas cámaras están llenas de suero o plasma y un tampón, respectivamente. Este método necesita mucho tiempo para alcanzar el equilibrio, lo que puede plantear un problema para algunos antibióticos betalactámicos que son relativamente inestables. Wong *et al.* han comparado la concentración libre medida, mediante ultrafiltración, con la concentración libre predicha a partir de los valores de unión a proteínas publicados para siete antibióticos betalactámicos utilizando muestras de sangre obtenidas de pacientes críticamente enfermos. Los resultados mostraron diferencias significativas entre las concentraciones de fármaco libre medidas y previstas sólo para los antibióticos betalactámicos altamente unidos a proteínas, como flucloxacilina (con un sesgo de sobreestimación del 56,8%) y ceftriaxona (con un sesgo de sobreestimación del 83,3%). Sin embargo, no se encontró correlación entre las concentraciones libres y unidas para estos antibióticos, por lo que la medición directa se considera esencial para estos fármacos. Para los antibióticos con una unión baja a moderada a proteínas (como piperacilina y meropenem), las concentraciones libres parecen ser predecibles a partir de las concentraciones totales²⁷⁷.

1.5.1.1.4 Medición de antibióticos betalactámicos en matrices alternativas

La medición de las concentraciones de betalactámicos en otros fluidos biológicos puede ser beneficiosa ya que estos fluidos pueden estar más estrechamente relacionados con el lugar de la infección. Vamos a centrarnos en la evidencia de los métodos utilizados para determinar los antibióticos betalactámicos en el líquido cefalorraquídeo (LCR) y el líquido ultrafiltrado de las terapias de reemplazo renal (TRR).

- Fluido cerebroespinal

Hay varias publicaciones en las que se usaron métodos que determinan los antibióticos betalactámicos en el LCR para meropenem³⁷¹, cefepima³⁷²⁻³⁷⁴, ceftazidima^{375,376}, ceftriaxona³⁷⁷ y cefotaxima³⁷⁸. La mayoría de las publicaciones utilizaron precipitación de proteínas con acetonitrilo como preparación de muestra^{374,375,377,378}, otras publicaciones no utilizaron ningún método de preparación de la muestra^{371-373,376} y tan solo una publicación utilizó el método de ultrafiltración³⁷⁹. Por otro lado, el método de detección utilizado en la mayoría de estos casos fue HPLC asociado a detector ultravioleta (HPLC-UV)^{372,373,377-379} seguida de la cromatografía capilar electrocinética micelar (MEKC, por sus siglas en inglés)^{371,373,376}. La MECK tiene la ventaja de prescindir de la preparación de muestras, lo que resulta ventajoso para mejorar el tiempo de respuesta, sin embargo, el tiempo de migración es bastante largo (10 min) y es necesario el acondicionamiento del sistema entre cada análisis^{372,373,376}.

- Ultrafiltrado de terapia de reemplazo renal

El equipo de Connor investigó la relación entre las concentraciones plasmáticas libres de piperacilina-tazobactam y las concentraciones en el dializado en pacientes tratados con diálisis venovenosa continua en 50 muestras de 19 pacientes y concluyó que las concentraciones del fármaco en el dializado predecían con precisión las concentraciones del fármaco libre en plasma ($R^2=0,91$

para piperacilina y 0,92 para tazobactam). Sin embargo, la desviación más evidente, se encontró en los datos de piperacilina a concentraciones más bajas, donde las concentraciones del dializado subestimaron las concentraciones plasmáticas hasta en un 50%. Por lo tanto, no es seguro que el ultrafiltrado pueda reemplazar al plasma como forma de medir las concentraciones libres, aunque alcanzar concentraciones más altas con esta técnica puede superar esta posible insuficiencia.

- Consideraciones generales sobre el establecimiento de un método para realizar TDM

Como el TDM de rutina requiere análisis frecuentes (preferiblemente una vez al día), las consecuencias de una preparación exhaustiva de las muestras y tiempos de ejecución prolongados para el personal del laboratorio y la ocupación del equipo son importantes. Por lo tanto, al desarrollar un método, es deseable minimizar la preparación de la muestra y al mismo tiempo conservar suficiente sensibilidad del ensayo. El método ideal debería poder medir concentraciones de analitos tanto bajas (alrededor de los valores CMI de los patógenos causantes más comunes) como altas sin tener que hacer diluciones y además, el tiempo de respuesta debe reducirse al mínimo. Como ocurre con todos los métodos bioanalíticos, el método debe validarse exhaustivamente antes de utilizarlo en la rutina clínica y esta validación debe incluir la evaluación de la precisión y exactitud, la linealidad, la estabilidad, las interferencias y el efecto de matriz (sobre todo en los casos en que se utiliza la espectrometría de masas como mecanismo de detección). Si uno de los analitos es un betalactámico que se coadministra con un inhibidor de betalactamasa (como piperacilina-tazobactam o amoxicilina-ácido clavulánico), debe asegurarse de que el inhibidor de betalactamasa no interfiera, aunque no está claro que el inhibidor de betalactamasa también debe cuantificarse durante la TDM, ya que actualmente no existe un objetivo predefinido para los inhibidores de betalactamasa y

realmente es el antibiótico betalactámico el responsable del efecto antibacteriano. Por otro lado, debe garantizarse la estabilidad preanalítica de las muestras, ya que los antibióticos betalactámicos generalmente se consideran bastante inestables, sin embargo, esta estabilidad limitada no debería alterar la monitorización, ya que estos compuestos siguen siendo estables durante un período de tiempo adecuado y suficiente. Otro aspecto importante es que el personal del hospital debe ser consciente de que la estabilidad es limitada y por ello las muestras deben enviarse al laboratorio tan pronto como se tome la muestra, y el plasma aislado debe congelarse inmediatamente en el laboratorio³⁴⁰.

- Perspectivas futuras

Para realizar la TDM, la técnica ideal sería un dispositivo de recolección de muestras junto a la cama del paciente que requiera sólo un pequeño volumen de sangre y que inmovilice el componente proteico y celular de la muestra para aislar la fracción libre del antimicrobiano, produciendo así una muestra que requiera una preparación mínima y que proporcione la máxima información farmacocinética, este dispositivo a día de hoy no está disponible.

Actualmente, la TDM de antibióticos betalactámicos requiere el uso de técnicas cromatográficas relativamente costosas y como no todos los hospitales disponen de este equipo, lo más conveniente sería transportar fácilmente las muestras a un laboratorio de referencia sin necesidad de medidas costosas para evitar la degradación. Por lo tanto, sería útil realizar más investigaciones sobre la utilidad de las gotas de sangre seca y en este sentido, se han descrito otros dos dispositivos de muestreo prometedores. El primero es el micromuestreador de absorción volumétrica, que consta de una punta polimérica y está diseñado para absorber un volumen fijo de sangre independientemente del hematocrito³⁸⁰⁻³⁸². De hecho, recientemente se ha publicado un artículo que es capaz de analizar seis

antimicrobianos (ampicilina, cefepima, ceftriaxona, meropenem, piperacilina-tazobactam y vancomicina) por este método para realizar TDM en pacientes críticos pediátricos³⁸³. El segundo dispositivo es un disco de recolección de papel que contiene plasma de una gota de sangre de la yema del dedo que puede secarse al aire en 15 minutos y transportarse al laboratorio en un sobre postal³⁸⁴.

Por último, en los últimos años, el potencial de los sensores portátiles para aplicaciones biomédicas y control sanitario están captando cada vez más la atención³⁸⁵. Estos sensores han logrado avances significativos en miniaturización, multifunción y algoritmos, debido al desarrollo de dispositivos integrados e inteligencia artificial, ya que permiten la recolección de muestras de manera no invasiva o mínimamente invasiva, teniendo la capacidad de monitorizar señales fisiológicas, facilitar el diagnóstico temprano de enfermedades y permitir la monitorización en remoto de diversas afecciones. Además, los sensores portátiles pueden desempeñar un papel crucial en el control de la concentración de fármacos en la sangre y otros fluidos biológicos, proporcionando transmisión de información en tiempo real para ayudar a los pacientes a ajustar la dosis de los fármacos y minimizar el riesgo de toxicidad de estos. Además, estos sensores pueden monitorizar continuamente los cambios dinámicos en los niveles de fármacos durante períodos prolongados, proporcionando datos vitales necesarios para lograr efectos terapéuticos óptimos. Como resultado, los sensores multifuncionales portátiles están preparados para convertirse en un componente esencial de los sistemas de atención médica, satisfaciendo de manera efectiva los requisitos de medicina personalizada en diversos pacientes y al mismo tiempo reduciendo el desperdicio de recursos y los costes de atención médica asociados³⁸⁶.

1.5.2 Técnicas para determinación de fosfomicina en fluidos biológicos

Ya se ha comentado anteriormente que la fosfomicina es un antibiótico antiguo con acción bactericida de amplio espectro y con un mecanismo de acción único que está generando un interés sustancial como terapia intravenosa o enteral para patógenos resistentes a múltiples fármacos (BMR)¹¹¹. Con una prevalencia cada vez mayor de bacterias BMR, combinada con un número cada vez menor de antibióticos utilizables disponibles, la fosfomicina ofrece una posible opción de tratamiento de infecciones para pacientes críticamente enfermos y cada vez hay más evidencia de las ventajas de combinarlo con otros antibióticos. Los cambios en la farmacocinética de la fosfomicina pueden afectar significativamente las concentraciones en el sitio de la infección y, por tanto, es posible que se requieran modificaciones de la dosis para garantizar que se logren exposiciones óptimas. Los estudios farmacocinéticos pueden proporcionar regímenes de dosificación basados en evidencia y maximizar la eficacia de los antibióticos contra un patógeno³⁸⁷.

La determinación de fosfomicina se ha realizado en tejidos y fluidos corporales humanos, como la orina, utilizando diversas técnicas, incluidas técnicas microbiológicas³⁸⁸, cromatografía de gases^{389,390}, espectrofotometría de inyección de flujo³⁹¹, cromatografía de intercambio iónico³⁹², cromatografía líquida de alto rendimiento asociada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS)³⁹³⁻³⁹⁵ y cromatografía líquida de interacción hidrófila (HILIC) acoplada con espectrometría de masas^{396,397}.

El rendimiento de estas técnicas puede ser alto, pudiéndose recuperar altas concentraciones de fosfomicina del plasma humano, según la dosis, el método de

administración y la tasa de eliminación del fármaco. Sin embargo, varios métodos de medición se ven afectados por la sensibilidad limitada de las técnicas analíticas y estos incluyen métodos basados en LC-MS/MS, que es la técnica más sensible^{394,397,398}. Algunos métodos de LC-MS/MS, ha mostrado más recientemente una mayor sensibilidad y tiempos de análisis más cortos^{394,396-398}. Sin embargo, se basaron en un enfoque HILIC en lugar del enfoque cromatográfico estándar de fase reversa, que generalmente ofrece un espectro de aplicabilidad de fármacos más amplio³⁹⁹.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2 Hipótesis

2.1 Piperacilina/tazobactam

- Piperacilina-tazobactam muestra variabilidad individual significativa en las concentraciones plasmáticas en pacientes no críticos con bacteriemia por BGN.
- Puede establecerse un modelo farmacocinético explicativo y predictor de las concentraciones plasmáticas y conocer las variables que influyen en las mismas.
- Puede identificarse la dosificación con mejor probabilidad de alcanzar el objetivo PK/PD predictor de eficacia en pacientes con bacteriemia por Enterobacteriaceae.

2.2 Fosfomicina

- Fosfomicina disódica parenteral muestra variabilidad individual significativa en las concentraciones plasmáticas en pacientes con bacteriemia de origen urinario por *E. coli*.
- Pueden establecerse un modelo farmacocinético explicativo y predictor de las concentraciones plasmáticas y conocer las variables que influyen en las mismas.

- Puede evaluarse la posibilidad de alcanzar los objetivos PK/PD propuestos predictor de eficacia con la dosificación de 4 g/6h IV y con dosificaciones alternativas en pacientes con bacteriemia de origen urinario por *E. coli*.
- Los puntos de corte de sensibilidad de EUCAST para el tratamiento con fosfomicina intravenosa de *E. coli*, no alcanzan la exposición necesaria para prevenir la aparición de mutantes resistentes.

3 Objetivos

1. Estudiar y analizar la variabilidad de niveles de piperacilina-tazobactam en pacientes con bacteriemia por Enterobacteriaceae.
2. Desarrollar un modelo explicativo y predictor de las concentraciones plasmáticas de este fármaco y las variables que influyen en las mismas.
3. Estimar la probabilidad de alcanzar el parámetro PK-PD predictor de eficacia con distintas dosificaciones.
4. Estudiar y analizar la variabilidad de niveles de fosfomicina disódica parenteral en pacientes con bacteriemia de origen urinario por *E. coli*.
5. Desarrollar un modelo explicativo y predictores de las concentraciones plasmáticas de este fármaco y las variables que influyen en las mismas.
6. Estimar la probabilidad de alcanzar los parámetros PK-PD predictores de eficacia propuestos, con distintas dosificaciones.
7. Estudiar la relación entre parámetros PK-PD de fosfomicina y la selección/desarrollo de cepas de *E. coli* resistente.

MÉTODOS

4 Métodos

4.1 Piperacilina-tazobactam

4.1.1 Diseño del estudio y pacientes

Se trata de un estudio observacional y prospectivo que se llevó a cabo en el Hospital Universitario Virgen Macarena (Sevilla, España) entre octubre de 2012 y febrero de 2015 y que incluyó a pacientes adultos (edad >17 años) con infección bacteriémica (IB) causada por enterobacterias que recibieron monoterapia inicial con piperacilina-tazobactam. Los pacientes candidatos se identificaron en primer lugar, a partir de informes diarios de hemocultivos del laboratorio de microbiología y se incluyeron sólo si la primera dosis de piperacilina-tazobactam se administró en las primeras 12 h después de la recolección de los hemocultivos, la duración del tratamiento fue de al menos 48 h y el paciente no fue admitido en la unidad de cuidados intensivos. Por otro lado, se excluyeron los pacientes con cualquiera de los siguientes criterios: bacteriemia transitoria, bacteriemia polimicrobiana, pacientes no hospitalizados, pacientes con orden de no reanimación y pacientes neutropénicos (recuento absoluto de neutrófilos <500/mm³). Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de todos los participantes y el estudio tuvo la aprobación del Comité de Ética del Hospital Universitario Virgen Macarena con el número de referencia 1.578.

Las variables que se recogieron fueron los datos demográficos (incluyendo edad, sexo, altura y peso del paciente), modo de adquisición de la infección (nosocomial o adquirida en la comunidad), fuente de IB según criterios clínicos y microbiológicos, concentraciones séricas de creatinina, eventos adversos potencialmente relacionados con la terapia antimicrobiana. Además, se registraron los pacientes con tratamiento y la mortalidad a los 30 días. La

recopilación de las concentraciones de creatinina sérica fue el estándar de atención y el aclaramiento de creatinina se calculó diariamente utilizando la ecuación de Cockcroft-Gault⁴⁰⁰. Por otro lado, la tasa de filtración glomerular (TFG) se estimó utilizando la ecuación de la *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* (CKD-EPI)⁴⁰¹ y los pacientes se clasificaron de acuerdo con las diferentes categorías de TFG utilizadas para clasificar la enfermedad renal crónica de la *Kidney Disease: Improving Global Outcomes* (KDIGO)⁴⁰². Por otro lado, los aislados de los hemocultivos se identificaron mediante MALDI-TOF y las pruebas de sensibilidad a piperacilina-tazobactam se realizaron mediante el método de microdilución en caldo, siguiendo la metodología del EUCAST. A la hora de interpretar la sensibilidad, se utilizaron los puntos de corte EUCAST para piperacilina-tazobactam⁴⁰³.

4.1.2 Terapia antimicrobiana

Como las recomendaciones de dosificación locales cambiaron durante el período de estudio, los pacientes recibieron dos regímenes diferentes de piperacilina-tazobactam: (a) 4/0,5 g en infusión de 4 h cada 8 h, y (b) primera dosis 4/0,5 g en infusión de 30 min seguido de 4/0,5 g en infusión de 4 h comenzando inmediatamente después de la primera dosis y luego 4/0,5 g en infusión de 4 h cada 8 h, basándonos en Roberts *et al*⁴⁰⁴. con algunas modificaciones. Los pacientes con aclaramiento de creatinina <20 mL/min/1,73 m² (clasificados como aclaramiento renal gravemente disminuido o insuficiencia renal) recibieron 4/0,5 g cada 12 h, según las recomendaciones del resumen de las características del producto (SPC)⁵⁴.

4.1.3 Determinación de la concentración plasmática de piperacilina

Para realizar las determinaciones de las concentraciones plasmáticas de piperacilina, se tomaron muestras de sangre en el estado estacionario y las

extracciones de sangre se realizaron a las 1, 4, 6 y 8 h después del comienzo de la infusión de piperacilina, se recogieron en tubos con EDTA, se centrifugaron y se almacenaron a -80 °C hasta su análisis. Para analizar las concentraciones séricas de piperacilina se utilizó un método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) descrito por McWhinney *et al*³⁴³. La validación del método analítico se realizó de acuerdo con la guía de validación de métodos bioanalíticos de la FDA⁴⁰⁵. El rango lineal de cuantificación fue de 1 a 500 mg/L, las desviaciones estándar relativas y los errores relativos de los ensayos inter e intraensayo fueron inferiores al 8,2 % y el límite inferior de cuantificación fue de 1 mg/L.

4.1.4 Análisis farmacocinético

Para la realización del ajuste del modelo farmacocinético poblacional se usó el algoritmo *nonparametric adaptative grid* (NPAG) integrado en el paquete de software Pmetrics²⁹⁰. Para el análisis farmacocinético de la población, se ajustaron modelos lineales de uno y dos compartimentos a los datos de concentración plasmática de piperacilina en función del tiempo, realizándose una evaluación secuencial de parámetros clínicos biológicamente plausibles para la construcción de los modelos de covariables. La inclusión directa de covariables explicativas se basó en los criterios de selección del modelo y la correlación significativa con uno de los parámetros farmacocinéticos. Para ello, se exploraron como covariables para cada modelo estructural el aclaramiento de creatinina, el peso, la edad, el sexo y el índice de masa corporal (IMC). Los datos se ponderaron por la inversa de la varianza estimada del ensayo, que se determinó a partir de muestras de control de calidad utilizadas para estimar la varianza del ensayo interdías que viene dada por $DE \text{ (mg/L)} = \gamma \times (0,4388 + 0,027 \times C)$, donde C es la concentración de piperacilina y gamma es una estimación del ruido del proceso expresada como múltiplos de la varianza del ensayo²⁹⁰. La bondad de ajuste de cada modelo a los datos se evaluó utilizando una combinación de lo siguiente: (i) valores de probabilidad logarítmica; (ii) coeficientes de determinación (R^2) de la

regresión lineal de los valores observados frente a los predichos antes y después del paso bayesiano; (iii) minimización del sesgo y la imprecisión de las gráficas observadas versus predichas, (iv) errores de distribución de predicción normalizados (NPDE); (v) la distribución de los errores residuales ponderados; y (vi) un gráfico de verificación predictiva visual (VPC).

4.1.5 Simulaciones y probabilidad de consecución del objetivo

Se realizó una simulación Monte Carlo de 2000 pacientes utilizando un método de muestreo semiparamétrico disponible en Pmetrics^{290,406}. El modelo final constaba de 13 puntos de apoyo, cada punto era un conjunto de valores para cada parámetro en el modelo y las probabilidades de esos valores para predecir las concentraciones de piperacilina observadas en la población. Posteriormente, cada punto de apoyo sirvió como media para una distribución normal multivariada, ponderada por la probabilidad del punto, con covarianza igual a la matriz de covarianza del modelo completo, dividida por el número de puntos, es decir, 13. Se utilizó un muestreo semiparamétrico de esta distribución normal multimodal, multivariada y ponderada para generar una población simulada de 2.000 pacientes, cada uno con su propio conjunto de parámetros farmacocinéticos. Las dosificaciones de piperacilina, incluidas las infusiones cortas y las prolongadas con la dosis de carga, se simularon de la siguiente manera: Dosificación 1, 4/0,5 g (infusión de 0,5 h) cada 8 h; Dosificación 2, 4/0,5 g (infusión de 4 h) cada 8 h; Dosificación 3, primera dosis 4/0,5 g (infusión de 0,5 h) seguida de 4/0,5 g (infusión de 4 h) comenzando inmediatamente después de la primera dosis y luego 4/0,5 g (infusión de 4 h) cada 8 h. Por otro lado, se simularon las dosis ajustadas de piperacilina en pacientes con aclaramiento renal gravemente disminuido (15–29 mL/min/1,73 m²) e insuficiencia renal (<15 mL/min/1,73 m²) con el objetivo de optimizar la farmacodinamia de la piperacilina en estos subgrupos de pacientes. Se simularon las siguientes dosificaciones de piperacilina, que incluían infusión estándar corta (0,5 h) y

prolongada (4 h): Dosificación 1, 4/0,5 g (infusión de 0,5 h) cada 12 h; Dosificación 2, 4/0,5 g (infusión de 4 h) cada 12 h; Dosificación 3, primera dosis [4/0,5 g (infusión de 0,5 h) + 4/0,5 g (infusión de 4 h)] seguida de 4 g (infusión de 4 h) cada 12 h. Para el análisis de probabilidad para alcanzar el objetivo farmacodinámico (PTA), se evaluaron las CMI que oscilaban entre 0,0625 y 256 mg/L en diluciones al doble, utilizando puntos de corte de sensibilidad EUCAST (susceptible ≤ 8 mg/L y resistente > 16 mg/L) y un análisis farmacodinámico. El parámetro predictor de eficacia utilizado fue $50\% fT > CMI$ del intervalo de dosificación¹⁷⁹ y la fracción libre de piperacilina se fijó en 0,7²⁷⁷, considerándose óptimo un PTA $\geq 90\%$.

4.1.6 Análisis toxicodinámico

Para el análisis toxicodinámico se analizaron a lo largo de un intervalo de 24 h (día 2), la probabilidad de alcanzar umbrales relacionados con neurotoxicidad (C_{\min} de piperacilina en estado estacionario superiores a 361,4 mg/L o 157,2 mg/L) y nefrotoxicidad (C_{\min} de piperacilina en estado estable por encima de 452,65 mg/L), respectivamente^{407,408}. Para estos análisis, se utilizó la concentración de piperacilina libre.

4.2 Fosfomicina

4.2.1 Diseño del estudio y población de pacientes.

Los pacientes con infección bacteriémica de origen urinario (IBTU) debido a *E. coli* resistente a múltiples fármacos fueron incluidos en el ensayo clínico FOREST (NCT02142751)⁴⁰⁹. En este estudio participaron 16 pacientes hospitalizados en el Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla entre julio de 2013 y octubre de 2016⁴¹⁰. El estudio fue aprobado por el comité de ética regional y se obtuvo el consentimiento informado firmado de todos los pacientes. Se registraron los

datos demográficos (incluidos edad, sexo, altura y peso), el foco de la infección, la función renal inicial, los tratamientos previos y la CMI de fosfomicina de los aislados. Por otro lado, las concentraciones de creatinina sérica se recogieron como un componente del tratamiento estándar y el aclaramiento de creatinina (ClCr) se calculó diariamente utilizando la ecuación de Cockcroft-Gault⁴⁰⁰. Las dosis de fosfomicina administrada fue de 4 g cada 6 horas en infusión de 1 hora según el protocolo del ensayo clínico, salvo los pacientes con insuficiencia renal (ClCr 20–40 mL/min) que recibieron una dosis de fosfomicina de 4 g cada 12 horas en infusión de 1 hora⁴¹⁰.

4.2.2 Farmacocinética

Las muestras de sangre se recogieron 48 horas después de la primera administración del fármaco a 1, 3, 5 y 6 horas después del inicio de la administración de fosfomicina para pacientes con un ClCr > 40 mL/min y a 1, 6, 8 y 12 horas en pacientes con un ClCr entre 20 y 40 mL/min.

Las concentraciones plasmáticas de fosfomicina se midieron mediante cromatografía líquida asociada a un espectrómetro de masas en tándem siguiendo el método descrito previamente por Li *et al.*³⁹³ La validación del método bioanalítico se realizó de acuerdo con las directrices de la guía de la FDA para validación de métodos bioanalíticos⁴¹¹. El coeficiente de variación interdía del método para fosfomicina en suero fue ≤10%, con un rango de exactitud del 91,5% al 109,9%. Por otro lado, el límite inferior de cuantificación del método (LLOQ) para el plasma fue de 1 mg/L, con un coeficiente de variación <15 % y un rango de exactitud del 88,5 % al 112,8 %. El método fue lineal en el rango de trabajo (1–1000 mg/L).

4.2.3 Modelo matemático

Para la construcción del modelo farmacocinético poblacional se usó el algoritmo NPAG (nonparametric adaptive grid), integrado en el paquete de software Pmetrics²⁹⁰. Para el análisis farmacocinético poblacional, se ajustaron los modelos lineales de uno y dos compartimentos a los datos de concentración plasmática de fosfomicina de los pacientes de nuestro estudio y la construcción de modelos de covariables se realizó mediante una evaluación secuencial de parámetros clínicos biológicamente plausibles. La inclusión directa se basó en los criterios de selección del modelo antes mencionado y en una correlación significativa con uno de los parámetros farmacocinéticos. Así, se exploraron el ClCr, peso, edad, sexo e índice de masa corporal como covariables para cada modelo estructural. Los datos se ponderaron por la inversa de la varianza estimada del ensayo y esto se determinó a partir de las muestras de control de calidad utilizadas para estimar la varianza del ensayo interdía, obteniéndose mediante $DE \text{ (mg/L)} = \gamma \times (0,059 + 0,0118 \times C)$, donde C es la concentración de fosfomicina y gamma representa una estimación del ruido del proceso y se expresa como múltiplos de la varianza del ensayo²⁹⁰.

El ajuste de cada modelo a los datos se evaluó utilizando una combinación de lo siguiente: el valor logarítmico de probabilidad, el criterio de información de Akaike, los coeficientes de determinación (r^2) de la regresión lineal de lo observado-predicho con los gráficos antes y después del bayesiano, la minimización del sesgo y las imprecisiones de los gráficos observados-predichos, los errores de distribución de predicción normalizados (NPDE), la distribución de los errores residuales ponderados y la verificación predictiva visual (VPC) parcela.

4.2.4 Simulaciones y probabilidad de consecución del objetivo.

Las simulaciones de Monte Carlo se realizaron utilizando datos de 2000 pacientes utilizando el algoritmo para simulaciones de Monte Carlo incluido en Pmetrics que utilizó un método de muestreo semiparamétrico^{290,406}. El modelo final constaba de 11 puntos de apoyo y cada punto era un conjunto de valores de parámetros del modelo y la probabilidad de que estos valores predigan las concentraciones de fosfomicina observadas en la población. A continuación, cada punto de apoyo sirvió como media para una distribución normal multivariante, ponderada por la probabilidad del punto, con una covarianza igual a la matriz de la covarianza del modelo completo, dividida por el número de puntos, es decir, 11. El muestreo semiparamétrico de esta distribución normal multimodal, multivariante y ponderada se utilizó para generar una nueva población de 2000 conjuntos de parámetros. Para el VPC, se simularon varios regímenes de dosificación: fosfomicina de 4 g cada 6 horas (dosis utilizada en el ensayo clínico FOREST para pacientes con $\text{ClCr} > 40 \text{ ml/min}$) y 4 g cada 12 horas para pacientes con insuficiencia renal ($\text{ClCr} 20\text{-}40 \text{ ml/min}$). Para el análisis de probabilidad de consecución del objetivo farmacodinámico (PTA), se utilizaron pautas de fosfomicina de 4 g cada 6 horas y 8 g cada 8 horas (dosis de prevención de mutaciones observadas en un modelo de infección de hollow fiber y también la dosis máxima aprobada por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios para fosfomicina parenteral)^{110,138,410}. El PTA se evaluó en un rango de CMI entre 0,125 y 1024 mg/L en diluciones dobles. Los índices farmacodinámicos previstos para la eficacia se obtuvieron de Lepak *et al.*²⁶² para *E. coli*, es decir, $f\text{AUC}_{0-24}/\text{CMI}$ de 19,3 para el efecto estático y $f\text{AUC}_{0-24}/\text{CMI}$ de 87,5 para disminuir la carga bacteriana en 1 log). Los índices farmacodinámicos destinados a la supresión de la resistencia (es decir, $f\text{AUC}_{0-24}/\text{CMI}$ de 3136) se obtuvieron de un trabajo publicando anteriormente por nuestro grupo¹³⁸, considerándose la

unión a proteínas como despreciable para la fosfomicina e ignorándose en estos cálculos⁴¹².

RESULTADOS

5 Resultados

5.1 Piperacilina-tazobactam

5.1.1 Pacientes

Se incluyeron un total de 27 pacientes no críticos tratados con piperacilina-tazobactam con bacteriemias por Enterobacteriaceae. En la tabla 4 se presentan las variables demográficas, epidemiológicas, clínicas y microbiológicas y los resultados de los episodios. De los 27 pacientes, 3 pacientes tuvieron un $\text{ClCr} < 20$ ml/min/1,73 m² y recibieron 4/0,5 g cada 12 h. En total, se recogieron 102 muestras de plasma en estado estacionario durante un único intervalo de dosificación y ninguna de las determinaciones estuvo por debajo del límite de cuantificación. El origen más frecuente de bacteriemia fue el tracto urinario (66,7%), siendo *E. coli* y *K. pneumonia* los microorganismos aislados con mayor frecuencia. La CMI de piperacilina-tazobactam fue ≤ 8 mg/L en 24 pacientes y un paciente murió (3,7%), no observándose eventos adversos relacionados con la administración de piperacilina-tazobactam.

Tabla 4. Características demográficas y clínicas basales de 27 pacientes con bacteriemias por enterobacterias, tratados con piperacilina-tazobactam. Los datos son número de pacientes (porcentaje), a menos que se indique lo contrario. ClCr, aclaramiento de creatinina, Evaluación secuencial de insuficiencia orgánica (SOFA), BLEE, betalactamasade espectro extendido.

Variable	Nº de casos (%) A menos que se indique lo contrario
Género masculino	17 (62,96)
Edad en años, mediana (rango)	76,5 (48–86)
Índice de masa corporal (IMC) ≥ 25	19 (79,1)

ClCr en ml/min, mediana (rango)	50,7 (45,3–255,3)
Puntuación de Charlson, mediana (rango)	2,5 (0–8)
Comorbilidades:	
Diabetes mellitus	13 (48,1)
Enfermedad pulmonar crónica	4 (14,8)
Cáncer	11 (40,7)
Cirrosis hepática	1 (3,7)
Terapia inmunosupresora	1 (3,7)
Fuente de bacteriemia	
Tracto urinario	18 (66,67)
Tracto biliar	7 (25,9)
Otra infección intraabdominal	2 (7,4)
Bacteriemia adquirida en la comunidad	11 (40,7)
Puntuación de Pitt, mediana (rango)	2 (0-5)
Puntuación SOFA en el momento del diagnóstico, mediana (rango)	3 (0-8)
Microorganismo:	
<i>E. coli</i>	15 (55,5)
<i>K. oxitoca</i>	6 (22,2)
<i>K. pneumoniae</i>	3 (11,1)
<i>E. aerogenes</i>	2 (7,4)

<i>E. cloacae</i>	1 (3,7)
Productor de BLEE	3 (11,1)
Horas desde el hemocultivo hasta la primera dosis de piperacilina-tazobactam, mediana (rango)	1,6 (0-11)
CMI de piperacilina-tazobactam:	25 (92,5)
1 mg/L	3 (12)
2 mg/L	13 (52)
4 mg/L	5 (20) 1*
8 mg/L	3 (12) 2**
16 mg/L	0
>16 mg/L	1 (3,7)
Resultado:	
Falta de mejora (día 2)	5 (18,5)
Fracaso clínico (día 14)	4 (14,8)
Mortalidad (día 30)	1 (3,7)

*2 eran productores de BLEE. **1 era productor de BLEE.

5.1.2 Modelo farmacocinético

Los datos de concentración-tiempo de piperacilina se describieron mejor mediante el modelo lineal de un compartimento, y no se observó una reducción significativa en el valor de probabilidad logarítmica en comparación con los

modelos de dos o tres compartimentos. La inclusión del ClCr como covariable describió mejor el aclaramiento del fármaco (CL) y redujo el valor de probabilidad logarítmica en 152 puntos. Ninguna otra covariable mejoró el modelo final. La ecuación diferencial ordinaria para el modelo es la siguiente:

$$dC/dt = R(1) - ((\text{Intersección} + \text{pendiente} \times \text{ClCr})/V_c) \times X_1$$

X_1 son las cantidades de piperacilina (en miligramos) en el compartimento central y periférico, respectivamente. La intersección y la pendiente son los coeficientes de una relación lineal entre el aclaramiento de piperacilina y el ClCr. Las estimaciones de los parámetros finales del modelo poblacional se presentan en la Tabla 5, y las concentraciones de piperacilina observadas versus predichas individualmente aparecen en la Figura 12.

Tabla 5. Estimaciones finales de los parámetros farmacocinéticos poblacionales de 27 pacientes con infecciones del torrente sanguíneo debidas a enterobacterias tratados con piperacilina-tazobactam.

Parámetro	Media	DE	Mediana
Aclaramiento del fármaco, CL (L/h) CL = Intersección + pendiente × aclaramiento de creatinina (L/h)			
Intersección (L/h)*	4.556	5.035	3.503
Pendiente	1.353	1.032	1.39
Volumen de distribución, Vc(L)	30,68	23.349	20.039

*La intersección y la pendiente son los coeficientes de una relación lineal entre el aclaramiento de piperacilina y el ClCr.

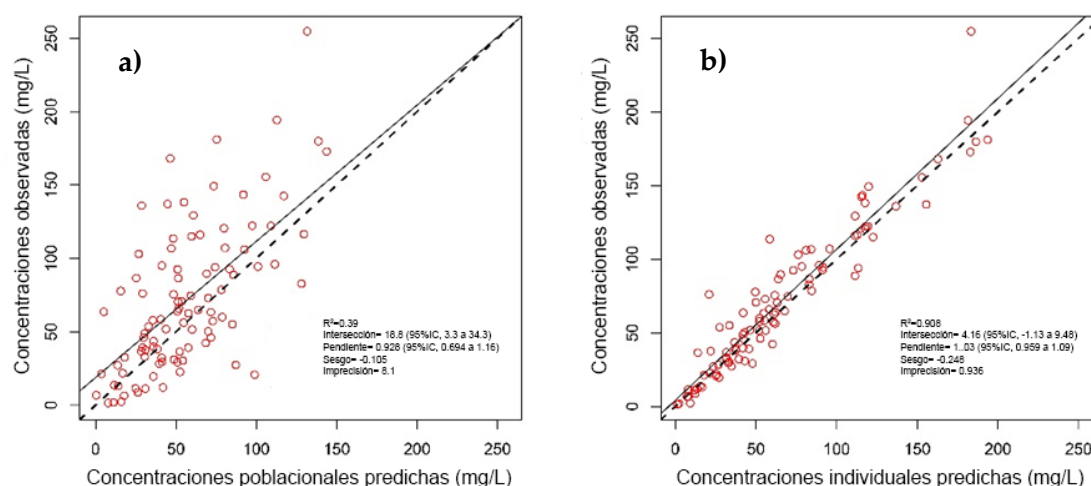


Figura 12. Gráficos de diagnóstico del modelo de covariables farmacocinéticas poblacionales finales. (a) Concentraciones de piperacilina observadas versus concentración predichas en la población ($R^2=0,39$); (b) Concentraciones observadas de piperacilina versus concentraciones individuales predichas ($R^2=0,908$). La línea continua representa la línea de regresión y la línea discontinua es la línea de identidad.

Los resultados del análisis del error de predicción de distribución normalizada (NPDE) (gráfico QQ e histograma) se resumen gráficamente en la figura 13. Las distribuciones de error residual ponderado se muestran en la figura 14. Los NPDE ($p=0,069$ en la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk), las distribuciones de error residual ponderado y el gráfico de verificación predictiva visual (VPC) (figura 13) sugieren que el ajuste del modelo a los datos fue aceptable.

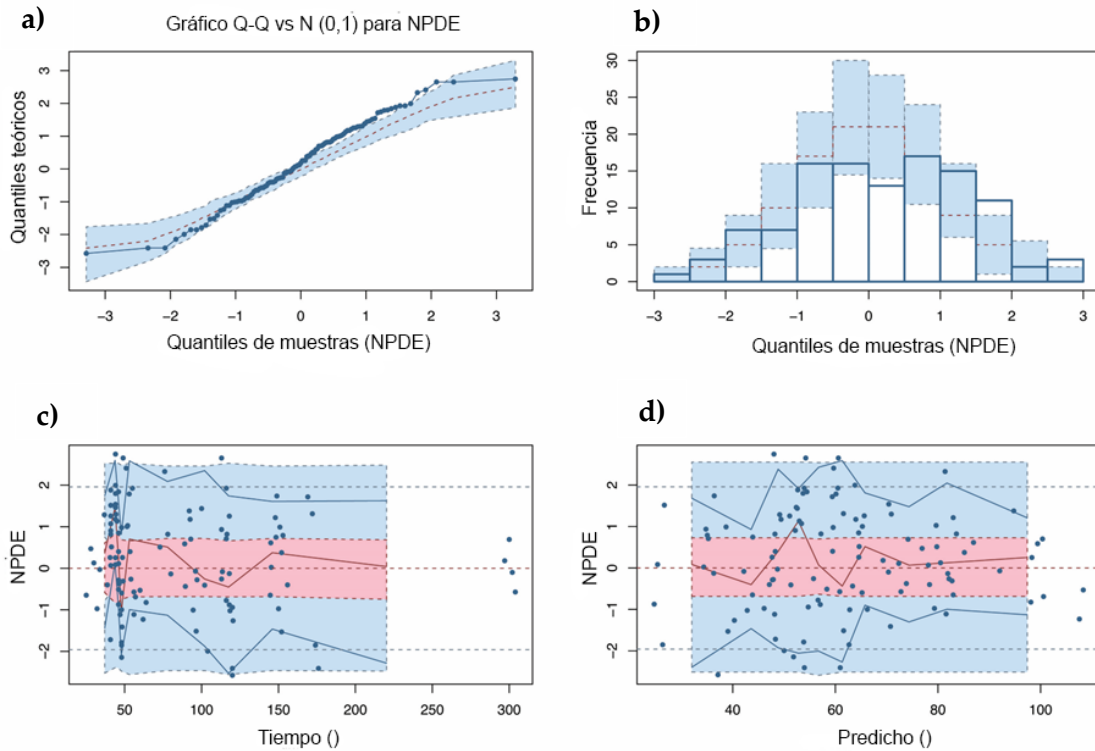


Figura 13. Error previsto de distribución normalizada (NPDE) versus concentración de piperacilina prevista (a) y tiempo (b). El NPDE debe tener una distribución normal estándar con una media de 0 y una desviación estándar de 1, es decir, $\sim N(0,1)$. La distribución aproximadamente normal de los puntos NPDE, como lo indica el gráfico cuantil-cuantil (QQ) (c) y el histograma NPDE (d), centrado en 0, indica que las predicciones del modelo poblacional están mínimamente sesgadas sistemáticamente. Las líneas discontinuas horizontales en los paneles superior izquierdo y derecho están en -2 , 0 (la media) y $+2$ desviaciones estándar para la distribución normal ideal, y el error circundante del 95 % se muestra con cuadros grises. Las líneas horizontales sólidas son las distribuciones reales del NPDE. Las columnas del histograma en el panel inferior derecho comparan las frecuencias reales de NPDE con la distribución normal ideal (línea discontinua).

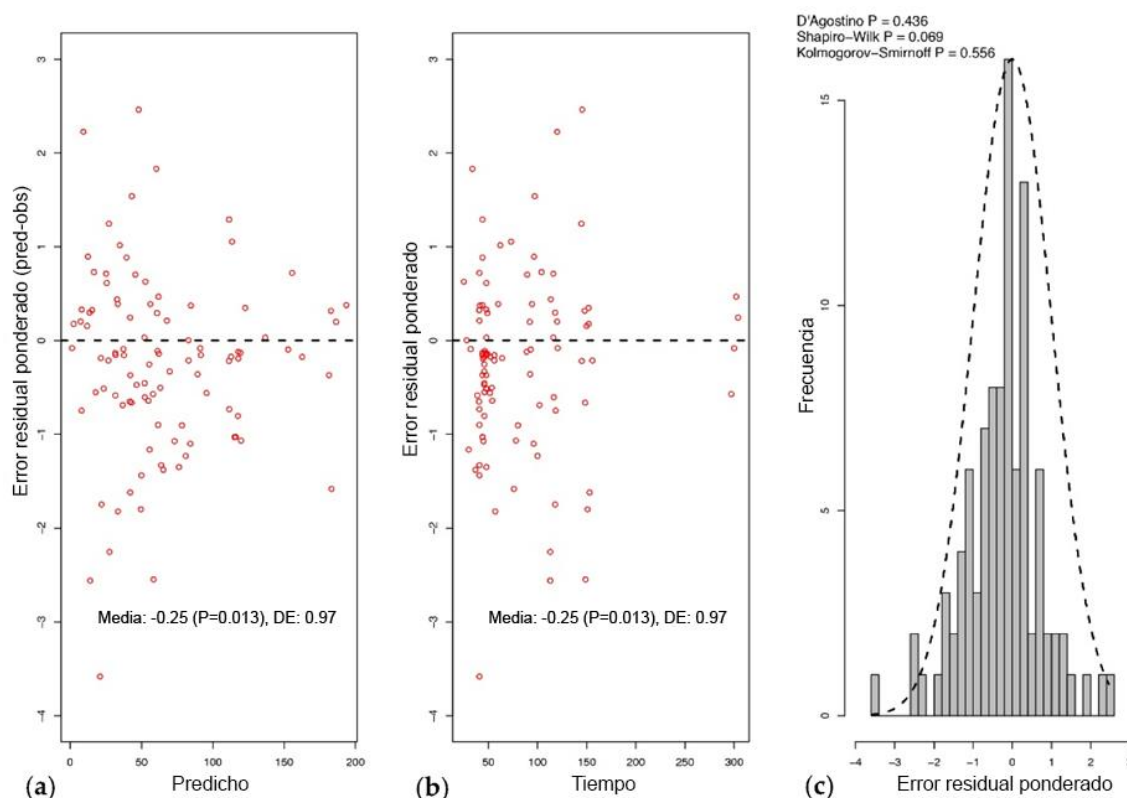


Figura 14. Gráfico de error residual ponderado (población predicha versus concentraciones observadas, mg/L) versus predicciones de población (a) y tiempo de observación (b) y distribución de frecuencia de errores residuales ponderados (c).

5.1.3 Probabilidad de logro del objetivo

En la Tabla 6 se muestran las simulaciones de Monte Carlo de distintos regímenes de piperacilina y las probabilidades de logro del objetivo (PTA) para $>50\% fT > CMI$. Los resultados mostraron que el PTA más bajo ($fT > CMI$ durante el 50% del intervalo de dosificación) se asoció con un CICr más alto. Se alcanzó un PTA $>90\%$ dentro del punto de corte actual (es decir, CMI de piperacilina ≤ 8 mg/l) con dosis de piperacilina de 4/0,5 g (infusión de 4 h) cada 8 h o primera dosis de carga (4/0,5 g en infusión de 0.5 h seguida de 4/0.5 g en infusión de 4 h) y posteriormente una dosis 4/0,5 g en infusión de 4 h cada 8 h. En este análisis, no se observó ningún beneficio significativo de una dosis de carga. Una infusión

prolongada, sola o administrada con una dosis de carga, mostró un PTA ligeramente mejor que la infusión corta de piperacilina.

Tabla 6. Probabilidad de consecución del objetivo (PTA) utilizando un $fT > CMI_{0-24h} = 50\%$ como objetivo farmacodinámico después de la simulación en pacientes con insuficiencia renal normal o grave según la guía de práctica clínica KDIGO para lesión renal aguda: Esquema de dosificación 1: 4 g (infusión de 0,5 h) cada 8 h; Esquema de dosificación 2: 4 g (infusión de 4 h) cada 8 h; Esquema de dosificación 3: primera dosis [4 g (infusión de 0,5 h) + 4 g (infusión de 4 h)] seguida de 4 g (infusión de 4 h) cada 8 h. Esquema de dosificación 4: 4 g (infusión de 0,5 h) cada 12 h; Esquema de dosificación 5: 4 g (infusión de 4 h) cada 12 h; Esquema de dosificación 6: primera dosis [4 g (infusión de 0,5 h) + 4 g (infusión de 4 h)] seguida de 4 g (infusión de 4 h) cada 12 h. Los cuadros verde, amarillo y rojo indican piperacilina $PTA \geq 90\%$, $<90- \geq 50\%$ y $<50\%$, respectivamente.

Target $fT_{MIC}=50\%$	Normal (90-129 mL/min/1.73m ²)			Gravemente disminuida (15-29 mL/min/1.73m ²) Fallo renal (<15 mL/min/1.73m ²)		
	Esquema de dosificación			Esquema de dosificación		
	1	2	3	4	5	6
CMI (mg/L)						
0.06	99.8	100	100	99.4	99.9	100
0.125	99.2	100	100	99.2	99.9	100
0.25	99	100	100	99.2	99.9	100
0.5	98.8	100	100	99.2	99.8	100
1	98.4	100	100	98.9	99.7	100
2	97.4	100	100	98.8	99.6	100
4	93.4	100	100	98.5	99.5	99.9
8	76.4	100	100	92.9	96.1	99.7
EUCAST (S) 16	56.8	95.8	94.6	77.3	90.7	94.3
EUCAST (I) 32 (EUCAST R)	14.2	28	45.8	38.7	61.1	81.3
64	1.2	2	8.4	6.9	11.7	31.8
128	0	0	0.2	1.2	1.2	4.6
256	0	0	0	0.2	0.2	0.7

La Tabla 5 también muestra los PTA para $>50\%$ $fT > CMI$ con diferentes ajustes del régimen de dosificación y niveles de aclaramiento de creatinina. Con un ajuste de dosis de 4/0,5 g (infusión de 0,5 h) cada 12 h, los pacientes con función renal gravemente reducida o fallo renal alcanzaron los objetivos óptimos de $fT > CMI > 50\%$ durante el intervalo de dosificación dentro del rango de sensibilidad. Una administración de infusión prolongada (4 h) mejoró el PTA dentro de la categoría intermedia en comparación con una infusión corta y se encontraron resultados similares con la adición de una dosis de carga.

5.1.4 Neurotoxicidad y nefrotoxicidad de la piperacilina

A las dosis simuladas de 4/0,5 g (infusión de 4 h) cada 8 h o la primera dosis [4/0,5 g (infusión de 0,5 h) + 4 g (infusión de 4 h)] seguida de 4/0,5 g (infusión de 4 h) cada 8 h en pacientes con función renal normal, no se esperaban eventos de neurotoxicidad o nefrotoxicidad. Con respecto al caso con ajustes de dosis de piperacilina por enfermedad renal, los pacientes simulados no alcanzaron el punto de corte de nefrotoxicidad de $C_{min} > 452,65$ mg/L. Además, en este grupo simulado de pacientes con aclaramiento renal gravemente disminuido o fallo renal, no se predijo ningún evento relacionado con neurotoxicidad en aquellos que recibieron infusiones intravenosas a corto plazo. Sin embargo, las infusiones prolongadas o la adición de una dosis de carga aumentaron ligeramente el riesgo de neurotoxicidad esperada al 0,2 % y 0,3 %, respectivamente (objetivo de $C_{min} > 157,2$ mg/L).

5.2 Fosfomicina

5.2.1 Pacientes

Las características demográficas y clínicas de los pacientes se muestran en la Tabla 7. Todos los pacientes recibieron una dosis de 4 g de fosfomicina cada 6 horas en infusión de 1 hora, excepto cuatro pacientes con ClCr de 20 a 40 ml/min, que recibieron 4 g cada 12 horas.

Tabla 7. Características basales de 16 pacientes con infección bacteriémica del tracto urinario por *E. coli* multirresistente.

Variable	Nº de casos (porcentaje) excepto que se especifique
Género masculino	9/16 (56.3)
Edad en años, mediana (rango)	68.5 (63-83)
Índice de masa corporal (IMC) ≥ 25	13 (81.25)
ClCr en mL/min, mediana (rango)	70.5 (30.4-98.6)
Índice de McCabe	1 (6.3)
Comorbilidades:	
Diabetes mellitus	9/16 (56.3)
Enfermedad Pulmonar crónica	2/16 (12.5)
Cáncer	2/16 (12.5)
Bacteriemia adquirida en la comunidad	9/16 (56.3)
<i>E. coli</i> productora BLEE	1/16 (6.3)
CMI de fosfomicina:	
0.5 mg/L	1
1 mg/L	8
2 mg/L	2

4 mg/L	1
8 mg/L	2
16 mg/L	2
Resultado	
Respuesta clínica temprana (día 5)	13/14 (92.86)*
Respuesta microbiológica temprana (día 5)	13/14 (92.86)*
Curación microbiológica	13/14 (92.86)*

*ClCr: aclaramiento de creatinina; BLEE: betalactamasa de espectro extendido; CMI, concentración mínima inhibitoria. *Se omitieron dos valores.*

Se recogieron un total de 64 muestras de plasma durante un único intervalo de dosificación en estado estacionario (día 2 o 3 después de iniciar el tratamiento con fosfomicina) de 16 pacientes incluidos, a destacar que ninguna de las determinaciones estuvo por debajo del límite de cuantificación.

5.2.2 Farmacocinética y modelo matemático.

La concentración plasmática máxima media (DE) de fosfomicina ($C_{m\acute{a}x}$) para pacientes en estado estacionario fue de 422,6 mg/L (186,8 mg/L). En la figura 15 se muestra la comparación entre la variabilidad observada en las concentraciones de $C_{m\acute{a}x}$ entre el estudio actual y otros estudios farmacocinéticos de fosfomicina previos.

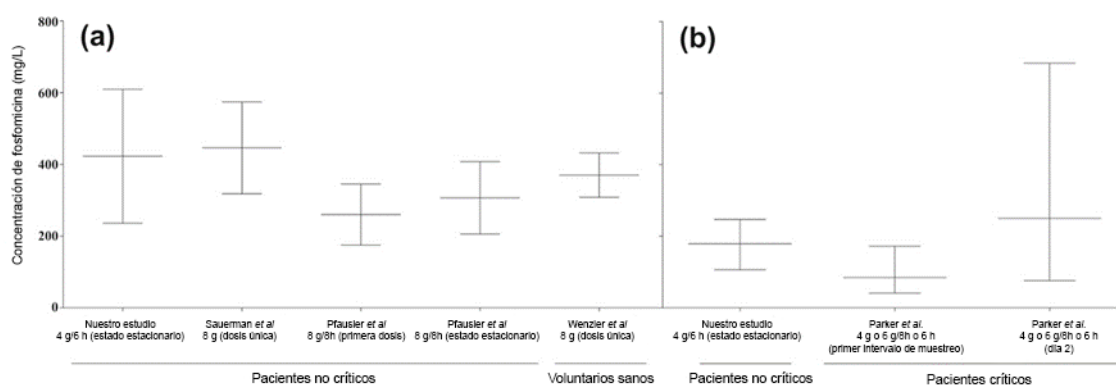


Figura 15. Variabilidad observada en las concentraciones de fosfomicina respecto a otros estudios farmacocinéticos. (A) Concentraciones plasmáticas máximas de fosfomicina media (\pm desviación estándar) ($C_{máx}$) y (B) concentración plasmática mínima de fosfomicina media (\pm rango) ($C_{mín}$).

El área media (DE) bajo la curva ($fAUC$) durante las primeras 24 horas, estimada utilizando las estimaciones posteriores de cada paciente, fue de 5215,08 $mg \cdot h/L$ (1972,27 $mg \cdot h/L$). Los datos de concentración de fosfomicina-tiempo se describieron mejor mediante un modelo lineal de dos compartimentos, que se asoció con una reducción significativa en el valor de probabilidad logarítmica (LLD) en comparación con el modelo de un compartimento (LLD = 132, $p < 0,05$). Un modelo lineal que utiliza $ClCr$ describe mejor la eliminación del fármaco (CL). La inclusión de esta covariable con una intersección redujo el valor de probabilidad logarítmica en 13 puntos ($p < 0,001$). La incorporación del peso, edad, sexo o índice de masa corporal no mejoró el ajuste del modelo. Se ajustó a los datos el siguiente modelo estructural final:

Ecuación 1:

$$dX_1/dt = R(1) - (intersección + pendiente \times CrCl)/V_c \times X_1 - k_{cp} \times X_1 + k_{pc} \times X_2$$

Ecuación 2:

$$dX_2/dt = k_{cp} \times X_1 - k_{pc} \times X_2$$

donde X_1 y X_2 son las cantidades de fosfomicina (en miligramos) en el compartimento central y periférico respectivamente y $R(1)$ es la velocidad de infusión de fosfomicina en el compartimento central. El aclaramiento renal de fosfomicina se representa linealmente con la intersección y la pendiente como parámetros y el ClCr como covariable. K_{cp} y K_{pc} son las constantes de velocidad intercompartimentales de primer orden.

Las estimaciones finales de los parámetros farmacocinéticos de la población se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Estimaciones finales de parámetros farmacocinéticos poblacionales para 16 pacientes con bacteriemia de origen urinario causada por *E. coli* multirresistente tratados con fosfomicina.

Parámetro	Media	DE	% CV	Mediana
Aclaramiento de fármaco, CL (L/h) CL = [intersección + (aclaramiento de creatinina × pendiente)]	2.430	1.643	67.636	2.209
Intersección (L/h)	1.129	1.176	104.101	0.760
Pendiente	0.27	0.157	58.005	0.269
Constantes de tasa de transferencia intercompartimental				
K_{cp} (h⁻¹)	8.275	12.908	155.983	0.140
K_{pc} (h⁻¹)	65.419	29.201	44.636	80.612

DE: desviación estándar; CV, coeficiente de variación; CL, eliminación de fármacos; K_{cp} y K_{pc} son constantes de tasa de transferencia intercompartimental.

Para el modelo final, las gráficas de población e individuos observadas versus predichas del modelo final se muestran en la figura 16. Los resultados de NPDE (gráfico QQ e histograma) se resumen gráficamente en la figura 17 y las distribuciones de error residual ponderado se muestran en la figura 18.

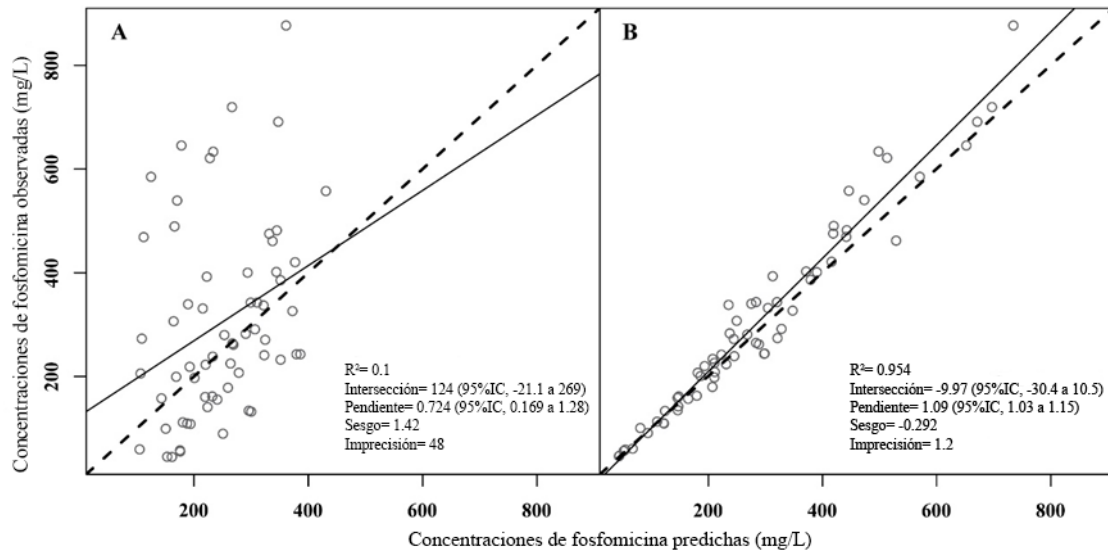


Figura 16. (A) Gráfico de las concentraciones previstas de la población frente a las concentraciones observadas. (B) Gráfico de las concentraciones individuales previstas frente a las concentraciones observadas (donde los datos presentados en los ejes x e y son concentraciones en miligramos por litro). Donde la línea continua representa la línea de regresión y la línea discontinua, la línea de identidad.

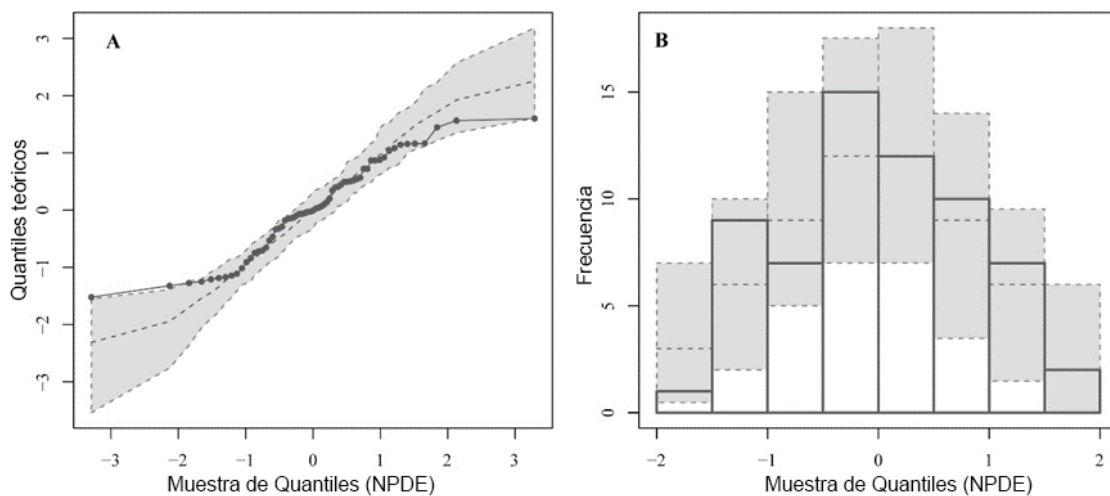


Figura 17. Error previsto de distribución normalizada (NPDE). (A) Gráfico Q-Q de la distribución del NPDE versus la distribución normal teórica $[N(0, 1)]$. (B) Histograma de la distribución del NPDE con la densidad de la distribución gaussiana estándar superpuesta. Los resultados sugieren un ajuste aceptable del modelo final a los datos.

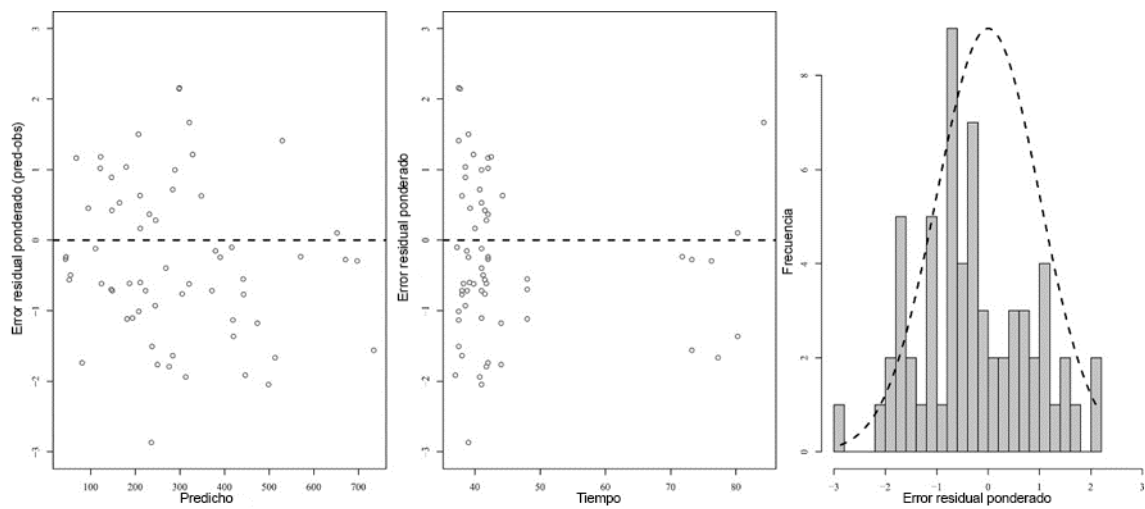


Figura 18. Gráfico del error residual ponderado (concentraciones predichas de la población – concentración observada, mg/L) versus predicciones de la población (izquierda) y tiempo de observación (centro); y distribución de frecuencia de los errores residuales ponderados (derecha).

Ambos NPDE ($p=0,599$ en la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk), las distribuciones de error residual ponderado y los gráficos de la verificación predictiva visual (VPC) (figura 19) sugieren que el ajuste del modelo a los datos fue aceptable.

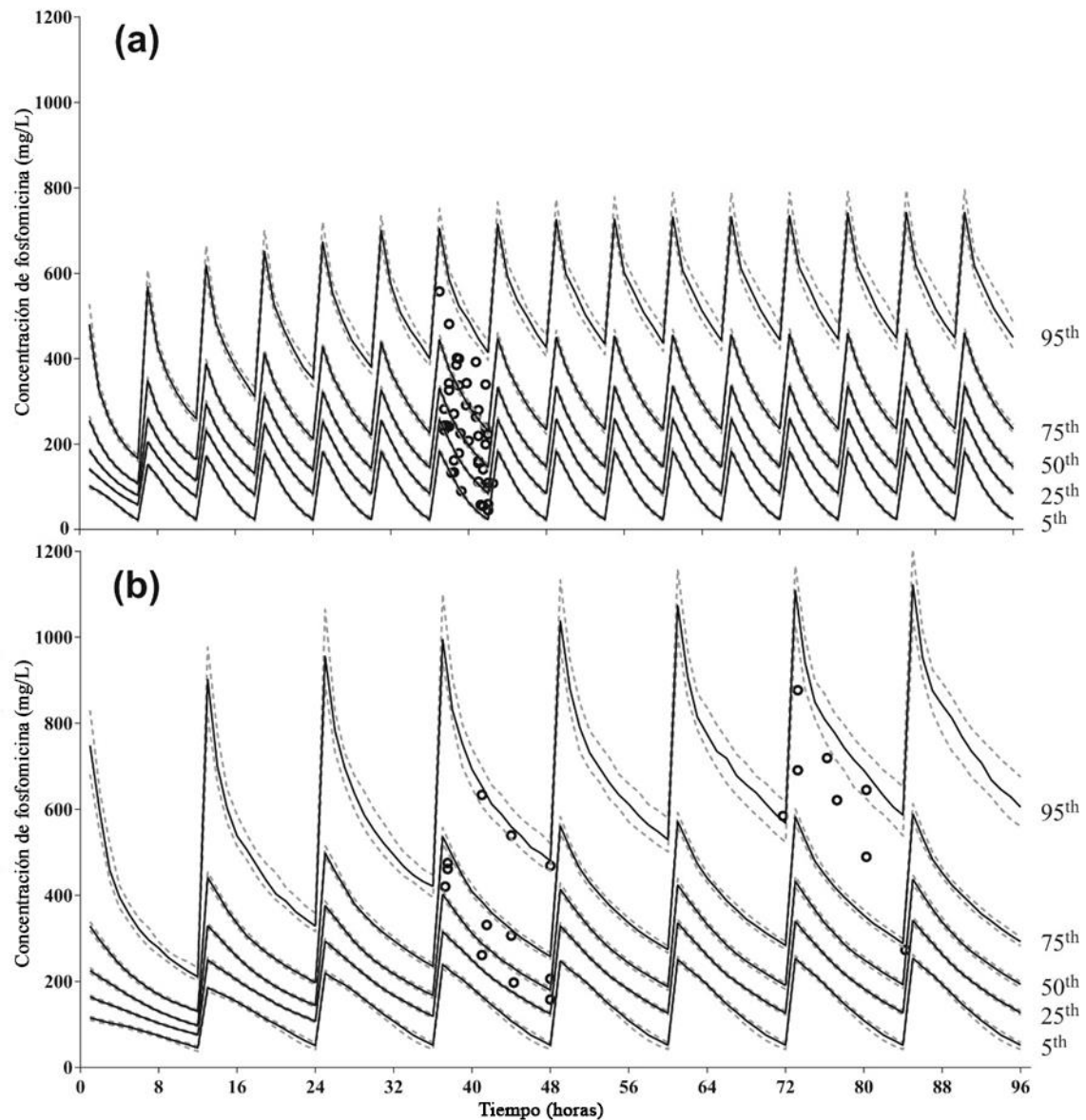


Figura 19. Simulaciones de Monte Carlo ($n=2.000$) y verificación predictiva visual (VPC) de los datos observados (círculos abiertos) sobre los simulados (líneas) después del tratamiento con (A) 4 g cada 6 horas de fosfomicina (infusión de 1 hora, pacientes con $ClCr > 40$ ml/min) o (B) 4 g cada 12 horas de fosfomicina (pacientes en infusión de 1 hora con $ClCr$ 20-40 ml/min). Las líneas negras indican la mediana, los intervalos de predicción del 90 % (percentiles 5 al 95) y rangos intercuartílicos (percentiles 25 al 75). Las líneas discontinuas grises representan el intervalo de confianza del 95%.

Los 11 puntos de apoyo calculados y la matriz de covarianza en la forma triangular inferior se muestran en las tablas 9 y 10, respectivamente.

Tabla 9. Parámetros farmacocinéticos individuales.

Paciente	ClCr (L/h)	Intersección (L/h)	Pendiente (slope)	Vc (L)	K _{cp} (h ⁻¹)	K _{pc} (h ⁻¹)
1	1.51	0.26	0.13	11.28	13.45	96.26
2	3.75	0.27	0.43	11.81	3.96	76.87
3	1.79	0.43	0.14	10.00	0.01	92.95
4	5.90	0.52	0.33	31.24	32.91	42.00
5	4.23	1.43	0.27	10.00	0.01	80.25
6	5.10	1.26	0.06	11.44	19.95	55.79
7	3.88	0.12	0.46	12.52	0.97	80.43
8	4.89	2.24	0.22	17.60	0.14	83.15
9	6.42	0.70	0.40	11.68	0.02	84.96
10	9.17	0.12	0.46	12.84	0.01	81.36
11	4.23	2.24	0.22	17.60	0.14	83.15
12	5.92	3.55	0.30	10.00	0.64	1.01
13	1.75	0.09	0.001	16.18	40.66	50.81
14	6.29	3.55	0.30	10.00	0.64	1.01
15	0.83	1.22	0.11	11.13	18.88	53.04
16	1.94	0.05	0.48	12.48	0.01	83.69

Consultar la tabla 4 y el texto para las definiciones de los parámetros.

Table 10. Matriz de covarianza en forma triangular inferior utilizada en todas las simulaciones.

Parametro	Intersección (L/h)	Pendiente	Vc (L)	K _{cp} (h ⁻¹)	K _{pc} (h ⁻¹)
Intersección (L/h)	1.382				
Pendiente	-0.033	0.025			
Vc (L)	-0.836	0.023	27.452		
K_{cp} (h⁻¹)	-4.156	-1.148	34.544	166.622	
K_{pc} (h⁻¹)	-23.017	0.597	-7.398	-96.484	852.674

5.2.3 Simulaciones de Monte Carlo y probabilidad de consecución del objetivo.

En la figura 20 se muestran los resultados de PTA para 4 g cada 6 horas y 8 g cada 8 horas en infusiones de 60 minutos. Las simulaciones de Monte Carlo y el análisis de PTA mostraron una leve mejoría al aumentar la dosis de fosfomicina (4 g cada 6 horas frente a 8 g cada 8 horas), lográndose un PTA del 93,9 % (4 g cada 6 horas) y del 98,2 % (8 g cada 8 horas) para ambas dosis utilizando un objetivo farmacodinámico para el efecto bacteriostático (es decir, $fAUC_{0-24}/CMI$ de 19,3) para CMI de 128 mg/L. Alternativamente, utilizando un objetivo farmacodinámico para una disminución de 1 log (es decir, $fAUC_{0-24}/CMI$ de 87,5), se observó PTA del 89,3 % (4 g cada 6 horas) y 96,1 % (8 g cada 8 horas) para CMI de 32 mg/L para ambas dosis. Al establecer un objetivo para la supresión de la resistencia (es decir, AUC_{0-24}/CMI de 3.136), se alcanzó un PTA óptimo para una CMI de 1 mg/L del 83,2 % (4 g cada 6 horas) y 93,4 % (8 g cada 8 horas).

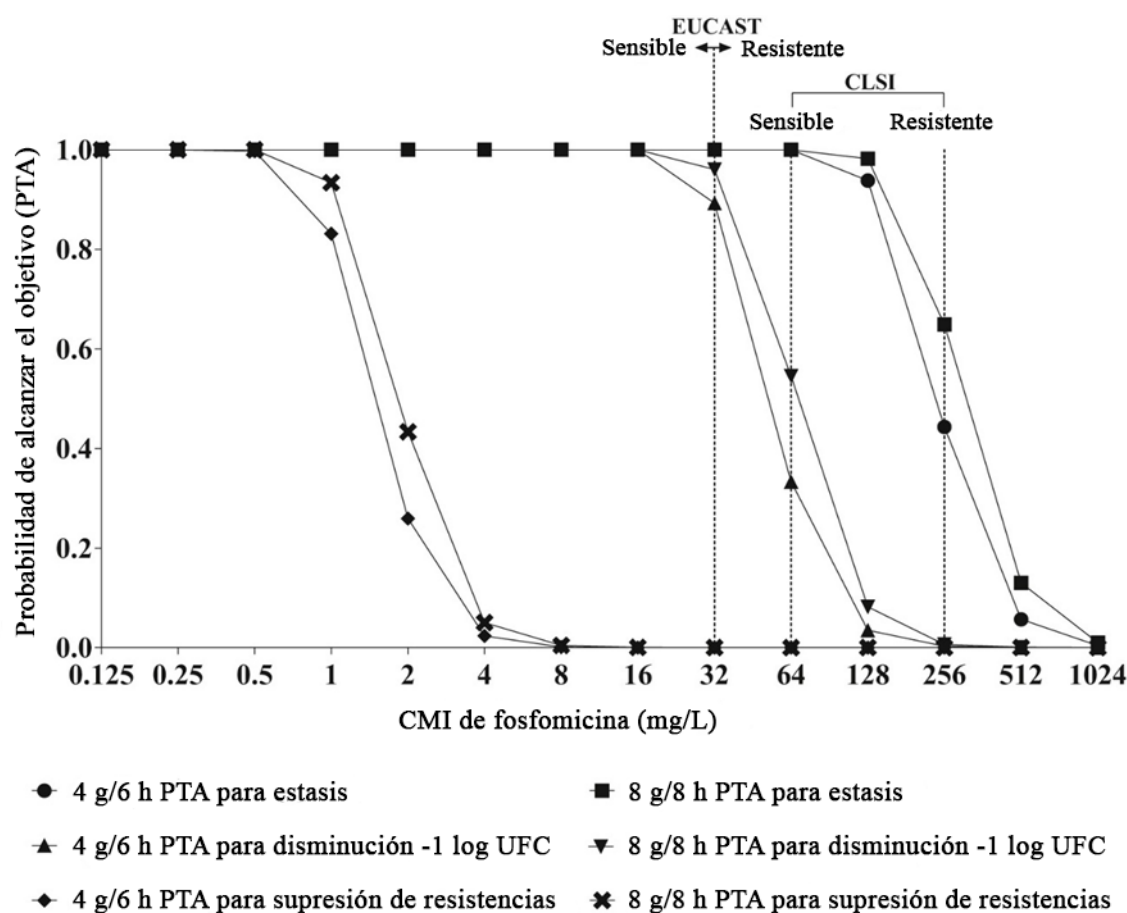


Figura 20. Probabilidad de logro del objetivo para *E. coli* para el efecto estático ($fAUC_{0-24}/CMI=19,3$), para la reducción bacteriana de 1 log ($fAUC_{0-24}/CMI=87,5$) y para la supresión de la resistencia bacteriana ($fAUC_{0-24}/CMI=3.136$) en cada CMI de fosfomicina. Las líneas discontinuas negras representan los puntos de corte de sensibilidad a fosfomicina de EUCAST y CLSI. CLSI, Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio; EUCAST, Comité Europeo sobre Pruebas de Sensibilidad a los Antimicrobianos; $fAUC$: curva de concentración libre-tiempo; CMI, concentración mínima inhibitoria.

Después de los puntos de corte de sensibilidad de EUCAST (32 mg/L) y CLSI (64 mg/L), el PTA fue de 89 % a 96 % y de 33 % a 54 % respectivamente para disminuir la carga bacteriana de 1 log. Sin embargo, se observó un PTA de 0 para la supresión de la resistencia bacteriana para cualquiera de las dosis simuladas (4 g

cada 6 horas u 8 g cada 8 horas), independientemente de los puntos de corte de sensibilidad que se utilizaron.

DISCUSIÓN

6 Discusión

6.1 Piperacilina-tazobactam

El presente estudio describe la farmacocinética poblacional de piperacilina dirigida a pacientes no críticos. Basándonos en algunos estudios tradicionales en animales y humanos seleccionamos un PTA del 50% $fT > CMI$, ya que los pacientes de nuestro estudio no estaban críticamente enfermos, si bien, se utilizan objetivos más exigentes para pacientes críticos^{19,93,413}. Observamos que, de los parámetros analizados, sólo el aclaramiento de creatinina afectó significativamente a la farmacocinética de la piperacilina. También observamos que una infusión prolongada de piperacilina mejoró el PTA (50% $fT > CMI$). Los datos obtenidos muestran que es menos probable que el régimen de dosificación sugerido actualmente (infusión de 4/0,5 g durante 30 minutos cada 8 h o cada 12 h) alcance el objetivo farmacodinámico en pacientes con función renal normal o insuficiencia renal grave. Otros investigadores han informado previamente resultados similares en pacientes críticos y no críticos⁴¹⁴⁻⁴¹⁶.

Por otro lado, la administración de piperacilina mediante infusión prolongada, durante la mitad del intervalo de dosificación (es decir, infundida durante 4 h, administrada cada 8 h) o después de una dosis de carga inicial ayudó a superar las exposiciones subterapéuticas al fármaco piperacilina en todos los escenarios simulados. Esto se ha demostrado previamente en estudios observacionales y en ensayos controlados aleatorizados (ECA) y también se correlaciona con tasas más altas de curación clínica en los ECA^{214,249,251}. En nuestro modelo observamos un ligero beneficio con la administración de una dosis de carga, especialmente frente a una CMI de piperacilina de 32 mg/L (considerada resistente). No podemos descartar la posibilidad de un beneficio extendido en pacientes con aclaramiento renal aumentado (>130 ml/min/1,73 m²) o en pacientes con otras características

basales. Estos resultados difieren algo de los de Rhodes *et al.*⁴¹⁷, quienes sugirieron que las dosis de carga pueden ser necesarias para sus esquemas de dosificación modelados de piperacilina-tazobactam mediante infusión prolongada (3,375 g infundidos durante 4 h) e infusión continua (10,125 g infundidos durante 24 h) y para CMI elevadas. Sin embargo, en ese estudio, los autores solo analizaron la probabilidad y el tiempo hasta la primera instancia de que las concentraciones excedieran el punto de corte de la CMI para piperacilina-tazobactam (16 mg/L, puntos de corte del Clinical and Laboratory Standard Institute -CLSI-) durante los primeros 120 minutos de terapia. También es importante señalar que se utilizó una dosis diferente de piperacilin-tazobactam (3 g de piperacilina más 0,375 g de tazobactam en lugar de 4 g de piperacilina más 0,5 g de tazobactam).

También se analizó la neurotoxicidad asociada a piperacilina en pacientes con ajustes de dosis debido a tasas de filtración glomerular alteradas. No se observó neurotoxicidad asociada a piperacilina en nuestros pacientes en este estudio, y las simulaciones de infusiones prolongadas mostraron una probabilidad <1% (objetivo de $C_{min} > 361$ mg/L), lo que contrasta con la probabilidad del 11,4% observada por Imani *et al.*⁴⁰⁸. Sin embargo, en este último estudio se incluyeron dosis de piperacilina de 8 a 16 g/24 h en intervalos de 6 a 12 h, no se proporcionándose información sobre el ajuste de dosis en pacientes con insuficiencia renal, lo que podría explicar la mayor frecuencia encontrada si no se ajustaron correctamente las concentraciones de piperacilina. Por otro lado, Quinton *et al.*⁴⁰⁷ analizaron una cohorte retrospectiva de pacientes de UCI, que mostraron una neurotoxicidad asociada a piperacilina del 43,4%, utilizando una concentración de piperacilina igual o superior a 157,2 mg/L como objetivo. Aplicando este punto de corte a nuestro estudio, en general, no predecimos eventos de neurotoxicidad en pacientes con función renal normal y una probabilidad de 0,2 a 0,3% en aquellos con dosis ajustadas (esquema de

dosificación 5, 4 g (infusión de 4 h) cada 12 h y esquema de dosificación 6, dosis de carga de 4 g (infusión de 0,5 h) + 4 g (infusión de 4 h) seguida de 4 g (infusión de 4 h) cada 12 h debido a insuficiencia renal grave. Sin embargo, en el estudio de Quinton *et al.* no se pretendía estimar la proporción de neurotoxicidad asociada a la piperacilina, y tal frecuencia probablemente estaría sobreestimada.

Con respecto a la ausencia de nefrotoxicidad relacionada con la piperacilina observada en nuestros pacientes con función renal normal o función renal alterada con dosis ajustada, los resultados obtenidos se ajustan a los eventos de nefrotoxicidad previstos relacionados con en el umbral de $C_{\min} > 452,65 \text{ mg/L}$ ⁴⁰⁸. Sin embargo, Imani *et al.* mostraron eventos de nefrotoxicidad en el 8,5% de la población de estudio de acuerdo con los criterios de exclusión, cifra superior a la observada en nuestros pacientes. En este estudio, el uso de un agente diurético se asoció con un riesgo significativamente mayor de nefrotoxicidad por piperacilina (OR 31,32, IC95% 3,33–294,70, $p < 0,01$). Además de otras características basales de los pacientes entre ambos estudios, en el estudio de Imani no se tuvo en cuenta el consumo de este diurético. Por tanto, no podemos comparar este importante factor asociado a la nefrotoxicidad con nuestra población.

Aunque nuestros hallazgos resaltan la importancia de una dosificación y administración óptima de piperacilina basadas en el aclaramiento renal en pacientes no críticos para superar las concentraciones subterapéuticas, solo se incluyeron 27 pacientes en el presente estudio, lo que limita la generalización de estos resultados. Además, el modelo se construyó en gran medida utilizando pacientes con función renal normal y pocos con insuficiencia renal grave, lo que podría perjudicar la extrapolación de los resultados a pacientes con fallo renal. El objetivo PK/PD para predecir la eficacia de la piperacilina tampoco está claro, mientras que la mayoría de los centros que actualmente realizan monitorización farmacocinética (TDM) de betalactámicos tienen como objetivo valores de

100% $fT > CMI$, otros utilizan 100% $fT > 4 \times CMI$, 50% $fT > 4 \times CMI$ o 70% $fT > 4 \times CMI$ para ciertos betalactámicos. Así, es aceptado que las concentraciones séricas de betalactámicos siempre deben estar por encima de la CMI, pero este hecho requiere una validación clínica prospectiva²⁷⁶. Finalmente, debido a las importantes diferencias en la neurotoxicidad y nefrotoxicidad esperadas asociadas a la piperacilina según la elección de los objetivos farmacocinéticos publicados, los resultados deben interpretarse con precaución hasta que hayan sido validados prospectivamente.

6.2 Fosfomicina

La amenaza global de las bacterias multirresistentes, junto con la escasez de nuevos agentes antimicrobianos activos, ha generado un renovado interés en fármacos antiguos como la fosfomicina. La Organización Mundial de la Salud ha incluido la fosfomicina en el “Grupo 3: antibióticos del grupo de reserva”⁴¹⁸. Este grupo incluye antibióticos que deben reservarse como opciones de último recurso y deberían ser ampliamente accesibles, pero su uso debería adaptarse a pacientes y entornos muy específicos cuando todas las alternativas hayan fracasado (por ejemplo, infecciones graves y potencialmente mortales debidas a bacterias multirresistentes). Sin embargo, como resultado de la falta de interés clínico en la fosfomicina en las últimas décadas, muchas preguntas sobre la farmacocinética y la farmacodinamia de este fármaco y, por lo tanto, sobre la dosificación adecuada, siguen sin respuesta.

Uno de los principales hallazgos del presente trabajo es la alta variabilidad observada en las concentraciones de fosfomicina observadas en pacientes con BUTI, que en su mayoría no eran enfermos críticos, en comparación con otros datos previamente publicados de sujetos sanos y también de pacientes no críticos, utilizando niveles más altos. dosis (8 g cada 8 horas)^{419–421}. Por

ejemplo, en nuestro estudio se observó una $C_{\text{máx}}$ media de 422,6 mg/L (ClCr medio de 70,4 mL/min), similar a la de Sauermann *et al.*⁴²⁰ (C_{max} media de 446 mg/L, ClCr medio de 70,4 mL/min) o Wenzler *et al.*⁴¹⁹ (C_{max} media de 370 mg/L, ClCr medio de 139,6 mL/min). Además, la mediana de la concentración plasmática mínima de fosfomicina (C_{min}) observada en nuestros pacientes (178,7 mg/L; rango, 106,11-246,93 mg/L) es más cercana a la observada por Parker *et al.*²⁶⁷ en pacientes críticamente enfermos, que fue de 250 mg/L (rango, 76–684 mg/L) en estado estacionario. Esto podría explicarse en parte por la insuficiencia renal observada en nuestra población, que afecta a la farmacocinética de la fosfomicina (es decir, una mediana de ClCr de 70,5 mL/min, que es ligeramente superior a los 59 mL/min observados en el estudio de Parker *et al.*). Así, las variaciones en el ClCr podrían explicar parcialmente las diferencias observadas con respecto a sujetos sanos⁴¹⁹. Sobre la base de estas observaciones, los pacientes tratados con fosfomicina se beneficiarían de una individualización de la dosis basada en ClCr para evitar una sobredosificación o una infradosificación, reduciendo así la posibilidad de fracaso terapéutico o toxicidad.

Los estudios de Lepak *et al.*²⁶² y Docobo-Pérez *et al.*¹³⁸ proporcionaron objetivos farmacodinámicos para la fosfomicina y permitió el desarrollo de nuestra simulación Monte Carlo y cálculo de PTA. Estos análisis plantearon varios puntos que merecen la pena detallar, así, un aumento de la dosis de fosfomicina, de 4 g cada 6 horas (16 g al día) a 8 g cada 8 horas (24 g al día, que es la dosis máxima aprobada por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios), sólo mejora sutilmente la PTA¹¹⁰. Esto es de vital importancia porque una reducción de 8 g de fosfomicina al día supone una reducción de 2,56 g de sodio (cada gramo de fosfomicina contiene 0,32 g de sodio)¹¹⁰, reduciendo el riesgo de eventos adversos, incluyendo hipocalcemia, bradicardia o incluso insuficiencia cardíaca^{419,422}, aspecto que puede ser particularmente relevante para los pacientes hospitalizados. Por otro lado, una evaluación de los puntos de corte

de sensibilidad actuales para la fosfomicina establecidos por EUCAST y CLSI utilizando análisis farmacodinámicos revela que la eficacia estaría mejor relacionada con los puntos de corte de EUCAST (es decir, susceptible ≤ 32 mg/L, resistente > 32 mg/L) que con los puntos de corte del CLSI (es decir, sensible ≤ 64 mg/L, resistente ≥ 256 mg/L)^{423,424}. Sin embargo, desde la perspectiva de la supresión de la resistencia bacteriana, es probable que todos los puntos de corte sean demasiado altos y a lo que habría que añadir una serie de factores que pueden contribuir a la aparición o selección de subpoblaciones resistentes a fosfomicina, como el estado mutacional de la cepa bacteriana (es decir, el fenotipo hipermutador), la presencia de una carga bacteriana elevada o la existencia de mutaciones que confieren resistencias de bajo nivel que pueden facilitar la selección de mutantes de alto nivel de resistencia^{140,425,426}.

A continuación, comentaremos las limitaciones del este estudio. El tamaño de la muestra no fue suficiente para medir el impacto de diferentes exposiciones a medicamentos en los resultados clínicos, así, la dosis de 8 g cada 8 horas se ha generado a partir del modelo matemático asumiendo una farmacocinética lineal de fosfomicina. Además, el VPC mostró cierta subpredicción en el grupo que recibió 4 g cada 12 horas y dada la baja función renal en este subconjunto de pacientes ($n = 4$) y la cohorte relativamente pequeña de 16 pacientes, esto también puede afectar la capacidad del modelo para identificar otras covariables relevantes. Además, los objetivos farmacodinámicos de eficacia propuestos por Lepak *et al.*²⁶² en el modelo de infección neutropénica de muslo murino y nuestro objetivo sugerido para la prevención de la resistencia observado en el modelo de infección dinámica de fibra hueca (*hollow fiber*) pueden subestimar la eficacia de la fosfomicina en pacientes inmunocompetentes y hasta ahora no han sido validados por otros estudios. Por otro lado, el modelo de infección del muslo murino neutropénico evaluó la eficacia microbiológica sólo durante las primeras 24 horas. Sin embargo, diferentes estudios que utilizan modelos de infección de

fibras huecas han demostrado que se producen fallos microbiológicos más tarde como resultado de la selección de subpoblaciones con sensibilidad reducida o la aparición de mutantes resistentes^{138,427}. Esto sugiere que los objetivos farmacodinámicos que impulsan la eficacia de la fosfomicina en infecciones complejas pueden necesitar considerar mutantes resistentes a la supresión, que a menudo no se consideran en el establecimiento de los puntos de corte¹³⁸. Finalmente, la controversia existente sobre cómo realizar e interpretar las pruebas de sensibilidad a fosfomicina podría dificultar el uso de la CMI como una medida confiable de potencia^{140,426}.

CONCLUSIONES

7 Conclusiones

7.1 Piperacilina-tazobactam

De los resultados obtenidos en el estudio sobre piperacilina-tazobactam se desprenden las siguientes conclusiones:

1. Se ha desarrollado un modelo farmacocinético poblacional monocompartimental de piperacilina-tazobactam en pacientes con bacteriemias por Enterobacterias, siendo el aclaramiento de creatinina la única covariable que explica la variabilidad en las concentraciones observadas.
2. Los datos obtenidos muestran que es menos probable que el régimen de dosificación sugerido actualmente en la ficha técnica del fármaco (infusión corta) alcance el objetivo farmacodinámico en pacientes con función renal normal o insuficiencia renal grave, siendo la administración en infusión prolongada la forma óptima para la consecución del objetivo PK-PD.
3. Las estrategias de administración en infusión prolongada tienen un riesgo bajo de desarrollar eventos adversos (neurotoxicidad o nefrotoxicidad).
4. Los beneficios de una dosis de carga no están claros en los pacientes de nuestro modelo y por ello, deben explorarse en otras poblaciones con aclaramiento renal aumentado.

7.2 Fosfomicina

De los resultados obtenidos en el estudio sobre fosfomicina se desprenden las siguientes conclusiones:

1. Las concentraciones de fosfomicina son muy variables y dependen en cierta medida del grado de disfunción renal, incluso en pacientes no críticos.
2. Las pautas de dosificación de fosfomicina de 4 g cada 6 horas u 8 g cada 8 horas parecen eficaces para el tratamiento de pacientes no críticos con bacteriemia de origen urinario causada por *E. coli* multirresistente. Sin embargo, es posible que estos regímenes aún no sean adecuados (como monoterapia) para pacientes críticos con una alta carga bacteriana donde es probable que surja resistencia a los medicamentos.
3. Dosis más altas de fosfomicina pueden aumentar la probabilidad de toxicidad, sin embargo, no se espera que aumenten significativamente la eficacia.
4. Este estudio sugiere que puede ser necesaria una revisión de los puntos de corte de EUCAST y CLSI para algunos contextos clínicos y subgrupos de pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

8 Bibliografía:

1. Hochhaus, G., Barrett, J. S. & Derendorf, H. Evolution of pharmacokinetics and pharmacokinetic/dynamic correlations during the 20th century. *J. Clin. Pharmacol.* **40**, 908–917 (2000).
2. Csajka, C. & Verotta, D. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling: history and perspectives. *J. Pharmacokinet. Pharmacodyn.* **33**, 227–279 (2006).
3. European Medicines Agency (2016). Guideline on the use of pharmacokinetics and pharmacodynamics in the development of antimicrobial medicinal products. London. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-use-pharmacokinetics-pharmacodynamics-development-antimicrobial-medicinal-products_en.pdf.
4. Food and Drug Administration (2017). Antibacterial therapies for patients with an unmet medical need for the treatment of serious bacterial diseases guidance for industry (Online). <https://www.fda.gov/files/drugs/published/Antibacterial-Therapies-for-Patients-With-an-Unmet-Medical-Need-for-the-Treatment-of-Serious-Bacterial-Diseases.pdf>.
5. Huttner, A., Harbarth, S., Hope, W. W., Lipman, J. & Roberts, J. A. Therapeutic drug monitoring of the β -lactam antibiotics: what is the evidence and which patients should we be using it for? *J. Antimicrob. Chemother.* **70**, 3178–3183 (2015).
6. Wicha, S. G. *et al.* From Therapeutic Drug Monitoring to Model-Informed Precision Dosing for Antibiotics. *Clin. Pharmacol. Ther.* **109**, 928–941 (2021).

7. Fleming, A. Streptococcal meningitis treated with penicillin. *The Lancet* **242**, 434–438 (1943).
8. Florey, M. E., Adelaide, M. B., Florey, H. W. & Adelaide, M. B. General and local administration of penicillin. *The Lancet* **241**, 387–397 (1943).
9. Jawetz, E. Dynamics of the action of penicillin in experimental animals; observations on mice. *Arch. Intern. Med. Chic. Ill 1908* **77**, 1–15 (1946).
10. Eagle, H., Magnuson, H. J. & Fleischman, R. Relation of the size of the inoculum and the age of the infection to the curative dose of penicillin in experimental syphilis, with particular reference to the feasibility of its prophylactic use. *J. Exp. Med.* **85**, 423–440 (1947).
11. Eagle, H., Fleischman, R. & Musselman, A. D. The bactericidal action of penicillin in vivo: the participation of the host, and the slow recovery of the surviving organisms. *Ann. Intern. Med.* **33**, 544–571 (1950).
12. Eagle, H., Fleischman, R. & Levy, M. ‘Continuous’ vs. ‘discontinuous’ therapy with penicillin; the effect of the interval between injections on therapeutic efficacy. *N. Engl. J. Med.* **248**, 481–488 (1953).
13. Eagle, H., Fleischman, R. & Musselman, A. D. Effect of schedule of administration on the therapeutic efficacy of penicillin; importance of the aggregate time penicillin remains at effectively bactericidal levels. *Am. J. Med.* **9**, 280–299 (1950).
14. Eagle, H., Fleischman, R. & Musselman, A. D. The bactericidal action of penicillin in vivo: the participation of the host, and the slow recovery of the surviving organisms. *Ann. Intern. Med.* **33**, 544–571 (1950).

15. Schimdt, L. H., Walley, A. & Larson, R. D. The influence of the dosage regimen on the therapeutic activity of penicillin G. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **96**, 258–268 (1949).
16. Roberts, J. A. *et al.* Continuous versus intermittent β -lactam infusion in severe sepsis. A meta-analysis of individual patient data from randomized trials. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **194**, 681–691 (2016).
17. Vogelmann, B. & Craig, W. A. Kinetics of antimicrobial activity. *J. Pediatr.* **108**, 835–840 (1986).
18. Vogelmann, B. *et al.* Correlation of antimicrobial pharmacokinetic parameters with therapeutic efficacy in an animal model. *J. Infect. Dis.* **158**, 831–847 (1988).
19. Craig, W. A. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* **26**, 1–10; quiz 11–12 (1998).
20. Ambrose, P. G. *et al.* Pharmacokinetics-pharmacodynamics of antimicrobial therapy: it's not just for mice anymore. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* **44**, 79–86 (2007).
21. Roberts, J. A. *et al.* Individualised antibiotic dosing for patients who are critically ill: challenges and potential solutions. *Lancet Infect. Dis.* **14**, 498–509 (2014).
22. Rawson, T. M. *et al.* Optimizing antimicrobial use: challenges, advances and opportunities. *Nat. Rev. Microbiol.* **19**, 747–758 (2021).
23. Abdul-Aziz, M. H. *et al.* Antimicrobial therapeutic drug monitoring in critically ill adult patients: a Position Paper. *Intensive Care Med.* **46**, 1127–1153 (2020).
24. Friberg, L. E. Pivotal Role of Translation in Anti-Infective Development. *Clin. Pharmacol. Ther.* **109**, 856–866 (2021).

25. Turnidge, J. & Paterson, D. L. Setting and revising antibacterial susceptibility breakpoints. *Clin. Microbiol. Rev.* **20**, 391–408, table of contents (2007).
26. Mouton, J. W. *et al.* The role of pharmacokinetics/pharmacodynamics in setting clinical MIC breakpoints: the EUCAST approach. *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **18**, E37-45 (2012).
27. Rolain, J.-M., Roch, A., Castanier, M., Papazian, L. & Raoult, D. *Acinetobacter baumannii* Resistant to Colistin With Impaired Virulence: A Case Report From France. *J. Infect. Dis.* **204**, 1146–1147 (2011).
28. D'Costa, V. M. *et al.* Antibiotic resistance is ancient. *Nature* **477**, 457–461 (2011).
29. Andersson, D. I. & Hughes, D. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? *Nat. Rev. Microbiol.* **8**, 260–271 (2010).
30. Sullivan, Å., Edlund, C. & Nord, C. E. Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora. *Lancet Infect. Dis.* **1**, 101–114 (2001).
31. Gould, K. Antibiotics: from prehistory to the present day. *J. Antimicrob. Chemother.* **71**, 572–575 (2016).
32. Klevens, R. M. *et al.* Invasive Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections in the United States. *JAMA* vol. 298 1763–1771 (2007).
33. O'Neil, J. Report on Antimicrobial Resistance. (2016). <https://amr-review.org/>.
34. Hutchings, M. I., Truman, A. W. & Wilkinson, B. Antibiotics: past, present and future. *Curr. Opin. Microbiol.* **51**, 72–80 (2019).
35. Prestinaci, F., Pezzotti, P. & Pantosti, A. Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. *Pathog. Glob. Health* **109**, 309–318 (2015).

36. Exner, M. *et al.* Antibiotic resistance: What is so special about multidrug-resistant Gram-negative bacteria? *GMS Hygiene and Infection Control* vol. 12 Doc05 (2017).
37. Majumder, M. A. A. *et al.* Antimicrobial Stewardship: Fighting Antimicrobial Resistance and Protecting Global Public Health. *Infect. Drug Resist.* **13**, 4713–4738 (2020).
38. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Ministerio de Sanidad. Plan Nacional de Resistencia a Antibióticos (PRAN). (2014).
<https://www.resistenciaantibioticos.es/es>.
39. World Health Organization. Global action plan on antimicrobial resistance. 2015. Available online: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/193736> (accessed on 27 December 2021).
40. Rezasoltani, S., Yadegar, A., Hatami, B., Asadzadeh Aghdaei, H. & Zali, M. R. Antimicrobial Resistance as a Hidden Menace Lurking Behind the COVID-19 Outbreak: The Global Impacts of Too Much Hygiene on AMR. *Front. Microbiol.* **11**, 590683 (2020).
41. Cucinotta, D. & Vanelli, M. WHO Declares COVID-19 a Pandemic. *Acta Biomedica Atenei Parm.* **91**, 157–160 (2020).
42. Pelfrene, E., Botgros, R. & Cavaleri, M. Antimicrobial multidrug resistance in the era of COVID-19: a forgotten plight? *Antimicrob. Resist. Infect. Control* **10**, 21 (2021).
43. Pulcini, C. *et al.* Forgotten Antibiotics: An Inventory in Europe, the United States, Canada, and Australia. *Clin. Infect. Dis.* **54**, 268–274 (2012).

44. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe, 2020 data. *European Centre for Disease Prevention and Control* <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-resistance-europe-2020> (2021).
45. Rodríguez-Baño, J., Gutiérrez-Gutiérrez, B. & Pascual, A. CON: Carbapenems are NOT necessary for all infections caused by ceftriaxone-resistant Enterobacterales. *JAC-Antimicrob. Resist.* **3**, dlaa112 (2021).
46. Rodríguez-Baño, J., Gutiérrez-Gutiérrez, B., Machuca, I. & Pascual, A. Treatment of Infections Caused by Extended-Spectrum-Beta-Lactamase-, AmpC-, and Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae. *Clin. Microbiol. Rev.* **31**, e00079-17 (2018).
47. Klein, E. Y. *et al.* Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **115**, E3463–E3470 (2018).
48. Bonomo, R. A. *et al.* Carbapenemase-Producing Organisms: A Global Scourge. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* **66**, 1290–1297 (2018).
49. Burke, J. P. Antibiotic resistance—squeezing the balloon? *JAMA* **280**, 1270–1271 (1998).
50. Gutiérrez-Gutiérrez, B. & Rodríguez-Baño, J. Current options for the treatment of infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in different groups of patients. *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **25**, 932–942 (2019).
51. Fortner, C. L., Finley, R. S. & Schimpff, S. C. Piperacillin sodium: antibacterial spectrum, pharmacokinetics, clinical efficacy, and adverse reactions. *Pharmacotherapy* **2**, 287–299 (1982).

52. PubChem. Tazobactam. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/123630>.
53. Rigge, D. C. & Jones, M. F. Shelf lives of aseptically prepared medicines— Stability of piperacillin/tazobactam in PVC and non-PVC bags. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **39**, 339–343 (2005).
54. Centro de Información online de Medicamentos de la AEMPS (CIMA). Ficha técnica PIPERACILINA/TAZOBACTAM SANDOZ 4 G/0,5 G POLVO PARA SOLUCION PARA PERFUSION. https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/71286/FT_71286.html.
55. Appelbaum, P. C., Jacobs, M. R., Spangler, S. K. & Yamabe, S. Comparative activity of beta-lactamase inhibitors YTR 830, clavulanate, and sulbactam combined with beta-lactams against beta-lactamase-producing anaerobes. *Antimicrob. Agents Chemother.* **30**, 789–791 (1986).
56. Appelbaum, P. C., Spangler, S. K. & Jacobs, M. R. Susceptibility of 539 gram-positive and gram-negative anaerobes to new agents, including RP59500, biapenem, trospectomycin and piperacillin/tazobactam. *J. Antimicrob. Chemother.* **32**, 223–231 (1993).
57. Appelbaum, P. C., Spangler, S. K. & Jacobs, M. R. Susceptibilities of 394 *Bacteroides fragilis*, non-B. *fragilis* group *Bacteroides* species, and *Fusobacterium* species to newer antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* **35**, 1214–1218 (1991).
58. Appelbaum, P. C., Philippon, A., Jacobs, M. R., Spangler, S. K. & Gutmann, L. Characterization of beta-lactamases from non-*Bacteroides fragilis* group *Bacteroides* spp. belonging to seven species and their role in beta-lactam resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* **34**, 2169–2176 (1990).

59. Ambler, R. P. The structure of beta-lactamases. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **289**, 321–331 (1980).
60. Bush, K. Characterization of beta-lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* **33**, 259–263 (1989).
61. Ambler, R. P. *et al.* A standard numbering scheme for the class A beta-lactamases. *Biochem. J.* **276 (Pt 1)**, 269–270 (1991).
62. Ju, L.-C., Cheng, Z., Fast, W., Bonomo, R. A. & Crowder, M. W. The Continuing Challenge of Metallo- β -Lactamase Inhibition: Mechanism Matters. *Trends Pharmacol. Sci.* **39**, 635–647 (2018).
63. Bush, K. & Jacoby, G. A. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* **54**, 969–976 (2010).
64. Bush, K. Past and Present Perspectives on β -Lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* **62**, e01076-18 (2018).
65. Bonomo, R. A. β -Lactamases: A Focus on Current Challenges. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **7**, a025239 (2017).
66. Lepe, J. A. & Martínez-Martínez, L. Mecanismos de resistencia en bacterias gramnegativas. *Med. Intensiva* **46**, 392–402 (2022).
67. Pagès, J.-M., Peslier, S., Keating, T. A., Lavigne, J.-P. & Nichols, W. W. Role of the Outer Membrane and Porins in Susceptibility of β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae to Ceftazidime-Avibactam. *Antimicrob. Agents Chemother.* **60**, 1349–1359 (2015).
68. Saw, H. T. H., Webber, M. A., Mushtaq, S., Woodford, N. & Piddock, L. J. V. Inactivation or inhibition of AcrAB-TolC increases resistance of carbapenemase-

- producing Enterobacteriaceae to carbapenems. *J. Antimicrob. Chemother.* **71**, 1510–1519 (2016).
69. Bush, K. Beta-lactamase inhibitors from laboratory to clinic. *Clin. Microbiol. Rev.* **1**, 109–123 (1988).
70. Sanders, C. C., Iaconis, J. P., Bodey, G. P. & Samonis, G. Resistance to ticarcillin-potassium clavulanate among clinical isolates of the family Enterobacteriaceae: role of PSE-1 beta-lactamase and high levels of TEM-1 and SHV-1 and problems with false susceptibility in disk diffusion tests. *Antimicrob. Agents Chemother.* **32**, 1365–1369 (1988).
71. Fernández-Cuenca, F., Pascual, A. & Martínez-Martínez, L. Hyperproduction of AmpC beta-lactamase in a clinical isolate of *Escherichia coli* associated with a 30 bp deletion in the attenuator region of ampC. *J. Antimicrob. Chemother.* **56**, 251–252 (2005).
72. Gheorghiu, R., Yuan, M., Hall, L. M. & Livermore, D. M. Bases of variation in resistance to beta-lactams in *Klebsiella oxytoca* isolates hyperproducing K1 beta-lactamase. *J. Antimicrob. Chemother.* **40**, 533–541 (1997).
73. Wu, P. J., Shannon, K. & Phillips, I. Mechanisms of hyperproduction of TEM-1 beta-lactamase by clinical isolates of *Escherichia coli*. *J. Antimicrob. Chemother.* **36**, 927–939 (1995).
74. Xiang, X., Shannon, K. & French, G. Mechanism and stability of hyperproduction of the extended-spectrum beta-lactamase SHV-5 in *Klebsiella pneumoniae*. *J. Antimicrob. Chemother.* **40**, 525–532 (1997).
75. Lartigue, M. F., Leflon-Guibout, V., Poirel, L., Nordmann, P. & Nicolas-Chanoine, M.-H. Promoters P3, Pa/Pb, P4, and P5 upstream from bla(TEM) genes

- and their relationship to beta-lactam resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* **46**, 4035–4037 (2002).
76. Miró, E. *et al.* Emergence of clinical *Escherichia coli* isolates with decreased susceptibility to ceftazidime and synergic effect with co-amoxiclav due to SHV-1 hyperproduction. *J. Antimicrob. Chemother.* **42**, 535–538 (1998).
77. Livermore, D. M. beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin. Microbiol. Rev.* **8**, 557–584 (1995).
78. Reguera, J. A., Baquero, F., Pérez-Díaz, J. C. & Martínez, J. L. Factors determining resistance to beta-lactam combined with beta-lactamase inhibitors in *Escherichia coli*. *J. Antimicrob. Chemother.* **27**, 569–575 (1991).
79. Naas, T. & Nordmann, P. OXA-type beta-lactamases. *Curr. Pharm. Des.* **5**, 865–879 (1999).
80. Zhou, X. Y., Bordon, F., Sirot, D., Kitzis, M. D. & Gutmann, L. Emergence of clinical isolates of *Escherichia coli* producing TEM-1 derivatives or an OXA-1 beta-lactamase conferring resistance to beta-lactamase inhibitors. *Antimicrob. Agents Chemother.* **38**, 1085–1089 (1994).
81. Boyd, D. A. *et al.* Complete nucleotide sequence of a 92-kilobase plasmid harboring the CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase involved in an outbreak in long-term-care facilities in Toronto, Canada. *Antimicrob. Agents Chemother.* **48**, 3758–3764 (2004).
82. Paterson, D. L. & Bonomo, R. A. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin. Microbiol. Rev.* **18**, 657–686 (2005).

83. Pitout, J. D. D. & Laupland, K. B. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Lancet Infect. Dis.* **8**, 159–166 (2008).
84. Rodríguez-Baño, J. & Pascual, A. Clinical significance of extended-spectrum beta-lactamases. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* **6**, 671–683 (2008).
85. Chen, Y.-H. *et al.* Antimicrobial susceptibility profiles of aerobic and facultative Gram-negative bacilli isolated from patients with intra-abdominal infections in the Asia-Pacific region according to currently established susceptibility interpretive criteria. *J. Infect.* **62**, 280–291 (2011).
86. Hawser, S. *et al.* Antimicrobial susceptibility of intra-abdominal gram-negative bacilli from Europe: SMART Europe 2008. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol.* **30**, 173–179 (2011).
87. Ruiz de Alegría, C. *et al.* Klebsiella pneumoniae strains producing extended-spectrum beta-lactamases in Spain: microbiological and clinical features. *J. Clin. Microbiol.* **49**, 1134–1136 (2011).
88. Díaz, M. A. *et al.* Diversity of Escherichia coli strains producing extended-spectrum beta-lactamases in Spain: second nationwide study. *J. Clin. Microbiol.* **48**, 2840–2845 (2010).
89. Docobo-Pérez, F. *et al.* Inoculum effect on the efficacies of amoxicillin-clavulanate, piperacillin-tazobactam, and imipenem against extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing and non-ESBL-producing Escherichia coli in an experimental murine sepsis model. *Antimicrob. Agents Chemother.* **57**, 2109–2113 (2013).

90. López-Cerero, L. *et al.* Comparative assessment of inoculum effects on the antimicrobial activity of amoxicillin-clavulanate and piperacillin-tazobactam with extended-spectrum beta-lactamase-producing and extended-spectrum beta-lactamase-non-producing *Escherichia coli* isolates. *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **16**, 132–136 (2010).
91. Thomson, K. S. & Moland, E. S. Cefepime, Piperacillin-Tazobactam, and the Inoculum Effect in Tests with Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob. Agents Chemother.* **45**, 3548–3554 (2001).
92. Ambrose, P. G., Bhavnani, S. M. & Jones, R. N. Pharmacokinetics-pharmacodynamics of cefepime and piperacillin-tazobactam against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains producing extended-spectrum beta-lactamases: report from the ARREST program. *Antimicrob. Agents Chemother.* **47**, 1643–1646 (2003).
93. Lodise, T. P., Jr., Lomaestro, B. & Drusano, G. L. Piperacillin-Tazobactam for *Pseudomonas aeruginosa* Infection: Clinical Implications of an Extended-Infusion Dosing Strategy. *Clin. Infect. Dis.* **44**, 357–363 (2007).
94. Hoban, D. J. *et al.* Susceptibility of gram-negative pathogens isolated from patients with complicated intra-abdominal infections in the United States, 2007-2008: results of the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). *Antimicrob. Agents Chemother.* **54**, 3031–3034 (2010).
95. Rodríguez-Baño, J. *et al.* β -Lactam/ β -lactam inhibitor combinations for the treatment of bacteremia due to extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*: a post hoc analysis of prospective cohorts. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* **54**, 167–174 (2012).

96. Harris, P. N. A. *et al.* Effect of Piperacillin-Tazobactam vs Meropenem on 30-Day Mortality for Patients With E coli or Klebsiella pneumoniae Bloodstream Infection and Ceftriaxone Resistance: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* **320**, 984–994 (2018).
97. Rodríguez-Baño, J., Gutiérrez-Gutiérrez, B. & Kahlmeter, G. Antibiotics for Ceftriaxone-Resistant Gram-Negative Bacterial Bloodstream Infections. *JAMA* **321**, 612–613 (2019).
98. Andersen, M. G. *et al.* Population Pharmacokinetics of Piperacillin in Sepsis Patients: Should Alternative Dosing Strategies Be Considered? *Antimicrob. Agents Chemother.* **62**, e02306-17 (2018).
99. Henderson, A. *et al.* Association Between Minimum Inhibitory Concentration, Beta-lactamase Genes and Mortality for Patients Treated With Piperacillin/Tazobactam or Meropenem From the MERINO Study. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* **73**, e3842–e3850 (2021).
100. Pitout, J. D. D., Le, P., Church, D. L., Gregson, D. B. & Laupland, K. B. Antimicrobial susceptibility of well-characterised multiresistant CTX-M-producing Escherichia coli: failure of automated systems to detect resistance to piperacillin/tazobactam. *Int. J. Antimicrob. Agents* **32**, 333–338 (2008).
101. Gutiérrez-Gutiérrez, B. *et al.* A Multinational, Preregistered Cohort Study of β -Lactam/ β -Lactamase Inhibitor Combinations for Treatment of Bloodstream Infections Due to Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob. Agents Chemother.* **60**, 4159–4169 (2016).
102. Rodríguez-Baño, J. *et al.* Community infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli. *Arch. Intern. Med.* **168**, 1897–1902 (2008).

103. Mendes, R. E. *et al.* Molecular β -lactamase characterization of Gram-negative pathogens recovered from patients enrolled in the ceftazidime-avibactam phase 3 trials (RECAPTURE 1 and 2) for complicated urinary tract infections: Efficacies analysed against susceptible and resistant subsets. *Int. J. Antimicrob. Agents* **52**, 287–292 (2018).
104. Popejoy, M. W. *et al.* Efficacy of ceftolozane/tazobactam against urinary tract and intra-abdominal infections caused by ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: a pooled analysis of Phase 3 clinical trials. *J. Antimicrob. Chemother.* **72**, 268–272 (2017).
105. Hendlin, D. *et al.* Phosphonomycin, a new antibiotic produced by strains of streptomycetes. *Science* **166**, 122–123 (1969).
106. Falagas, M. E., Giannopoulou, K. P., Kokolakis, G. N. & Rafailidis, P. I. Fosfomicin: use beyond urinary tract and gastrointestinal infections. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* **46**, 1069–1077 (2008).
107. Centro de Información online de Medicamentos de la AEMPS (CIMA). Ficha técnica MONUROL 3 g GRANULADO PARA SOLUCIÓN ORAL. https://cima.aemps.es/cima/pdfs/ft/76799/FT_76799.pdf (2023).
108. Centro de Información online de Medicamentos de la AEMPS (CIMA). Ficha técnica FOSFOCINA 500 MG CAPSULAS DURAS. https://cima.aemps.es/cima/dohtml/ft/50893/FT_50893.html (2023).
109. Centro de Información online de Medicamentos de la AEMPS (CIMA). Ficha técnica FOSFOCINA 1 G POLVO Y DISOLVENTE PARA SOLUCION PARA PERFUSION. https://cima.aemps.es/cima/dohtml/ft/50882/FT_50882.html (2023).

110. Centro de Información online de Medicamentos de la AEMPS (CIMA). Ficha técnica FOSFOCINA 4 G POLVO PARA SOLUCION PARA PERFUSION.
https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/50878/FT_50878.html (2023).
111. Falagas, M. E., Vouloumanou, E. K., Samonis, G. & Vardakas, K. Z. Fosfomycin. *Clin. Microbiol. Rev.* **29**, 321–347 (2016).
112. Skarzynski, T. *et al.* Structure of UDP-N-acetylglucosamine enolpyruvyl transferase, an enzyme essential for the synthesis of bacterial peptidoglycan, complexed with substrate UDP-N-acetylglucosamine and the drug fosfomycin. *Struct. Lond. Engl.* **1993** **4**, 1465–1474 (1996).
113. Borisova, M., Gisin, J. & Mayer, C. Blocking peptidoglycan recycling in *Pseudomonas aeruginosa* attenuates intrinsic resistance to fosfomycin. *Microb. Drug Resist. Larchmt. N* **20**, 231–237 (2014).
114. Candel, F. J., Matesanz David, M. & Barberán, J. New perspectives for reassessing fosfomycin: applicability in current clinical practice. *Rev. Espanola Quimioter. Publicacion Of. Soc. Espanola Quimioter.* **32 Suppl 1**, 1–7 (2019).
115. Eschenburg, S., Priestman, M. & Schönbrunn, E. Evidence that the fosfomycin target Cys115 in UDP-N-acetylglucosamine enolpyruvyl transferase (MurA) is essential for product release. *J. Biol. Chem.* **280**, 3757–3763 (2005).
116. Popovic, M., Steinort, D., Pillai, S. & Joukhadar, C. Fosfomycin: an old, new friend? *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **29**, 127–142 (2010).
117. Carlone, N. A., Borsotto, M., Cuffini, A. M. & Savoia, D. Effect of fosfomycin trometamol on bacterial adhesion in comparison with other chemotherapeutic agents. *Eur. Urol.* **13 Suppl 1**, 86–91 (1987).

118. Yokota, S. *et al.* Fosfomycin suppresses RS-virus-induced Streptococcus pneumoniae and Haemophilus influenzae adhesion to respiratory epithelial cells via the platelet-activating factor receptor. *FEMS Microbiol. Lett.* **310**, 84–90 (2010).
119. Karageorgopoulos, D. E., Wang, R., Yu, X.-H. & Falagas, M. E. Fosfomycin: evaluation of the published evidence on the emergence of antimicrobial resistance in Gram-negative pathogens. *J. Antimicrob. Chemother.* **67**, 255–268 (2012).
120. McCoy, A. J., Sandlin, R. C. & Maurelli, A. T. In vitro and in vivo functional activity of Chlamydia MurA, a UDP-N-acetylglucosamine enolpyruvyl transferase involved in peptidoglycan synthesis and fosfomycin resistance. *J. Bacteriol.* **185**, 1218–1228 (2003).
121. De Smet, K. A. L., Kempell, K. E., Gallagher, A., Duncan, K. & Young, D. B. Alteration of a single amino acid residue reverses fosfomycin resistance of recombinant MurA from Mycobacterium tuberculosis. *Microbiol. Read. Engl.* **145 (Pt 11)**, 3177–3184 (1999).
122. Kumar, S., Parvathi, A., Hernandez, R. L., Cadle, K. M. & Varela, M. F. Identification of a novel UDP-N-acetylglucosamine enolpyruvyl transferase (MurA) from Vibrio fischeri that confers high fosfomycin resistance in Escherichia coli. *Arch. Microbiol.* **191**, 425–429 (2009).
123. Gisin, J., Schneider, A., Nägele, B., Borisova, M. & Mayer, C. A cell wall recycling shortcut that bypasses peptidoglycan de novo biosynthesis. *Nat. Chem. Biol.* **9**, 491–493 (2013).
124. Tsuruoka, T., Miyata, A. & Yamada, Y. Two kinds of mutants defective in multiple carbohydrate utilization isolated from in vitro fosfomycin-resistant strains of Escherichia coli K-12. *J. Antibiot. (Tokyo)* **31**, 192–201 (1978).

125. Takahata, S. *et al.* Molecular mechanisms of fosfomycin resistance in clinical isolates of *Escherichia coli*. *Int. J. Antimicrob. Agents* **35**, 333–337 (2010).
126. Horii, T., Kimura, T., Sato, K., Shibayama, K. & Ohta, M. Emergence of fosfomycin-resistant isolates of Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* O26. *Antimicrob. Agents Chemother.* **43**, 789–793 (1999).
127. Bernat, B. A., Laughlin, L. T. & Armstrong, R. N. Fosfomycin resistance protein (FosA) is a manganese metalloglutathione transferase related to glyoxalase I and the extradiol dioxygenases. *Biochemistry* **36**, 3050–3055 (1997).
128. Arca, P., Reguera, G. & Hardisson, C. Plasmid-encoded fosfomycin resistance in bacteria isolated from the urinary tract in a multicentre survey. *J. Antimicrob. Chemother.* **40**, 393–399 (1997).
129. Ma, Y. *et al.* Characterization of fosA5, a new plasmid-mediated fosfomycin resistance gene in *Escherichia coli*. *Lett. Appl. Microbiol.* **60**, 259–264 (2015).
130. Xu, H., Miao, V., Kwong, W., Xia, R. & Davies, J. Identification of a novel fosfomycin resistance gene (fosA2) in *Enterobacter cloacae* from the Salmon River, Canada. *Lett. Appl. Microbiol.* **52**, 427–429 (2011).
131. Qu, T. *et al.* Fosfomycin resistance among vancomycin-resistant enterococci owing to transfer of a plasmid harbouring the fosB gene. *Int. J. Antimicrob. Agents* **43**, 361–365 (2014).
132. Fillgrove, K. L., Pakhomova, S., Schaab, M. R., Newcomer, M. E. & Armstrong, R. N. Structure and mechanism of the genomically encoded fosfomycin resistance protein, FosX, from *Listeria monocytogenes*. *Biochemistry* **46**, 8110–8120 (2007).

133. García, P., Arca, P. & Evaristo Suárez, J. Product of fosC, a gene from *Pseudomonas syringae*, mediates fosfomicin resistance by using ATP as cosubstrate. *Antimicrob. Agents Chemother.* **39**, 1569–1573 (1995).
134. Lucas, A. E. *et al.* Frequency and Mechanisms of Spontaneous Fosfomicin Nonsusceptibility Observed upon Disk Diffusion Testing of *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.* **56**, e01368-17 (2018).
135. Andersson, D. I., Nicoloff, H. & Hjort, K. Mechanisms and clinical relevance of bacterial heteroresistance. *Nat. Rev. Microbiol.* **17**, 479–496 (2019).
136. El-Halfawy, O. M. & Valvano, M. A. Antimicrobial heteroresistance: an emerging field in need of clarity. *Clin. Microbiol. Rev.* **28**, 191–207 (2015).
137. Nicoloff, H., Hjort, K., Levin, B. R. & Andersson, D. I. The high prevalence of antibiotic heteroresistance in pathogenic bacteria is mainly caused by gene amplification. *Nat. Microbiol.* **4**, 504–514 (2019).
138. Docobo-Pérez, F. *et al.* Pharmacodynamics of fosfomicin: insights into clinical use for antimicrobial resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* **59**, 5602–5610 (2015).
139. Portillo-Calderón, I. *et al.* Contribution of hypermutation to fosfomicin heteroresistance in *Escherichia coli*. *J. Antimicrob. Chemother.* **75**, 2066–2075 (2020).
140. Ballesterro-Téllez, M. *et al.* Molecular insights into fosfomicin resistance in *Escherichia coli*. *J. Antimicrob. Chemother.* **72**, 1303–1309 (2017).
141. Castañeda-García, A., Blázquez, J. & Rodríguez-Rojas, A. Molecular Mechanisms and Clinical Impact of Acquired and Intrinsic Fosfomicin Resistance. *Antibiot. Basel Switz.* **2**, 217–236 (2013).

142. Martín-Gutiérrez, G. *et al.* Urinary Tract Conditions Affect Fosfomycin Activity against *Escherichia coli* Strains Harboring Chromosomal Mutations Involved in Fosfomycin Uptake. *Antimicrob. Agents Chemother.* **62**, e01899-17 (2018).
143. Cox, E. C. & Gibson, T. C. Selection for high mutation rates in chemostats. *Genetics* **77**, 169–184 (1974).
144. Sniegowski, P. D., Gerrish, P. J. & Lenski, R. E. Evolution of high mutation rates in experimental populations of *E. coli*. *Nature* **387**, 703–705 (1997).
145. Hall, L. M. C. & Henderson-Begg, S. K. Hypermutable bacteria isolated from humans--a critical analysis. *Microbiol. Read. Engl.* **152**, 2505–2514 (2006).
146. Rudenko, N. & Dorofeyev, A. Prevention of Recurrent Lower Urinary Tract Infections by Long-term Administration of Fosfomycin Trometamol. *Arzneimittelforschung* **55**, 420–427 (2005).
147. Monden, K., Ando, E., Kumon, H. & Iida, M. Role of fosfomycin in a synergistic combination with ofloxacin against *Pseudomonas aeruginosa* growing in a biofilm. *J. Infect. Chemother.* **8**, 218–226 (2002).
148. Michalopoulos, A. S., Livaditis, I. G. & Gougoutas, V. The revival of fosfomycin. *Int. J. Infect. Dis. IJID Off. Publ. Int. Soc. Infect. Dis.* **15**, e732-739 (2011).
149. Falagas, M. E. *et al.* Fosfomycin versus other antibiotics for the treatment of cystitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J. Antimicrob. Chemother.* **65**, 1862–1877 (2010).
150. Pullukcu, H. *et al.* Fosfomycin in the treatment of extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*-related lower urinary tract infections. *Int. J. Antimicrob. Agents* **29**, 62–65 (2007).

151. Stein, G. E. Fosfomycin tromethamine: single-dose treatment of acute cystitis. *Int. J. Fertil. Womens Med.* **44**, 104–109 (1999).
152. Schito, G. C. Why fosfomycin trometamol as first line therapy for uncomplicated UTI? *Int. J. Antimicrob. Agents* **22 Suppl 2**, 79–83 (2003).
153. Dijkmans, A. C. *et al.* Fosfomycin: Pharmacological, Clinical and Future Perspectives. *Antibiot. Basel Switz.* **6**, 24 (2017).
154. de Cueto, M. *et al.* Executive summary of the diagnosis and treatment of urinary tract infection: Guidelines of the Spanish Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (SEIMC). *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* **35**, 314–320 (2017).
155. Vidal, E. *et al.* Management of urinary tract infection in solid organ transplant recipients: Consensus statement of the Group for the Study of Infection in Transplant Recipients (GESITRA) of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology (SEIMC) and the Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI). *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* **33**, 679.e1-679.e21 (2015).
156. Rodríguez-Lozano, J. *et al.* Antimicrobial susceptibility of microorganisms that cause urinary tract infections in pediatric patients. *Enfermedades Infecc. Microbiol. Clin. Engl. Ed* **36**, 417–422 (2018).
157. Sojo-Dorado, J. *et al.* Effectiveness of Fosfomycin for the Treatment of Multidrug-Resistant Escherichia coli Bacteremic Urinary Tract Infections: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Netw. Open* **5**, e2137277 (2022).
158. Sojo-Dorado, J. *et al.* Effectiveness of fosfomycin trometamol as oral step-down therapy for bacteraemic urinary tract infections due to MDR Escherichia coli: a post hoc analysis of the FOREST randomized trial. *J. Antimicrob. Chemother.* **78**, 1658–1666 (2023).

159. Yamaguchi, Y. *et al.* Characterization of beta-lactam antibiotic-induced vancomycin-resistant MRSA (BIVR) in a patient with septicemia during long-term vancomycin administration. *J. Infect. Chemother. Off. J. Jpn. Soc. Chemother.* **15**, 274–278 (2009).
160. Michalopoulos, A. *et al.* Intravenous fosfomycin for the treatment of nosocomial infections caused by carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in critically ill patients: a prospective evaluation. *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **16**, 184–186 (2010).
161. Forestier, F. *et al.* Ocular penetration kinetics of fosfomycin administered as a one-hour infusion. *Eur. J. Ophthalmol.* **6**, 137–142 (1996).
162. Monzón, M., Oteiza, C., Leiva, J., Lamata, M. & Amorena, B. Biofilm testing of *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates: low performance of vancomycin in relation to other antibiotics. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **44**, 319–324 (2002).
163. Rodríguez-Martínez, J. M., Ballesta, S. & Pascual, A. Activity and penetration of fosfomycin, ciprofloxacin, amoxicillin/clavulanic acid and co-trimoxazole in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Int. J. Antimicrob. Agents* **30**, 366–368 (2007).
164. Miró, J. M. *et al.* High-dose daptomycin plus fosfomycin is safe and effective in treating methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* endocarditis. *Antimicrob. Agents Chemother.* **56**, 4511–4515 (2012).
165. Shaw, E. *et al.* Daptomycin plus fosfomycin versus daptomycin monotherapy in treating MRSA: protocol of a multicentre, randomised, phase III trial. *BMJ Open* **5**, e006723 (2015).

166. Gudiol, F. *et al.* Diagnosis and treatment of bacteremia and endocarditis due to *Staphylococcus aureus*. A clinical guideline from the Spanish Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (SEIMC). *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* **33**, 625.e1-625.e23 (2015).
167. Baquero-Artigao, F. & Del Rosal Rabes, T. Fosfomycin in the pediatric setting: Evidence and potential indications. *Rev. Espanola Quimioter. Publicacion Of. Soc. Espanola Quimioter.* **32 Suppl 1**, 55–61 (2019).
168. Gutiérrez-Gutiérrez, B. *et al.* Effect of appropriate combination therapy on mortality of patients with bloodstream infections due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (INCREMENT): a retrospective cohort study. *Lancet Infect. Dis.* **17**, 726–734 (2017).
169. Pontikis, K. *et al.* Outcomes of critically ill intensive care unit patients treated with fosfomycin for infections due to pandrug-resistant and extensively drug-resistant carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. *Int. J. Antimicrob. Agents* **43**, 52–59 (2014).
170. Papst, L. *et al.* Antibiotic treatment of infections caused by carbapenem-resistant Gram-negative bacilli: an international ESCMID cross-sectional survey among infectious diseases specialists practicing in large hospitals. *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **24**, 1070–1076 (2018).
171. Bassetti, M., Peghin, M. & Pecori, D. The management of multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Curr. Opin. Infect. Dis.* **29**, 583–594 (2016).
172. Silva, J. T., Fernández-Ruiz, M. & Aguado, J. M. Multidrug-resistant Gram-negative infection in solid organ transplant recipients: implications for outcome and treatment. *Curr. Opin. Infect. Dis.* **31**, 499–505 (2018).

173. Candel, F. J. & Cantón, R. Current approach to fosfomycin: From bench to bedside. *Enfermedades Infecc. Microbiol. Clin. Engl. Ed* **37**, 1–3 (2019).
174. Kaye, K. S. *et al.* Fosfomycin for Injection (ZTI-01) Versus Piperacillin-tazobactam for the Treatment of Complicated Urinary Tract Infection Including Acute Pyelonephritis: ZEUS, A Phase 2/3 Randomized Trial. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* **69**, 2045–2056 (2019).
175. Roberts, J. A. & Lipman, J. Pharmacokinetic issues for antibiotics in the critically ill patient. *Crit. Care Med.* **37**, 840–851; quiz 859 (2009).
176. Theuretzbacher, U. Pharmacokinetic and pharmacodynamic issues for antimicrobial therapy in patients with cancer. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* **54**, 1785–1792 (2012).
177. Steele, A. N. *et al.* Gap analysis of pharmacokinetics and pharmacodynamics in burn patients: a review. *J. Burn Care Res. Off. Publ. Am. Burn Assoc.* **36**, e194-211 (2015).
178. Chai, M. G., Cotta, M. O., Abdul-Aziz, M. H. & Roberts, J. A. What Are the Current Approaches to Optimising Antimicrobial Dosing in the Intensive Care Unit? *Pharmaceutics* **12**, E638 (2020).
179. Roberts, J. A. *et al.* DALI: defining antibiotic levels in intensive care unit patients: are current β -lactam antibiotic doses sufficient for critically ill patients? *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* **58**, 1072–1083 (2014).
180. Roberts, J. A. *et al.* Therapeutic drug monitoring of beta-lactams in critically ill patients: proof of concept. *Int. J. Antimicrob. Agents* **36**, 332–339 (2010).
181. Nikolas, S. *et al.* Personalized Antibiotic Therapy for the Critically Ill: Implementation Strategies and Effects on Clinical Outcome of Piperacillin

- Therapeutic Drug Monitoring-A Descriptive Retrospective Analysis. *Antibiot. Basel Switz.* **10**, 1452 (2021).
182. Weber, N. *et al.* Evaluation of pharmacokinetic/pharmacodynamic and clinical outcomes with 6-hourly empiric piperacillin-tazobactam dosing in hematological malignancy patients with febrile neutropenia. *J. Infect. Chemother. Off. J. Jpn. Soc. Chemother.* **25**, 503–508 (2019).
183. Castagnola, E. *et al.* Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antibiotics in cystic fibrosis: a narrative review. *Int. J. Antimicrob. Agents* **58**, 106381 (2021).
184. Busse, D. *et al.* Comparative Plasma and Interstitial Tissue Fluid Pharmacokinetics of Meropenem Demonstrate the Need for Increasing Dose and Infusion Duration in Obese and Non-obese Patients. *Clin. Pharmacokinet.* (2021) doi:10.1007/s40262-021-01070-6.
185. Nyström, P. O. The systemic inflammatory response syndrome: definitions and aetiology. *J. Antimicrob. Chemother.* **41 Suppl A**, 1–7 (1998).
186. Gosling, P., Sanghera, K. & Dickson, G. Generalized vascular permeability and pulmonary function in patients following serious trauma. *J. Trauma* **36**, 477–481 (1994).
187. Jamal, J.-A., Economou, C. J. P., Lipman, J. & Roberts, J. A. Improving antibiotic dosing in special situations in the ICU: burns, renal replacement therapy and extracorporeal membrane oxygenation. *Curr. Opin. Crit. Care* **18**, 460–471 (2012).
188. Cheng, V. *et al.* Population Pharmacokinetics of Piperacillin and Tazobactam in Critically Ill Patients Receiving Extracorporeal Membrane Oxygenation: an ASAP ECMO Study. *Antimicrob. Agents Chemother.* **65**, e0143821 (2021).

189. Adnan, S. *et al.* Pharmacokinetics of meropenem and piperacillin in critically ill patients with indwelling surgical drains. *Int. J. Antimicrob. Agents* **42**, 90–93 (2013).
190. Macedo, E. *et al.* Fluid accumulation, recognition and staging of acute kidney injury in critically-ill patients. *Crit. Care Lond. Engl.* **14**, R82 (2010).
191. McKindley, D. S., Fabian, T. C., Boucher, B. A., Croce, M. A. & Proctor, K. G. Antibiotic pharmacokinetics following fluid resuscitation from traumatic shock. *Arch. Surg. Chic. Ill 1960* **130**, 1321–1328; discussion 1328-1329 (1995).
192. Udy, A. A., Roberts, J. A. & Lipman, J. Implications of augmented renal clearance in critically ill patients. *Nat. Rev. Nephrol.* **7**, 539–543 (2011).
193. Pai, M. P. Antimicrobial Dosing in Specific Populations and Novel Clinical Methodologies: Obesity. *Clin. Pharmacol. Ther.* **109**, 942–951 (2021).
194. Blot, S. I., Pea, F. & Lipman, J. The effect of pathophysiology on pharmacokinetics in the critically ill patient--concepts appraised by the example of antimicrobial agents. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **77**, 3–11 (2014).
195. Ulldemolins, M., Roberts, J. A., Rello, J., Paterson, D. L. & Lipman, J. The effects of hypoalbuminaemia on optimizing antibacterial dosing in critically ill patients. *Clin. Pharmacokinet.* **50**, 99–110 (2011).
196. Joynt, G. M. *et al.* The pharmacokinetics of once-daily dosing of ceftriaxone in critically ill patients. *J. Antimicrob. Chemother.* **47**, 421–429 (2001).
197. Etzel, J. V., Nafziger, A. N. & Bertino, J. S. Variation in the pharmacokinetics of gentamicin and tobramycin in patients with pleural effusions and hypoalbuminemia. *Antimicrob. Agents Chemother.* **36**, 679–681 (1992).

198. Aldaz, A., Ortega, A., Idoate, A., Giráldez, J. & Brugarolas, A. Effects of hepatic function on vancomycin pharmacokinetics in patients with cancer. *Ther. Drug Monit.* **22**, 250–257 (2000).
199. Mangin, O., Urien, S., Mainardi, J.-L., Fagon, J.-Y. & Faisy, C. Vancomycin pharmacokinetic and pharmacodynamic models for critically ill patients with post-sternotomy mediastinitis. *Clin. Pharmacokinet.* **53**, 849–861 (2014).
200. Botha, F. J., van der Bijl, P., Seifart, H. I. & Parkin, D. P. Fluctuation of the volume of distribution of amikacin and its effect on once-daily dosage and clearance in a seriously ill patient. *Intensive Care Med.* **22**, 443–446 (1996).
201. Sime, F. B. *et al.* Altered pharmacokinetics of piperacillin in febrile neutropenic patients with hematological malignancy. *Antimicrob. Agents Chemother.* **58**, 3533–3537 (2014).
202. Udy, A. A., Roberts, J. A., Shorr, A. F., Boots, R. J. & Lipman, J. Augmented renal clearance in septic and traumatized patients with normal plasma creatinine concentrations: identifying at-risk patients. *Crit. Care Lond. Engl.* **17**, R35 (2013).
203. Udy, A. A. *et al.* Determining the mechanisms underlying augmented renal drug clearance in the critically ill: use of exogenous marker compounds. *Crit. Care Lond. Engl.* **18**, 657 (2014).
204. Udy, A. A. *et al.* Subtherapeutic initial β -lactam concentrations in select critically ill patients: association between augmented renal clearance and low trough drug concentrations. *Chest* **142**, 30–39 (2012).
205. Claus, B. O. M. *et al.* Augmented renal clearance is a common finding with worse clinical outcome in critically ill patients receiving antimicrobial therapy. *J. Crit. Care* **28**, 695–700 (2013).

206. Abanades, S. *et al.* Reversible coma secondary to cefepime neurotoxicity. *Ann. Pharmacother.* **38**, 606–608 (2004).
207. Bresson, J. *et al.* Cefepime overdose with neurotoxicity recovered by high-volume haemofiltration. *J. Antimicrob. Chemother.* **62**, 849–850 (2008).
208. Jones, E. M. *et al.* The pharmacokinetics of intravenous ciprofloxacin 400 mg 12 hourly in patients with severe sepsis: the effect of renal function and intra-abdominal disease. *J. Antimicrob. Chemother.* **40**, 121–124 (1997).
209. van Zanten, A. R. H. *et al.* Ciprofloxacin pharmacokinetics in critically ill patients: a prospective cohort study. *J. Crit. Care* **23**, 422–430 (2008).
210. Eyler, R. F., Mueller, B. A., & Medscape. Antibiotic dosing in critically ill patients with acute kidney injury. *Nat. Rev. Nephrol.* **7**, 226–235 (2011).
211. Bergner, R. *et al.* Fluconazole dosing in continuous veno-venous haemofiltration (CVVHF): need for a high daily dose of 800 mg. *Nephrol. Dial. Transplant. Off. Publ. Eur. Dial. Transpl. Assoc. - Eur. Ren. Assoc.* **21**, 1019–1023 (2006).
212. Chen, S. Retooling the creatinine clearance equation to estimate kinetic GFR when the plasma creatinine is changing acutely. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* **24**, 877–888 (2013).
213. Kwong, Y. D. *et al.* The value of kinetic glomerular filtration rate estimation on medication dosing in acute kidney injury. *PLoS One* **14**, e0225601 (2019).
214. Abdul-Aziz, M. H. *et al.* Is prolonged infusion of piperacillin/tazobactam and meropenem in critically ill patients associated with improved pharmacokinetic/pharmacodynamic and patient outcomes? An observation from the Defining Antibiotic Levels in Intensive care unit patients (DALI) cohort. *J. Antimicrob. Chemother.* **71**, 196–207 (2016).

215. Guilhaumou, R. *et al.* Optimization of the treatment with beta-lactam antibiotics in critically ill patients-guidelines from the French Society of Pharmacology and Therapeutics (Société Française de Pharmacologie et Thérapeutique-SFPT) and the French Society of Anaesthesia and Intensive Care Medicine (Société Française d'Anesthésie et Réanimation-SFAR). *Crit. Care Lond. Engl.* **23**, 104 (2019).
216. Roosendaal, R., Bakker-Woudenberg, I. A., van den Berghe-van Raffe, M. & Michel, M. F. Continuous versus intermittent administration of ceftazidime in experimental *Klebsiella pneumoniae pneumonia* in normal and leukopenic rats. *Antimicrob. Agents Chemother.* **30**, 403–408 (1986).
217. Turnidge, J. D. The pharmacodynamics of beta-lactams. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* **27**, 10–22 (1998).
218. Ariano, R. E. *et al.* Pharmacokinetics and pharmacodynamics of meropenem in febrile neutropenic patients with bacteremia. *Ann. Pharmacother.* **39**, 32–38 (2005).
219. Roberts, J. A., Kruger, P., Paterson, D. L. & Lipman, J. Antibiotic resistance--what's dosing got to do with it? *Crit. Care Med.* **36**, 2433–2440 (2008).
220. Rhomberg, P. R., Fritsche, T. R., Sader, H. S. & Jones, R. N. Antimicrobial susceptibility pattern comparisons among intensive care unit and general ward Gram-negative isolates from the Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection Program (USA). *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **56**, 57–62 (2006).
221. Hesje, C. K., Tillotson, G. S. & Blondeau, J. M. MICs, MPCs and PK/PDs: a match (sometimes) made in hosts. *Expert Rev. Respir. Med.* **1**, 7–16 (2007).
222. Credito, K., Kosowska-Shick, K. & Appelbaum, P. C. Mutant prevention concentrations of four carbapenems against Gram-negative rods. *Antimicrob. Agents Chemother.* **54**, 2692–2695 (2010).

223. Sime, F. B., Roberts, M. S. & Roberts, J. A. Optimization of dosing regimens and dosing in special populations. *Clin. Microbiol. Infect.* **21**, 886–893 (2015).
224. Rhodes, N. J. *et al.* Defining Clinical Exposures of Cefepime for Gram-Negative Bloodstream Infections That Are Associated with Improved Survival. *Antimicrob. Agents Chemother.* **60**, 1401–1410 (2015).
225. Crandon, J. L., Luyt, C.-E., Aubry, A., Chastre, J. & Nicolau, D. P. Pharmacodynamics of carbapenems for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia: associations with clinical outcome and recurrence. *J. Antimicrob. Chemother.* **71**, 2534–2537 (2016).
226. Tam, V. H. *et al.* Optimization of meropenem minimum concentration/MIC ratio to suppress in vitro resistance of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**, 4920–4927 (2005).
227. Li, X. *et al.* Evaluation of meropenem regimens suppressing emergence of resistance in *Acinetobacter baumannii* with human simulated exposure in an in vitro intravenous-infusion hollow-fiber infection model. *Antimicrob. Agents Chemother.* **58**, 6773–6781 (2014).
228. Tam, V. H. *et al.* In vivo dynamics of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* selection after suboptimal dosing. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **64**, 427–433 (2009).
229. VanScoy, B. D. *et al.* Relationship between ceftolozane-tazobactam exposure and selection for *Pseudomonas aeruginosa* resistance in a hollow-fiber infection model. *Antimicrob. Agents Chemother.* **58**, 6024–6031 (2014).

230. Vanscoy, B. *et al.* Relationship between ceftolozane-tazobactam exposure and drug resistance amplification in a hollow-fiber infection model. *Antimicrob. Agents Chemother.* **57**, 4134–4138 (2013).
231. Drusano, G. L. *et al.* Resistance emergence mechanism and mechanism of resistance suppression by tobramycin for cefepime for *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **56**, 231–242 (2012).
232. Coleman, K. *et al.* Activities of ceftazidime and avibactam against β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in a hollow-fiber pharmacodynamic model. *Antimicrob. Agents Chemother.* **58**, 3366–3372 (2014).
233. Shields, R. K. *et al.* Clinical Outcomes, Drug Toxicity, and Emergence of Ceftazidime-Avibactam Resistance Among Patients Treated for Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Infections. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* **63**, 1615–1618 (2016).
234. Heffernan, A. J., Sime, F. B., Lipman, J. & Roberts, J. A. Individualising Therapy to Minimize Bacterial Multidrug Resistance. *Drugs* **78**, 621–641 (2018).
235. McDonald, C. *et al.* Is high-dose β -lactam therapy associated with excessive drug toxicity in critically ill patients? *Minerva Anesthesiol.* **82**, 957–965 (2016).
236. Cotta, M. O. *et al.* Even high-dose extended infusions may not yield desired concentrations of β -lactams: the value of therapeutic drug monitoring. *Infect. Dis.* **47**, 739–742 (2015).
237. Sime, F. B., Roberts, M. S., Peake, S. L., Lipman, J. & Roberts, J. A. Does Beta-lactam Pharmacokinetic Variability in Critically Ill Patients Justify Therapeutic Drug Monitoring? A Systematic Review. *Ann. Intensive Care* **2**, 35 (2012).

238. Boselli, E. *et al.* Steady-state plasma and intrapulmonary concentrations of cefepime administered in continuous infusion in critically ill patients with severe nosocomial pneumonia. *Crit. Care Med.* **31**, 2102–2106 (2003).
239. Osthoff, M., Siegemund, M., Balestra, G., Abdul-Aziz, M. H. & Roberts, J. A. Prolonged administration of β -lactam antibiotics - a comprehensive review and critical appraisal. *Swiss Med. Wkly.* **146**, w14368 (2016).
240. Roberts, J. A. *et al.* Meropenem dosing in critically ill patients with sepsis and without renal dysfunction: intermittent bolus versus continuous administration? Monte Carlo dosing simulations and subcutaneous tissue distribution. *J. Antimicrob. Chemother.* **64**, 142–150 (2009).
241. Kuti, J. L., Dandekar, P. K., Nightingale, C. H. & Nicolau, D. P. Use of Monte Carlo simulation to design an optimized pharmacodynamic dosing strategy for meropenem. *J. Clin. Pharmacol.* **43**, 1116–1123 (2003).
242. Asín-Prieto, E. *et al.* Population pharmacokinetics of piperacillin and tazobactam in critically ill patients undergoing continuous renal replacement therapy: application to pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis. *J. Antimicrob. Chemother.* **69**, 180–189 (2014).
243. Udy, A. A. *et al.* Are standard doses of piperacillin sufficient for critically ill patients with augmented creatinine clearance? *Crit. Care Lond. Engl.* **19**, 28 (2015).
244. Falagas, M. E., Tansarli, G. S., Ikawa, K. & Vardakas, K. Z. Clinical outcomes with extended or continuous versus short-term intravenous infusion of carbapenems and piperacillin/tazobactam: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* **56**, 272–282 (2013).

245. Felton, T. W. *et al.* Impact of Bolus dosing versus continuous infusion of Piperacillin and Tazobactam on the development of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **57**, 5811–5819 (2013).
246. Teo, J., Liew, Y., Lee, W. & Kwa, A. L.-H. Prolonged infusion versus intermittent boluses of β -lactam antibiotics for treatment of acute infections: a meta-analysis. *Int. J. Antimicrob. Agents* **43**, 403–411 (2014).
247. Shiu, J., Wang, E., Tejani, A. M. & Wasdell, M. Continuous versus intermittent infusions of antibiotics for the treatment of severe acute infections. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2013**, CD008481 (2013).
248. Dulhunty, J. M. *et al.* A Multicenter Randomized Trial of Continuous versus Intermittent β -Lactam Infusion in Severe Sepsis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **192**, 1298–1305 (2015).
249. Dulhunty, J. M. *et al.* Continuous infusion of beta-lactam antibiotics in severe sepsis: a multicenter double-blind, randomized controlled trial. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* **56**, 236–244 (2013).
250. Harris, P., Paterson, D. & Rogers, B. Facing the challenge of multidrug-resistant gram-negative bacilli in Australia. *Med. J. Aust.* **202**, 243–247 (2015).
251. Abdul-Aziz, M. H. *et al.* Beta-Lactam Infusion in Severe Sepsis (BLISS): a prospective, two-centre, open-labelled randomised controlled trial of continuous versus intermittent beta-lactam infusion in critically ill patients with severe sepsis. *Intensive Care Med.* **42**, 1535–1545 (2016).
252. Abdul-Aziz, M. H., Dulhunty, J. M., Bellomo, R., Lipman, J. & Roberts, J. A. Continuous beta-lactam infusion in critically ill patients: the clinical evidence. *Ann. Intensive Care* **2**, 37 (2012).

253. De Waele, J. J. *et al.* Factors associated with inadequate early vancomycin levels in critically ill patients treated with continuous infusion. *Int. J. Antimicrob. Agents* **41**, 434–438 (2013).
254. De Waele, J. J., Lipman, J., Carlier, M. & Roberts, J. A. Subtleties in practical application of prolonged infusion of β -lactam antibiotics. *Int. J. Antimicrob. Agents* **45**, 461–463 (2015).
255. Carlier, M., Stove, V., Verstraete, A. G. & De Waele, J. J. Stability of generic brands of meropenem reconstituted in isotonic saline. *Minerva Anesthesiol.* **81**, 283–287 (2015).
256. Jenkins, A., Jamieson, C. & Santillo, M. Systematic review of room temperature stability of key beta-lactam antibiotics for extended infusions in inpatient settings. *Eur. J. Hosp. Pharm. Sci. Pract.* **31**, 2–9 (2023).
257. Claus, B., Buyle, F., Robays, H. & Vogelaers, D. Importance of infusion volume and pump characteristics in extended administration of β -lactam antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.* **54**, 4950 (2010).
258. Adembri, C. *et al.* Cefazolin bolus and continuous administration for elective cardiac surgery: improved pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **140**, 471–475 (2010).
259. Lagacé-Wiens, P. & Rubinstein, E. Adverse reactions to β -lactam antimicrobials. *Expert Opin. Drug Saf.* **11**, 381–399 (2012).
260. Deshayes, S., Coquerel, A. & Verdon, R. Neurological Adverse Effects Attributable to β -Lactam Antibiotics: A Literature Review. *Drug Saf.* **40**, 1171–1198 (2017).

261. Roger, C. & Louart, B. Beta-Lactams Toxicity in the Intensive Care Unit: An Underestimated Collateral Damage? *Microorganisms* **9**, 1505 (2021).
262. Lepak, A. J. *et al.* In Vivo Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of ZTI-01 (Fosfomicin for Injection) in the Neutropenic Murine Thigh Infection Model against *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **61**, 10.1128/aac.00476-17 (2017).
263. VanScoy, B. D. *et al.* Exploration of the Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Relationships for Fosfomicin Efficacy Using an In Vitro Infection Model. *Antimicrob. Agents Chemother.* **59**, 7170–7177 (2015).
264. Mazzei, T., Cassetta, M. I., Fallani, S., Arrigucci, S. & Novelli, A. Pharmacokinetic and pharmacodynamic aspects of antimicrobial agents for the treatment of uncomplicated urinary tract infections. *Int. J. Antimicrob. Agents* **28 Suppl 1**, S35-41 (2006).
265. Abbott, I. J. *et al.* Fosfomicin efficacy and emergence of resistance among Enterobacteriaceae in an in vitro dynamic bladder infection model. *J. Antimicrob. Chemother.* **73**, 709–719 (2018).
266. Roberts, D. M. *et al.* A multicenter study on the effect of continuous hemodiafiltration intensity on antibiotic pharmacokinetics. *Crit. Care Lond. Engl.* **19**, 84 (2015).
267. Parker, S. L. *et al.* Population Pharmacokinetics of Fosfomicin in Critically Ill Patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* **59**, 6471–6476 (2015).
268. Matzi, V. *et al.* Extracellular concentrations of fosfomicin in lung tissue of septic patients. *J. Antimicrob. Chemother.* **65**, 995–998 (2010).

269. Montgomery, A. B., Vallance, S., Abuan, T., Tservistas, M. & Davies, A. A randomized double-blind placebo-controlled dose-escalation phase 1 study of aerosolized amikacin and fosfomycin delivered via the PARI investigational eFlow® inline nebulizer system in mechanically ventilated patients. *J. Aerosol Med. Pulm. Drug Deliv.* **27**, 441–448 (2014).
270. Palmer, L. B. & Smaldone, G. C. The Unfulfilled Promise of Inhaled Therapy in Ventilator-Associated Infections: Where Do We Go from Here? *J. Aerosol Med. Pulm. Drug Deliv.* **35**, 11–24 (2022).
271. Mouton, J. W. *et al.* Conserving antibiotics for the future: New ways to use old and new drugs from a pharmacokinetic and pharmacodynamic perspective. *Drug Resist. Updat.* **14**, 107–117 (2011).
272. Muller, A. E., Theuretzbacher, U. & Mouton, J. W. Use of old antibiotics now and in the future from a pharmacokinetic/pharmacodynamic perspective. *Clin. Microbiol. Infect.* **21**, 881–885 (2015).
273. de Velde, F., Mouton, J. W., de Winter, B. C. M., van Gelder, T. & Koch, B. C. P. Clinical applications of population pharmacokinetic models of antibiotics: Challenges and perspectives. *Pharmacol. Res.* **134**, 280–288 (2018).
274. Zeitlinger, M. A. *et al.* Protein Binding: Do We Ever Learn? *Antimicrob. Agents Chemother.* **55**, 3067–3074 (2011).
275. Sinnollareddy, M. G., Roberts, M. S., Lipman, J. & Roberts, J. A. β -lactam pharmacokinetics and pharmacodynamics in critically ill patients and strategies for dose optimization: a structured review. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **39**, 489–496 (2012).

276. Wong, G. *et al.* An international, multicentre survey of β -lactam antibiotic therapeutic drug monitoring practice in intensive care units. *J. Antimicrob. Chemother.* **69**, 1416–1423 (2014).
277. Wong, G. *et al.* Protein binding of β -lactam antibiotics in critically ill patients: can we successfully predict unbound concentrations? *Antimicrob. Agents Chemother.* **57**, 6165–6170 (2013).
278. Schleibinger, M. *et al.* Protein binding characteristics and pharmacokinetics of ceftriaxone in intensive care unit patients. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **80**, 525–533 (2015).
279. Mouton, J. W. *et al.* Tissue concentrations: do we ever learn? *J. Antimicrob. Chemother.* **61**, 235–237 (2008).
280. Pai, M. P. & Bearden, D. T. Antimicrobial dosing considerations in obese adult patients. *Pharmacotherapy* **27**, 1081–1091 (2007).
281. Rodvold, K. A., Hope, W. W. & Boyd, S. E. Considerations for effect site pharmacokinetics to estimate drug exposure: concentrations of antibiotics in the lung. *Curr. Opin. Pharmacol.* **36**, 114–123 (2017).
282. Jelliffe, R. *et al.* *Nonlinear Parametric and Nonparametric Population Pharmacokinetic Modeling on a Supercomputer, Technical Report 99-1. University of Southern California, School of Medicine, Laboratory of Applied Pharmacokinetics (1999).*
<https://www.lapk.org/pubsinfo/TechReports/TR99-1.pdf>.
283. Mould, D. R. & Upton, R. N. Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development. *CPT Pharmacomet. Syst. Pharmacol.* **1**, e6 (2012).
284. Zhang, Y., Huo, M., Zhou, J. & Xie, S. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Comput. Methods Programs Biomed.* **99**, 306–314 (2010).

285. Mould, D. R. & Upton, R. N. Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development-part 2: introduction to pharmacokinetic modeling methods. *CPT Pharmacomet. Syst. Pharmacol.* **2**, e38 (2013).
286. Sherwin, C. M. T., Kiang, T. K. L., Spigarelli, M. G. & Ensom, M. H. H. Fundamentals of population pharmacokinetic modelling: validation methods. *Clin. Pharmacokinet.* **51**, 573–590 (2012).
287. Tatarinova, T. *et al.* Two general methods for population pharmacokinetic modeling: non-parametric adaptive grid and non-parametric Bayesian. *J. Pharmacokinet. Pharmacodyn.* **40**, 189–199 (2013).
288. Racine-Poon, A. & Wakefield, J. Statistical methods for population pharmacokinetic modelling. *Stat. Methods Med. Res.* **7**, 63–84 (1998).
289. Liu, X. & Wang, Y. Comparing the performance of FOCE and different expectation-maximization methods in handling complex population physiologically-based pharmacokinetic models. *J. Pharmacokinet. Pharmacodyn.* **43**, 359–370 (2016).
290. Neely, M. N., van Guilder, M. G., Yamada, W. M., Schumitzky, A. & Jelliffe, R. W. Accurate detection of outliers and subpopulations with Pmetrics, a nonparametric and parametric pharmacometric modeling and simulation package for R. *Ther. Drug Monit.* **34**, 467–476 (2012).
291. Proost, J. H. & Eleveld, D. J. Performance of an iterative two-stage bayesian technique for population pharmacokinetic analysis of rich data sets. *Pharm. Res.* **23**, 2748–2759 (2006).

292. Jelliffe, R. W. *et al.* Model-based, goal-oriented, individualised drug therapy. Linkage of population modelling, new 'multiple model' dosage design, bayesian feedback and individualised target goals. *Clin. Pharmacokinet.* **34**, 57–77 (1998).
293. Llanos-Paez, C. C., Hennig, S. & Staatz, C. E. Population pharmacokinetic modelling, Monte Carlo simulation and semi-mechanistic pharmacodynamic modelling as tools to personalize gentamicin therapy. *J. Antimicrob. Chemother.* **72**, 639–667 (2017).
294. Roberts, J. A., Kirkpatrick, C. M. J. & Lipman, J. Monte Carlo simulations: maximizing antibiotic pharmacokinetic data to optimize clinical practice for critically ill patients. *J. Antimicrob. Chemother.* **66**, 227–231 (2011).
295. Bonate, P. L. A brief introduction to Monte Carlo simulation. *Clin. Pharmacokinet.* **40**, 15–22 (2001).
296. Mouton, J. W. *et al.* The role of pharmacokinetics/pharmacodynamics in setting clinical MIC breakpoints: the EUCAST approach. *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **18**, E37-45 (2012).
297. de Velde, F. *et al.* Non-linear absorption pharmacokinetics of amoxicillin: consequences for dosing regimens and clinical breakpoints. *J. Antimicrob. Chemother.* **71**, 2909–2917 (2016).
298. Smits, A. *et al.* Prospective Evaluation of a Model-Based Dosing Regimen for Amikacin in Preterm and Term Neonates in Clinical Practice. *Antimicrob. Agents Chemother.* **59**, 6344–6351 (2015).
299. Forrest, A. *et al.* Pharmacodynamics of intravenous ciprofloxacin in seriously ill patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* **37**, 1073–1081 (1993).

300. Ambrose, P. G., Bhavnani, S. M. & Owens, R. C. Clinical pharmacodynamics of quinolones. *Infect. Dis. Clin. North Am.* **17**, 529–543 (2003).
301. Madaras-Kelly, K. J., Ostergaard, B. E., Hovde, L. B. & Rotschafer, J. C. Twenty-four-hour area under the concentration-time curve/MIC ratio as a generic predictor of fluoroquinolone antimicrobial effect by using three strains of *Pseudomonas aeruginosa* and an in vitro pharmacodynamic model. *Antimicrob. Agents Chemother.* **40**, 627–632 (1996).
302. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Ministerio de Sanidad. Ficha técnica CIPROFLOXACINO NORMON 2 mg/ml SOLUCION PARA PERFUSION EFG. https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/62646/FT_62646.html.
303. Zelenitsky, S., Ariano, R., Harding, G. & Forrest, A. Evaluating ciprofloxacin dosing for *Pseudomonas aeruginosa* infection by using clinical outcome-based Monte Carlo simulations. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**, 4009–4014 (2005).
304. Haeseke, M. *et al.* The ciprofloxacin target AUC : MIC ratio is not reached in hospitalized patients with the recommended dosing regimens. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **75**, 180–185 (2013).
305. Khachman, D. *et al.* Optimizing ciprofloxacin dosing in intensive care unit patients through the use of population pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis and Monte Carlo simulations. *J. Antimicrob. Chemother.* **66**, 1798–1809 (2011).
306. Label CIPRO® (ciprofloxacin hydrochloride) tablet. U.S. Food and Drug Administration. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2016/019537s086lbl.pdf.

307. Centro de Información online de Medicamentos de la AEMPS (CIMA). Ficha técnica CIPROFLOXACINO NORMON 250 mg COMPRIMIDOS RECUBIERTOS CON PELICULA EFG. https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/62299/FT_62299.html.
308. König, C. *et al.* Population pharmacokinetics and dosing simulations of ceftazidime in critically ill patients receiving sustained low-efficiency dialysis. *J. Antimicrob. Chemother.* **72**, 1433–1440 (2017).
309. Touw, D. J., Neef, C., Thomson, A. H., Vinks, A. A. & Therapeutic, on behalf of the C.-E. of. Cost-Effectiveness of Therapeutic Drug Monitoring: A Systematic Review. *Ther. Drug Monit.* **27**, 10 (2005).
310. Fuchs, A., Csajka, C., Thoma, Y., Buclin, T. & Widmer, N. Benchmarking therapeutic drug monitoring software: a review of available computer tools. *Clin. Pharmacokinet.* **52**, 9–22 (2013).
311. Mueller-Schoell, A. *et al.* Therapeutic drug monitoring of oral targeted antineoplastic drugs. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **77**, 441–464 (2021).
312. Dubovitskaya, A., Buclin, T., Schumacher, M., Aberer, K. & Thoma, Y. TUCUXI: An Intelligent System for Personalized Medicine from Individualization of Treatments to Research Databases and Back. in *Proceedings of the 8th ACM International Conference on Bioinformatics, Computational Biology, and Health Informatics* 223–232 (Association for Computing Machinery, New York, NY, USA, 2017). doi:10.1145/3107411.3107439.
313. Pérez-Blanco, J. S. & Lanao, J. M. Model-Informed Precision Dosing (MIPD). *Pharmaceutics* **14**, 2731 (2022).

314. Messori, A. *et al.* PKRD: a pharmacokinetic program for least-squares and bayesian analysis of repeated-dose pharmacokinetic curves. *Comput. Methods Programs Biomed.* **38**, 27–35 (1992).
315. Pai, M. P., Neely, M., Rodvold, K. A. & Lodise, T. P. Innovative approaches to optimizing the delivery of vancomycin in individual patients. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **77**, 50–57 (2014).
316. Del Valle-Moreno, P. *et al.* Model-Informed Precision Dosing Software Tools for Dosage Regimen Individualization: A Scoping Review. *Pharmaceutics* **15**, 1859 (2023).
317. Roberts, J. A., Norris, R., Paterson, D. L. & Martin, J. H. Therapeutic drug monitoring of antimicrobials. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **73**, 27–36 (2012).
318. Wong, G., Sime, F. B., Lipman, J. & Roberts, J. A. How do we use therapeutic drug monitoring to improve outcomes from severe infections in critically ill patients? *BMC Infect. Dis.* **14**, 288 (2014).
319. Darwich, A. S. *et al.* Why has model-informed precision dosing not yet become common clinical reality? lessons from the past and a roadmap for the future. *Clin. Pharmacol. Ther.* **101**, 646–656 (2017).
320. Neely, M. Scalpels not hammers: The way forward for precision drug prescription. *Clin. Pharmacol. Ther.* **101**, 368–372 (2017).
321. Tängdén, T. *et al.* The role of infection models and PK/PD modelling for optimising care of critically ill patients with severe infections. *Intensive Care Med.* **43**, 1021–1032 (2017).
322. van Lent-Evers, N. A., Mathôt, R. A., Geus, W. P., van Hout, B. A. & Vinks, A. A. Impact of goal-oriented and model-based clinical pharmacokinetic dosing of

- aminoglycosides on clinical outcome: a cost-effectiveness analysis. *Ther. Drug Monit.* **21**, 63–73 (1999).
323. Destache, C. J., Meyer, S. K., Bittner, M. J. & Hermann, K. G. Impact of a clinical pharmacokinetic service on patients treated with aminoglycosides: a cost-benefit analysis. *Ther. Drug Monit.* **12**, 419–426 (1990).
324. Welty, T. E. & Copa, A. K. Impact of vancomycin therapeutic drug monitoring on patient care. *Ann. Pharmacother.* **28**, 1335–1339 (1994).
325. Fernández de Gatta, M. D. *et al.* Cost-effectiveness analysis of serum vancomycin concentration monitoring in patients with hematologic malignancies. *Clin. Pharmacol. Ther.* **60**, 332–340 (1996).
326. Zhang, Y. *et al.* Therapeutic Drug Monitoring Coupled With Bayesian Forecasting Could Prevent Vancomycin-Associated Nephrotoxicity in Renal Insufficiency Patients: A Prospective Study and Pharmacoeconomic Analysis. *Ther. Drug Monit.* **42**, 600–609 (2020).
327. Scaglione, F. *et al.* Feedback dose alteration significantly affects probability of pathogen eradication in nosocomial pneumonia. *Eur. Respir. J.* **34**, 394–400 (2009).
328. Pai Mangalore, R. *et al.* Beta-Lactam Antibiotic Therapeutic Drug Monitoring in Critically Ill Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* **75**, 1848–1860 (2022).
329. Cojutti, P. G. *et al.* Successful Treatment of Bacteremia and Ventilator-Associated Pneumonia Caused by KPC/OXA-48-like *Klebsiella pneumoniae* Co-Producer with a Continuous Infusion of High-Dose Meropenem Plus Fosfomicin Guided by Real-Time Therapeutic Drug Monitoring. *Infect. Dis. Rep.* **14**, 88–92 (2022).

330. Neef, C., Touw, D. J., Hartevelde, A. R., Eerland, J. J. & Uges, D. R. A. Pitfalls in TDM of antibiotic drugs: analytical and modelling issues. *Ther. Drug Monit.* **28**, 686–689 (2006).
331. Mouton, J. W. *et al.* MIC-based dose adjustment: facts and fables. *J. Antimicrob. Chemother.* **73**, 564–568 (2018).
332. Mabilat, C. *et al.* Diagnostic and medical needs for therapeutic drug monitoring of antibiotics. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **39**, 791–797 (2020).
333. Arroyo-Currás, N. *et al.* Real-time measurement of small molecules directly in awake, ambulatory animals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **114**, 645–650 (2017).
334. Rawson, T. M. *et al.* Delivering precision antimicrobial therapy through closed-loop control systems. *J. Antimicrob. Chemother.* **73**, 835–843 (2018).
335. Gowers, S. A. N. *et al.* Development of a Minimally Invasive Microneedle-Based Sensor for Continuous Monitoring of β -Lactam Antibiotic Concentrations in Vivo. *ACS Sens.* **4**, 1072–1080 (2019).
336. Al-Aqbi, Z. T., Yap, Y. C., Li, F. & Breadmore, M. C. Integrated Microfluidic Devices Fabricated in Poly (Methyl Methacrylate) (PMMA) for On-site Therapeutic Drug Monitoring of Aminoglycosides in Whole Blood. *Biosensors* **9**, 19 (2019).
337. Ghimire, S. *et al.* Evaluation of Saliva as a Potential Alternative Sampling Matrix for Therapeutic Drug Monitoring of Levofloxacin in Patients with Multidrug-Resistant Tuberculosis. *Antimicrob. Agents Chemother.* **63**, e02379-18 (2019).
338. Bartal, C. *et al.* Pharmacokinetic dosing of aminoglycosides: a controlled trial. *Am. J. Med.* **114**, 194–198 (2003).

339. De Waele, J. J. *et al.* Therapeutic drug monitoring-based dose optimisation of piperacillin and meropenem: a randomised controlled trial. *Intensive Care Med.* **40**, 380–387 (2014).
340. Carlier, M. *et al.* Assays for therapeutic drug monitoring of β -lactam antibiotics: A structured review. *Int. J. Antimicrob. Agents* **46**, 367–375 (2015).
341. Paal, M. *et al.* Comparative LC-MS/MS and HPLC-UV Analyses of Meropenem and Piperacillin in Critically Ill Patients. *Clin. Lab.* **65**, (2019).
342. 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* **221**, 121641 (2021).
343. McWhinney, B. C. *et al.* Analysis of 12 beta-lactam antibiotics in human plasma by HPLC with ultraviolet detection. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.* **878**, 2039–2043 (2010).
344. Leung, K. S.-Y. & Fong, B. M.-W. LC-MS/MS in the routine clinical laboratory: has its time come? *Anal. Bioanal. Chem.* **406**, 2289–2301 (2014).
345. Ohmori, T. *et al.* Simultaneous determination of eight β -lactam antibiotics in human serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.* **879**, 1038–1042 (2011).
346. Carlier, M., De Waele, J. J., Verstraete, A. G. & Stove, V. Exploration of the pre-analytical stability of β -lactam antibiotics in plasma and blood—implications for therapeutic drug monitoring and pharmacokinetic studies. *Clin. Chem. Lab. Med.* **53**, e227-230 (2015).

347. Verdier, M.-C. *et al.* Simultaneous determination of 12 beta-lactam antibiotics in human plasma by high-performance liquid chromatography with UV detection: application to therapeutic drug monitoring. *Antimicrob. Agents Chemother.* **55**, 4873–4879 (2011).
348. Colin, P., De Bock, L., T'jollyn, H., Boussery, K. & Van Boclaer, J. Development and validation of a fast and uniform approach to quantify β -lactam antibiotics in human plasma by solid phase extraction-liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Talanta* **103**, 285–293 (2013).
349. Briscoe, S. E., McWhinney, B. C., Lipman, J., Roberts, J. A. & Ungerer, J. P. J. A method for determining the free (unbound) concentration of ten beta-lactam antibiotics in human plasma using high performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.* **907**, 178–184 (2012).
350. Wolff, F. *et al.* Rapid quantification of six β -lactams to optimize dosage regimens in severely septic patients. *Talanta* **103**, 153–160 (2013).
351. Chhonker, Y. S. *et al.* Simultaneous LC-MS/MS method for the quantitation of Azithromycin, Hydroxychloroquine and its metabolites in SARS-CoV-2(-/+) populations using dried blood spots. *Sci. Rep.* **13**, 16428 (2023).
352. De Kesel, P. M., Sadones, N., Capiiau, S., Lambert, W. E. & Stove, C. P. Hematocritical issues in quantitative analysis of dried blood spots: challenges and solutions. *Bioanalysis* **5**, 2023–2041 (2013).
353. Cohen-Wolkowicz, M. *et al.* Developmental pharmacokinetics of piperacillin and tazobactam using plasma and dried blood spots from infants. *Antimicrob. Agents Chemother.* **58**, 2856–2865 (2014).

354. la Marca, G. *et al.* Rapid and sensitive LC-MS/MS method for the analysis of antibiotic linezolid on dried blood spot. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **67–68**, 86–91 (2012).
355. la Marca, G. *et al.* Development of an UPLC-MS/MS method for the determination of antibiotic ertapenem on dried blood spots. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **61**, 108–113 (2012).
356. Barco, S. *et al.* A validated LC-MS/MS method for the quantification of piperacillin/tazobactam on dried blood spot. *Bioanalysis* **6**, 2795–2802 (2014).
357. Chen, Q., Andersson, A., Mecklenburg, M. & Xie, B. Fast determination of antibiotics in whole blood. *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **19**, 869–874 (2013).
358. Omar, M. A., Abdelmageed, O. H. & Attia, T. Z. Kinetic spectrofluorimetric determination of certain cephalosporins in human plasma. *Talanta* **77**, 1394–1404 (2009).
359. Kneebone, J., Tsang, P. C. W. & Townson, D. H. Short communication: Rapid antibiotic screening tests detect antibiotic residues in powdered milk products. *J. Dairy Sci.* **93**, 3961–3964 (2010).
360. Salter, R. S. *et al.* Validation of the charm 3 SL3 beta-lactam test for screening raw milk in compliance with the U.S. pasteurized milk ordinance. Performance Tested Method 071002. *J. AOAC Int.* **94**, 348–357 (2011).
361. Reybroeck, W., Ooghe, S., De Brabander, H. F. & Daeseleire, E. Validation of the betaeta-s.t.a.r. 1 + 1 for rapid screening of residues of beta-lactam antibiotics in milk. *Food Addit. Contam. Part Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* **27**, 1084–1095 (2010).

362. Bacigalupo, M. A., Meroni, G., Secundo, F. & Lelli, R. Time-resolved fluoroimmunoassay for quantitative determination of ampicillin in cow milk samples with different fat contents. *Talanta* **77**, 126–130 (2008).
363. Benito-Peña, E., Moreno-Bondi, M. C., Orellana, G., Maquieira, A. & van Amerongen, A. Development of a novel and automated fluorescent immunoassay for the analysis of beta-lactam antibiotics. *J. Agric. Food Chem.* **53**, 6635–6642 (2005).
364. Chan, P.-H. *et al.* Rational design of a novel fluorescent biosensor for beta-lactam antibiotics from a class A beta-lactamase. *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 4074–4075 (2004).
365. Wong, W.-T. *et al.* Structural studies of the mechanism for biosensing antibiotics in a fluorescein-labeled β -lactamase. *BMC Struct. Biol.* **11**, 15 (2011).
366. Finfer, S. *et al.* A comparison of albumin and saline for fluid resuscitation in the intensive care unit. *N. Engl. J. Med.* **350**, 2247–2256 (2004).
367. Nilsson, L. B. The bioanalytical challenge of determining unbound concentration and protein binding for drugs. *Bioanalysis* **5**, 3033–3050 (2013).
368. Kratzer, A., Liebchen, U., Schleibinger, M., Kees, M. G. & Kees, F. Determination of free vancomycin, ceftriaxone, cefazolin and ertapenem in plasma by ultrafiltration: impact of experimental conditions. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.* **961**, 97–102 (2014).
369. Connor, M. J. *et al.* Therapeutic drug monitoring of piperacillin-tazobactam using spent dialysate effluent in patients receiving continuous venovenous hemodialysis. *Antimicrob. Agents Chemother.* **55**, 557–560 (2011).

370. Vuignier, K., Schappler, J., Veuthey, J.-L., Carrupt, P.-A. & Martel, S. Drug-protein binding: a critical review of analytical tools. *Anal. Bioanal. Chem.* **398**, 53–66 (2010).
371. Chou, Y.-W., Yang, Y.-H., Chen, J.-H., Kuo, C.-C. & Chen, S.-H. Quantification of meropenem in plasma and cerebrospinal fluid by micellar electrokinetic capillary chromatography and application in bacterial meningitis patients. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.* **856**, 294–301 (2007).
372. Yang, Y.-H., Wu, W.-Y., Yeh, H.-H. & Chen, S.-H. Simultaneous determination of cefepime and vancomycin in plasma and cerebrospinal fluid by MEKC with direct sample injection and application for bacterial meningitis. *Electrophoresis* **28**, 1788–1797 (2007).
373. Tseng, S.-H., Yang, Y.-H., Chen, Y.-R. & Chen, S.-H. Determination of cefepime in plasma and cerebrospinal fluid by micellar electrokinetic chromatography with direct sample injection. *Electrophoresis* **25**, 1641–1647 (2004).
374. Palacios, F. J. J., Mochón, M. C., Sánchez, J. C. J., López, M. Á. B. & Pérez, A. G. Validation of an HPLC Method for Determination of Cefepime (a Fourth-Generation Cephalosporin). Determination in Human Serum, Cerebrospinal Fluid, and Urine. Pharmacokinetic Profiles. *Chromatographia* **62**, 355–361 (2005).
375. Ye, G. *et al.* Simultaneous determination of vancomycin and ceftazidime in cerebrospinal fluid in craniotomy patients by high-performance liquid chromatography. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **48**, 860–865 (2008).
376. Yeh, H.-H. *et al.* Determination of ceftazidime in plasma and cerebrospinal fluid by micellar electrokinetic chromatography with direct sample injection. *Electrophoresis* **26**, 927–934 (2005).

377. de Diego Glaría, M., Mosciati, G. G. & Ramos, R. G. Determination of ceftriaxone in cerebrospinal fluid by ion-pair liquid chromatography. *J. AOAC Int.* **88**, 436–439 (2005).
378. Scanes, T., Hundt, A. F., Swart, K. J. & Hundt, H. K. Simultaneous determination of cefotaxime and desacetylcefotaxime in human plasma and cerebrospinal fluid by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. App.* **750**, 171–176 (2001).
379. Matsuda, T. *et al.* LC Method for the Determination of Meropenem in Cerebrospinal Fluid: Application to Therapeutic Drug Monitoring. *Chromatographia* **69**, 1031–1034 (2009).
380. Protti, M., Mandrioli, R. & Mercolini, L. Tutorial: Volumetric absorptive microsampling (VAMS). *Anal. Chim. Acta* **1046**, 32–47 (2019).
381. Denniff, P. & Spooner, N. Volumetric absorptive microsampling: a dried sample collection technique for quantitative bioanalysis. *Anal. Chem.* **86**, 8489–8495 (2014).
382. Spooner, N. *et al.* A device for dried blood microsampling in quantitative bioanalysis: overcoming the issues associated blood hematocrit. *Bioanalysis* **7**, 653–659 (2015).
383. Takyi-Williams, J. *et al.* Bioanalysis of six antibiotics from volumetric microsamples: a new tool for precision dosing in critically ill children. *Bioanalysis* **16**, 19–31 (2024).
384. Kim, J.-H., Woenker, T., Adamec, J. & Regnier, F. E. Simple, miniaturized blood plasma extraction method. *Anal. Chem.* **85**, 11501–11508 (2013).
385. Heikenfeld, J. *et al.* Wearable sensors: modalities, challenges, and prospects. *Lab. Chip* **18**, 217–248 (2018).

386. Liu, Y. *et al.* Revolutionizing Precision Medicine: Exploring Wearable Sensors for Therapeutic Drug Monitoring and Personalized Therapy. *Biosensors* **13**, 726 (2023).
387. Parker, S., Lipman, J., Koulenti, D., Dimopoulos, G. & Roberts, J. A. What is the relevance of fosfomicin pharmacokinetics in the treatment of serious infections in critically ill patients? A systematic review. *Int. J. Antimicrob. Agents* **42**, 289–293 (2013).
388. Bennett, J. V., Brodie, J. L., Benner, E. J. & Kirby, W. M. Simplified, accurate method for antibiotic assay of clinical specimens. *Appl. Microbiol.* **14**, 170–177 (1966).
389. Dios-Viéitez, M. C., Goñi, M. M., Renedo, M. J. & Fos, D. Determination of fosfomicin in human urine by capillary gas chromatography: Application to clinical pharmacokinetic studies. *Chromatographia* **43**, 293–295 (1996).
390. Longo, A., Di Toro, M., Pagani, E. & Carezzi, A. Simple selected ion monitoring method for determination of fosfomicin in blood and urine. *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. App.* **224**, 257–264 (1981).
391. Tzanavaras, P. D. & Themelis, D. G. Flow Injection Spectrophotometric Determination of the Antibiotic Fosfomicin in Pharmaceutical Products and Urine Samples after On-line Thermal-Induced Digestion. *Anal. Biochem.* **304**, 244–248 (2002).
392. Pianetti, G. A. *et al.* Application of ion chromatography with indirect spectrophotometric detection to the sensitive determination of alkylphosphonic acids and fosfomicin. *Anal. Chim. Acta* **284**, 291 (1993).
393. Li, L., Chen, X., Dai, X., Chen, H. & Zhong, D. Rapid and selective liquid chromatographic/tandem mass spectrometric method for the determination of

- fosfomicin in human plasma. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.* **856**, 171–177 (2007).
394. Martens-Lobenhoffer, J. & Bode-Böger, S. M. A validated method for the quantification of fosfomicin in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.* **990**, 164–168 (2015).
395. Papakondyli, T. A., Gremiligianni, A. M., Megoulas, N. C. & Koupparis, M. A. A novel derivatization method for the determination of Fosfomicin in human plasma by liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometric detection via phase transfer catalyzed derivatization. *J. Chromatogr. A* **1332**, 1–7 (2014).
396. Wijma, R. A. *et al.* A fast and sensitive LC-MS/MS method for the quantification of fosfomicin in human urine and plasma using one sample preparation method and HILIC chromatography. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.* **1061–1062**, 263–269 (2017).
397. Parker, S. L., Lipman, J., Roberts, J. A. & Wallis, S. C. A simple LC-MS/MS method using HILIC chromatography for the determination of fosfomicin in plasma and urine: application to a pilot pharmacokinetic study in humans. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **105**, 39–45 (2015).
398. Goh, K. K.-K. *et al.* Quantification of Fosfomicin in Combination with Nine Antibiotics in Human Plasma and Cation-Adjusted Mueller-Hinton II Broth via LCMS. *Antibiot. Basel Switz.* **11**, 54 (2022).

399. Pohl, C. HILIC Behavior of Reversed-Phase/Ion-Exchange Mixed-Mode Stationary Phases and Their Applications. in *Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography (HILIC) and Advanced Applications* 47–76 (2011). doi:10.1201/b10609-4.
400. Cockcroft, D. W. & Gault, M. H. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* **16**, 31–41 (1976).
401. Levey, A. S. *et al.* A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. *Ann. Intern. Med.* **150**, 604–612 (2009).
402. Khwaja, A. KDIGO Clinical Practice Guidelines for Acute Kidney Injury. *Nephron Clin. Pract.* **120**, c179–c184 (2012).
403. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters. Version 11. 2021. <https://www.eucast.org/>.
404. Roberts, J. A., Kirkpatrick, C. M. J., Roberts, M. S., Dalley, A. J. & Lipman, J. First-dose and steady-state population pharmacokinetics and pharmacodynamics of piperacillin by continuous or intermittent dosing in critically ill patients with sepsis. *Int. J. Antimicrob. Agents* **35**, 156–163 (2010).
405. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) Center for Veterinary Medicine (CVM). Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation. 2018. Available online: <https://www.fda.gov/files/drugs/published/Bioanalytical-Method-Validation-Guidance-for-Industry.pdf>.

406. Goutelle, S. *et al.* Population modeling and Monte Carlo simulation study of the pharmacokinetics and antituberculosis pharmacodynamics of rifampin in lungs. *Antimicrob. Agents Chemother.* **53**, 2974–2981 (2009).
407. Quinton, M.-C. *et al.* Neurotoxic Concentration of Piperacillin during Continuous Infusion in Critically Ill Patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* **61**, e00654-17 (2017).
408. 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.* **72**, 2891–2897 (2017).
409. Magiorakos, A.-P. *et al.* Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **18**, 268–281 (2012).
410. Rosso-Fernández, C. *et al.* Fosfomycin versus meropenem in bacteraemic urinary tract infections caused by extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* (FOREST): study protocol for an investigator-driven randomised controlled trial. *BMJ Open* **5**, e007363 (2015).
411. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) Center for Veterinary Medicine (CVM). Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation. 2001. Available online: <https://www.fda.gov/oc/ohrt/CDER-CVM-Guidance-for-Industry-Bioanalytical-Method-Validation-2001.pdf>.

412. Gonzalez, D., Schmidt, S. & Derendorf, H. Importance of relating efficacy measures to unbound drug concentrations for anti-infective agents. *Clin. Microbiol. Rev.* **26**, 274–288 (2013).
413. Felton, T. W. *et al.* Population Pharmacokinetics of Extended-Infusion Piperacillin-Tazobactam in Hospitalized Patients with Nosocomial Infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* **56**, 4087–4094 (2012).
414. Langgartner, J., Lehn, N., Glück, T., Herzig, H. & Kees, F. Comparison of the Pharmacokinetics of Piperacillin and Sulbactam during Intermittent and Continuous Intravenous Infusion. *Chemotherapy* **53**, 370–377 (2007).
415. Roberts, J. A. & Lipman, J. Optimal doripenem dosing simulations in critically ill nosocomial pneumonia patients with obesity, augmented renal clearance, and decreased bacterial susceptibility. *Crit. Care Med.* **41**, 489–495 (2013).
416. Lau, W. K. *et al.* Randomized, Open-Label, Comparative Study of Piperacillin-Tazobactam Administered by Continuous Infusion versus Intermittent Infusion for Treatment of Hospitalized Patients with Complicated Intra-Abdominal Infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* **50**, 3556–3561 (2006).
417. Rhodes, N. J., MacVane, S. H., Kuti, J. L. & Scheetz, M. H. Impact of loading doses on the time to adequate predicted beta-lactam concentrations in prolonged and continuous infusion dosing schemes. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* **59**, 905–907 (2014).
418. WHO Model List of Essential Medicines - 23rd list, 2023.
<https://www.who.int/publications-detail-redirect/WHO-MHP-HPS-EML-2023.02>.

419. Wenzler, E., Ellis-Grosse, E. J. & Rodvold, K. A. Pharmacokinetics, Safety, and Tolerability of Single-Dose Intravenous (ZTI-01) and Oral Fosfomycin in Healthy Volunteers. *Antimicrob. Agents Chemother.* **61**, 10.1128/aac.00775-17 (2017).
420. Sauermann, R. *et al.* Antibiotic abscess penetration: fosfomycin levels measured in pus and simulated concentration-time profiles. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**, 4448–4454 (2005).
421. Pfausler, B. *et al.* Concentrations of fosfomycin in the cerebrospinal fluid of neurointensive care patients with ventriculostomy-associated ventriculitis. *J. Antimicrob. Chemother.* **53**, 848–852 (2004).
422. Florent, A., Chichmanian, R.-M., Cua, E. & Pulcini, C. Adverse events associated with intravenous fosfomycin. *Int. J. Antimicrob. Agents* **37**, 82–83 (2011).
423. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, version 7.1. 2017.
http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_7.1_Breakpoint_Tables.pdf.
424. Clinical & Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 12th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA2017. *Clinical & Laboratory Standards Institute* <https://clsi.org/>.
425. Ellington, M. J., Livermore, D. M., Pitt, T. L., Hall, L. M. C. & Woodford, N. Mutators among CTX-M beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and risk for the emergence of fosfomycin resistance. *J. Antimicrob. Chemother.* **58**, 848–852 (2006).
426. Ballesterro-Téllez, M. *et al.* Role of inoculum and mutant frequency on fosfomycin MIC discrepancies by agar dilution and broth microdilution methods in

Enterobacteriaceae. *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect.*

Dis. **23**, 325–331 (2017).

427. VanScoy, B., McCauley, J., Bhavnani, S. M., Ellis-Grosse, E. J. & Ambrose, P. G.

Relationship between Fosfomycin Exposure and Amplification of *Escherichia coli*

Subpopulations with Reduced Susceptibility in a Hollow-Fiber Infection Model.

Antimicrob. Agents Chemother. **60**, 5141–5145 (2016).

ANEXO: GENERACIÓN **CIENTÍFICA DE LA TESIS**

PUBLICACIONES EN REVISTAS

1. Merino-Bohórquez V, Docobo-Pérez F, Valiente-Méndez A, Delgado-Valverde M, Cameán M, Hope WW, Pascual Á, Rodríguez-Baño J. Population Pharmacokinetics of Piperacillin in Non-Critically Ill Patients with Bacteremia Caused by Enterobacteriaceae. *Antibiotics (Basel)*. 2021;10(4):348. doi: 10.3390/antibiotics10040348.



Article

Population Pharmacokinetics of Piperacillin in Non-Critically Ill Patients with Bacteremia Caused by Enterobacteriaceae

Vicente Merino-Bohórquez^{1,2,†}, Fernando Docobo-Pérez^{3,4,5,*}, Adoración Valiente-Méndez^{4,5,6}, Mercedes Delgado-Valverde^{4,5,6}, Manuel Cameán¹, William W. Hope^{7,8}, Álvaro Pascual^{3,4,5,6} and Jesús Rodríguez-Baño^{4,5,6,9}

¹ Unidad de Gestión de Farmacia Hospitalaria, Hospital Universitario Virgen Macarena, 41009 Sevilla, Spain; vicente.merino.sspa@juntadeandalucia.es (V.M.-B.); manuel.camean.sspa@juntadeandalucia.es (M.C.)

² Departamento de Farmacología, Universidad de Sevilla, 41009 Sevilla, Spain

³ Departamento de Microbiología, Universidad de Sevilla, 41009 Sevilla, Spain; apascual@us.es

⁴ Instituto de Biomedicina de Sevilla IBIS, Hospital Universitario Virgen Macarena/CSIC/Universidad de Sevilla, 41013 Sevilla, Spain; adoracion.valiente.sspa@juntadeandalucia.es (A.V.-M.); mercdss@gmail.com (M.D.-V.); jesusb@us.es (J.R.-B.)

⁵ Red Española de Investigación en Patología Infecciosa (REIPI RD16/0016), Instituto de Salud Carlos III, 28029 Madrid, Spain

⁶ Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Medicina Preventiva, Hospital Universitario Virgen Macarena, 41009 Sevilla, Spain

⁷ Department of Molecular and Clinical Pharmacology, University of Liverpool, Liverpool L69 3GE, UK; william.hope@liverpool.ac.uk

⁸ Royal Liverpool and Broadgreen University Hospital Trust, Liverpool L69 3GE, UK

⁹ Departamento de Medicina, Universidad de Sevilla, 41009 Sevilla, Spain

* Correspondence: fdocobo1@us.es

† These authors contributed equally to this work.



Citation: Merino-Bohórquez, V.; Docobo-Pérez, F.; Valiente-Méndez, A.; Delgado-Valverde, M.; Cameán, M.; Hope, W.W.; Pascual, Á.; Rodríguez-Baño, J. Population Pharmacokinetics of Piperacillin in Non-Critically Ill Patients with Bacteremia Caused by Enterobacteriaceae. *Antibiotics* **2021**, *10*, 348. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10040348>

Academic Editor: Jeffrey Lipman

Received: 1 March 2021

Accepted: 23 March 2021

Published: 25 March 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract This study analyzes the pharmacokinetic variability of piperacillin in non-critically ill patients with Enterobacteriaceae bloodstream infections (EBSI) and explores predicted clinical outcomes and piperacillin-related neurotoxicity under different renal conditions. Hospitalized, non-critically ill patients treated with piperacillin–tazobactam for EBSI were included. Four serum samples per patient were collected and analyzed. A population pharmacokinetic model was developed using the Pmetrics package for R. Monte Carlo simulations of various dosage regimens of 4 g piperacillin, administered q8 h or q12 h by short (0.5 h) or long (4 h) infusion, following the different glomerular filtration rate (GFR) categories used to classify chronic kidney disease (Kidney Disease: Improving Global Outcomes, KDIGO) to determine the probability of target attainment (PTA) using a free drug concentrations above the minimal inhibitory concentration ($fT > MIC$) of 50% for efficacy and targets for piperacillin-associated neurotoxicity. Twenty-seven patients (102 samples) were included. Extended piperacillin infusions reached a PTA > 90% ($50\%fT > MIC$) within the susceptibility range, although a loading dose did not greatly improve the expected outcome. Long infusions reduced the expected toxicity in patients with severe renal impairment. The study supports the use of extended infusions of piperacillin in non-critically ill patients with EBSI. No benefits of a loading dose were expected in our population. Finally, extended infusions may reduce the risk of toxicity in patients with severe renal impairment.

Keywords: bloodstream infection; renal function; neurotoxicity; nephrotoxicity; pharmacokinetics; piperacillin–tazobactam; Enterobacteriaceae

1. Introduction

Enterobacteriaceae infections are associated with increased morbidity and mortality [1–3], which is mainly related to delay in providing active therapy, together with the lower efficacy of certain alternative drugs compared with first-line antibiotics. In this

respect, appropriate initial antimicrobial therapy is of key importance for the resolution of serious infections. Several studies have demonstrated that inappropriate empiric therapy is independently associated with a worse outcome in patients with bacteremia caused by Enterobacteriaceae [1,4].

Piperacillin is a beta-lactam antibiotic, commonly combined with tazobactam, with a broad spectrum of bactericidal activity against Gram-negative and Gram-positive aerobes and anaerobes [5], and is frequently used for the empiric treatment of severe infections potentially caused by extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* [5]. Beta-lactam activity is related to the fraction of the dosing interval during which free drug concentrations remain above the minimal inhibitory concentration ($fT > MIC$) for the relevant pathogen [6]. In the case of piperacillin, an $fT > MIC$ of at least 50% of the dosing interval is considered necessary for maximal activity [7]. Most studies included in systematic reviews and meta-analyses across a wide range of severely ill patients admitted to intensive care units (ICU) found significant benefits in terms of mortality and clinical cure associated with prolonged versus intermittent infusions of piperacillin–tazobactam (TZP) [8,9]. Despite these obvious benefits, a survey on antimicrobial dosing in the ICU found wide variability in reported practices for TZP dosing and monitoring [10]. While there is an extensive published literature on piperacillin pharmacokinetics (PK) concerning variability in plasma concentrations and strategies aimed at optimizing efficacy in critically ill patients [11–13], there is scant information relating to non-critically ill patients. Piperacillin has been found to be safe and well tolerated in many clinical trials [14]. Even so, recent studies have shown neurological deterioration related to high piperacillin serum concentrations in a range from 11.4% to 43.3% and nephrotoxicity in 8.5% of non-ICU and ICU patients [15,16]. Two different papers have suggested pharmacokinetic targets associated with piperacillin-related neurotoxicity. Quinton et al. found that a serum concentration threshold of 157.2 mg/L is predictive of the occurrence of piperacillin neurotoxicity, [15] while Imani et al. found that a piperacillin $C_{min} > 361.4$ mg/L or > 452.65 mg/L was associated with a 50% risk of developing a neurotoxicity or nephrotoxicity event, respectively [16].

The aim of this prospective study was to describe the population PK of piperacillin in a cohort of non-critically ill patients with bloodstream infection (BSI) due to Enterobacteriaceae and to perform Monte Carlo simulations to explore the safety and expected outcomes of different dosing regimens suitable for non-critically ill patients.

2. Results

2.1. Patients

A total of 27 non-critically ill patients treated with piperacillin–tazobactam for Enterobacteriaceae BSI were included. Demographic, epidemiological, clinical, and microbiological variables and the outcomes of episodes are shown in Table 1. Three patients with creatinine clearance ($CrCl$) < 20 mL/min/1.73 m² received 4/0.5 g every 12 h. A total of 102 plasma samples were collected at steady state during a single dosing interval. None of the determinations were below the limit of quantification. The most common source of bacteremia was the urinary tract (66.7%). *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* were the most frequently isolated microorganisms. The piperacillin–tazobactam MIC was ≤ 8 mg/L in 24 patients. One patient died (3.7%), and no adverse events related to piperacillin–tazobactam administration were noted.

Table 1. Baseline demographic and clinical characteristics of 27 patients with bloodstream infections due to Enterobacteriaceae, treated with piperacillin–tazobactam (TZP). Data are number of patients (percentage), unless otherwise stated. CrCl, creatinine clearance, Sequential Organ Failure Assessment (SOFA), ESBL, extended-spectrum beta-lactamase, MIC,

Variable	No. of Cases (%) Unless Otherwise Stated
Male gender	17 (62.96)
Age in years, median (range)	76.5 (48–86)
Body mass index ≥ 25	19 (79.1)
CrCl in mL/min, median (range)	50.7 (45.3–255.3)
Charlson score, median (range)	2.5 (0–8)
<i>Comorbidities:</i>	
Diabetes mellitus	13 (48.1)
Chronic pulmonary disease	4 (14.8)
Cancer	11 (40.7)
Liver cirrhosis	1 (3.7)
Immunosuppressive therapy	1 (3.7)
<i>Source of bacteremia</i>	
Urinary tract	18 (66.67)
Biliary tract	7 (25.9)
Other intraabdominal infection	2 (7.4)
Community-acquired bacteremia	11 (40.7)
Pitt score, median (range)	2 (0–5)
SOFA score at diagnosis, median (range)	3 (0–8)
<i>Microorganism:</i>	
<i>Escherichia coli</i>	15 (55.5)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	6 (22.2)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3 (11.1)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2 (7.4)
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 (3.7)
ESBL producer	3 (11.1)
<i>Hours from blood culture until first TZP dose, median (range)</i>	
MIC	25 (92.5)
1 mg/L	3 (12)
2 mg/L	13 (52)
4 mg/L	5 (20) ¹
8 mg/L	3 (12) ²
16 mg/L	0
>16 mg/L	1 (3.7)
<i>Outcome:</i>	
Lack of improvement, day 2	5 (18.5)
Clinical failure, day 14	4 (14.8)
Mortality, day 30	1 (3.7)

¹ 2 were ESBL producers. ² 1 was an ESBL producer.

2.2. Pharmacokinetic Model

The piperacillin concentration–time data were best described by the one-compartment linear model, and no significant reduction in the log-likelihood value was observed compared with the two- or three-compartment models. The inclusion of creatinine clearance (CrCl) as a covariate best described drug clearance (CL) and reduced the log-likelihood value by 152 points. No other covariates improved the final model. The ordinary differential Equation (1) for the model is the following:

$$dC/dt = R(1) - ((\text{Intercept} + \text{Slope} \times \text{CrCl})/V_c) \times X_1 \quad (1)$$

X_1 is the amounts of piperacillin (in milligrams) in the central and peripheral compartment, respectively. Intercept and slope are the coefficients of a linear relationship of piperacillin clearance versus CrCl. The final parameter estimates from the population model are presented in Table 2, and the observed-versus-individual predicted piperacillin concentrations appear in Figure 1.

Table 2. Final population pharmacokinetic parameter estimates for 27 patients with bloodstream infections due to Enterobacteriaceae treated with piperacillin–tazobactam.

Parameter	Mean	SD	Median
Drug Clearance, CL (L/h)			
CL = Intercept + slope × creatinine clearance (L/h)			
Intercept (L/h) ¹	4.556	5.035	3.503
Slope	1.353	1.032	1.39
Volume of distribution, V _c (L)	30.68	23.349	20.039

¹ Intercept and slope are the coefficients of a linear relationship of piperacillin clearance versus CrCr.

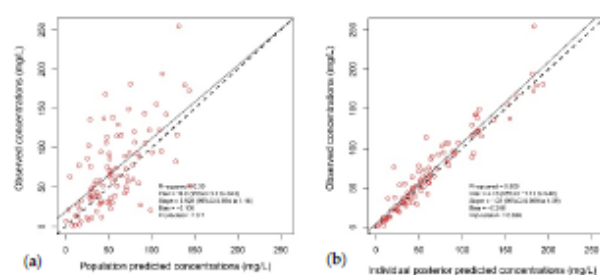


Figure 1. Diagnostic plots of the final population pharmacokinetic covariate model. (a) Observed piperacillin concentrations versus population predicted concentration ($R^2 = 0.39$); (b) observed piperacillin concentrations versus individual predicted concentrations ($R^2 = 0.908$). The continuous line represents the regression line, and the dashed line is the line of identity.

The results of the normalized distribution prediction error (NPDE) analysis (Q-Q plot and histogram) are summarized graphically in Figure 2. The weighted residual error distributions are shown in Figure 3. The NPDEs ($p = 0.069$ in the Shapiro–Wilk test of normality), weighted residual error distributions, and visual predictive check (VPC) plot (Figure 2) suggest that the fit of the model to the data was acceptable.

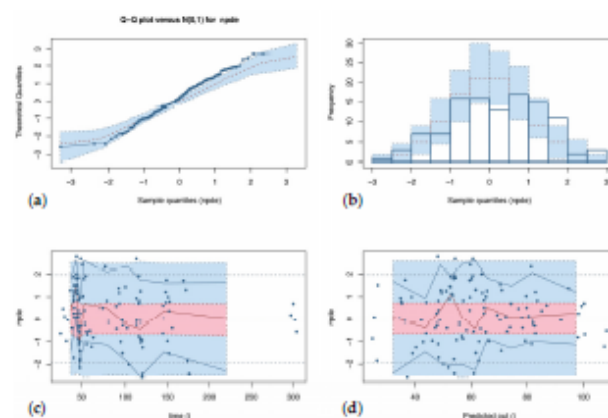


Figure 2. Normalized distribution prediction error (NPDE) versus predicted piperacillin concentration (a) and time (b). The NPDE should be a standard normal distribution with a mean of 0 and a standard deviation of 1, i.e., $\sim N(0,1)$. The approximately normal distribution of NPDE points, as indicated by the quantile–quantile (Q-Q) plot (c) and the NPDE histogram (d), centered at 0, indicates that the population model predictions are minimally systematically biased. The horizontal dashed lines in the top left and top right panels are at -2 , 0 (the mean), and $+2$ standard deviations for the ideal normal distribution, and the surrounding error of 95% is shown with gray boxes. The solid horizontal lines are the actual distributions of the NPDE. The histogram columns in the bottom right panel compare the actual frequencies of NPDE with the ideal normal distribution (dashed line).

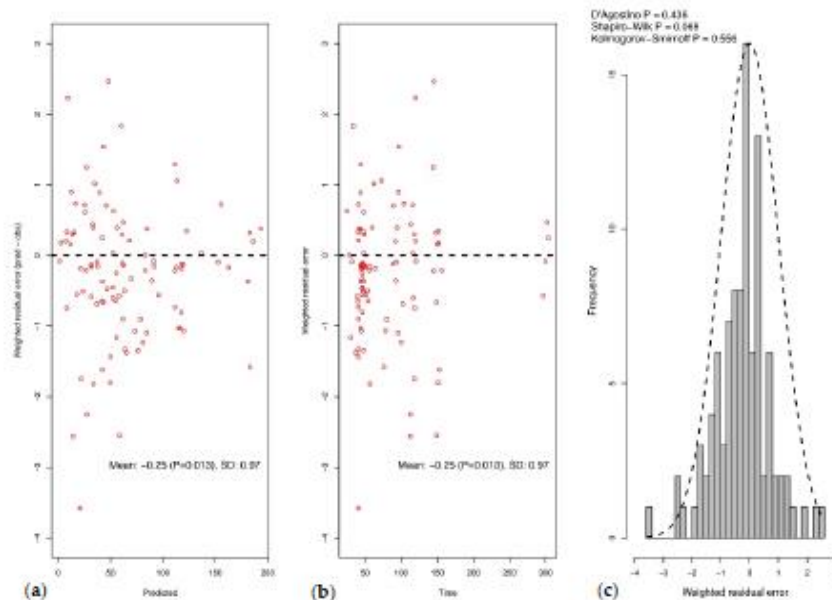


Figure 3. Weighted residual error plot (population predicted versus observed concentrations, mg/L) versus population predictions (a) and time of observation (b) and frequency distribution of weighted residual errors (c).

2.3. Probability of Target Attainment

The Monte Carlo simulations of varying piperacillin regimens and the probabilities of target attainment (PTAs) for $> 50\% fT > MIC$ are shown in Table 3. The results showed that the lower PTA ($fT > MIC$ for 50% of the dosing interval) was associated with a higher CICr. Piperacillin dosages of 4/0.5 g (4 h infusion) q8 h or first dose [4/0.5 g (0.5 h infusion) + 4 g (4 h infusion)] followed by 4/0.5 g (4 h infusion) q8 h reached a PTA of $>90\%$ within the current breakpoint (i.e., piperacillin $MIC \leq 8$ mg/L). In this analysis, no significant benefit of a loading dose was observed. An extended infusion, alone or given with a loading dose, showed slightly a better PTA than the short piperacillin infusion.

Table 3 also shows the PTAs for $>50\% fT > MIC$ with different dosage regimen adjustments and levels of creatinine clearance. With a dosage adjustment of 4/0.5 g (0.5 h infusion) q12 h, patients with severely reduced renal function or kidney failure achieved the optimal targets of $fT > MIC > 50\%$ over the dosing interval within the susceptible range. A prolonged infusion administration (4 h) improved the PTA within the intermediate category compared with a short one, and similar results were found with the addition of a loading dose.

Table 3. Probability of target attainment (PTA) using an $fT_{MIC_{0-24h}} = 50\%$ as pharmacodynamic target after simulation in patients with normal or severe renal impairment according to KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury: Dosage 1, 4 g (0.5 h infusion) q8 h; Dosage 2, 4 g (4 h infusion) q8 h; Dosage 3, first dose [4 g (0.5 h infusion) + 4 g (4 h infusion)] followed by 4 g (4 h infusion) q8 h. Dosage 4, 4 g (0.5 h infusion) q12 h; Dosage 5, 4 g (4 h infusion) q12 h; Dosage 6, first dose [4 g (0.5 h infusion) + 4 g (4 h infusion)] followed by 4 g (4 h infusion) q12 h. Green, yellow, and red boxes indicate piperacillin PTA $\geq 90\%$, $<90- \geq 50\%$, and $<50\%$, respectively.

Target $fT > MIC = 50\%$	Normal (90–129 mL/min/1.73 m ²)			Severely Decreased (15–29 mL/min/1.73 m ²) Kidney Failure (<15 mL/min/1.73 m ²)		
	Dosage			Dosage		
MIC (mg/L)	1	2	3	4	5	6
0.06	99.8	100	100	99.4	99.9	100
0.125	99.2	100	100	99.2	99.9	100
0.25	99	100	100	99.2	99.9	100
0.5	98.8	100	100	99.2	99.8	100
1	98.4	100	100	98.9	99.7	100
2	97.4	100	100	98.8	99.6	100
4	93.4	100	100	98.5	99.5	99.9
8	76.4	100	100	92.9	96.1	99.7
EUCAST (S) 16	56.8	95.8	94.6	77.3	90.7	94.3
EUCAST (I) 32 (EUCAST R)	14.2	28	45.8	38.7	61.1	81.3
64	1.2	2	8.4	6.9	11.7	31.8
128	0	0	0.2	1.2	1.2	4.6
256	0	0	0	0.2	0.2	0.7

2.4. Piperacillin Neurotoxicity and Nephrotoxicity

At the simulated doses of 4/0.5 g (4 h infusion) q8 h or first dose [4/0.5 g (0.5 h infusion) + 4 g (4 h infusion)] followed by 4/0.5 g (4 h infusion) q8 h in patients with normal renal function, no neurotoxicity or nephrotoxicity events were expected. With respect to the case with dose adjustments of piperacillin due to renal disease, the simulated patients did not reach the nephrotoxicity breakpoint of $C_{min} > 452.65$ mg/L. Also, in these simulated group patients with severely decreased renal clearance or kidney failure, no neurotoxicity in those who received short-term intravenous infusions was predicted. However, long infusions or the addition of a loading dose slightly increased the risk of expected neurotoxicity to 0.2% and 0.3%, respectively (targeting at $C_{min} > 157.2$ mg/L).

3. Discussion

The present study describes the population pharmacokinetics of piperacillin targeted at non-critically ill patients. We focused on PTA ($50\% fT > MIC$) based on some traditional animal and human studies, although more demanding targets are used for critical patients, as the patients in our study were not critically ill [17–19]. We observed that only creatinine clearance significantly affected the pharmacokinetics of piperacillin. We also observed that an extended infusion of piperacillin improved the PTA ($50\% fT > MIC$). Our data show that the currently suggested dosing regimen (4/0.5 g infusion over 30 min q8 h) is less likely to attain the pharmacodynamic target in patients with normal or severe renal impairment. Other investigators have previously reported similar results in both critically and non-critically ill patients [20–22].

The administration of piperacillin by extended infusion, over half the dosing interval (i.e., infused over 4 h, administered q8 h), or after an initial loading dose helped overcome subtherapeutic piperacillin drug exposures in all the simulated scenarios. This has previ-

ously been shown in observational studies as well as randomized controlled trials (RCT) and also correlates with the higher rates of clinical cure in the RCTs [23–25]. In our model, we observed a slight benefit with the administration of a loading dose, especially against a piperacillin MIC of 32 mg/L (considered as resistant). We cannot rule out the possibility of an extended benefit in patients with augmented renal clearance (>130 mL/min/1.73 m²) or in patients with other baseline characteristics. These results differ somewhat with those of Rhodes et al. [26], who suggested that loading dosages may be necessary for their modeled dosing schedules of piperacillin–tazobactam by prolonged infusion (3.375 g infused over 4 h) and continuous infusion (10.125 g infused over 24 h) and for elevated MICs. However, in that study, the authors only analyzed the probability of and time to first instance of concentrations exceeding the breakpoint MIC for piperacillin–tazobactam (16 mg/L, Clinical and Laboratory Standard Institute [CLSI] breakpoints) over the first 120 min of therapy. It is also important to note that a different TZP dosage was used (3 g piperacillin plus 0.375 g tazobactam instead of 4 g piperacillin plus 0.5 g tazobactam).

Piperacillin-associated neurotoxicity in patients with dose adjustments due to impaired glomerular filtration rates was also analyzed. Piperacillin-associated neurotoxicity was not observed in our patients in this study, and simulations of extended infusions showed a probability of $<1\%$ (targeting $C_{\min} > 361$ mg/L), which contrasts with the probability of 11.4% observed by Imani et al. [16]. However, in the latter study, piperacillin dosages of 8–16 g/24 h at 6–12 h intervals were included. No information regarding dosage adjustment in patients with renal impairment was given, and this could explain the higher frequency found if piperacillin concentrations were not correctly adjusted. On the other hand, Quinton et al. analyzed a retrospective cohort of ICU patients [15], which showed a piperacillin-associated neurotoxicity of 43.4%, using a piperacillin concentration equal to or higher than 157.2 mg/L as a target. Applying this breakpoint to our study, overall, we predict no neurotoxicity events in patients with normal renal function and a probability of 0.2–0.3% in those with adjusted doses (dosage 5, 4 g (4 h infusion) q12 h and dosage 6, loading dose of 4 g (0.5 h infusion) + 4 g (4 h infusion) followed by 4 g (4 h infusion) q12 h) due to severe renal impairment. Nevertheless, the study by Quinton et al. was not intended to estimate the proportion of piperacillin-associated neurotoxicity, and such a frequency would probably be overestimated.

With regard to the absence of piperacillin-related nephrotoxicity observed in our patients with normal renal function or impaired renal function with adjusted dose, our results fit with our predicted nephrotoxicity event based on the target of $C_{\min} > 452.65$ mg/L [16]. However, Imani et al. showed nephrotoxicity events in 8.5% of the study population following exclusion criteria, which is higher than that observed in our patients. In this study, the use of a diuretic agent was associated with a significantly increased risk of piperacillin nephrotoxicity (OR 31.32, IC95% 3.33–294.70, $p < 0.01$). Apart from other baseline patient characteristics between both studies, the administration of this diuretic agent consumption was not taken into account in Imani's study. Thus, we cannot compare this important factor associated with nephrotoxicity with our population.

Although our findings highlight the importance of optimal dosing and administration of piperacillin based on renal clearance in non-critically ill patients in order to overcome subtherapeutic concentrations, only 27 patients were included in the present study, which limits the generalizability of these results. Additionally, the model was largely constructed using patients with normal renal function and few with severe renal impairment, which could impair the extrapolation of results to patients with extreme renal impairment. The PK/PD target for predicting piperacillin efficacy also remains unclear. While the majority of centers currently performing β -lactam therapeutic drug monitoring (TDM) target values of $100\% fT > MIC$, others use $100\% fT > 4 \times MIC$, $50\% fT > 4 \times MIC$, or $70\% fT > 4 \times MIC$ for certain β -lactams. Whether serum concentrations of β -lactams always need to be above the MIC requires prospective clinical validation [27]. Finally, because of the major differences in the expected piperacillin-associated neurotoxicity and nephrotoxicity based

on the choice of published pharmacokinetic targets, the results should be interpreted with caution until they have been prospectively validated.

4. Materials and Methods

4.1. Study Design and Patients

A prospective study was conducted at the Hospital Universitario Virgen Macarena (Seville, Spain) between October 2012 and February 2015, including adult patients (age > 17 years) with BSI caused by Enterobacteriaceae who received initial monotherapy with piperacillin-tazobactam. Eligible patients were first identified from daily reports of blood cultures from the microbiology laboratory. Patients were included only if: the first piperacillin-tazobactam dose was administered in the first 12 h after collection of blood cultures, the duration of the therapy was at least 48 h, and the patient was not admitted to the intensive care unit. Patients with any of the following criteria were excluded: transient bacteremia, polymicrobial bacteremia, non-hospitalized patients, patients with do-not-resuscitate orders, and neutropenic patients (absolute neutrophil count < 500/mm³). Written informed consent was obtained from all participants. The study was approved by the Ethics Committee of the Hospital Universitario Virgen Macarena (reference number 1578).

Demographic data (including the age, sex, height, and weight of the patient), mode of acquisition of the infection (nosocomial or community-acquired), source of BSI according to clinical and microbiological criteria, serum creatinine concentrations, adverse events potentially related to therapy and 30-day mortality were recorded. Collection of serum creatinine concentrations was standard-of-care, and creatinine clearance was calculated daily using the Cockcroft–Gault equation [28]. Glomerular filtration rate (GFR) was estimated using the Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equation [29], the patients were classified according to the different GFR categories used to classify chronic kidney disease (KDIGO) [30]. Bacterial blood isolates were identified by MALDI-TOF, and piperacillin-tazobactam susceptibility testing was performed by the broth microdilution method, following the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) methodology. EUCAST breakpoints for piperacillin-tazobactam were used to interpret susceptibility [31].

4.2. Antibiotic Therapy

As local dosing recommendations changed in the course of the study period, patients received two different piperacillin-tazobactam regimens: (a) 4/0.5 g (4 h infusion) q8 h, and (b) first dose 4/0.5 g (30 min infusion) followed by 4/0.5 g (4 h infusion) starting immediately after the first dose and then 4/0.5 g (4 h infusion) q8 h, following Roberts et al. with modifications [12]. Patients with creatinine clearance < 20 mL/min/1.73 m² (classified as severely decreased renal clearance or kidney failure) received 4/0.5 g every 12 h, according to the summary of product characteristics (SPC) recommendations [32].

4.3. Piperacillin Serum Concentration Assay

Blood samples were taken at steady state, and sampling was performed 1, 4, 6, and 8 h after the commencement of piperacillin infusion, collected in EDTA tubes, centrifuged and stored at −80 °C until analysis. A high-performance liquid chromatography (HPLC) method described by McWhinney et al. was used to analyze piperacillin serum concentrations [33]. FDA guidance on bioanalytical method validation was used to validate the method [34]. The linear range of quantification was 1–500 mg/L. Relative standard deviations and relative errors of the inter- and intra-assay were less than 8.2%, and the lower limit of quantification was 1 mg/L.

4.4. Pharmacokinetic Analyses

The nonparametric adaptive grid (NPAG) algorithm embedded in the Pmetrics software package was used to fit a population pharmacokinetic model to the data [35]. For the population pharmacokinetic analysis, one- and two-compartment linear models were

fitted to the piperacillin plasma concentration–time data. Covariate model building was performed using sequential assessment of biologically plausible clinical parameters. Forward inclusion was based on the model selection criteria and significant correlation with one of the pharmacokinetic parameters. Creatinine clearance, weight, age, sex, and body mass index (BMI) were explored as covariates for each structural model. The data were weighted by the inverse of the estimated assay variance, which was determined from quality control samples used to estimate inter-day assay variance and given by $SD \text{ (mg/L)} = \gamma \times (0.4388 + 0.027 \times C)$, where C is the piperacillin concentration, and γ is an estimate of process noise expressed as multiples of assay variance [35]. The goodness-of-fit of each model to the data was assessed using a combination of the following: (i) log-likelihood values; (ii) coefficients of determination (R^2) from linear regression of the observed vs. predicted values before and after the Bayesian step; (iii) minimization of bias and imprecision of the observed vs. predicted plots, (iv) normalized prediction distribution errors (NPDE); (v) the distribution of weighted residual errors; and (vi) a visual predictive check (VPC) plot.

4.5. Simulations and Probability of Target Attainment

A 2000-patient Monte Carlo simulation was performed using a semi-parametric sampling method available in Pmetrics [35,36]. The final model consisted of 13 support points. Each point was a set of values for each parameter in the model and the probabilities of those values to predict piperacillin concentrations observed in the population. Each support point then served as the mean for a multivariate normal distribution, weighted by the probability of the point, with covariance equal to the covariance matrix of the full model divided by the number of points (i.e., 13). Semi-parametric sampling from this weighted, multivariate, multimodal normal distribution was used to generate a simulated population of 2000 patients each with their own set of PK parameters. Piperacillin dosages, including short and extended infusions and a loading dose, were simulated as follows: Dosage 1, 4/0.5 g (0.5 h infusion) q8 h; Dosage 2, 4/0.5 g (4 h infusion) q8 h; Dosage 3, first dose 4/0.5 g (0.5 h infusion) followed by 4/0.5 g (4 h infusion) starting immediately after the first dose and then 4/0.5 g (4 h infusion) q8 h. Dose adjustments of piperacillin in patients with severely decreased renal clearance (15–29 mL/min/1.73 m²) and kidney failure (<15 mL/min/1.73 m²) were simulated with the aim of optimizing piperacillin pharmacodynamics in these patient subgroups. The following piperacillin dosages, which included standard short (0.5 h) and extended (4 h) infusion, were simulated: Dosage 1, 4/0.5 g (0.5 h infusion) q12 h; Dosage 2, 4/0.5 g (4 h infusion) q12 h; Dosage 3, first dose [4/0.5 g (0.5 h infusion) + 4/0.5 g (4 h infusion)] followed by 4 g (4 h infusion) q12 h. For the probability of pharmacodynamic target attainment (PTA) analysis, MICs ranging between 0.0625 and 256 mg/L were assessed in doubling dilutions, using EUCAST susceptibility breakpoints (susceptible \leq 8 mg/L and resistant $>$ 16 mg/L), and a pharmacodynamic index to predict efficacy, $fT_{MIC} \geq 50\%$ of the dosing interval, was used [37]. The unbound fraction of piperacillin was fixed at 0.7 [38]. A PTA of $\geq 90\%$ was considered optimal.

4.6. Toxicodynamic Analysis

The probability of reaching neurotoxicity- (C_{\min} piperacillin steady-state concentrations above 361.4 mg/L or 157.2 mg/L) and nephrotoxicity- (C_{\min} piperacillin steady-state concentrations above 452.65 mg/L) related thresholds, respectively, was analyzed over a 24 h interval (day 2) [15,16]. For these analyses, the unbound piperacillin concentration was used.

5. Conclusions

In conclusion, given the association between early and appropriate antibiotic therapy and improved clinical outcomes for critically ill patients [1,4,39,40], our data support the use of extended piperacillin infusions early in patients with invasive infections caused by Enterobacteriaceae, even if the patients are not critically ill and have a low risk of

neurotoxicity or nephrotoxicity events. The benefits of a loading dose are not clear and should be explored in other populations such as patients with augmented renal clearance. These findings should be confirmed in other studies with similar populations and by using clinical endpoints.

Author Contributions: Conceptualization, V.M.-B., E.D.-P. and J.R.-B.; methodology, V.M.-B., E.D.-P. and J.R.-B.; software, E.D.-P. and W.W.H.; validation, V.M.-B., E.D.-P. and J.R.-B.; formal analysis, V.M.-B. and E.D.-P.; investigation, V.M.-B. and E.D.-P.; data curation, M.D.-V. and A.V.-M.; writing—original draft preparation, V.M.-B. and E.D.-P.; writing—review and editing, V.M.-B., E.D.-P., W.W.H., Á.P. and J.R.-B.; visualization, V.M.-B. and E.D.-P.; supervision, J.R.-B., Á.P. and M.C.; project administration, J.R.-B.; funding acquisition, J.R.-B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This study was funded by Plan Nacional de I+D+i 2013–2016, Instituto de Salud Carlos III, Subdirección General de Redes y Centros de Investigación Cooperativa, Ministerio de Economía, Industria y Competitividad, Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI RD16/0016/0001) and PI10/02021, cofunded by European Development Regional Fund “A way to achieve Europe”, Operative Programme Intelligent Growth 2014–2020.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and approved by the Ethics Committee of the University Hospital Virgen Macarena (protocol code 1578, date of approval 11 February 2013).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author.

Acknowledgments: A.V.-M. is supported by a Rio Hortega fellowship from the Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Economía y Competitividad, and was the recipient of a grant from the Andalusian Society of Infectious Diseases (SAEI).

Conflicts of Interest: J.R.-B. has been scientific coordinator of a research project unrelated to the project funded by AstraZeneca and a speaker at accredited educational activities funded by Merck through unrestricted grants. J.R.-B. and Á.P. received funding for research from COMBACTE-NET (grant agreement 115523), COMBACTE-CARE (grant agreement 115620), and COMBACTE-MAGNET (grant agreement 115737) projects under the Innovative Medicines Initiative (IMI), the European Union and EFPIA companies in kind. W.W.H. has received research funding from Pfizer, Gilead, Astellas, AiCuris, Amplyx, Spero Therapeutics, and F2G and has acted as a consultant and/or has given talks for Pfizer, Basilea, Astellas, F2G, Nordic Pharma, Medicines Company, Amplyx, Mayne Pharma, Spero Therapeutics, Auspherix, Cardeas, and Pulmocide. All other authors have no conflicts to declare.

References

1. Rodríguez-Baño, J.; Picón, E.; Gijón, P.; Hernández, J.R.; Ruiz, M.; Peña, C.; Almela, M.; Almirante, B.; Grill, F.; Colomina, J.; et al. Community-onset bacteremia due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*: Risk factors and prognosis. *Clin. Infect. Dis.* **2010**, *50*, 40–48. [CrossRef]
2. Rodríguez-Baño, J.; Pascual, A. Clinical significance of extended-spectrum β -lactamases. *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.* **2008**, *6*, 671–683. [CrossRef]
3. Rottier, W.C.; Ammerlaan, H.S.M.; Bonten, M.J.M. Effects of confounders and intermediates on the association of bacteraemia caused by extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae and patient outcome: A meta-analysis. *J. Antimicrob. Chemother.* **2012**, *67*, 1311–1320. [CrossRef] [PubMed]
4. Retamar, P.; Portillo, M.M.; López-Prieto, M.D.; Rodríguez-López, F.; de Cueto, M.; García, M.V.; Gómez, M.J.; Del Arco, A.; Muñoz, A.; Sánchez-Porto, A.; et al. Impact of inadequate empirical therapy on the mortality of patients with bloodstream infections: A propensity score-based analysis. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2012**, *56*, 472–478. [CrossRef] [PubMed]
5. Gin, A.; Dilay, L.; Karlowsky, J.A.; Walkty, A.; Rubinstein, E.; Zhanel, G.G. Piperacillin-tazobactam: A beta-lactam/beta-lactamase inhibitor combination. *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.* **2007**, *5*, 365–383. [CrossRef]
6. Craig, W.A. Basic pharmacodynamics of antibacterials with clinical applications to the use of beta-lactams, glycopeptides, and linezolid. *Infect. Dis. Clin. N. Am.* **2003**, *17*, 479–501. [CrossRef]
7. Kim, M.K.; Xuan, D.; Quintiliani, R.; Nightingale, C.H.; Nicolau, D.P. Pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of high dose extended interval piperacillin-tazobactam. *J. Antimicrob. Chemother.* **2001**, *48*, 259–267. [CrossRef]

8. Rhodes, N.J.; Liu, J.; O'Donnell, J.N.; Dulhunty, J.M.; Abdul-Aziz, M.H.; Berko, P.Y.; Nadler, B.; Lipman, J.; Roberts, J.A. Prolonged Infusion Piperacillin-Tazobactam Decreases Mortality and Improves Outcomes in Severely Ill Patients: Results of a Systematic Review and Meta-Analysis. *Crit. Care Med.* **2018**, *46*, 236–243. [[CrossRef](#)]
9. Falagas, M.E.; Tansarli, G.S.; Ikawa, K.; Vardakas, K.Z. Clinical outcomes with extended or continuous versus short-term intravenous infusion of carbapenems and piperacillin/tazobactam: A systematic review and meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* **2013**, *56*, 272–282.
10. Tabah, A.; De Waele, J.; Lipman, J.; Zahar, J.R.; Cotta, M.O.; Barton, G.; Timsit, J.-F.; Roberts, J.A. The ADMIN-ICU survey: A survey on antimicrobial dosing and monitoring in ICUs. *J. Antimicrob. Chemother.* **2015**, *70*, 2671–2677. [[CrossRef](#)]
11. Udy, A.A.; Lipman, J.; Jarrett, P.; Klein, K.; Wallis, S.C.; Patel, K.; Kirkpatrick, C.M.J.; Kruger, P.S.; Paterson, D.L.; Roberts, M.S.; et al. Are standard doses of piperacillin sufficient for critically ill patients with augmented creatinine clearance? *Crit. Care* **2015**, *19*, 28. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Roberts, J.A.; Kirkpatrick, C.M.J.; Roberts, M.S.; Dalley, A.J.; Lipman, J. First-dose and steady-state population pharmacokinetics and pharmacodynamics of piperacillin by continuous or intermittent dosing in critically ill patients with sepsis. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2010**, *35*, 156–163. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Alobaid, A.S.; Wallis, S.C.; Jarrett, P.; Starr, T.; Stuart, J.; Lassig-Smith, M.; Mejia, J.L.O.; Roberts, M.S.; Roger, C.; Udy, A.A.; et al. Population Pharmacokinetics of Piperacillin in Nonobese, Obese, and Morbidly Obese Critically Ill Patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2017**, *61*, e01276-16. [[CrossRef](#)]
14. Kuye, O.; Teal, J.; DeVries, V.G.; Morrow, C.A.; Tally, F.P. Safety profile of piperacillin/tazobactam in phase I and III clinical studies. *J. Antimicrob. Chemother.* **1993**, *31* (Suppl. A), 113–124. [[CrossRef](#)]
15. Quinton, M.-C.; Bodeau, S.; Kontar, L.; Zerbib, Y.; Maizel, J.; Slama, M.; Masmoudi, K.; Lemaire-Hurtel, A.-S.; Bennis, Y. Neurotoxic Concentration of Piperacillin during Continuous Infusion in Critically Ill Patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2017**, *61*, e00654-17. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. 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.* **2017**, *72*, 2891–2897. [[CrossRef](#)]
17. Lodise, T.P.; Lomaestro, B.; Drusano, G.L. Piperacillin-tazobactam for *Pseudomonas aeruginosa* infection: Clinical implications of an extended-infusion dosing strategy. *Clin. Infect. Dis.* **2007**, *44*, 357–363. [[CrossRef](#)]
18. Craig, W.A. State-of-the-Art Clinical Article: Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Parameters: Rationale for Antibacterial Dosing of Mice and Men. *Clin. Infect. Dis.* **1998**, *26*, 1–10. [[CrossRef](#)]
19. Felton, T.W.; Hope, W.W.; Lomaestro, B.M.; Butterfield, J.M.; Kwa, A.L.; Drusano, G.L.; Lodise, T.P. Population pharmacokinetics of extended-infusion piperacillin-tazobactam in hospitalized patients with nosocomial infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2012**, *56*, 4087–4094. [[CrossRef](#)]
20. Langgartner, J.; Lehn, N.; Glück, T.; Herzig, H.; Kees, F. Comparison of the Pharmacokinetics of Piperacillin and Sulbactam during Intermittent and Continuous Intravenous Infusion. *Chemotherapy* **2007**, *53*, 370–377. [[CrossRef](#)]
21. Roberts, J.A.; Lipman, J. Optimal Doripenem Dosing Simulations in Critically Ill Nosocomial Pneumonia Patients With Obesity, Augmented Renal Clearance, and Decreased Bacterial Susceptibility. *Crit. Care Med.* **2013**, *41*, 489–495. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Lau, W.K.; Mercer, D.; Itani, K.M.; Nicolau, D.P.; Kuti, J.L.; Mansfield, D.; Dana, A. Randomized, Open-Label, Comparative Study of Piperacillin-Tazobactam Administered by Continuous Infusion versus Intermittent Infusion for Treatment of Hospitalized Patients with Complicated Intra-Abdominal Infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2006**, *50*, 3556–3561. [[CrossRef](#)]
23. Dulhunty, J.M.; Roberts, J.A.; Davis, J.S.; Webb, S.A.R.; Bellomo, R.; Gomersall, C.; Shirwadkar, C.; Eastwood, G.M.; Myburgh, J.; Paterson, D.L.; et al. Continuous infusion of beta-lactam antibiotics in severe sepsis: A multicenter double-blind, randomized controlled trial. *Clin. Infect. Dis.* **2013**, *56*, 236–244. [[CrossRef](#)]
24. Abdul-Aziz, M.H.; Lipman, J.; Akova, M.; Bassetti, M.; De Waele, J.J.; Dimopoulos, G.; Dulhunty, J.; Kaukonen, K.-M.; Koulenti, D.; Martin, C.; et al. Is prolonged infusion of piperacillin/tazobactam and meropenem in critically ill patients associated with improved pharmacokinetic/pharmacodynamic and patient outcomes? An observation from the Defining Antibiotic Levels in Intensive care unit patients (DALI) cohort. *J. Antimicrob. Chemother.* **2016**, *71*, 196–207. [[PubMed](#)]
25. Abdul-Aziz, M.H.; Sulaiman, H.; Mat-Nor, M.-B.; Rai, V.; Wong, K.K.; Hasan, M.S.; Abd Rahman, A.N.; Jamal, J.A.; Wallis, S.C.; Lipman, J.; et al. Beta-Lactam Infusion in Severe Sepsis (BLISS): A prospective, two-centre, open-labelled randomised controlled trial of continuous versus intermittent beta-lactam infusion in critically ill patients with severe sepsis. *Intensive Care Med.* **2016**, *42*, 1535–1545. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Rhodes, N.J.; MacVane, S.H.; Kuti, J.L.; Scheetz, M.H. Impact of loading doses on the time to adequate predicted beta-lactam concentrations in prolonged and continuous infusion dosing schemes. *Clin. Infect. Dis.* **2014**, *59*, 905–907. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Wong, G.; Brinkman, A.; Benefield, R.J.; Carrier, M.; De Waele, J.J.; El Helali, N.; Frey, O.; Harbarth, S.; Huttner, A.; McWhinney, B.; et al. An international, multicentre survey of β -lactam antibiotic therapeutic drug monitoring practice in intensive care units. *J. Antimicrob. Chemother.* **2014**, *69*, 1416–1423. [[CrossRef](#)]
28. Cockcroft, D.W.; Gault, M.H. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* **1976**, *16*, 31–41. [[CrossRef](#)]
29. Levey, A.S.; Stevens, L.A.; Schmid, C.H.; Zhang, Y.L.; Castro, A.F.; Feldman, H.L.; Kusek, J.W.; Eggers, P.; Van Lente, F.; Greene, T.; et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann. Intern. Med.* **2009**, *150*, 604–612. [[CrossRef](#)]
30. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. *Kidney Int. Suppl.* **2012**, *2*, 1–138.

31. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters. *Version 11*. 2021. Available online: <http://www.eucast.org> (accessed on 24 March 2021).
32. Spanish Agency of Medicines and Medical Devices (AEMPS). Piperacilina/Tazobactam SPC, Ficha técnica Piperacilina/Tazobactam Sandoz 4, g/.0.; 5 g polvo para solución para perfusión, E.F.G. *Agencia Española Del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS)*. Available online: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/71286/Ft_71286.html (accessed on 24 March 2021).
33. McWhinney, B.C.; Wallis, S.C.; Hillister, T.; Roberts, J.A.; Lipman, J.; Ungerer, J.P.J. Analysis of 12 beta-lactam antibiotics in human plasma by HPLC with ultraviolet detection. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* **2010**, *878*, 2039–2043. [CrossRef]
34. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) Center for Veterinary Medicine (CVM). Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation. 2018. Available online: <https://www.fda.gov/files/drugs/published/Bioanalytical-Method-Validation-Guidance-for-Industry.pdf> (accessed on 24 March 2021).
35. Neely, M.N.; van Guilder, M.G.; Yamada, W.M.; Schumitzky, A.; Jelliffe, R.W. Accurate Detection of Outliers and Subpopulations with Pmetrics, a Nonparametric and Parametric Pharmacometric Modeling and Simulation Package for R. *Ther. Drug Monit.* **2012**, *34*, 467–476. [CrossRef]
36. Goutelle, S.; Bourguignon, L.; Maire, P.H.; Van Guilder, M.; Conte, J.E.; Jelliffe, R.W. Population Modeling and Monte Carlo Simulation Study of the Pharmacokinetics and Antituberculosis Pharmacodynamics of Rifampin in Lungs. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *53*, 2974–2981. [CrossRef]
37. Roberts, J.A.; Paul, S.K.; Akova, M.; Bassetti, M.; De Waele, J.J.; Dimopoulos, G.; Kaukonen, K.-M.; Koulenti, D.; Martin, C.; Montravers, P.; et al. DALL: Defining antibiotic levels in intensive care unit patients: Are current β -lactam antibiotic doses sufficient for critically ill patients? *Clin. Infect. Dis.* **2014**, *58*, 1072–1083. [CrossRef] [PubMed]
38. Wong, G.; Briscoe, S.; Adnan, S.; McWhinney, B.; Ungerer, J.; Lipman, J.; Roberts, J.A. Protein binding of β -lactam antibiotics in critically ill patients: Can we successfully predict unbound concentrations? *Antimicrob. Agents Chemother.* **2013**, *57*, 6165–6170. [CrossRef] [PubMed]
39. Kang, C.-I.; Kim, S.-H.; Park, W.B.; Lee, K.-D.; Kim, H.-B.; Kim, E.-C.; Oh, M.-D.; Choe, K.-W. Bloodstream infections caused by antibiotic-resistant gram-negative bacilli: Risk factors for mortality and impact of inappropriate initial antimicrobial therapy on outcome. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, *49*, 760–766. [CrossRef]
40. Peralta, G.; Lamelo, M.; Álvarez-García, P.; Velasco, M.; Delgado, A.; Horcajada, J.P.; Montero, M.; Roiz, M.P.; Fariñas, M.C.; Alonso, J.; et al. Impact of empirical treatment in extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. bacteremia. A multicentric cohort study. *BMC Infect. Dis.* **2012**, *12*, 245. [CrossRef] [PubMed]

2. Merino-Bohórquez V, Docobo-Pérez F, Sojo J, Morales I, Lupión C, Martín D, Cameán M, Hope W, Pascual Á, Rodríguez-Baño J. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of fosfomicin in non-critically ill patients with bacteremic urinary infection caused by multidrug-resistant *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Infect*. 2018;24(11):1177-1183. doi: 10.1016/j.cmi.2018.02.005.



Original article

Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of fosfomycin in non-critically ill patients with bacteremic urinary infection caused by multidrug-resistant *Escherichia coli*[☆]

V. Merino-Bohórquez^{1,†}, F. Docobo-Pérez^{3,4,6,*}, J. Sojo^{2,4,6}, I. Morales^{2,4,6},
C. Lupión^{2,4,6}, D. Martín^{2,4,6}, M. Cameán¹, W. Hope⁷, Á. Pascual^{2,3,4,6},
J. Rodríguez-Baño^{2,4,5,6}

¹ Unidad de Gestión de Farmacia Hospitalaria, Hospital Universitario Virgen Macarena, Seville, Spain

² Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología, Hospital Universitario Virgen Macarena, Seville, Spain

³ Departamento de Microbiología, Universidad de Sevilla, Seville, Spain

⁴ Instituto de Biomedicina de Sevilla IBS, Hospital Universitario Virgen Macarena/CSC, Universidad de Sevilla, Seville, Spain

⁵ Departamento de Medicina, Universidad de Sevilla, Seville, Spain

⁶ Red Española de Investigación en Patología Infecciosa (REIPI RD16/0017), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

⁷ Department of Molecular and Clinical Pharmacology, University of Liverpool, Liverpool, UK

ARTICLE INFO

Article history:

Received 30 October 2017

Received in revised form

17 January 2018

Accepted 5 February 2018

Available online 10 April 2018

Editor: W. Couet

Keywords:

Fosfomycin

Mathematical model

Pharmacodynamics

Pharmacokinetics

PTA

Susceptibility breakpoints

ABSTRACT

Objectives: To describe the population pharmacokinetics of fosfomycin for patients with bacteraemic urinary tract infection (BUTI). The analysis identified optimal regimens on the basis of pharmacodynamic targets and assessed the adequacy of Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) susceptibility breakpoints for *Escherichia coli*.

Methods: Data of 16 patients with BUTI caused by multidrug-resistant *E. coli* (FOREST clinical trial) received intravenous fosfomycin (4 g every 6 hours) were analysed. A population pharmacokinetic analysis was performed, and Monte Carlo simulations were undertaken using 4 g every 6 hours and 8 g every 8 hours. The probability of pharmacodynamic target attainment was assessed using pharmacodynamic targets for *E. coli* for static effect, 1-log drop in bacterial burden and resistance suppression.

Results: Sixty-four plasma samples were collected over a single dosing interval (day 2 or 3 after starting fosfomycin treatment). Fosfomycin concentrations were highly variable. Pharmacodynamic target attainment analysis showed mild improvement by increasing fosfomycin dosing (4 g every 6 hours vs. every 8 hours). These dosages showed success for decreasing 1-log bacterial burden in 89% to 96% (EUCAST breakpoints) and 33% to 54% (CLSI breakpoints) of patients, but they were unable to reach bacterial resistance suppression targets.

Conclusions: Fosfomycin concentrations are highly variable—a fact partially explained by renal impairment. The present work supports the use of 4 g every 6 hours as an effective regimen for the treatment of non-critically ill patients with BUTI caused by multidrug-resistant *E. coli*, as higher dosages might increase toxicity but may not significantly increase efficacy. The current information may suggest that fosfomycin susceptibility breakpoints need to be reappraised. **V. Merino-Bohórquez, Clin Microbiol Infect 2018;24:1177**

© 2018 European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

[☆] Presented in part at American Society for Microbiology Microbe 2016, Boston, MA, USA.

* Corresponding author. F. Docobo-Pérez, Departamento de Microbiología, Universidad de Sevilla, Avda. Sánchez Pizjuan s/n. 41009, Sevilla, Spain.
E-mail address: fdobop@yahoo.es (F. Docobo-Pérez).

† The first two authors contributed equally to this article and both should be considered first author.

Introduction

Fosfomycin is a cell wall synthesis inhibitor with broad-spectrum antimicrobial activity [1]. Studies from multiple countries have consistently demonstrated high rates of susceptibility of extended-spectrum β -lactamase- and carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* [2–4] to fosfomycin. Because of the paucity of active compounds, fosfomycin has been suggested as a potential treatment for severe infections caused by multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* [5]. The oral formulation of fosfomycin has been widely used for the treatment of acute uncomplicated urinary tract infection [6]. In contrast, there is less experience and a relative absence of quality data that support the use of the intravenous formulation for treatment of invasive infections caused by multidrug-resistant bacteria [7].

Several fosfomycin pharmacokinetic studies have been performed [8,9]. However, to our knowledge, only the study conducted by Parker et al. [10] in critically ill patients used a population pharmacokinetic methodology. Moreover, several pharmacodynamic studies have been performed to better understand dose exposure–response relationships of fosfomycin [5,11]. For example, Lepak et al. [12] evaluated fosfomycin activity in the neutropenic murine thigh infection model against *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* strains, including a subset with extended-spectrum β -lactamase and carbapenem resistance phenotype. The study showed that the area under the unbound concentration–time curve (AUC) to minimum inhibitory concentration (MIC) ratio (AUC/MIC) is the relevant pharmacodynamic index against these multidrug-resistant, Gram-negative bacteria. Optimized dosing of fosfomycin has not yet been explored using these *in vivo* pharmacodynamic targets.

Thus, the aim of the present study was to better understand the variability of fosfomycin pharmacokinetics in patients with bacteraemic urinary tract infection (BUTI) and to identify optimal regimens that are based on the recently described pharmacodynamic targets for orders of logarithmic killing and resistance suppression. Such an approach also provides an opportunity to reflect on the adequacy of currently recommended *in vitro* susceptibility breakpoints established by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) committees for *E. coli* clinical isolates.

Patients and methods

Study design and patient population

Patients with BUTI due to multidrug-resistant *E. coli* were eligible for the FOREST clinical trial (NCT02142751) [13]; 16 consecutive patients hospitalized at University Hospital Virgen Macarena (Seville) participated in the trial between July 2013 and October 2016 [14]. The study was approved by the regional ethics committee. Signed informed consent was obtained from all patients. Demographic data (including age, sex, and height and weight), site of infection, baseline renal function, previous treatments and fosfomycin MICs of isolates were recorded. Serum creatinine concentrations were collected as a component of standard of care, and creatinine clearance (CrCl) was calculated daily using the Cockcroft–Gault equation [15]. Fosfomycin was administered 4 g every 5 hours (1-hour infusion) according to the clinical trial protocol. Patients with renal impairment (CrCl 20–40 mL/min) received 4 g every 12 hours (1-hour infusion) [14].

Pharmacokinetics

Blood samples were collected 48 hours after the first administration of drug, at 1, 3, 5 and 6 hours after the start of fosfomycin

administration for patients with a CrCl >40 mL/min and at 1, 6, 8 and 12 hours in patients with a CrCl of 20 to 40 mL/min.

Plasma fosfomycin concentrations were measured using tandem mass spectroscopy following a method previously described by Li et al. [16]. The assay interday coefficient of variation for fosfomycin in serum was $\leq 10\%$, with an accuracy range of 91.5% to 109.9%. The lower limit of quantification assay for plasma was 1 mg/L, with precision at coefficient of variation <15% and an accuracy range of 88.5% to 112.8%. The assay was linear over its working range (1–1000 mg/L).

Mathematical model

The nonparametric adaptive grid (NPAG) algorithm, embedded within the Pmetrics software package [17], was used to build a population pharmacokinetic model. For the population pharmacokinetic analysis, the one- and two-compartment linear models were fitted to the plasma fosfomycin concentration data. Covariate model building was performed using sequential assessment of biologically plausible clinical parameters. Forward inclusion was based on the aforementioned model selection criteria and significant correlation with one of the pharmacokinetic parameters. CrCl, weight, age, sex and body mass index were explored as covariates for each structural model.

The data were weighted by the inverse of the estimated assay variance. This was determined from the quality control samples used to estimate the interday assay variance and given by $SD \text{ (mg/L)} = \gamma \times (0.059 + 0.0118 \times C)$, where C is the fosfomycin concentration. Gamma represents an estimate of process noise and is expressed as multiples of the assay variance [17].

The fit of each model to the data was assessed using a combination of the following: (a) log likelihood value, (b) Akaike information criterion, (c) coefficients of determination (r^2) from the linear regression of the observed–predicted plots before and after the Bayesian step, (d) minimization of bias and imprecisions of the observed–predicted plots, (e) normalized prediction distribution errors (NPDE), (f) distribution of the weighted residual errors and (g) visual predictive check (VPC) plot.

Simulations and probability of target attainment

Monte Carlo simulations were conducted using data from 2000 patients by using the Monte Carlo simulator within Pmetrics. For simulations, a semiparametric sampling method available in Pmetrics [17,18] was used. The final model consisted of 11 support points; each point was a set of model parameter values and the probability of these values to predict observed fosfomycin concentrations in the population. Each support point then served as the mean for a multivariate normal distribution, weighted by the probability of the point, with covariance equal to the covariance matrix of the full model divided by the number of points (i.e. 11). The semiparametric sampling from this weighted, multivariate, multimodal normal distribution was used to generate a novel population of 2000 parameter sets. For the VPC, fosfomycin regimens of 4 g every 6 hours (dosage used in the FOREST clinical trial for patients with CrCl >40 mL/min) and 4 g every 12 hours for patients with renal impairment (CrCl 20–40 mL/min) were simulated. For the probability of pharmacodynamic target attainment (PTA) analysis, fosfomycin regimens of 4 g every 6 hours and 8 g every 8 hours (mutant prevention dosage observed in a hollow fiber infection model and also the maximum dosage approved by the Spanish Agency of Medicines and Medical Devices for parenteral fosfomycin) were analysed [5,14,19]. The PTA was assessed over a range of MICs between 0.125 and 1024 mg/L in doubling dilutions. The pharmacodynamic indices targeted for efficacy were obtained

from Lepak et al. [12] for *E. coli* (i.e. $fAUC_{0-24}/MIC$ of 19.3 for static effect and $fAUC_{0-24}/MIC$ of 87.5 for decreasing the bacterial burden by 1 log). The pharmacodynamic indices targeted for resistance suppression (i.e. $fAUC_{0-24}/MIC$ of 3136) were obtained from our previous work. Protein binding is negligible for fosfomycin and was ignored in these calculations [20].

Results

Patients

The demographic and clinical characteristics of the patients are shown in Table 1. All patients received a dose of 4 g of fosfomycin every 6 hours (1-hour infusion), except for four patients with CrCl 20 to 40 mL/min, who received 4 g every 12 hours.

A total of 64 plasma samples were collected over a single dosing interval at steady state (day 2 or 3 after starting fosfomycin treatment) from 16 enrolled patients. None of the determinations was below the limit of quantification.

Pharmacokinetics and mathematical model

The mean (SD) maximum fosfomycin plasma concentration (C_{max}) for patients at steady state was 422.6 mg/L (186.8 mg/L). The comparison between the variability observed in C_{max} concentrations between the current study and other previous fosfomycin pharmacokinetic studies is shown in Fig. 1. The mean (SD) area under the curve (AUC) for the first 24 hours, estimated using the posterior estimates from each patient, was 5215.08 mg²/h/L (1972.27 mg²/h/L). The fosfomycin concentration–time data were best described by a two-compartment linear model, which was associated with a significant reduction in the log likelihood value (LLD) compared to the one-compartment model (LLD = 132, $p < 0.05$). A linear model using CrCl best described drug clearance (CL). Inclusion of this covariate with an intercept reduced the log likelihood value by 13 points ($p < 0.001$). The incorporation of weight, age, sex or body mass index did not improve the model fit. The following final structural model was fitted to the data:

Table 1
Baseline patient characteristics of 16 patients with urinary tract bacteraemia due to multidrug-resistant *Escherichia coli*

Variable	Value
Male gender	9/16 (56.3%)
Age (years), median (range)	68.5 (63–83)
Body mass index ≥ 25 kg/m ²	13 (81.25%)
CrCl (mL/min), median (range)	70.5 (30.4–98.6)
McGabe index	1 (6.3%)
Comorbidities	
Diabetes mellitus	9/16 (56.3%)
Chronic pulmonary disease	2/16 (12.5%)
Cancer	2/16 (12.5%)
Community-acquired bacteraemia	9/16 (56.3%)
ESBL-producing <i>E. coli</i>	1/16 (6.3%)
MIC of fosfomycin	
0.5 mg/L	1
1 mg/L	8
2 mg/L	2
4 mg/L	1
8 mg/L	2
16 mg/L	2
Outcome	
Early clinical response (day 5)	13/14 (92.86%)*
Early microbiologic response (day 5)	13/14 (92.86%)*
Microbiologic cure	13/14 (92.86%)*

CrCl, creatinine clearance; ESBL, extended-spectrum β -lactamase; MIC, minimum inhibitory concentration.

*Two values were missed.

$$\frac{dX_1}{dt} = R(1) - \left(\frac{\text{intercept} + \text{slope} \times \text{CrCl}}{V_c} \right) \times X_1 - k_{cp} \times X_1 + k_{pc} \times X_2$$

$$\frac{dX_2}{dt} = k_{cp} \times X_1 - k_{pc} \times X_2$$

where X_1 and X_2 are the amounts of fosfomycin (in milligrams) in the central compartment and peripheral compartment respectively. $R(1)$ is the infusion rate of fosfomycin into central compartment. The renal clearance of fosfomycin is linearly represented with intercept and slope as parameters and CrCl as covariate. k_{cp} and k_{pc} are the first-order intercompartmental rate constants.

Final population pharmacokinetic parameter estimates are shown in Table 2.

For the final model, the population and individual observed vs. predicted plots of the final model are shown in Fig. 2. NPDE results (QQ plot and histogram) are summarized graphically in Supplementary Fig. S1. The weighted residual error distributions are shown in Supplementary Fig. S2. Both NPDEs ($p < 0.599$ in the Shapiro-Wilk normality test), the weighted residual error distributions and VPC plots (Fig. 3) suggest that the fit of the model to the data was acceptable. The 11 calculated support points and the covariance matrix in the lower triangular form are shown in Supplementary Tables S1 and S2, respectively.

Monte Carlo simulations and probability of target attainment

The PTA results for 4 g every 6 hours and 8 g every 8 hours as 60-minute infusions are displayed in Fig. 4. Monte Carlo simulations and PTA analysis showed mild improvement by increasing fosfomycin dosing (4 g every 6 hours vs. 8 g every 8 hours). PTA of 93.9% (4 g every 6 hours) and 98.2% (8 g every 8 hours) were achieved for both dosages using a pharmacodynamic target for bacteriostatic effect (i.e. $fAUC_{0-24}/MIC$ of 19.3) for MIC = 128 mg/L. Alternatively, using a pharmacodynamic target for 1-log decrease (i.e. $fAUC_{0-24}/MIC$ of 87.5), PTA of 89.3% (4 g every 6 hours) and 96.1% (8 g every 8 hours) were observed for MIC = 32 mg/L for both dosages. Setting a target for resistance suppression (i.e. $fAUC_{0-24}/MIC$ of 3136) an optimal PTA was reached for MIC of 1 mg/L, 83.2% (4 g every 6 hours) and 93.4% (8 g every 8 hours).

Following EUCAST (32 mg/L) and CLSI (64 mg/L) susceptibility breakpoints, the PTA were 89% to 96% and 33% to 54% respectively for decreasing 1-log bacterial burden. However, a PTA of 0 was observed for bacterial resistance suppression for any of the simulated doses (4 g every 6 hours or 8 g every 8 hours), irrespective of the susceptibility breakpoints that were used.

Discussion

The global threat of multidrug-resistant bacteria, together with the paucity of new active antimicrobial agents, has generated renewed interest in old drugs such as fosfomycin. The World Health Organization has included fosfomycin in 'Group 3—Reserve Group Antibiotics' [21]. This group includes antibiotics that should be reserved as options of last resort. Such agents should be widely accessible, but their use should be tailored to highly specific patients and settings when all alternatives have failed (e.g. serious, life-threatening infections due to multidrug-resistant bacteria). However, as a result of lack of clinical interest in fosfomycin in the past decades, many questions regarding the pharmacokinetics and

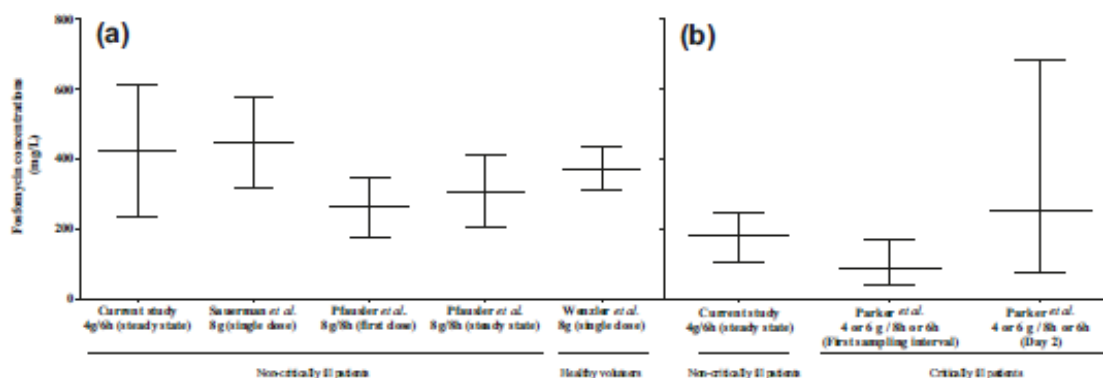


Fig. 1. Variability observed in fosfomycin concentrations with respect to other pharmacokinetic studies. (A) Mean (\pm standard deviation) maximal plasma fosfomycin concentrations (C_{max}) and (B) median (\pm range) trough fosfomycin plasma concentration (C_{min}).

Table 2

Final population pharmacokinetic parameter estimates for 16 patients with bacteremic urinary tract infection caused by multidrug-resistant *Escherichia coli* treated with fosfomycin

Parameter	Mean	SD	%CV	Median
Drug clearance, CL (L/h)	2.430	1.643	67.636	2.209
CL = [intercept + (creatinine clearance \times slope)]				
Intercept (L/h)	1.129	1.176	104.101	0.760
Slope	0.27	0.157	58.005	0.269
Intercompartmental transfer rate constants				
K_{cp} (h^{-1})	8.275	12.908	155.983	0.140
K_{pc} (h^{-1})	65.419	29.201	44.636	80.612

SD, standard deviation; CV, coefficient of variation; CL, drug clearance; K_{cp} and K_{pc} are intercompartmental transfer rate constants.

pharmacodynamics of this drug, and therefore appropriate dosing, remain unanswered.

One of the main findings of the present work is the high variability observed in fosfomycin concentrations observed in patients with BUFI, who were mostly not critically ill, compared to other previously published data from healthy subjects and also from non-critically ill patients, using higher dosages (8 g every 8 hours) [9,22,23]. For example, a mean C_{max} of 422.6 mg/L (mean $CrCl = 70.4$ mL/min) was observed in our study, similar to those in

Sauermann et al. [22] (mean C_{max} of 446 mg/L, mean $CrCl = 70.4$ mL/min) or Wenzler et al. [23] (mean C_{max} of 370 mg/L, mean $CrCl = 139.6$ mL/min). Also, the median trough fosfomycin plasma concentration (C_{min}) observed in our patients (178.7 mg/L; range, 106.11–246.93 mg/L) is closer to that observed by Parker et al. [10] in critically ill patients, which was 250 mg/L (range, 76–684 mg/L) at steady state. This could be explained in part by the renal impairment observed in our population, which affects fosfomycin pharmacokinetics (i.e. $CrCl$ median of 70.5, which is slightly higher than 59 mL/min observed in Parker et al.). Thus variations in the $CrCl$ could partially explain the differences observed with respect to healthy subjects [23]. On the basis of these observations, patients treated with fosfomycin would benefit from dose individualization based on $CrCl$ to avoid under- or overdosing, thus reducing the chance of therapeutic failure or toxicity.

Studies by Lepak et al. [12] and Docobo-Pérez et al. [5] provided pharmacodynamic targets for fosfomycin and enabled our Monte Carlo simulation and PTA calculation. These analyses raised several points that deserve emphasis. An increase in the fosfomycin dosage, from 4 g every 6 hours (16 g per day) to 8 g every 8 hours (24 g per day, which is the maximum dosage approved by the Spanish Agency of Medicines and Medical Devices), only slightly improves the PTA [19]. This is of key importance because a reduction of 8 g of fosfomycin per day means a reduction of 2.56 g of sodium (every gram contains 0.32 g of sodium) [19], reducing the

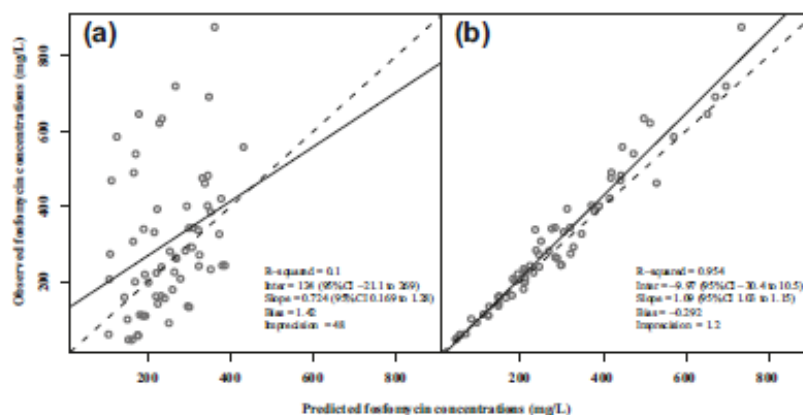


Fig. 2. (A) Plot of population predicted concentrations vs. observed concentrations. (B) Plot of individual predicted concentrations vs. observed concentrations (where data presented on both x- and y-axes are concentrations in milligrams per liter). Continuous line represents regression line; broken line, line of identity.

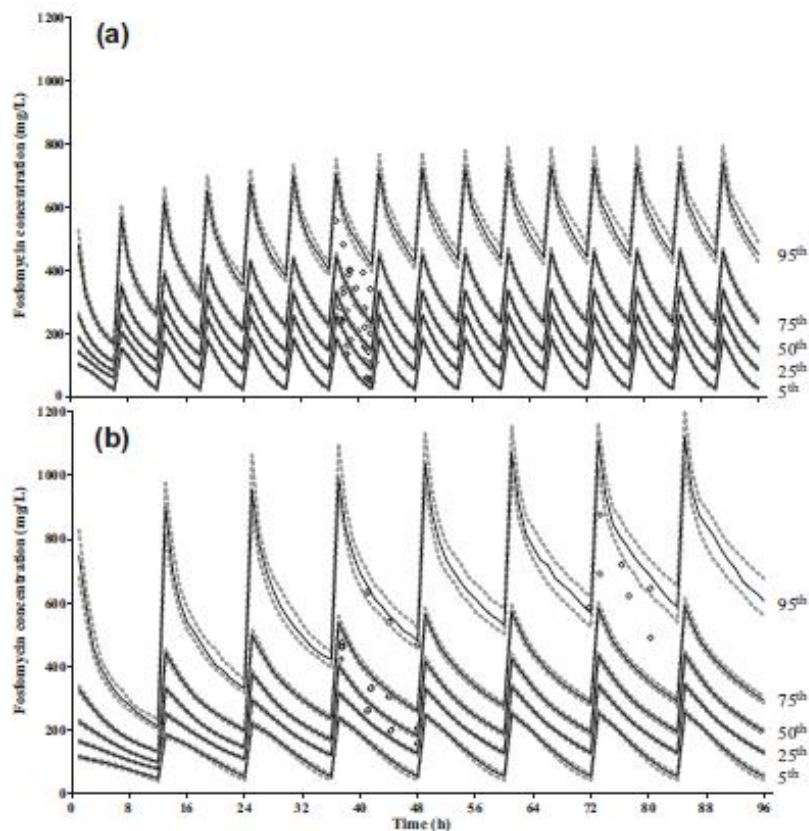


Fig. 3. Monte Carlo simulations ($n = 2000$) and visual predictive check of observed (open circles) over simulated (lines) data after treatment with (A) 4 g every 6 hours of fosfomycin (1-hour infusion, patients with CrCl >40 mL/min) or (B) 4 g every 12 hours of fosfomycin (1-hour infusion patients with CrCl 20–40 mL/min). Black lines indicate median, 90% prediction intervals (5th to 95th percentiles) and interquartile ranges (25th to 75th percentiles). Grey dashed lines represent 95% confidence interval.

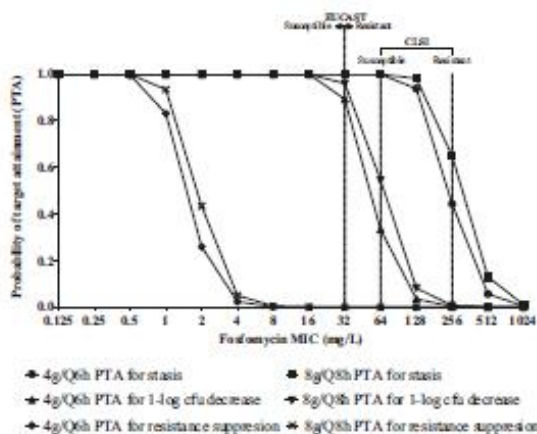


Fig. 4. Probability of target attainment for *Escherichia coli* for static effect ($fAUC_{0-24}/MIC = 19.3$), for 1-log bacterial reduction ($fAUC_{0-24}/MIC = 82.5$) and for bacterial resistance suppression ($fAUC_{0-24}/MIC = 3136$) at each fosfomycin MIC. Black dashed lines represent EUCAST and CLSI susceptibility breakpoints for fosfomycin. CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute; EUCAST, European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; fAUC, unbound concentration–time curve; MIC, minimum inhibitory concentration.

risk of adverse events, including hypocalcaemia, bradycardia or even heart failure [23,24], which may be particularly relevant for hospitalized patients.

An appraisal of the current susceptibility breakpoints for fosfomycin set by EUCAST and CLSI using the pharmacodynamic analyses reveals that efficacy would be better related to EUCAST breakpoints (i.e. susceptible ≤ 32 mg/L, resistant >32 mg/L) rather than CLSI breakpoints (i.e. susceptible ≤ 64 mg/L, resistant ≥ 256 mg/L) [25,26]. However, from the perspective of bacterial resistance suppression, all breakpoints are likely too high. It is also important to note that a number of factors may contribute to the appearance or selection of fosfomycin-resistant subpopulations, such as the mutational status of the bacterial strain (i.e. hypermutator phenotype), the presence of high bacterial burden or the existence of low-resistant mutations that may facilitate the selection of highly resistant mutants [27–29].

There are several limitations of the present study. The sample size was not sufficient to measure the impact of different drug exposures on clinical outcomes. The dosage of 8 g every 8 hours has been generated from the mathematical model assuming a linear pharmacokinetic of fosfomycin. Also, the VPC showed some underprediction in the group provided with 4 g every 12 hours. Given the low renal function in this subset of patients ($n = 4$) and the relatively small cohort of 16 patients, this may also affect the ability of the model to identify other relevant covariates.

Moreover, the pharmacodynamic targets for efficacy purposed by Lepak et al. [12] in the neutropenic murine thigh infection model and our suggested target for resistance prevention observed in the hollow fiber infection model may underestimate the efficacy of fosfomicin for immunocompetent patients and have not been so far validated by other studies. The neutropenic murine thigh infection model evaluated the microbiologic efficacy only during the first 24 hours. However, different studies using hollow fiber infection models have shown microbiologic failures occurring later as a result of the selection of subpopulations with reduced susceptibility or appearance of resistant mutants [5,30]. This suggests that the pharmacodynamic targets that drive the efficacy of fosfomicin in complex infections may need to consider suppression-resistant mutants, which are often not considered in the setting of breakpoints [5]. Finally, the existing controversy about how to perform and interpret fosfomicin susceptibility tests could hinder the use of MIC as a reliable measure of potency [28,29].

In conclusion, fosfomicin concentrations are highly variable and depend to some extent on the degree of renal dysfunction, even for non-critically ill patients. A regimen of 4 g every 6 hours or 8 g every 8 hours appears effective for the treatment of non-critically ill patients with bacteraemic urinary infection caused by multidrug-resistant *E. coli*. However, these regimens may still not be suitable (as monotherapy) for critically ill patients with a high bacterial burden where the emergence of drug resistance is likely to occur. Higher dosages may increase the probability of toxicity but would not be expected to significantly increase efficacy. Our study suggests that revision of both EUCAST and CLSI breakpoints may be required for some clinical contexts and patient subgroups. Finally, all these results must be prospectively validated with further pharmacokinetic and clinical outcome data.

Transparency declaration

Supported in part by the Ministerio de Economía y Competitividad, Instituto de Salud Carlos III (PI13/01282 and PI16/01824), Spain; and by Plan Nacional de I+D+i 2013-2016 and Instituto de Salud Carlos III, Subdirección General de Redes y Centros de Investigación Cooperativa, Ministerio de Economía, Industria y Competitividad, Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REPI RD16/0015/0010; RD16/0016/0001), cofinanced by European Development Regional Fund 'A way to achieve Europe,' Operative Program Intelligent Growth 2014–2020. FDP was supported by a VPPiUS fellowship from the University of Seville. WWH was supported by a National Institute of Health Research Clinician Scientist award (CS/08/08).

JRB has been scientific advisor for research projects for AstraZeneca and InfectoPharm and was speaker for Merck at accredited educational activities. JRB and AP received funding for research from COMBACTENET (grant agreement 115523), COMBACTECARE (grant agreement 115620) and COMBACTEMAGNET (grant agreement 115737) projects under the Innovative Medicines Initiative (IMI), the European Union and EFPIA companies in kind. WWH has received research funding from Pfizer, Gilead, Astellas, AiCuris, Amplex, Spero Therapeutics and F2G and has acted as a consultant and/or given talks for Pfizer, Basilea, Astellas, F2G, Nordic Pharma, Medicines Company, Amplex, Mayne Pharma, Spero Therapeutics, Auspherix, Cardeas and Pulmocide. The other authors report no conflicts of interest relevant to this article.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data related to this article can be found at <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.02.005>.

References

- Castañeda-García A, Blázquez J, Rodríguez-Rojas A. Molecular mechanisms and clinical impact of acquired and intrinsic fosfomicin resistance. *Antibiotics (Basel)* 2013;16:217–36.
- Kaese M, Szabados F, Anders A, Gatermann SG. Fosfomicin susceptibility in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* from Germany. *J Clin Microbiol* 2014;52:1893–7.
- Falagas ME, Maraki S, Karageorgopoulos DE, Kastoris AC, Mavromanolakis E, Samonis G. Antimicrobial susceptibility of multidrug-resistant (MDR) and extensively drug-resistant (XDR) *Enterobacteriaceae* isolates to fosfomicin. *Int J Antimicrob Agents* 2010;35:240–3.
- Li YY, Zheng R, Li YY, Zhu S, Xue F, Liu J. Antimicrobial susceptibility and molecular mechanisms of fosfomicin resistance in clinical *Escherichia coli* isolates in mainland China. *PLoS One* 2015;10:e0135269.
- Docobo-Pérez F, Drusano GL, Johnson A, Goodwin J, Whalley S, Ramos-Martín V, et al. Pharmacodynamics of fosfomicin: insights into clinical use for antimicrobial resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59:5602–10.
- Gupta K, Hooton TM, Naber KG, Wullt B, Colgan R, Miller LG, et al. International clinical practice guidelines for the treatment of acute uncomplicated cystitis and pyelonephritis in women: a 2010 update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. *Clin Infect Dis* 2011;52:e103–20.
- Michalopoulos AS, Livaditis IG, Gougoutas V. The revival of fosfomicin. *Int J Infect Dis* 2011;15:e732–9.
- Frossard M, Joukhadar C, Erovic BM, Ditttrich P, Mraz PE, Van Houte M, et al. Distribution and antimicrobial activity of fosfomicin in the interstitial fluid of human soft tissues. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:2728–32.
- Pfäusler B, Spiss H, Ditttrich P, Zeitlinger M, Schmutzhard E, Joukhadar C. Concentrations of fosfomicin in the cerebrospinal fluid of neurointensive care patients with ventriculostomy-associated ventriculitis. *J Antimicrob Chemother* 2004;53:848–52.
- Parker SL, Frantzeskaki F, Wallis SC, Diakaki C, Giamarellou H, Koulenti D, et al. Population pharmacokinetics of fosfomicin in critically ill patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59:6471–6.
- VanScoy BD, McCauley J, Ellis-Grosse EJ, Okusanya OO, Bhavnani SM, Forrest A, et al. Exploration of the pharmacokinetic–pharmacodynamic relationships for fosfomicin efficacy using an in vitro infection model. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59:7170–7.
- Lepak AJ, Zhao M, VanScoy B, Taylor DS, Ellis-Grosse E, Ambrose PG, et al. In vivo pharmacokinetics and pharmacodynamics of Z1-01 (fosfomicin for injection) in the neutropenic murine thigh infection model against *E. coli*, *K. pneumoniae*, and *P. aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2017. AAC00476–17.
- Magiorakos AP, Srinivasan A, Garey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect* 2012;18:268–81.
- Rosso-Fernández C, Sojo-Dorado J, Barriga A, Lavín-Alconero I, Palacios Z, López-Hernández I, et al. Fosfomicin versus meropenem in bacteraemic urinary tract infections caused by extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* (FOREST): study protocol for an investigator-driven randomised controlled trial. *BMJ Open* 2015;5:e007363.
- Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976;16:31–41.
- Li L, Chen X, Dai X, Chen H, Zhong D. Rapid and selective liquid chromatographic/tandem mass spectrometric method for the determination of fosfomicin in human plasma. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci* 2007;856:171–7.
- Neely MN, van Gulder MG, Yamada WM, Schmitzky A, Jelliffe RW. Accurate detection of outliers and subpopulations with metrics, a nonparametric and parametric pharmacometric modeling and simulation package for R. *Ther Drug Monit* 2012;34:467–76.
- Goutelle S, Bourguignon I, Maire PH, Van Gulder M, Conte JE, Jelliffe RW. Population modeling and Monte Carlo simulation study of the pharmacokinetics and antituberculous pharmacodynamics of rifampin in lungs. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:2974–81.
- AEMPS. Ficha técnica Fosfomicina intravenosa 4g polvo para solución inyectable. Agencia Española Del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS). Available at: https://cima.aemps.es/cima/pdf/es/R/50878/IT_50878.pdf.
- Gonzalez D, Schmidt S, Derendorf H. Importance of relating efficacy measures to unbound drug concentrations for anti-infective agents. *Clin Microbiol Rev* 2013;26:274–88.
- World Health Organization. WHO model list of essential medicines. Available at: http://www.who.int/medicines/publications/essentialmedicines/20th_EML2017.pdf.
- Sauer mann R, Karch R, Langenberger H, Kettenbach J, Mayer-Helm B, Petsch M, et al. Antibiotic abscess penetration: fosfomicin levels measured in pus and simulated concentration–time profiles. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:4448–54.
- Wenzler E, Ellis-Grosse EJ, Rodvold KA. Pharmacokinetics, safety, and tolerability of single dose intravenous (Z1-01) and oral fosfomicin in healthy volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 2017;61:e00775–17.
- Florent A, Chichmanian RM, Cua E, Pulcini C. Adverse events associated with intravenous fosfomicin. *Int J Antimicrob Agents* 2011;37:82–3.

- [25] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, version 7.1. 2017. Available at: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_7.1_Breakpoint_Tables.pdf.
- [26] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. M02–A12. 12th ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.
- [27] Ellington MJ, Livermore DM, Pitt TL, Hall LMC, Woodford N. Mutators among CTXM beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and risk for the emergence of fosfomicin resistance. *J Antimicrob Chemother* 2006;58:948–52.
- [28] Balletero-Téllez M, Docobo-Pérez F, Rodríguez-Martínez JM, Conejo MC, Ramos-Guelfo MS, Blázquez J, et al. Role of inoculum and mutant frequency on fosfomicin MIC discrepancies by agar dilution and broth microdilution methods in *Enterobacteriaceae*. *Clin Microbiol Infect* 2017;23:325–31.
- [29] Balletero-Téllez M, Docobo-Pérez F, Portillo-Calderón L, Rodríguez-Martínez JM, Racero L, Ramos-Guelfo MS, et al. Molecular insights into fosfomicin resistance in *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother* 2017;72:1303–9.
- [30] VanScy B, McCauley J, Bhavnani SM, Ellis-Grosse EJ, Ambrose PG. Relationship between fosfomicin exposure and amplification of *Escherichia coli* subpopulations with reduced susceptibility in a hollow-fiber infection model. *Antimicrob Agents Chemother* 2016;60:5141–5.

COMUNICACIONES A
CONGRESOS

ANEXO: DICTAMEN CEIC

JUNTA DE ANDALUCÍA

CONSEJERÍA DE IGUALDAD, SALUD Y POLÍTICAS SOCIALES
Dirección General de Calidad, Investigación, Desarrollo e Innovación
Comité Coordinador de Ética de la Investigación Biomédica de Andalucía

DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN

ANTONIO VELÁZQUEZ MARTÍNEZ COMO SECRETARIO/A DEL COMITÉ COORDINADOR DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DE ANDALUCÍA

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta del promotor FISEVI-F.P. ANDALUZA PARA LA GESTIÓN DE LA INVEST. EN SALUD EN SEVILLA de modificación relevanteal Ensayo Clínico con código de protocolo del promotor FOREST y número de EudraCT 2013-002922-21 titulado:

Ensayo clínico aleatorizado, multicéntrico, abierto, controlado, en fase III, para evaluar la eficacia de fosfomicina vs meropenem en el tratamiento dirigido de la infección urinaria bacteriémica por Escherichia coli productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE)

AMPLIACION DE CENTROS:

- * HOSPITAL UNIVERSITARIO DE BURGOS
- * HOSPITAL DE LA MARINA BAIXA DE LA VILA JOIOSA
- * HOSPITAL UNIVERSITARI ARNAU DE VILANOVA DE LLEIDA
- * HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL
- * HOSPITAL UNIVERSITARIO CENTRAL DE ASTURIAS
- * HOSPITAL UNIVERSITARIO MARQUES DE VALDECILLA
- * HOSPITAL DEL MAR
- * HOSPITAL UNIVERSITARIO DE CANARIAS
- * HOSPITAL UNIVERSITARI I POLITÈCNIC LA FE

CAMBIO DE INVESTIGADOR PRINCIPAL:

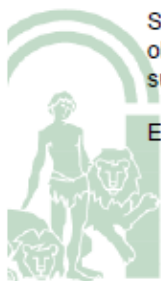
- * HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO DE ALICANTE

y considera que:

El ensayo se plantea siguiendo los requisitos del Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero y las normas que le son de aplicación y su realización es pertinente.

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto, teniendo en cuenta los beneficios esperados.

El seguro o la garantía financiera previstos son adecuados.



Código Seguro De Verificación:	ZGR691aKbBTSppOX1xV1Q--	Fecha	21/07/2014
Normaliva	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.		
Firmado Por	Antonio Velazquez Martinez		
Uri De Verificación	https://ws058.juntadeandalucia.es/verifirma/code/ZGR691aKbBTSppOX1xV1Q-	Página	1/3



JUNTA DE ANDALUCÍA

CONSEJERÍA DE IGUALDAD, SALUD Y POLÍTICAS SOCIALES
Dirección General de Calidad, Investigación, Desarrollo e Innovación
Comité Coordinador de Ética de la Investigación Biomédica de Andalucía

El procedimiento para obtener el consentimiento informado y el plan de reclutamiento de sujetos previstos son adecuados, así como las compensaciones previstas para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el ensayo.

La capacidad del investigador/a y sus colaboradores y las instalaciones y medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.

Por tanto, actuando como comité de referencia, y habiendo tenido en cuenta las aportaciones de los CEICs implicados, acepta que dicho ensayo clínico sea realizado en los centros siguientes por los investigadores/as principales que se relacionan a continuación:

Centro	Investigadora	CEIC
COMPLEJO HOSPITALARIO REGIONAL REINA SOFIA	Clara Natera Kindelan	CEI de Cordoba
COMPLEJO HOSPITALARIO REGIONAL VIRGEN MACARENA	Jesús Rodríguez Baño	CEI Hospital Universitario Virgen Macarena
HOSPITAL UNIVERSITARI DE BELLVITGE	Evelyn Shaw Perujo	CEIC Hosp. Univ. Bellvitge
Hospital Universitario de Terrassa	Anna San Gil Betriu	CEIC Hosp. Univ. Terrassa
Hospital de Cruces	Elena Bereciartua Bastarrica	CEIC de Euskadi
H. U. de Gran Canaria Dr. Negrín	Miguel Angel Cárdenas Santana	CEIC Dr. Negrin
HOSPITAL CLINICO UNIVERSITARIO VIRGEN DE LA ARRIXACA	Alicia Hernández Torres	CEIV Virgen de la Arrixaca
HOSPITAL UNIVERSITARIO 12 DE OCTUBRE	José Tiago Sequeira Lopes Da Silva	CEIC 12 de octubre
Hospital de la Santa Creu i San Pau	Virginia Pomar	CEIC de la Santa Creu i Sant Pau
Hospital Royo Vilanova	Rosa María Martínez Álvarez	CEIC de Aragón
COMPLEJO ASISTENCIAL SON ESPASES	Núria Borrell Solé	CEIC Illes Balears
HOSPITAL UNIVERSITARI VALL D'HEBRON	Carlos Pigrau Serrallach	CEIC Vall d'Hebron
HOSPITAL UNIVERSITARIO DE BURGOS	Carlos Dueñas Gutiérrez	CEIC Área de Salud de Burgos y Soría
HOSPITAL DE LA MARINA BAIXA DE LA VILA JOIOSA	Concepción Amador Prous	CEIC Hospital General Universitario de Alicante
HOSPITAL UNIVERSITARI ARNAU DE VILANOVA DE LLEIDA	Fernando Barcenilla Galte	CEIC Hospital Universitari Arnau de Vilanova de Lleida
HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL	Vicente Pintado García	CEIC Área 4 - Hospital Universitario Ramón y Cajal
HOSPITAL UNIVERSITARIO CENTRAL DE ASTURIAS	Ana Mª Fieltes Gutiérrez	Comité Ético de Investigación Clínica de Asturias
HOSPITAL UNIVERSITARIO MARQUES DE VALDECILLA	Luis Martínez Martínez	Comité Ético de Investigación Clínica de Cantabria
HOSPITAL DEL MAR	Mª Luisa Soril Redó	CEIC Parc de Salut Mar
HOSPITAL UNIVERSITARIO DE CANARIAS	Miguel Angel Cárdenas Santana	CEIC del Hospital Universitario de Canarias
HOSPITAL UNIVERSITARI I POLITÈCNIC LA FE	Miguel Salavert Lieti	CEIC Hospital Universitario La Fe
HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO DE ALICANTE	Esperanza Merino de Lucas	CEIC Hosp. Univ. de Alicante

ANTONIO VELÁZQUEZ MARTÍNEZ COMO SECRETARIO/A DEL COMITÉ COORDINADOR DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DE ANDALUCÍA

CERTIFICA

Que este Comité ha ponderado y evaluado en sesión celebrada el veinticuatro de junio de dos mil catorce ACTA 06/14, y a propuesta del promotor FISEVI-F.P.



Código Seguro De Verificación:	ZCR691aRbBTSappOX1xV1Q==	Fecha	21/07/2014
Normativa	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.		
Firmado Por	Antonio Velazquez Martínez		
Url De Verificación	https://ws058.juntadeandalucia.es/verifirma/coda/ZCR691aRbBTSappOX1xV1Q=	Página	2/3



JUNTA DE ANDALUCÍA

CONSEJERÍA DE IGUALDAD, SALUD Y POLÍTICAS SOCIALES
Dirección General de Calidad, Investigación, Desarrollo e Innovación
Comité Coordinador de Ética de la Investigación Biomédica de Andalucía

ANDALUZA PARA LA GESTIÓN DE LA INVEST. EN SALUD EN SEVILLA de modificación relevante al Ensayo Clínico con código de protocolo del promotor FOREST y número de EudraCT 2013-002922-21 titulado:

Ensayo clínico aleatorizado, multicéntrico, abierto, controlado, en fase III, para evaluar la eficacia de fosfomicina vs meropenem en el tratamiento dirigido de la infección urinaria bacteriémica por Escherichia coli productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE)

AMPLIACION DE CENTROS:

- * HOSPITAL UNIVERSITARIO DE BURGOS
- * HOSPITAL DE LA MARINA BAIXA DE LA VILA JOIOSA
- * HOSPITAL UNIVERSITARI ARNAU DE VILANOVA DE LLEIDA
- * HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL
- * HOSPITAL UNIVERSITARIO CENTRAL DE ASTURIAS
- * HOSPITAL UNIVERSITARIO MARQUÉS DE VALDECILLA
- * HOSPITAL DEL MAR
- * HOSPITAL UNIVERSITARIO DE CANARIAS
- * HOSPITAL UNIVERSITARI I POLITECNIC LA FE

CAMBIO DE INVESTIGADOR PRINCIPAL:

- * HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO DE ALICANTE

Que a dicha sesión asistieron los siguientes integrantes del Comité:

- Sr. D. Demetrio Mariano Aguayo (Presidente. Medicina Interna, Hosp. Juan Ramón Jiménez. Huelva. HUELVA)
- Sr. D. Antonio Velázquez (Secretario. Med. Prev. y S.P. Consejería de I.S.yP.S. Sevilla. SEVILLA)
- Sr. D. Fernando Antúnez (Vicepresidente. Med. Prev. y S.P. Delegación Territorial de I.S.yP.S. Granada. GRANADA)
- Sr. D. Jaime Torelló (Vocal. Farmacología Clínica. Hosp. Univ. Virgen del Rocío. Sevilla. SEVILLA)
- Sr. D. José María Villagrán (Vocal. Psiquiatría. HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DE JEREZ DE LA FRONTERA. CADIZ)
- Sra. D^a Macarena Anchórtz (Vocal. Pediatría. Hosp. Univ. Virgen del Rocío. Sevilla. SEVILLA)
- Sra. D^a Celia Castillo (Vocal. Loda. en Derecho. Hosp. Torrecárdenas. Almería. ALMERIA)
- Sra. D^a Encarnación Blanco (Vocal. Farmacología Clínica. Universidad de Málaga. MALAGA)
- Sra. D^a Isabel García (Vocal. Oncología Radioterápica. Hosp. Regional Univ. de Málaga. MALAGA)
- Sr. D. Francisco Miguel Bombillar (Vocal. Dr. en Derecho. Universidad de Granada. GRANADA)
- Sr. D. Enrique Raya (Vocal. Reumatología. Hosp. Univ. San Cecilio. Granada. GRANADA)
- Sra. D^a María Victoria Casas (Vocal. Loda. en Derecho. Consejería de I.S.y P.S. Sevilla. SEVILLA)
- Sra. D^a Miriam Celdrán (Vocal. Universidad de Granada (Melilla). MALAGA)
- Sr. D. Alberto Delgado (Vocal. Radlofarmacia. Hosp. Regional Univ. de Málaga. MALAGA)



Que dicho Comité está constituido y actúa de acuerdo con la normativa vigente y las directrices de la Conferencia Internacional de Buena Práctica Clínica

Código Seguro De Verificación:	ZGR691aKb8TSppOX1xV1Q==	Fecha	21/07/2014
Normativa	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.		
Firmado Por	Antonio Velazquez Martinez		
Uri De Verificación	https://ws058.juntadeandalucia.es/verifirma/coda/ZGR691aKb8TSppOX1xV1Q=	Página	3/3



