

**EVALUACION DE LA ACTIVIDAD BACTERICIDA EN SUERO DE PACIENTES
QUE RECIBEN DIFERENTES MOLECULAS FARMACEUTICAS DE
PIPERACILINA TAZOBACTAM PARA EL TRATAMIENTO DE
ENFERMEDADES INFECCIOSAS**

**JOSE YESID RODRIGUEZ QUINTERO
DIEGO FERNANDO SALINAS CORTES**

**Código 05-598074
Código 05-598073**

**Trabajo de grado presentado para optar al título de Especialista en
Enfermedades Infecciosas**

**DIRIGIDO POR
CARLOS HUMBERTO SAAVEDRA TRUJILLO**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA INTERNA
2010**

1. RESUMEN EJECUTIVO.

En Colombia existen muchas presentaciones comerciales no innovadoras de antibióticos para uso parenteral que se distribuyen siguiendo supuestos de equivalencia terapéutica a partir de la demostración de la equivalencia farmacéutica. Estos compuestos son administrados a pacientes para el tratamiento de procesos infecciosos activos. A pesar de estos supuestos, recientes estudios realizados en Estados Unidos evidencia una disminución significativa de la actividad antimicrobiana in vitro (entre -5 a -35%) al comparar formulas farmacéuticas no innovadoras con la formula innovadora. En Colombia estudios en animales de experimentación no muestran equivalencia en la actividad microbiológica de algunos antibióticos, sin embargo estos estudios presentan problemas metodológicos que dificultan su interpretación. Con la tecnología actual es posible evaluar la actividad antimicrobiana en suero de los antibióticos, como un parámetro solido de actividad farmacéutica que permita establecer la existencia o no de equivalencia terapéutica entre las diferentes moléculas de antibióticos comercializados en Colombia.

La OMS contempla el máximo aprovechamiento de los medicamentos esenciales para salvar vidas, mediante la educación sobre la disponibilidad de medicamentos no innovadores, la implementación de políticas formales en el uso prudente de los medicamentos y el aumento en la calidad y seguridad de estos. Las moléculas no innovadoras representan una cifra importante en el mercado farmaceutico global y aunque se desconoce la proporción local de consumo de estos, se estima que su uso en el tratamiento de procesos infecciosos activos es elevado. Por esta razón, se requieren estudios que permitan establecer la equivalencia farmacéutica, bioequivalencia y equivalencia terapéutica de estos medicamentos frente a las moléculas innovadoras y en consecuencia definir si dichos productos pueden ser intercambiables durante el tratamiento medico de un paciente sin representar riesgos para este. Piperacilina tazobactam hace parte de los antimicrobianos de mayor uso en Bogotá para el tratamiento de infecciones nosocomiales, actualmente hay 8 moléculas no innovadoras aprobadas para uso en Colombia, por lo cual es un buen modelo para iniciar estos estudios.

En el presente trabajo planteamos la evaluación de la actividad bactericida en suero de pacientes que reciben diferentes moléculas farmacéuticas de un antibiótico (piperacilina tazobactam) empleado en el tratamiento de enfermedades infecciosas, para lo cual se diseño un estudio es observacional analítico tipo corte transversal. La población esta conformada por los pacientes hospitalizados en diferentes IPS de Bogotá adscritas a GREBO, que se encuentren bajo tratamiento endovenoso con Piperacilina tazobactam por sospecha o diagnostico de un proceso infeccioso. La muestra estará constituida por los primeros 15 pacientes

por molécula de estudio (8 moléculas no innovadoras y una innovadora), que cumplan con los criterios de inclusión y exclusión planteados. Se registrarán las variables relacionadas con el hospedero y la patología infecciosa en tratamiento y a cada paciente se le tomarán muestras secuenciales de sangre al cabo del cuarto día de tratamiento para:

1. Establecer el comportamiento farmacocinético de las moléculas estudiadas, empleando la técnica de evaluación de actividad microbiológica en agar
2. Determinar la curva de actividad bactericida in vitro y sérica mediante el método de microdilución.

Por último, para conocer el equivalente en potencia por vial (ampolla antibiótico), se evaluará la concentración del antimicrobiano mediante la técnica de actividad microbiológica en agar. Los ensayos se realizarán en el laboratorio de microbiología, Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias de la UN, empleando metodologías previamente estandarizadas y validadas. Para establecer la precisión de los resultados se realizarán 5 mediciones por cada muestra evaluada, así mismo las muestras serán codificadas para asegurar el cegamiento. El análisis de resultados empleará estadística descriptiva no paramétrica de las variables

A partir de la evaluación de la actividad bactericida del suero de pacientes que reciben diferentes moléculas farmacéuticas de piperacilina tazobactam para el tratamiento de enfermedades infecciosas se pretende contribuir a al conocimiento de la equivalencia farmacéutica y terapéutica de estas moléculas y con esto generar recomendaciones que conlleven a un uso más acertado de los recursos terapéuticos y permitan tener seguridad sobre la calidad de los medicamentos empleados en el tratamiento de procesos infecciosos en estos pacientes.

2. JUSTIFICACION

La OMS contempla el máximo aprovechamiento de los medicamentos esenciales para salvar vidas, mediante la educación sobre la disponibilidad de medicamentos no innovadores, la implementación de políticas formales en el uso prudente de los medicamentos y el aumento en la calidad y seguridad de estos¹. Las moléculas no innovadoras representan una cifra importante en el mercado farmacéutico global y aunque se desconoce la proporción local de consumo de estos, se estima que su uso en el tratamiento de procesos infecciosos activos es elevado. Por esta razón, se requieren estudios que permitan establecer la equivalencia farmacéutica, bioequivalencia y equivalencia terapéutica de estos medicamentos frente a las moléculas innovadoras y en consecuencia definir si dichos productos pueden ser intercambiables durante el tratamiento médico de un paciente sin representar riesgos para este. Piperacilina tazobactam hace parte de los antimicrobianos de mayor uso en Bogotá para el tratamiento de infecciones nosocomiales, actualmente hay 8 moléculas no innovadoras aprobadas para uso en Colombia, por lo cual representan un buen modelo para el inicio de estos estudios.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En Colombia existen muchas presentaciones comerciales no innovadoras de antibióticos para uso parenteral que se distribuyen siguiendo supuestos de equivalencia terapéutica a partir de la demostración de la equivalencia farmacéutica. Estos compuestos son administrados a pacientes para el tratamiento de procesos infecciosos activos. A pesar de estos supuestos, recientes estudios realizados en Estados Unidos evidencian una disminución significativa de la actividad antimicrobiana in vitro (entre -5 a -35%) al comparar fórmulas farmacéuticas genéricas con la fórmula innovadora.

En Colombia estudios en animales de experimentación no muestran equivalencia en la actividad microbiológica de algunos antibióticos, sin embargo estos estudios presentan problemas metodológicos que dificultan su interpretación. Con la tecnología actual es posible evaluar la actividad antimicrobiana en suero de los antibióticos, como un parámetro sólido de actividad farmacéutica que permita establecer la existencia o no de equivalencia terapéutica entre las diferentes moléculas de antibióticos comercializados en Colombia.

4. MARCO TEORICO

Se recomienda que los medicamentos que se comercializan en una comunidad, deban contar con la aprobación de instituciones regulatorias de la salud. La calidad de los medicamentos que se comercializan se debe establecer mediante el cumplimiento de tres parámetros básicos: 1. Buenas práctica de manufactura, 2. Especificaciones de control de la calidad y 3. Demostración de intercambiabilidad de productos farmacéuticos ².

Las buenas prácticas de manufactura permiten establecer si el medicamento es fabricado bajo medidas apropiadas y el producto final cumple con los mínimos físico-químicos correspondientes, el control de calidad esta dirigido a determinar que el principio activo se encuentra en las concentraciones ofrecidas y la intercambiabilidad hace referencia a que los medicamentos utilizados tienen los mismos perfiles de seguridad y eficacia que los medicamentos originales o los comercialmente lideres en el mercado.

Entendemos por equivalentes farmacéuticos a dos presentaciones que contienen igual principio activo en igual dosis y la misma formulación. La bioequivalencia se define como la ausencia de diferencia significativa en la velocidad y cantidad (AUC y Cmax) de moléculas activas de equivalentes farmacéuticos (alternativas farmacéuticas) que se disponen en el sitio de acción cuando son administradas en la misma dosis molar y bajo iguales condiciones dentro de un estudio diseñado en condiciones apropiadas. Sirve para demostrar que dos formulaciones del mismo principio activo son terapéuticamente equivalentes y por lo tanto intercambiables ³.

Para establecer bioequivalencia entre dos productos no deben existir diferencias estadísticamente significativas entre sus promedios de AUC y Cmax expresados en forma logarítmica (según la normativa internacional se acepta hasta un 20% de diferencia entre estos parámetros). El resto de mediciones farmacocinéticas ayuda a la mejor caracterización de los productos a comparar pero no determina la intercambiabilidad de los mismos ^{3,4}.

Los medicamentos genéricos son copias de medicamentos (productos farmacéuticos) que han demostrado ser bioequivalentes al compararlo con el original ⁴. Son medicamentos que se fabrican y comercializan sin el consentimiento del fabricante original, su comercialización depende de la expiración de la patente. El uso de este tipo de medicamentos puede representar cerca de 40% del mercado farmacéutico y cerca de 10% de las ventas de la industria farmacéutica en los países desarrollados ⁵. Se desconoce actualmente el peso de los medicamentos de este tipo en la economía de países con patrones atípicos de desarrollo, aunque su uso es muy recomendado por la OMS, siempre y cuando se asegure su intercambiabilidad.

Como ya se comento, la intercambiabilidad suele ser demostrada por estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia. De acuerdo a las definiciones de la OMS no todos los medicamentos genéricos deben incluir este tipo estudios para demostrar

su calidad y seguridad, en medicamentos de uso parenteral, en polvo listo para disolución, o suspensiones de uso oral, puede bastar con la documentación de las buenas prácticas de manufactura y los estudios de disolución *in Vitro*⁶. Si se demuestran estos principios, se establece la equivalencia farmacéutica y de acuerdo a la definición de la OMS esto es suficiente para considerar la equivalencia terapéutica.

A pesar de esta disposición el mismo documento de la OMS, que establece que en medicamentos de uso parenteral y suspensiones no se requieren estudios de bioequivalencia, se presentan ejemplos de diferentes productos de uso parenteral y suspensión que deben ser sometidos a pruebas de equivalencia terapéutica, como, penicilina benzatínica, amoxicilina en suspensión y diferentes presentaciones de insulina inyectable, entre otros. De tal forma que el presupuesto de intercambiabilidad de la OMS, no es absoluto.

Para comercializar un producto farmacéutico, de uso parenteral, en Colombia se requiere de la presentación de los documentos de buenas prácticas de manufactura y estabilidad. A pesar de que la OMS considera que estos parámetros son suficientes, postulado que al momento no tiene una demostración empírica clara, se encuentran continuamente reportes informales de la pobre acción de medicamentos parenterales genéricos que fueron autorizados para comercialización, pero que aparentemente no cumplen con la acción que se esperaría dado su equivalencia farmacéutica.

En una serie de ensayos dirigidos a establecer si el precepto de la OMS de que la equivalencia farmacéutica garantiza la equivalencia terapéutica de algunos antimicrobianos, se encontró que a pesar de encontrar equivalencia farmacéutica a través de la actividad bactericida *in Vitro* entre el compuesto original y los medicamentos genéricos, esta actividad fue diferente para algunos medicamentos genéricos distribuidos en Colombia, cuando se compararon con el original en fragmentos de músculo infectado de animales de experimentación^{7 8 9}. Un estudio más reciente realizado en Estados Unidos encontró una disminución significativa en la actividad microbiológica *in vitro* de diferentes presentaciones no innovadoras de piperacilina tazobactam (entre -5 y -35%) al compararla con la actividad *in vitro* de la molécula original¹⁰. Por esta razón se considera prudente realizar un estudio de bioequivalencia entre productos antibióticos originales y no innovadores.

Los estudios bioequivalencia son estudios de biodisponibilidad diseñados con fines comparativos. Se desarrollan para determinar si dos o más formulaciones son similares, es decir se portan bioequivalentes y por tanto se puede definir que dichos productos pueden ser intercambiados durante el tratamiento médico de un paciente sin riesgo para este (Aïache, J. M. 1983). Buscan una seguridad razonable de que los medicamentos por si mismos no serán una fuente de variabilidad de los resultados de la farmacoterapia. La razón de bioequivalencia

debe ser el resultado de un diseño estadístico apropiado para un medicamento en particular, debido a que las diferencias deben tener consecuencias clínicas claras, para considerar la inequivalencia de los índices terapéuticos, o tóxicos, de cada producto. De acuerdo a la clasificación de los estudios de biodisponibilidad la comparación entre antibióticos no innovadores y los de patente o innovadores de uso parenteral, se puede realizar mediante estudios de bioequivalencia, con control biológico hemático (suero), de soluciones intravasculares, de administración de dosis única y mediante medición de la actividad ¹¹.

Para efectos de comparación farmacocinéticas es recomendable comparar más de un parámetro, se suele considerar las mediciones de concentración máxima (*C. max*), concentración mínima (*C. min*), y al menos tres mediciones del intervalo, en este caso se recomienda utilizar análisis multivariado de medidas repetidas, para el desarrollo del análisis estadístico ¹².

4.1. Métodos de valoración de un antibiótico.

La farmacopea norteamericana (USP 27), reconoce dos métodos microbiológicos generales para la valoración de antibióticos, el primero, el método del “cilindro-plato” o “Difusión en gel” y el segundo, el método “turbidimétrico” o de “tubo”. El primero depende de la difusión de un antibiótico desde un espacio cilíndrico, (perforación vertical) denominado pozuelo, que se hace en un medio de agar solidificado en una caja de petri, el cual ha sido inoculado con un microorganismo modelo (cepa ATCC); éste último es completamente inhibido en su crecimiento dentro del medio de agar, en un área circular (zona de inhibición), alrededor de la perforación que contiene las diferentes diluciones del antibiótico evaluado; los halos así formados tanto para el patrón como para la muestra son medidos y analizados de forma estadística para determinar la potencia relativa de la muestra.

El método turbidimétrico depende de la inhibición del crecimiento de un cultivo microbiano, en una solución uniforme de antibiótico (diluciones), en un medio fluido (caldo), el cual es favorable para el crecimiento del microorganismo, en ausencia del antibiótico ¹³.

4.2. Evaluación de antibióticos por difusión en gel.

Los análisis de laboratorio que involucran antibióticos, son habitualmente desarrollados en medios de agar sólido, mediante la lectura de los halos formados a través de una simple regla calibrada, cuando se trabajan medios líquidos las lecturas de la inhibición en el crecimiento se llevan a cabo por métodos espectrofotométricos ¹⁴.

El microorganismo a usar en las pruebas de valoración de antibióticos, debe ser escogido para asegurar reproducibilidad en los resultados y poder definir las variables físicas y químicas que puedan interferir con el desarrollo microbiano, como requerimientos nutricionales, condiciones de pH y de temperatura entre otras.

La susceptibilidad del microorganismo modelo, para un antibiótico, se estima mediante el desarrollo de un sistema de diluciones tanto para el patrón del antibiótico como para la muestra que se desea probar, de tal forma que sean iguales, estas son sembradas en un volumen determinado en las respectivas placas de agar y se incuban a la temperatura óptima de crecimiento establecida. Después de un tiempo de incubación de 10 a 24 horas, se miden los halos formados en las placas sembradas, lo que genera una serie de datos que servirán para determinar la potencia de la muestra.

4.3. Factores que influyen en la prueba de difusión en gel.

Las variables más críticas que se deben considerar para evitar las posibles variaciones en la respuesta instrumental esperada, son:

Densidad del inóculo:

La concentración de la suspensión del microorganismo seleccionado, inóculo, puede modificar la respuesta, La suspensión utilizada debe ofrecer una concentración del microorganismo conocida, usualmente de 10^5 a 10^6 UFC/mL. La magnitud del diámetro del halo que se obtiene es inversamente proporcional a la concentración del inóculo con las demás condiciones constantes. El halo de inhibición suele estar entre 15 – 35 mm de diámetro.

Naturaleza del borde del halo de inhibición:

Cualquier conclusión tomada a partir de las pruebas de difusión en gel para determinar la potencia de un antibiótico, depende de los valores de los halos de Inhibición medidos. Se deben determinar de tal modo que el valor tomado, sea lo más fiel posible al borde real del halo. En la práctica se observan halos con bordes difusos, bastante indefinidos y difíciles de medir, esto se debe a que el microorganismo inoculado en el medio de agar, enfrenta un gradiente de concentración de antibiótico, es menor a medida que se aleja de la fuente (reservorio o pozuelo) lo que da lugar a la formación de una serie zonas de inhibición, lo que genera la sensación de degradación en los bordes del halo, similar una zona difusa, en ocasiones difícil de medir. Adicionalmente el diámetro de los halos deben medirse en función del tiempo ya que no son estáticos y después de un tiempo de incubación pueden generar cambios tales como un

sobrecrecimiento en los bordes que pueden producir distorsión y dificultar mas su lectura.

Profundidad del agar:

Se debe estandarizar el volumen de medio de agar fundido antes de vaciarlo en las placas, dado que existe una relación inversamente proporcional entre el diámetro del halo formado y el grosor de la placa de agar solidificado. Si se adiciona un volumen grande de agar en la placa, se pueden generar halos con diámetros menores o viceversa, cuando las demás condiciones permanecen constantes.

Composición química del medio de agar:

Muchos medios no son apropiados para el crecimiento de determinadas bacterias, es necesario buscar un medio que llene los requerimientos nutricionales del microorganismo seleccionado como modelo, de tal modo que ofrezca las condiciones nutricionales óptimas para su crecimiento.

En el medio seleccionado se debe verificar el contenido de sustancias cargadas eléctricamente que puedan afectar la difusión de la sustancia antimicrobiana cuando ésta sufre algún tipo de interacción por cargas, lo cual puede obstaculizar el efecto inhibitorio del antibiótico frente al microorganismo por sus repulsiones de naturaleza eléctrica. En las pruebas de valoración de antibióticos existen una serie de medios nutritivos previamente diseñados, para dichos ensayos, tales como los medios de agar antibiótico. Estos medios se caracterizan por que sus constituyentes no interfieren de forma significativa frente a la sensibilidad real de los gérmenes frente al antibiótico de prueba.

Características del crecimiento de la cepa:

Deben llevarse a cabo pruebas previas, de tal modo que no aparezcan fenómenos de resistencia microbiana frente al antibiótico, una vez esté en marcha la prueba, se debe velar por que la cepa utilizada, sea pura genéticamente y que manifieste un alto grado de sensibilidad frente a las condiciones de concentración del antimicrobiano a ser usadas.

Temperatura de incubación:

El apilamiento de placas genera gradientes de temperatura, en las placas más externas, podría presentarse un crecimiento más acelerado, que en las placas que se encuentran en el centro del apilamiento, lo que finalmente ocasionaría respuestas diferentes, no comparables.

Tiempo de incubación:

Dado a que la naturaleza del borde del Halo de Inhibición formado, depende del tiempo de incubación, se debe tener un tiempo de lectura fijo, para evitar errores en las determinaciones de los diámetros de los halos formados el tiempo de lectura después de la incubación es de 16 -18 horas. Se sugiere que el experimentador lleve a cabo pruebas de seguimiento del crecimiento del halo en función del tiempo, de forma preliminar, para establecer un rango de tiempo óptimo de lectura.

Velocidad de aplicación del antibiótico sobre las placas:

Habitualmente en el método de difusión en gel se trabaja con un sistema de diluciones, es decir, que de una solución del antibiótico de concentración conocida se obtienen varias soluciones de concentración menor a partir de diluciones consecutivas. Debido a lo anterior se hace necesario establecer un tiempo limitado para la siembra del sistema de concentraciones para que una vez sembradas, tanto el patrón como la muestra tengan igual tiempo para actuar sobre el microorganismo inoculado en las placas y por lo tanto la posibilidad de generar halos de inhibición comparables.

Concentración del antibiótico en el reservorio:

El tamaño del halo de inhibición formado es también proporcional a la concentración utilizada, se deben estipular de antemano el sistema de diluciones a utilizar en la prueba, dado que halos superiores a 40 mm se tornan poco manejables, en las placas de uso habitual, y pequeñas concentraciones imposibilitan la correcta medición del borde del halo, ya que normalmente hay halos pequeños con sobrecrecimiento o una inhibición no definida e inaceptable.

Volumen de la solución del antibiótico aplicada:

El volumen de la solución del antibiótico aplicada en el pozuelo debe ser lo suficientemente grande, para que actúe como un reservorio de concentración constante. En el desarrollo experimental se usan volúmenes estándar,

normalmente se aplica en cada reservorio un volumen de 100 microlitos, de las distintas diluciones del antibiótico.

Presencia de proteínas séricas:

Se tiene en cuenta cuando se trabaja con muestras de origen biológico tales como plasma humano, en donde existen antimicrobianos que poseen un alto índice de unión a proteínas plasmáticas.

Presencia de dos o más antimicrobianos en el mismo reservorio:

En el caso de la valoración de mezclas de antibióticos, la actividad se manifiesta como un efecto combinado, dado por la interacción entre las sustancias involucradas.

Concentración crítica (CC).

Se define como la concentración del agente antimicrobiano por debajo de la cual no se puede evitar el crecimiento del microorganismo. Se obtiene a partir de la utilización de la técnica de Difusión en gel, a través de la determinación de una respuesta medible dada por los distintos niveles de concentración del antibiótico evaluado, en un medio sólido inoculado con un microorganismo genéticamente conocido (Cepa ATCC).

La concentración crítica en el borde de la zona de inhibición m , puede determinarse experimentalmente a través de la evaluación de una cepa de un microorganismo conocido, con tres o más concentraciones del antibiótico de interés aplicadas en la misma placa y con el uso de la ecuación:

$$\ln m_c = \ln m^0 - X^2 / 4 DT_0$$

DONDE:

$\ln m_c$ = logaritmo natural de la concentración crítica.

$\ln m^0$ = logaritmo natural de las distintas concentraciones aplicadas en el reservorio.

X^2 = Cuadrado de la distancia entre el borde del reservorio y el borde del halo de inhibición.

D = Coeficiente de distribución del antibiótico en estudio, en el medio usado y bajo la Temperatura del sistema.

T_0 = Tiempo en el cual se determina la longitud de la zona de inhibición.

4.4 Concentración bactericida mínima (MBC), Curva de actividad bactericida y Actividad bactericida del suero.

La concentración mínima inhibitoria (MIC) es la menor concentración de un agente antimicrobiano específico que previene el crecimiento visible del organismo evaluado. La concentración bactericida mínima (MBC) es la menor concentración de un agente antimicrobiano específico que mata más del 99.9% del inóculo del organismo evaluado bajo condiciones definidas. El resultado es reportado en microgramos por mililitro. Un test de titulación bactericida sérica (Test de Schlichter o SBT) es una medida de la magnitud a la cual un fluido corporal de un paciente (Usualmente suero) puede ser diluido y aun así, ejercer una actividad bactericida contra un organismo infeccioso. El resultado es reportado como un título o como una tasa. El nivel de antimicrobiano es la cantidad de un medicamento específico en el fluido corporal de un paciente, el resultado es expresado en microgramos por mililitro ¹⁵⁻¹⁷ .

Determinación de la MBC: Este test puede ser formado por métodos de maco o microdilución. Utilizando un caldo de Mueller-Hinton ajustado con cationes y diluciones seriadas del antimicrobiano a evaluar, se adiciona una concentración estándar de bacterias (inóculo) en fase de crecimiento activo. Se incuba por 24 horas a 35°C y posteriormente se determina la MIC. Después de esto se realizan subcultivos cuantitativos en un medio de cultivo estándar con muestras de las concentraciones a partir de la MIC calculada. Para evaluar el grado de muerte bacteriana en cada concentración del antimicrobiano, es necesario conocer el conteo de bacterias en un tubo control o al inicio de la inoculación del test. Mediante valores predeterminados en tablas, se conoce el número de colonias que pueden ser tolerados basados en la densidad del inóculo inicial de cada test. Si el número de colonias en un plato particular excede el valor permitido, el antimicrobiano no alcanzó la definición de actividad bactericida a esta concentración, por lo cual se debe evaluar la siguiente concentración del medicamento que contenga menos colonias y cumpla con la definición de efecto bactericida.

Determinación de la curva de actividad bactericida: Evalúa la velocidad a la cual la muerte bacteriana puede ocurrir a una concentración de de antibiótico dada. Se realizan los mismos pasos que para el cálculo de la MBC, con la diferencia que se toman muestras a diferentes intervalos de tiempo (por ejemplo: 0, 2, 4, 8, 12 y 24 horas) para subcultivos y conteo de colonias por cada concentración de antimicrobiano evaluado. Los resultados se presentan como gráficas del conteo de colonias por concentración del antimicrobiano evaluado en función del tiempo.

Determinación de la actividad bactericida del suero: el procedimiento es similar a la determinación de la MBC , excepto en que el suero del paciente es utilizado como fuente del antimicrobiano. Para esto se deben obtener muestras sanguíneas del paciente a intervalos específicos, preparar diluciones de suero del paciente, inocular concentraciones estándar de bacterias en fase de crecimiento, e incubar por 24 a 48 horas. Los desenlaces del test están indicados por la mayor dilución de la muestra de suero del paciente que previene el crecimiento visible en el periodo de incubación (Titulo inhibitorio sérico). Posteriormente y similar al procedimiento para determinar la MBC, se realizan subcultivos cualitativos de cada dilución del suero del paciente que previene el crecimiento visible.

4.5. Elección del antibiótico a Evaluar.

En el Hospital Universitario Clínica San Rafael, uno de los antimicrobianos con mayor incremento de utilización de 1999 a 2004 es piperacilina tazobactam, tabla 1. Este medicamento esta indicado principalmente para el tratamiento de infecciones intrahospitalarias, en pacientes que con frecuencia están severamente comprometidos y tiene un alto costo.

Tabla 1. Uso de medicamentos con bajo potencial de inducir resistencia bacteriana en Dosis Diaria Definida por mil días paciente¹, años 1999 a 2004.

MEDICAMENTO	1999	2000	2001	2002	2003	2004
A.SULBACTAM	2187	1740	3347	4795	6316	10690
CEFEPIME	198	748	1700	1396	2237	2249
PIPERA. TAZOBAC	0	96	2102	791	657	1036
Suma protectores	2385	2584	7149	6982	9210	13975

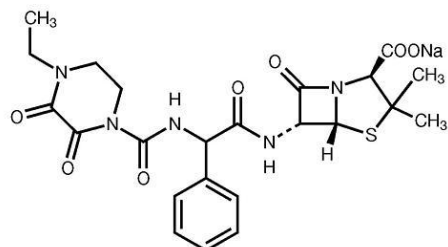
4.6. Piperacilina Tazobactam.

Es la asociación de dos moléculas, piperacilina que es una ureidopenicilina y el tazobactam que es una sulfota con capacidad de unirse covalentemente a algunas betalactamasas. La asociación se presenta con una relación Piperacilina: tazobactam 8:1 por peso. Introducida a Estados Unidos de Norteamérica en 1993 y en Colombia en septiembre de 1999¹⁸.

¹ La dosis diaria definida. Se obtiene al dividir el número total de ampollas consumidas en un periodo establecido y se divide por el numero de ampollas requeridas en el tratamiento de un adulto con un peso estándar de 70 Kg. Este resultado puede constituirse en un indicador de carga de uso de medicamentos en un hospital al relacionarlo con los egreso, con los días estancia o con los días paciente. El indicador mostrado esta presentado en DDD /Días estancia paciente por 1000.

Piperacilina es una acil-ureidopenicilina, cuyo derivado químico es D(-) - α -aminobencilpenicilina.

(2S, 5R, 6R)-6-[(R)-2-(4-etil-2, 3-dioxo-1piperacinacarboxamido)-2-fenilacetamido]-3, 3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]heptano-2-ácido cabóxico sódico.

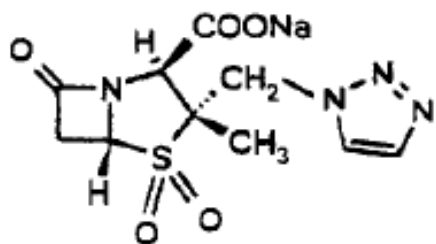


<http://www.rxlist.com/cgi/generic2/zosyn.htm>

Fue introducida en 1978 como una penicilina mas activa contra *P aeruginosa*, también activa contra Enterobacterias, *H influenzae*, *Neisseria spp.* Y tiene la particularidad de mantener el espectro contra agentes gram positivos. Es hidrolizada por betalactamasas mediadas por plásmidos de gram positivos y gram negativos, se ha documentado desarrollo de resistencia hasta en 17.7%.

Tazobactam, es un Inhibidor suicida de beta lactamasa que se une irreversiblemente a la región catalítica de la enzima. Es una sulfona de ácido penicilámico.

(2S, 3S, 5R)-3-metil-7-oxo-3(1H, 2, 3, -triazole-1-4Lmetil)-4-tia-1-1azabicyclo-[3, 2, 0]heptane-2-carboxilate-4, 4-dioxide].



<http://www.rxlist.com/cgi/generic2/zosyn.htm>

Tiene escasa actividad antibacteriana propia pero es un inhibidor potente de betalactamasas del grupo 2 de Bush, inhibe betalactamasas de *S. aureus* y *B. fragilis*, es mas potente que el sulbactam contra betalactamasas de espectro extendido, tiene actividad relativa contra betalactamasas cromosómicas de *P. aeruginosa* y *E. cloacae* y es un inductor débil de betalactamasas cromosómicas.

La piperacilina/Tazobactam tiene actividad *in Vitro* similar a La de Imipenem-cilastatina y superior a la de ceftazidima y ampicilina Sulbactam contra cocos gram positivos sin mutaciones en el sitio blanco, *S. aureus* meticilino sensible, neumococo y enterococos. No es activo contra gram positivos con mutaciones en el sitio blanco: *S. aureus* meticilino resistentes, *Enterococcus faecium*, Neumococo penicilino resistente, *Corinobacterium jeikeium*.

Tiene actividad incrementada contra enterobacterias, *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae*,

mantiene la actividad contra Enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido que Inhiben ceftazidima y cefalosporinas relacionadas.

No es activa contra bacilos productores de betalactamasas cromosómicas del grupo I.

Pseudomonas aeruginosa resistente a piperacilina, *Stenotrophomona maltophilia*.

Es activa virtualmente contra todos los anaerobios gram positivos y gram negativos, su actividad contra anaerobios es similar a otras asociaciones de inhibidores de betalactamasas.

Farmacocinética.

Tazobactam no afecta la farmacocinética de piperacilina, después de 30 minutos de una infusión endovenosa de piperacilina tazobactam se obtiene la concentración máxima esperada o t_{max} . Las concentraciones plasmáticas obtenidas dependen de la dosis, tabla 2¹⁹.

Tabla 2. Concentraciones de piperacina tazobactam en mg/dl después de la administración de dos diferentes dosis durante 30 minutos. En la columna final se registra el cálculo de área bajo la curva para este tiempo.

Dosis	30 m	1 h	2 h	3 h	4 h	ABC (mcg/ml/min)
2 g / 250 mg	134	57	17	5	2	131(14)
4 g / 500 mg	298	141	47	16	7	322(16)

La vida media es de 0,7 a 1,2 horas en sujetos sanos, con función renal normal los dos componentes son eliminados de manera similar por mecanismos de filtración y secreción, tiene 80% de eliminación renal y 20% hepática. Con alteraciones en la función renal la vida media se incrementa, con depuraciones de creatinina por debajo de 20 mL/min la vida media se incrementa 2 y 4 veces para cada molécula respectivamente. 69% de medicamento es eliminado por orina en

forma inalterada. La unión a proteínas es de 21% y 23% respectivamente. La hemodiálisis elimina 31% y el 39% respectivamente, la diálisis peritoneal 6% y 21%. Los ajustes a función renal se realizan con base en piperacilina. Pueden ser eliminados por vía biliar, pero no se requiere reajustar dosis en falla hepática.

La combinación se distribuye ampliamente en los tejidos, tiene buena penetración en pulmones, piel, tejidos reproductivos, mucosa intestinal, vesícula y bilis, no tiene buenas concentraciones en tejido pancreático, adquiere altas concentraciones en ojos inflamados. En los demás tejidos las concentraciones alcanzadas están entre 50% y 100% de las concentraciones plasmáticas.

Usos Clínicos.

Los usos clínicos reconocidos para esta combinación son: Infecciones intraabdominales y pélvicas, infecciones del tracto respiratorio inferior (no está indicada como monoterapia si se sospecha *P. aeruginosa*), infecciones de piel y tejidos blandos, síndrome de neutropenia febril, sepsis por elementos intravasculares y bacteriemias.

Actividad Bactericida.

La CIM (concentración inhibitoria mínima) para enterobacterias es de 8 mcg/ml. Para gram positivos es de 16 mcg/ml, Para *P. aeruginosa* es de 64 mcg/ml, a dosis de 4,5g c/6 horas se obtienen concentraciones bactericidas, para enterobacterias y gram positivos en más de 60% del tiempo, la actividad bactericida puede depender del inhibidor.

Contraindicaciones y precauciones.

El uso de piperacilina tazobactam está contraindicado en pacientes con historia de reacción de hipersensibilidad tipo I a betalactámicos.

Se ha podido relacionar con diarrea por antibióticos, ocasionada por la toxina de *C. difficile*. Es considerado un medicamento clase C en el Embarazo, ha sido relacionado con Alteración de recuento plaquetario, prolongación de los tiempos de coagulación, excitabilidad neuromuscular y convulsiones, desequilibrio hidroelectrolítico y se recomienda usar con especial cuidado de los niveles de sodio en pacientes con falla cardíaca tiene una carga de 2,4 gramos de sodio por gramo de piperacilina, en ocasiones puede producir hipocalcemia.

Interacciones medicamentosas.

Se ha encontrado que probenecid incrementa la vida media y piperacilina puede alterar la eliminación de aminoglucósidos, puede prolongar la acción de los

relajantes musculares, potencia la actividad de los anticoagulantes orales y la heparina y puede relacionarse con falsas glucosurias.

Con quemaduras superiores al 30% Superficie Corporal Total la vida media se incrementa escasamente, las concentraciones mínimas alcanzadas antes de cada dosis son superiores a la CIM. En pacientes con hemofiltración continua se debe reajustar las dosis de piperacilina a la vida media del tazobactam.

Efectos Secundarios.

Las principales reacciones adversas reportadas se enumeran a continuación:

Erupciones cutáneas y prurito	1,3%	
Nausea, vómito y diarrea	0,9%	
Reacciones alérgicas		0,5%
Flebitis y dolor local	1,8%	
Cefalea	7,7%	

90% de los acontecimiento reportados fueron leves a moderados

Otros efectos secundarios	1%
Síncope	
Convulsiones.	
Mialgias y artralgias.	
Retención urinaria.	
Elevación de pruebas hepáticas y hepatitis colestásica.	
Stevens-Johnson	

La dosis en niños mayores de 12 años y adultos es de 3,375 g en 30 min cada 6 horas.

O 4,5 g en 30 min cada 8 horas.

Con depuraciones de creatinina menores de 20 mL/min 4m5 g cada 12 horas. La dosis total no debe exceder los 24 g en el día.

5.0. Objetivos.

5.1. Objetivo general.

Comparar la actividad bactericida en suero de pacientes que reciben la forma innovadora de piperacilina tazobactam, frente a la actividad bactericida en suero de pacientes que reciben la forma no innovadora de esta molécula para el tratamiento de diferentes enfermedades infecciosas.

5.2. Objetivos secundarios.

5.2.1. Determinar la curva bactericida *in Vitro* de piperacilina tazobactam forma innovadora y no innovadora de estas moléculas, para la cepa de *E. coli* ATCC 25922.

5.2.2. Determinar la curva bactericida de piperacilina tazobactam forma innovadora y no innovadora, en suero de pacientes que reciben este medicamento, para la cepa de *E. coli* ATCC 25922.

3.2.3 Conocer el equivalente en potencia por vial de piperacilina tazabactam por molécula estudiada.

3.2.4 Determinar el comportamiento farmacocinético de la piperacilina tazobactam forma innovadora y no innovadora.

6.0. Hipótesis Nula:

La actividad bactericida en suero de pacientes que reciben la forma innovadora de piperacilina tazobactam no es diferente a la actividad bactericida en suero de pacientes que reciben forma genérica de piperacilina tazobactam.

$$H_0 : \mu_r - \mu_e = 0$$

μ_r Denota la cantidad de fármaco de referencia medido.

μ_e Denota la cantidad de fármaco en evaluación medido.

7.0. Pacientes y Métodos

El estudio se realizará en instituciones prestadoras de salud en Bogotá Colombia.

7.1. Población Blanco.

Pacientes hospitalizados en quienes se sospeche o encuentre un proceso infeccioso susceptible de ser tratado con piperacilina tazobactam endovenosa.

7.2. Población estudio.

Pacientes hospitalizados en las diferentes instituciones prestadoras de salud en Bogota, quienes se encuentren bajo tratamiento antibiótico con piperacilina tazobactam endovenosa por sospecha o diagnostico de un proceso infeccioso.

7.3 Muestra

Pacientes hospitalizados en las diferentes instituciones prestadoras de salud de Bogota quienes se encuentren bajo tratamiento antibiótico con piperacilina tazobactam endovenosa por sospecha o diagnostico de un proceso infeccioso, constituido por los primeros 15 pacientes por molécula de estudio, ingresados al estudio de manera secuencial de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión planteados.

7.4. Criterios de Inclusión.

Adultos mayores de 18 años hospitalizados en las diferentes instituciones prestadoras de salud adscritas al grupo GREBO que se encuentren bajo tratamiento antibiótico con piperacilina tazobactam endovenosa por sospecha o diagnostico de un proceso infeccioso a dosis intermitentes de 4,5g C/ 6 horas, por mas de 72 horas sin interrupción.

Apache menor de 18 al ingreso al estudio

Índice de Masa corporal entre 20 y 25.

Autorizar el consentimiento informado.

7.5. Criterios de exclusión.

Alteración en pruebas de función renal o hepática (Creatinina > 1,3 o transaminasas \geq a 3 veces el control normal) al ingreso al estudio.

Haber recibido otro esquema antibiótico en las 48 horas antes de ingresar al estudio.

7.6. Diseño del estudio.

Para comparar la actividad bactericida en suero de pacientes que reciben la forma innovadora de piperacilina tazobactam, con la actividad bactericida en suero de

pacientes que reciben la forma genérica de piperacilina tazobactam se diseñó un estudio observacional analítico de tipo de corte trasversal.

Desde el punto de vista estadístico se realizarán análisis de varianza de medidas repetidas de dos pruebas unilaterales, en el cual se espera que los resultados obtenidos de las mediciones correspondientes se encuentren dentro de un intervalo de confianza de 90% con un error tipo uno tolerado hasta de 10% ²⁰, El coeficiente de correlación mínimo esperado es de 80%, ya que la actividad del antibiótico debe estar entre 80% y 120% del predicho (SD 0,16). La fórmula para el tamaño de muestra del intervalo de confianza para el coeficiente de confiabilidad intraclase es extremadamente complejo, sin embargo se puede realizar una aproximación derivada de la fórmula desarrollada para el coeficiente de correlación de Pearson (Streiner, 1988) previamente es necesario normalizar el intervalo de confianza usando la transformación z' de Fisher.

$$Z = \frac{1}{2} \ln\left(\frac{1-r}{1+r}\right)$$

$$ES = \frac{1}{\sqrt{n-3}}$$

Entonces:

$$N = \left[\frac{z_{1-\alpha/2} + z_{1-\beta}}{\frac{1}{2} \ln\left(\frac{1-r}{1+r}\right)} \right]^2 + 3$$

$z_{1-\alpha/2}$ para un intervalo de confianza de 95% = 1,96

$z_{1-\beta}$ para un poder de 80% = 0,84

$(r) = 0,8$

$z'(r) = 1,099$

$N = 11$

Se incrementa el tamaño de la muestra a 15 individuos para considerar las pérdidas y debido a que según la OMS el número mínimo de sujetos en un estudio de equivalencia terapéutica es de 12 y teniendo en cuenta que el modelo propuesto se aproxima a esta recomendación.

7.7 Recolección de datos

En la actualidad el mercado colombiano cuenta con 8 moléculas no innovadoras mas la molécula inovadora de piperacilina tazobactam aprobadas por el INVIMA para distribución y uso.

Se identificarán en el departamento de farmacia de cada una de las instituciones participantes en el estudio el tipo de molécula de piperacilina tazobactam que utilizan para tratamiento intravenoso. Posteriormente se identificara de manera prospectiva los primeros 15 pacientes que encuentren bajo tratamiento antibiótico por cada una de las moléculas de piperacilina tazobactam endovenosa estudiadas (8 moléculas no inovadoras mas la molécula inovadora) y que cumplan con los criterios de inclusión y exclusión del estudio.

Se revisarán las historias clínicas de los pacientes seleccionados y se registrarán las siguientes variables: variables demográficas: Edad, género y raza. Antecedentes médicos: Hipertensión arterial, diabetes miellitus, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, malignidad. Datos clínicos y paraclínicos que permitan el calculo del Apache y la evaluación de función renal y hepática. Además se registrara el tipo de patología infecciosa en tratamiento.

A cada paciente al cuarto día de estar recibiendo la molécula de piperacilina tazobactam estudiada, se le realizara una toma de muestra de sangre de 10 cc antes de administrar la dosis numero 17 de su tratamiento. Posterior mente se administrara el medicamento enviado por la central de farmacia de la clínica y se administrará en infusión de treinta minutos. Se tomarán cuatro muestras adicionales de 10 cc en el siguiente esquema para cada paciente

- a. La primera muestra se tomará inmediatamente una vez terminada la infusión, en el brazo contralateral, previo lavado del sistema endovenosos con 50 cc de SSN
- b. La segunda muestra se tomará a la hora de terminada la infusión.
- c. La tercer muestra se tomará a las dos horas de terminada la infusión.
- d. La cuarta muestra se tomará a las cuatro horas de terminada la infusión.

En el laboratorio clínico las muestras de sangre serán recibidas en forma consecutiva. La bacterióloga no conocerá ningún dato correspondiente a la muestra a valorar, diferente al número de asignación de la muestra. Realizará el procesamiento de la muestra para obtener el plasma (centrifugación a 2000 rpm) el cual será almacenado a -20 grados centígrados para posteriormente ser enviado a laboratorio de la Universidad Nacional.

Las muestras de plasma serán congeladas para su conservación y procesadas en el laboratorio de microbiología del Departamento de Farmacia de la Universidad Nacional de Colombia en forma ciega.

Inicialmente para conocer el comportamiento farmacocinético de las diferentes presentaciones comerciales de piperacilina tazobactam, se seguirá la técnica de evaluación de actividad microbiológica en agar, o “cilindro plato, que ha sido estandarizada y validada en diferentes estudios²¹⁻²³ y que en breve consiste en la evaluación de la actividad inhibitoria del crecimiento de diferentes concentraciones del antibiótico preparado con base en diluciones seriadas 2:1 hasta obtener una muestra apropiada y representativa, esta preparación se realiza en condiciones absolutas de control de laboratorio. Igualmente se prepara el agar para siembra del microorganismo control mediante condiciones estandarizadas. El inóculo bacteriano es preparado en condiciones preestablecidas de turbidez y pH con el fin de asegurar una densidad bacteriana entre $10^5 - 10^6$ UFC. Se realiza la inoculación del plasma en los platos de agar con perforaciones cilíndricas demarcadas para cada concentración estándar y posteriormente se siembran los microorganismos. Se realiza incubación apropiada y por último se evalúa los halos de inhibición de acuerdo a cada concentración. Estos resultados se consideran el estándar con las que se realizarán los controles de la actividad inhibitoria de las presentaciones comerciales *in Vitro* e *in vivo*.

En segundo lugar se evaluará la concentración de piperacilina tazobactam por vial para cada una de las moléculas estudiadas con el fin de conocer el equivalente en potencia por vial de la original y compararlo con el de las genéricas. Para esto mediante la técnica de evaluación de actividad microbiológica en agar se realizará inicialmente una curva estándar con una concentración conocida de la molécula original de piperacilina tazobactam y luego se realizará el mismo procedimiento a 5 viales de la forma innovadora y de cada una de las moléculas genéricas incluida en el estudio.

Por último se realizará la curva de actividad bactericida *in vitro* y sérica para las diferentes moléculas de piperacilina tazobactam estudiadas, por método de microdilución según lo comentado en el marco teórico y siguiendo las recomendaciones que para tal fin dispuso la NCCLS en sus guías^{16, 17}.

En caso de crecimiento de microorganismos en el suero control se realizará identificación del mismo a través de API 20.

Este estudio requiere de diferentes niveles de control de calidad, se desarrollará un manual del protocolo de investigación y se realizará evaluación de los criterios de inclusión. Se creará una ficha de recolección de la información de tipo cerrado y codificado, se realizará una prueba de formulario para evaluar la concordancia

en el registro de la información y resolver las diferencias de criterios. Se desarrollará un protocolo para el ingreso de los voluntarios al estudio en el cual se evaluarán los criterios de selección, se instruirá a los estudiantes sobre la obtención del consentimiento informado y su correcto diligenciamiento. Se contratará una auditoria externa del proyecto. Se autorizará la evaluación protocolizada del comité de ética y se informará a los voluntarios sobre la posibilidad de acceder a un miembro del comité que resuelva sus dudas en el momento que así lo deseen.

7.8 Sistema de aleatorización y cegamiento.

La toma de muestras de sangre se realizaran con horario estricto ajustado a la administración del medicamento y serán enviadas al laboratorio clínico y de microbiología bajo un sistema de codificación individual en la que se registra en forma de números aleatorios el código de la muestra y del voluntario. Este numero aleatorio corresponderá en un sistema de codificación controlado por un investigador no ciego quien solo conocerá los resultados al final del estudio, y en el que estará registrado la fecha y hora de administración del medicamento, la fecha y hora de toma de la muestra, el numero consecutivo de muestra tomada, el paciente al que corresponde la muestra.

7.9 Procedimientos analíticos.

Los resultados de los análisis farmacéuticos se presentaran utilizando estadística descriptiva no paramétrica de las variables. El análisis estadístico de los resultados se obtendrá después de corrección logarítmica para AUC , C_{max} y C_{min} . La comparación entre los productos de una misma molécula de piperacilina tazobactam se realizara a través del cociente de medias entre ellos. Se realizaran análisis unilateral de varianza de dos pruebas para evaluar la confiabilidad de los resultados. Para evaluar la linealidad de los resultados, se realizará un análisis de regresión a través de método de mínimos cuadrados. Para establecer la precisión de los resultados se realizarán cinco mediciones por cada muestra evaluada.

8.0. Análisis de factibilidad

El proyecto es diseñado a partir de una pregunta coherente y de interés universal, su elaboración sigue las pautas de las buenas prácticas de investigación, trata de contemplar los sesgos que puedan afectar la validez de las conclusiones. Los investigadores pertenecen a diferentes grupos de investigación reconocidos por conciencias, con trayectoria en investigación en el área y antecedentes de financiación en diferentes trabajos, su participación asegura conocimiento en los aspectos mas relevantes de la investigación, farmacología, microbiología,

infectología, estadística y epidemiología. Con la formación y la hoja de vida de los investigadores se asegura un resultado útil y relevante a la sociedad.

9. RESULTADOS ESPERADOS.

9.1 Generación de nuevo conocimiento.

Resultado Esperado	Indicador	Beneficiario
Evaluación de la actividad bactericida en suero de pacientes que reciben diferentes moléculas farmacéuticas de piperacilina tazobactam para el tratamiento de enfermedades infecciosas	Publicación nacional o internacional: Evaluación de la actividad bactericida en suero de pacientes que reciben diferentes moléculas farmacéuticas de piperacilina tazobactam para el tratamiento de enfermedades infecciosas. Corte transversal.	Pacientes y Comunidad científica nacional e internacional

9.2 Fortalecimiento de la comunidad científica nacional.

Resultado Esperado	Indicador	Beneficiario
Conformación de una línea de investigación en evaluación de la equivalencia farmacéutica y terapéutica de moléculas de antibióticos originales y genéricos.	Grupo de investigación en enfermedades infecciosas. Línea de investigación en evaluación de la equivalencia farmacéutica y terapéutica de antibióticos originales y genéricos.	Beneficiario: Pacientes, Profesores Universidad Nacional de Colombia, Personal Médico, Estudiantes de pre-grado y post-grado de la Universidad Nacional de Colombia, Comunidad científica Nacional.
Formación de estudiantes de Post-grado en las especialidades de Infectología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia.	Trabajo de graduación.	Médicos estudiantes de post-grado de las especializaciones en Infectología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia.
Formación de estudiantes de pre-grado de Medicina de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia.	Conformación de línea de profundización Línea de investigación en evaluación de la equivalencia farmacéutica y terapéutica de	Estudiantes de pre-grado de Medicina de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de

	antibióticos originales y genéricos. Cátedra electiva contemplada dentro del plan curricular de la carrera de Medicina	Colombia.
--	--	-----------

9.3 Apropriación social del conocimiento.

Resultado Esperado	Indicador	Beneficiario
Comparación de la curva bactericida <i>in Vitro</i> de piperacilina tazobactam forma innovadora y genéricos, para la cepa de <i>E. coli</i> ATCC 25922.	Publicación en revista nacional o internacional: Evaluación de la actividad bactericida en suero de pacientes que reciben diferentes moléculas farmacéuticas de piperacilina tazobactam para el tratamiento de enfermedades infecciosas. Cohorte transversal	Pacientes, Personal Médico, Comunidad científica nacional.
Comparación de la curva bactericida de piperacilina tazobactam forma innovadora y genéricos, en suero de pacientes que reciben este medicamento, para la cepa de <i>E. coli</i> ATCC 25922.	Publicación en revista nacional o internacional: Evaluación de la actividad bactericida en suero de pacientes que reciben diferentes moléculas farmacéuticas de piperacilina tazobactam para el tratamiento de enfermedades infecciosas. Cohorte transversal	Pacientes, Personal Médico, Comunidad científica nacional.

10. IMPACTO ESPERADO.

10.1 Impactos clínicos.

Impacto esperado	Plazo	Indicador	Supuestos
Mejoría en la utilización de recursos en hospitales nacionales	Corto Plazo	Disminución en el numero de fracasos terapéuticos al utilizar piperacilina tazobactam como tratamiento antibiótico de diferentes procesos infecciosos	Este es un impacto posible, depende de resultados del estudio.
Mejoría en la utilización de recursos en hospitales nacionales	Corto Plazo	Disminución de los costos de atención de pacientes que utilizan piperacilina tazobactam como tratamiento antibiótico de diferentes procesos infecciosos	Este es un impacto posible, depende de resultados del estudio.

10.2 Impactos sociales.

Impacto esperado	Plazo	Indicador	Supuestos
Consolidación del Grupo de investigación en enfermedades infecciosas	Corto Plazo	Publicación de investigaciones realizadas por el Grupo de investigación en enfermedades infecciosas	Futuras investigaciones son realizables a medida del apoyo aportado a los proyectos del grupo.

11.0 Bibliografía.

1. Organización Mundial de la Salud. Estrategia farmacéutica de la OMS: Informe sobre los progresos realizados . 56a Asamblea Mundial de la Salud. Marzo 2003. In: http://www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA56/sa5616.pdf
2. Organización Mundial de la Salud. Working document QAS/04.093/Rev.4 RESTRICTED.
3. Bavestrello LF. Bioequivalencia: Debemos exigirla? Rev Chil Infec 2003;20:S-38-40.
4. Gaete L, Schatloff O, Anziani F, Serrano C, Ceballos V. y cols. Bioequivalencia entre dos formulaciones de claritromicina comprimidos de liberación modificada existentes en el mercado chileno. Rev Chil Infec 2003;20:171-77.
5. Generics again... Ann Oncol 2002:1-2.
6. Organización Mundial de la Salud. Comité de expertos de la OMS en especificaciones para las preparaciones farmacéuticas. Series de informes técnicos 1996; 863.:130 - 62.
7. Agudelo M, Zuluaga A, Rodríguez C, Salazar B, Vesga O. Determinación in vivo de la Actividad Bactericida de 2 Productos Genéricos (PG) de Ceftazidime (TAZ) Comparados con el Compuesto Original (CO) en el Modelo Murino Neutropénico de Infección del Muslo (MMNIM) Contra 2 Especies de Bacilos Gram Negativos. Infectio 2004;8:154.
8. Vesga O, Agudelo M, Rodríguez C, Salazar B, Restrepo A, Zuluaga A. Determinación in vivo de la Actividad Bactericida de 3 Productos Genéricos (PG) de Vancomicina (VAN) Comparados con el Compuesto Original (CO) en el Modelo Murino Neutropénico de Infección del Muslo (MMNIM). Infectio 2004;8:154.
9. Zuluaga A, Salazar B, Rodríguez C, Agudelo M, Vesga O. Determinación in vivo de la Actividad Bactericida de 8 Productos Genéricos (PG) de Ampicilina (AMP) Comparados con el Compuesto Original (CO) en el Modelo Murino Neutropénico de Infección del Muslo (MMNIM). Infectio 2004;8:154.
10. Jones RN, Fritsche TR, Moet GJ. In vitro potency evaluations of various piperacillin tazobactam generic products compared with the contemporary branded (Zosyn-Wyeth) formulation. Diagn Microbiol Infect Dis 2008;61:76-9.
11. Cardenas HL, Cortes AL. Aspectos generales de los estudios de biodisponibilidad. In: Aspectos Biofarmacéuticos de la evaluación de Medicamentos: Universidad Autónoma Metropolitana; 1996:109-33.
12. Cardenas HL, Cortes AL. Diseños de análisis estadístico en bioequivalencia. In: Aspectos Biofarmacéuticos de la evaluación de Medicamentos: Universidad Autónoma Metropolitana; 1996:109 – 33.
13. Biological test and assays. In: The United States Pharmacopoeia. 27 ed: Pharmacopoeial Convention Inc Bronx New York USA:1883 -9.
14. Lorian V. Antibiotics in laboratory medicine. In. Bronx New York USA: Ed William and Wilkins; 1996:1-10.

15. Swenson J, Patel JB, Jorgensen JH. Special phenotypic methods for detecting antibacterial resistance. In: Murray P, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington: ASM press; 2007:1173-92.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute NCCLS. Methodology for the serum bactericidal test. Clinical and Laboratory Standards Institute NCCLS 1999;Document M21-A.
17. clinical and Laboratory Standards Institute NCCLS. Methods for determining bactericidal activity for antimicrobial agents. Clinical and Laboratory Standards Institute NCCLS 1999;Document M26A.
18. Bush LM, Jonhson CC. Ureidopenicillins and beta-lactam/beta-lactamase inhibitor combinations. *Infect Dis Clin North Am* 2000;14:409-33.
19. Wise R, Logan M, Cooper M, Andrews JM. Pharmacokinetics and tissue penetration of tazobactam administered alone and with piperacillin. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:1081-4.
20. Organización Mundial de la Salud. Comité de expertos de la OMS en especificaciones para las preparaciones farmacéuticas. Series de informes técnicos 1996; 863:177.
21. Sánchez E. Estudio comparativo de la actividad antimicrobiana de diferentes presentaciones comerciales de antibióticos de administración intravenosa a través de métodos in vitro. Parte IV Ampicilina Sulbactam, Tesis de Grado Farmacología Clínica. Bogota: Universidad Nacional de Colombia; 1997.
22. Mendez AS, Weisheimer V, Oppe TP, Steppe M, Schapoval EE. Microbiological assay for the determination of meropenem in pharmaceutical dosage. *J Pharm Biomed Anal*;2005:649-53.
23. The United States Pharmacopoeia. In: *United States Pharmacopoeial Convention*. Rockville; 2002:1083–4.

12.0 CONSIDERACIONES ÉTICAS.

La realización del presente trabajo se adecua a las recomendaciones para investigación biomédica de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Desde el punto de vista ético se trata de una intervención con riesgo mayor al mínimo, resolución 008430 de 1993, del ministerio de salud de la república de Colombia, debido a que la toma de exámenes de laboratorio mediante la extracción de muestras sanguíneas. Los procedimientos de la investigación serán efectuados por personas calificadas y competentes desde el punto de vista científico. La responsabilidad del estudio recae en el investigador principal, quien cuenta con los recursos técnicos y científicos para hacerlo clínicamente competente. No se plantean dilemas irresolubles de conflicto de intereses para los investigadores.

El proyecto contempla trabajo la evaluación de la actividad bactericida en suero, para lo cual es necesaria la toma de muestras sanguíneas para la realización de diferentes exámenes de laboratorio, no se realizará otro tipo de intervenciones sobre individuo alguno y por la misma razón no se implican erogaciones económicas extras para los pacientes o para la institución. En todo momento de la investigación se tomarán las medidas necesarias para respetar la confidencialidad del registro médico; los datos del trabajo se mantendrán custodiados a través del acceso restringido y el uso de códigos para respetar la privacidad.

Los resultados serán publicados en revistas de índole académica y científica, preservando la exactitud de los mismos y haciendo referencia a datos globales y no a pacientes particulares.

Este proyecto de investigación también será presentado al Comité de Investigación y Ética las diferentes instituciones participantes.

13.0 DECLARACIÓN SOBRE EL IMPACTO AMBIENTAL.

Se ha realizado un análisis detallado del impacto ambiental del proyecto: **“EVALUCION DE LA ACTIVIDAD BACTERICIDA EN SUERO DE PACIENTES QUE RECIBEN DIFERENTES MOLECULAS FARMACEUTICAS DE PIPERACILINA TAZOBACTAM PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS”**; de acuerdo a esta valoración se considera que el proyecto, presenta riesgo biológico.

Los aspectos ecológicos del estudio han sido tenidos en cuenta y seguirán las normas establecidas por la resolución 8430 de 1993, particularmente en su título IV capítulo II artículos 63 a 72 en lo referente a: “bioseguridad de las investigaciones con microorganismos patógenos o material biológico que pueda contenerlos” Los productos de desechos de la investigación serán procesados de acuerdo al manual de manejo de desechos de la institución.

El desarrollo del proyecto no supone el empleo de sustancias y/o agentes con conocido daño al ambiente.

Por tales consideraciones se declara que el desarrollo del proyecto no presentará impacto ambiental negativo.

14.0 DECLARACIÓN SOBRE LA PROPIEDAD INTELECTUAL

En consonancia con el acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional de Colombia, los autores del proyecto de investigación: **“EVALUCION DE LA ACTIVIDAD BACTERICIDA EN SUERO DE PACIENTES QUE RECIBEN DIFERENTES MOLECULAS FARMACEUTICAS DE PIPERACILINA TAZOBACTAM PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS”** precisan las siguientes declaraciones:

1. En consideración de que el diseño y ejecución del proyecto se circunscribe en el marco de compromisos académicos necesarios para la obtención del título de especialistas por parte de estudiantes de los postgrados de infectología de la Universidad Nacional de Colombia, los derechos de autor serán copropiedad intelectual de la universidad junto con las instituciones prestadoras de salud participantes, escenarios hospitalarios donde se llevarán a cabo el estudio.
2. Los conceptos formulados en los documentos finales serán responsabilidad exclusiva de los autores mencionados y en ningún momento representarán el pensamiento oficial de la universidad.
3. Las acciones o posibles omisiones necesarias para la ejecución del proyecto por parte de los investigadores no plantean conflictos de intereses para la Universidad Nacional de Colombia.
4. Dado que la Universidad Nacional de Colombia posee los derechos patrimoniales sobre la producción científica del presente proyecto, ella, en cabeza de sus autoridades, tiene la potestad para reproducir y difundir por cualquier medio conocido dicha producción, siempre que esta resulte útil y de importancia para el beneficio de la sociedad colombiana.
5. Los investigadores somos conscientes que el acuerdo señalado, respalda nuestro derecho a permanecer como autores de la producción científica del proyecto, así como el derecho a oponernos en caso de que la obra sea modificada, mutilada o deformada antes o después de su publicación.
6. Los resultados de la investigación son de interés público, por lo que no representan conflicto de interés para los autores en términos de confidencialidad de la información.
7. El desarrollo de la investigación no prevé beneficios económicos directos por lo que no se anuncia conflictos de interés a este respecto.

15.0 CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, _____ he sido informado que el(la) _____ y la Universidad Nacional de Colombia están realizando un estudio para evaluar la actividad bactericida del suero de pacientes que reciben diferentes moléculas farmacéuticas de piperacilina tazobactam para el tratamiento de enfermedades infecciosas. La investigación permitirá el estudio de las diferentes moléculas de piperacilina tazobactam que se emplean en el país y según los resultados se una mejoría en la utilización de recursos en hospitales nacionales con una probable disminución en el número de fracasos terapéuticos al utilizar piperacilina tazobactam como tratamiento antibiótico de diferentes procesos infecciosos o una disminución de los costos de atención de pacientes que utilizan este antibiotico como tratamiento.

Entiendo que se me ha invitado a participar del estudio porque recibo el antibiótico estudiado como tratamiento de un proceso infeccioso. Se me explicó que dentro de la investigación se tomara muestras de sangre de 10 cc en 5 oportunidades a partir del cuarto día en que se inicia la administración del medicamento, aparte de esto no se me realizarán estudios, exámenes clínicos adicionales ni otros procedimientos médicos diferentes a los que se deben efectuar para el diagnóstico y tratamiento de mi enfermedad.

Yo he elegido libremente participar en el estudio. Entendiendo que para esto:

Debo completar un cuestionario

Debe ser revisada mi historia clínica.

Se me someterá a un seguimiento clínico y paraclínico por parte de los médicos investigadores hasta el día 4 a partir del momento en que se inicie el tratamiento antibiótico.

Entiendo que mi participación es enteramente voluntaria y que si me rehúso a contestar cualquier pregunta es mi elección, así como que puedo retirarme voluntariamente en cualquier momento del estudio sin que esto ocasione algún tipo de sanción o se vea afectado el servicio de salud que se me ofrece.

Entiendo que participar en el estudio no conlleva riesgo alguno, que no obtendré beneficio individual y que se espera que el beneficio sea recibido por otros pacientes mediante el conocimiento ganado por medio del presente estudio.

Entiendo que la información obtenida de mí será tratada de manera confidencial y que no seré identificado con nombre propio en los resultados del estudio.

Se me ha preguntado si tengo alguna duda acerca del estudio en este momento. Sé que si en el futuro tuviera alguna duda del mismo puedo contactar cualquiera de los integrantes del grupo medico investigador*.

Firma del entrevistado
C.C. No.

Firma del testigo
C.C. No.

*Grupo medico investigador:
Dr. Jose Yesid Rodríguez Quintero
Dr. Diego Salinas
Dr. Carlos Saavedra trujillo

16.0. Cronograma de actividades

3,4CRONOGRAMA	MESES											
ACTIVIDADES	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Revisión bibliográfica y preparación del anteproyecto	■											
Desarrollo de manual operacional		■										
Consecución de recursos			■									
Pedido de insumos – inventario de equipos				■								
Estandarización de procesos de medición					■							
Capacitación a personal médico y de enfermería					■							
Estandarización técnicas de inhibición in vitro y muestreo venoso – Definición protocolos					■							
Reclutamiento de pacientes					■	■	■	■				
Ejecución prueba piloto					■							
Recolección de la información					■	■	■	■				
Tabulación de datos										■		
Análisis de datos										■		
Informe preliminar de resultados											■	
Elaboración de documento final											■	
Preparación de sustentación											■	■

17.0 PROPUESTA DE FINANCIACIÓN.

TABLA No 1: Presupuesto global de la propuesta por fuentes de financiación.

DESCRIPCIÓN	VALOR DEL PROYECTO POR VIGENCIAS (\$)	VALOR TOTAL DEL PROYECTO (\$)
	Año 1	
GASTOS DE PERSONAL		
Servicios académicos remunerados		
Remuneración por servicios técnicos	20.000.000	20.000.000
GASTOS DE OPERACIÓN		
Adquisición de bienes		
Equipos		
Materiales y Suministros	25.000.000	25.000.000
Adquisición de Servicios		
Mantenimiento		
Servicios Públicos		
Arrendamientos		
Capacitación		
Viáticos y gastos de viajes	2,500.000	2,500.000
Transporte y gastos de estadía		
Impresos y publicaciones	2,500.000	2,500.000
Comunicaciones y Transporte		
Seguros		
Impuestos y Multas		
Apoyo logístico para eventos académicos y administrativos		
Otros gastos de operación		
TOTAL DE GASTOS	50.000.000	50.000.000

TABLA NO 2

RUBRO	DESCRIPCIÓN	VALOR
Contratación de personas jurídicas o naturales para que presten servicios calificados o profesionales, técnicos o asistenciales.	Contratación de médicos para evaluación de pacientes, recolección de muestras Contratación de personal de laboratorio para procesamiento de muestras y realización de pruebas microbiológicas	\$20,000,000
Salidas de campo para recolectar información pertinente al proyecto (gasolina, peajes, alojamiento, alimentación y transporte de docentes de planta, estudiantes y/o contratistas).	Asistencia a centros hospitalarios par reclutamiento de pacientes y toma de muestras	\$2,500,000
Materiales y Suministros	Reactivos, Antibioticos, Material de bioseguridad, Medios de cultivo, Puntas de micropipetas, cajas de petri desechables, tubos de Eppendorf, papeleria, tinta de impresora.	\$25,000,000
Gastos para la publicación de resultados de investigación, incluye artículos	Asistencia a congreso nacional para publicacion de resultados	\$2,500,000

Carlos Humberto Saavedra Trujillo
Investigador Principal
c.c 91.251.053