



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

*Φαρμακοκινητική μελέτη κολιστίνης σε βαρέως πάσχοντες
ασθενείς στη μονάδα εντατικής θεραπείας*

Μαρίνα-Ζωή Φουστέρη
Κλινικός Φαρμακοποιός

ΑΘΗΝΑ 2012

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Σοφία Μαρκαντώνη-Κυρούδη (επιβλέπουσα), Αναπληρώτρια Καθηγήτρια

Γεώργιος Μπαλτόπουλος, Καθηγητής

Μοίρα Χριστοφόρου-Συμιλλίδου, Επίκουρη Καθηγήτρια

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Σοφία Μαρκαντώνη-Κυρούδη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Τμήμα Φαρμακευτικής,
ΕΚΠΑ

Γεώργιος Μπαλτόπουλος, Καθηγητής, Τμήμα Ιατρικής, ΕΚΠΑ

Μοίρα Χριστοφόρου-Συμιλλίδου, Επίκουρη Καθηγήτρια, Τμήμα Φαρμακευτικής,
ΕΚΠΑ

Παναγιώτης Μαχαίρας, Καθηγητής, Τμήμα Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ

Αθανάσιος Τσακρής, Καθηγητής, Τμήμα Ιατρικής, ΕΚΠΑ

Γεώργιος Φίλντισης, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Ιατρικής, ΕΚΠΑ

Δημοσθένης Μακρής, Λέκτορας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

«Η έγκριση διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Φαρμακευτικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλώνει και αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα».

(Σχετικές διατάξεις του άρθρου 50 του νόμου 1268/82 σε συνδυασμό με τις διατάξεις του οργανισμού του Πανεπιστημίου Αθηνών, άρθρο 202 παρ. 2 του νόμου 5343/32)

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Με την ευκαιρία της ολοκλήρωσης της διδακτορικής μου διατριβής, θα ήθελα μέσα από τα βάθη της καρδιάς μου να ευχαριστήσω:

Την επιβλέπουσα Καθηγήτριά μου κ. Σοφία Κυρούδη για την άγαστη, αδιάκοπη συμπαράσταση της, την ουσιαστική επικοινωνία, την αέναη επίβλεψη, τις πολύτιμες επιστημονικές κατευθύνσεις της, την ποιοτική σχέση που αναπτύξαμε κατά τη διάρκεια της μακρόχρονης μου εκπαίδευσης, διότι η συμβολή της ήταν καθολική σε όλες τις φάσεις εκπόνησης και συγγραφής της διδακτορικής μου διατριβής,

την κ. Μοίρα Χριστοφόρου-Συμιλλίδου και τον κ. Γεώργιο Μπαλτόπουλο για τις πολύτιμες συμβουλές και τις χρήσιμες υποδείξεις, την βοήθεια και τις επικοδομητικές συζητήσεις ως μέλη της τριμελούς επιτροπής,

τον κ. Παναγιώτη Μαχαίρα για την έμπειρη και υψηλού επιπέδου επιστημονική καθοδήγηση στην πολύχρονη πορεία μου αλλά και ως μέλος της επταμελούς επιτροπής,

τον κ. Αθανάσιο Τσακρή, τον κ. Γεώργιο Φίλντιση, τον κ. Δημοσθένη Μακρή για τις χρήσιμες συμβουλές και παρατηρήσεις ως μέλη της επταμελούς επιτροπής,

τους ιατρούς εντατικολόγους κ. Νικόλαο Μάρκου, κ. Ζωή Αθανασιά, κ. Ζιάκα Μαίρη για τη διάθεση συνεργασίας, για την άψογη συνεργασία και τις πολύτιμες υποδείξεις τους,

την διευθύντρια και την προϊσταμένη Φαρμακευτικής Υπηρεσίας ΕΟΠΠΥ Πειραιά κ. Κουφόγιωργα Βασιλική και Γωνιωτάκη Ζαχαρένια για την ηθική υποστήριξη και την ειλικρινή κατανόηση τους, για την καταλυτική διευκόλυνση τους σε όλες τις φάσεις του πονήματος αυτού,

την φίλη και συνάδελφο Μαρία Βερτζώνη για την μακρόχρονη φιλία και βοήθεια της στο αναλυτικό μέρος.

την φίλη και συνάδελφο Γεωργία Χαρκοφτάκη για την ειλικρινή φιλία και τις χρήσιμες υποδείξεις της.

την οικογένεια μου, Φραγκούλη, Φωτεινή και Βασιλική για τη αιώνια στήριξη, την αμέριστη συμπαράσταση, τη συναισθηματική ενίσχυση, την αγάπη και την προσφορά τους, διότι σε αυτούς οφείλω ότι έχω πετύχει μέχρι σήμερα.

Στη μητέρα μου...

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΚΟΛΙΣΤΙΝΗ	10
1.1 Ιστορική αναδρομή	10
1.2 Χημική δομή και χημικά χαρακτηριστικά της κολιστίνης	10
1.3 Σταθερότητα μεθανοσουλφονικής κολιστίνης και κολιστίνης	13
1.4 Αντιμικροβιακό φάσμα	14
1.5 Μηχανισμός Δράσης	15
1.6 Μηχανισμός Αντίστασης	16
1.7 Ανεπιθύμητες ενέργειες	18
1.8 Φαρμακοδυναμική	21
1.9 Φαρμακοκινητική	22
1.10 Κλινική Χρήση	25
1.11 Δοσολογία	26
1.12 Αλληλεπιδράσεις με άλλα φάρμακα	27
1.13 Χρήση σε παιδιά	28
1.14 Κύηση και θηλασμός	28
1.15 Εισπνεόμενη κολιστίνη	29
2. ΜΟΝΑΔΑ ΕΝΤΑΤΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ (ΜΕΘ)	33
2.1 Περιγραφή μονάδας εντατικής θεραπείας	33
2.2 Λοιμώξεις στη μονάδα εντατικής θεραπείας	33
2.3 Χρήση αντιβιοτικών στη μονάδα εντατικής θεραπείας	34
2.4 Λοιμώξεις αναπνευστικού σε ασθενείς μονάδας εντατικής θεραπείας	37
2.4.1 Λειτουργία Πνευμόνων-Αεροφόροι οδοί	37
2.4.2 Πνευμονία-Ενδονοσοκομειακή πνευμονία	38
2.4.3 Προσδιορισμός συγκεντρώσεων αντιμικροβιακών φαρμάκων στο επιθηλιακό κυψελιδικό υγρό (ALF)- Βρογχοσκόπηση	41
2.4.4 Διείσδυση κολιστίνης στο επιθηλιακό κυψελιδικό υγρό	45
2.5 Νεφρική ανεπάρκεια ασθενών της μονάδας εντατικής θεραπείας	45
2.5.1 Λειτουργία νεφρών	45
2.5.2 Νεφρική ανεπάρκεια	46
2.5.2.1 Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (ΧΝΑ)	46
2.5.2.2 Οξεία νεφρική ανεπάρκεια	46

2.5.3 Θεραπείες υποκατάστασης νεφρικής λειτουργίας στη ΜΕΘ	47
2.5.3.1 Αρτηριο-Φλεβικές τεχνικές.....	47
2.5.3.2 Περιτοναϊκή κάθαρση.....	48
2.5.3.3 Φλεβο-Φλεβικές τεχνικές κάθαρσης	48
2.5.4 Προσαρμογή δόσης κολιστίνης σε ασθενείς με νεφρική βλάβη.....	49
2.5.5 Κολιστίνη και συνεχής φλεβοβλεβική αιμοδιήθηση (CVVHDF).....	49
2.6 Λοιμώξεις κεντρικού νευρικού συστήματος ασθενών της ΜΕΘ.....	50
2.6.1 Αιματοεγκεφαλικός φραγμός-Εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY).....	50
2.6.2 Μηχανισμοί μεταφοράς διαμέσου του αιματοεγκεφαλικού φραγμού.....	53
2.6.3 Παθοφυσιολογία αιματοεγκεφαλικού φραγμού σε νευρολογικές παθήσεις.....	54
2.6.4 Φαρμακοκινητική αντιβιοτικών στο ENY	54
2.6.5 Λοιμώξεις κεντρικού νευρικού συστήματος	55
2.6.6 Λοιμώξεις κεντρικού νευρικού συστήματος και κολιστίνη.....	57
2.6.7 Επίπεδα κολιστίνης στο ENY μετά από ενδοφλέβια ή ενδορραχιαία χορήγηση.....	60
3 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	62
4. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΥΓΡΑ.....	63
4.1 Προσδιορισμός επιπέδων κολιστίνης στον ορό.....	63
4.1.1 Αρχή της μεθόδου	63
4.1.2 Μέθοδος προσδιορισμού κολιστίνης.....	64
4.1.2.1 Οργανολογία	64
4.1.2.2 Υλικά και συνθήκες.....	64
4.1.3 Αναλυτική μέθοδος	69
4.1.3.1 Κατασκευή καμπύλης αναφοράς.....	70
4.1.3.2 Γραμμικότητα και επαναληψιμότητα καμπυλών αναφοράς.....	70
4.1.3.3 Εκλεκτικότητα και ειδικότητα	72
4.1.3.4 Οριο ανιχνεύσης και ποσοτικοποίησης.....	73
4.1.3.5 Επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα αναλυτικής μεθόδου.....	74
4.1.4 Αναλυτική μέθοδος προσδιορισμού ουρίας -Οργανολογία	75
4.1.4.1 Αντιδραστήρια	76
4.1.4.2 Προσδιορισμός συγκεντρώσεων ουρίας στον ορό	76
4.1.4.3 Προσδιορισμός συγκεντρώσεων ουρίας στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα.....	77
4.1.4.4 Έλεγχος επαλήθευσης της αξιοπιστίας της μεθόδου.....	77
4.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΒΡΟΓΧΟΚΥΨΕΛΙΔΙΚΟ ΕΚΠΛΥΜΑ (BAL).....	78

4.2.1 Παρασκευή διαλυμάτων εργασίας (working solutions) για προσδιορισμό κολιστίνης στο κυψελιδικό επιθηλιακό υγρό.....	78
4.2.2 Καμπύλη αναφοράς στο BAL, γραμμικότητα και επαναληψιμότητα καμπυλών αναφοράς.....	79
4.2.3 Εκλεκτικότητα και ειδικότητα	81
4.2.4 Όριο ανίχνευσης και όριο ποσοτικοποίησης.....	81
4.2.5 Επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα αναλυτικής μεθόδου.....	82
4.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΕΓΚΕΦΑΛΟΝΩΤΙΑΙΟ ΥΓΡΟ.....	83
4.3.1 Παρασκευή διαλυμάτων εργασίας (working solutions) για προσδιορισμό κολιστίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό.....	83
4.3.2 Καμπύλη αναφοράς στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό, γραμμικότητα και επαναληψιμότητα καμπυλών αναφοράς.....	84
4.3.3 Εκλεκτικότητα και ειδικότητα.....	86
4.3.4 Όριο ανίχνευσης και όριο ποσοτικοποίησης.....	86
4.3.5 Επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα αναλυτικής μεθόδου.....	87
4.4. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΔΙΗΘΗΜΑ.....	88
4.4.1 Παρασκευή διαλυμάτων εργασίας (working solutions) για προσδιορισμό κολιστίνης στο διήθημα.....	88
4.4.2 Καμπύλη αναφοράς στο διήθημα, γραμμικότητα και επαναληψιμότητα καμπυλών αναφοράς.....	88
4.4.3 Εκλεκτικότητα και ειδικότητα.....	90
4.4.4 Όριο ανίχνευσης και όριο ποσοτικοποίησης.....	91
4.4.5 Επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα αναλυτικής μεθόδου.....	91
5. ΜΕΛΕΤΗ ΔΙΕΙΣΔΗΣΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΕΓΚΕΦΑΛΟΝΩΤΙΑΙΟ ΥΓΡΟ ΣΕ ΒΑΡΕΩΣ ΠΑΣΧΟΝΤΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ.....	93
5.1 Υπάρχουσα γνώση.....	93
5.2 Στόχοι μελέτης.....	93
5.3 Ασθενείς και Μέθοδοι.....	94
5.4 Φαρμακοκινητική Ανάλυση.....	95
5.5 Αποτελέσματα.....	95
5.6 Συζήτηση.....	98
5.7 Συμπεράσματα.....	99

6. ΕΝΔΟΚΟΙΛΙΑΚΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΜΕΘΑΝΟΣΟΥΛΦΟΝΙΚΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΓΙΑ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΟΙΛΙΤΙΔΑΣ- ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑΣ.....	100
6.1 Υπάρχουσα γνώση.....	100
6.2 Σκοπός μελέτης.....	101
6.3 Ασθενείς και Μέθοδοι.....	101
6.3.1 Ασθενείς.....	101
6.3.2 Δοσολογικό σχήμα μεθανοσουλφονικής κολιστίνης.....	102
6.3.3 Συλλογή βιολογικών δειγμάτων και στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων.....	102
6.4 Αποτελέσματα.....	103
6.5 Συζήτηση.....	106
6.6 Συμπεράσματα.....	108
7. ΜΕΛΕΤΗ ΔΙΕΙΣΔΥΣΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΚΥΨΕΛΙΔΙΚΟ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΟ ΥΓΡΟ ΒΑΡΕΩΝ ΠΑΣΧΟΝΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΜΕΘΑΝΟΣΟΥΛΦΟΝΙΚΗ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗ.....	110
7.1 Υπάρχουσα γνώση.....	110
7.2 Σκοπός μελέτης.....	110
7.3 Ασθενείς και Μέθοδοι.....	111
7.3.1 Ασθενείς.....	111
7.3.2 Βρογχοκυψελιδική έκπλυση	111
7.3.3 Συλλογή δειγμάτων ορού και υπολογισμός επιπέδων κολιστίνης στο ALF.....	112
7.4 Αποτελέσματα.....	113
7.5 Συζήτηση - Συμπεράσματα.....	113
8. ΕΠΙΠΕΔΑ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΟΡΟΥ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΝΔΟΦΛΕΒΙΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΚΑΙ ΝΕΦΕΛΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕΘΑΝΟΣΟΥΛΦΟΝΙΚΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ.....	115
8.1 Υπάρχουσα γνώση.....	115
8.2 Σκοπος της μελέτης.....	116
8.3 Έγγραφη συγκατάθεση.....	116
8.4 Ασθενείς και Μέθοδοι.....	116
8.4.1 Ασθενείς.....	116
8.4.2 Ρυθμίσεις Νεφελοποιητή-Νεφελοποίηση.....	118
8.4.3 Χρόνοι δειγματοληψίας δειγμάτων ορού.....	118
8.5 Αποτελέσματα.....	119
8.6 Συζήτηση.....	122
8.7 Συμπεράσματα.....	123

9. ΚΑΤΑΛΛΗΛΟΤΗΤΑ ΔΟΣΗΣ ΜΕΘΑΝΟΣΟΥΛΦΟΝΙΚΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΣΕ ΚΡΙΣΙΜΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΜΕ ΜΕΙΩΜΕΝΗ ΑΛΛΑ ΣΤΑΘΕΡΗ ΝΕΦΡΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ.....	124
9.1 Υπάρχουσα γνώση.....	124
9.2 Στόχος μελέτης.....	125
9.3 Ασθενείς και Μέθοδοι.....	125
9.3.1 Ασθενείς.....	125
9.3.2 Χρόνοι δειγματοληψίας δειγμάτων ορού.....	126
9.3.3 Υπολογισμός φαρμακοκινητικών παραμέτρων.....	126
9.4 Αποτελέσματα.....	126
9.5 Συζήτηση.....	127
9.6 Συμπεράσματα.....	128
10. ΕΙΝΑΙ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΝΑ ΠΡΟΣΑΡΜΟΖΟΝΤΑΙ ΟΙ ΔΟΣΕΙΣ ΜΕΘΑΝΟΣΟΥΛΦΟΝΙΚΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΜΕΤΡΙΑ ΝΕΦΡΙΚΗ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ.....	129
10.1 Υπάρχουσα γνώση.....	129
10.2 Σκοπός μελέτης.....	129
10.3 Ασθενείς και Μέθοδοι.....	129
10.4 Αποτελέσματα.....	130
10.5 Συζήτηση.....	133
10.6 Συμπεράσματα.....	134
11. ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΕ ΒΑΡΕΩΣ ΠΑΣΧΟΝΤΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΠΟΥ ΥΠΟΚΕΙΝΤΑΙ ΣΥΝΕΧΗ ΦΛΕΒΟ-ΦΛΕΒΙΚΗ ΑΙΜΟΔΙΑΔΙΗΘΗΣΗ.....	135
11.1 Υπάρχουσα γνώση.....	135
11.2 Σκοπός μελέτης.....	136
11.3 Ασθενείς και μεθοδοι.....	136
11.3.1 Χορήγηση μεθανοσουλφονικής κολιστίνης και συλλογή δειγμάτων.....	136
11.3.2 Ασθενείς.....	136
11.3.3 Υπολογισμός φαρμακοκινητικών παραμέτρων.....	138
11.3.4 Φαρμακοκινητική ανάλυση.....	138
11.4 Αποτελέσματα.....	138
11.5 Συζήτηση.....	142
11.6 Συμπερασματα.....	143

12. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	144
13. SUMMARY.....	146
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	148

1. ΚΟΛΙΣΤΙΝΗ

1.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

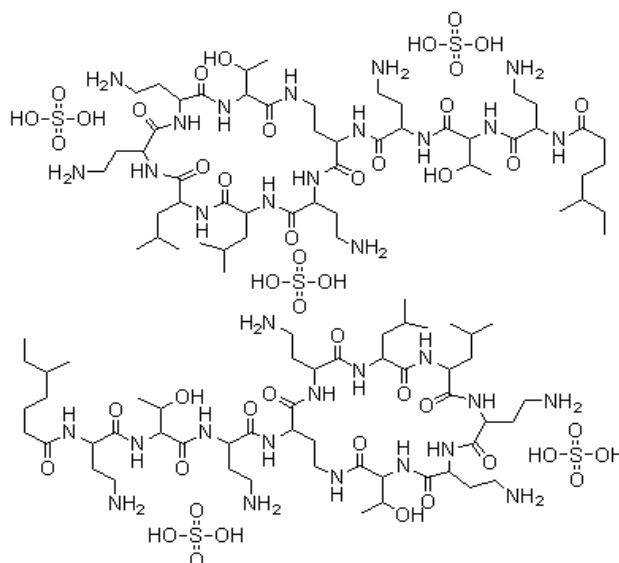
Η κολιστίνη (ή πολυμυξίνη Ε) είναι ένα πολυπεπτιδικό αντιβιοτικό που ανακαλύφθηκε το 1949^{1,2}. Παράγεται από τον αερόβιο μικροοργανισμό *Bacillus Polymyxa* υποείδος *colistinus*¹.

Η κολιστίνη έχει βακτηριοκτόνο δράση έναντι των περισσότερων Gram (-) μικροβίων και έχει χρησιμοποιηθεί ως αντιψευδομοναδικό αντιβιοτικό από τη δεκαετία του 1960. Το φάρμακο αυτό είχε πρακτικά σταματήσει να χρησιμοποιείται στην κλινική πράξη λόγω της εμφάνισης νεότερων αντιβιοτικών τουλάχιστον το ίδιο αποτελεσματικών και πιο ασφαλών^{3,4}. Εξαίρεση αποτελούσαν οι ασθενείς με κυστική ίνωση στους οποίους η κολιστίνη αποτελούσε συχνά το μόνο διαθέσιμο αντιβιοτικό για την αντιμετώπιση λοιμώξεων από πολυανθεκτική ψευδομονάδα^{5,6,7,8}.

Ωστόσο, ο πολλαπλασιασμός των προβλημάτων αντοχής στα αντιβιοτικά και η ανάγκη αντιμετώπισης σοβαρών λοιμώξεων από *P. aeruginosa* και *A. baumannii*, επανέφεραν τελευταία στην κλινική πράξη την ενδοφλέβια χορήγηση κολιστίνης, ιδίως σε ασθενείς στη μονάδα εντατικής θεραπείας. Σήμερα η κολιστίνη παραμένει συχνά η μόνη διαθέσιμη θεραπευτική επιλογή σε βαρείες λοιμώξεις από πολυανθεκτικά Gram (-) μικρόβια⁹.

1.2 ΧΗΜΙΚΗ ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ

Η κολιστίνη (εικόνα 1.1) αποτελείται από ένα σύνθετο μείγμα 30 ενώσεων οι οποίες παρουσιάζουν παρόμοια δομή. Από τις 30 ενώσεις έχουν αναγνωριστεί μόνο 13¹⁰. Συγκεκριμένα οι ενώσεις αυτές αποτελούνται από ένα κυκλικό επταπεπτιδίο το οποίο φέρει μια πλευρική αλυσίδα η οποία αποτελείται από 3 αμινοξέα και ένα λιπαρό οξύ ενωμένο στο αμινοτελικό άκρο της. Οι διαφορές ανάμεσα στις πολυμυξίνες οφείλονται στα διαφορετικά αμινοξέα και στο διαφορετικό λιπαρό οξύ από τα οποία αποτελούνται¹¹ (πίνακας 1.1).

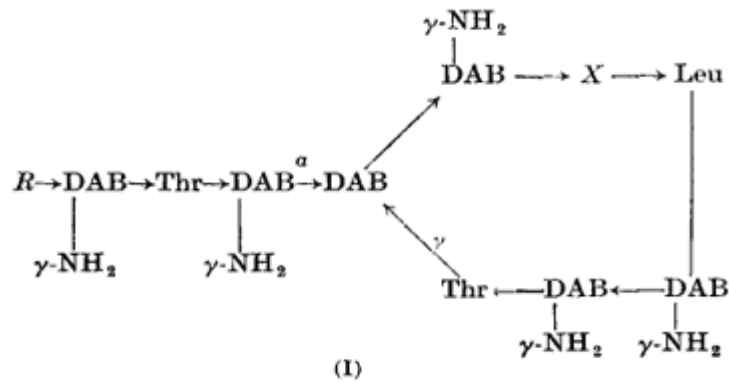


Εικόνα 1.1: ΘΕΙΚΗ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗ: *N*-[3-αμινο-1-[[1-[[[3-άμινο-1-[[6,9,18-τρις(2-άμινοαιθυλ)-3-(1-υδροξυαιθυλ)-12,15-δυς(2-μεθυλπροπυλ)-2,5,8,11,14,17,20-επταόξο-1,4,7,10,13,16,19-επταζακυκλοτρικός-21-υλ]καρβαμουλ]προπυλ]καρβαμουλ]-2υδροξυ-προπυλ]καρβαμουλ]προπυλ]-5-μεθυλ-επταναμίδη θεική *MB* : 2801.27 *M*. ΤΥΠΟΣ : $2(C_{52}H_{98}N_{16}O_{13}) \cdot 5(H_2SO_4)$.

Πίνακας 1.1: Αναγνωρισμένες πολυμυξίνες E (κολιστίνες) και η χημική δομή τους.

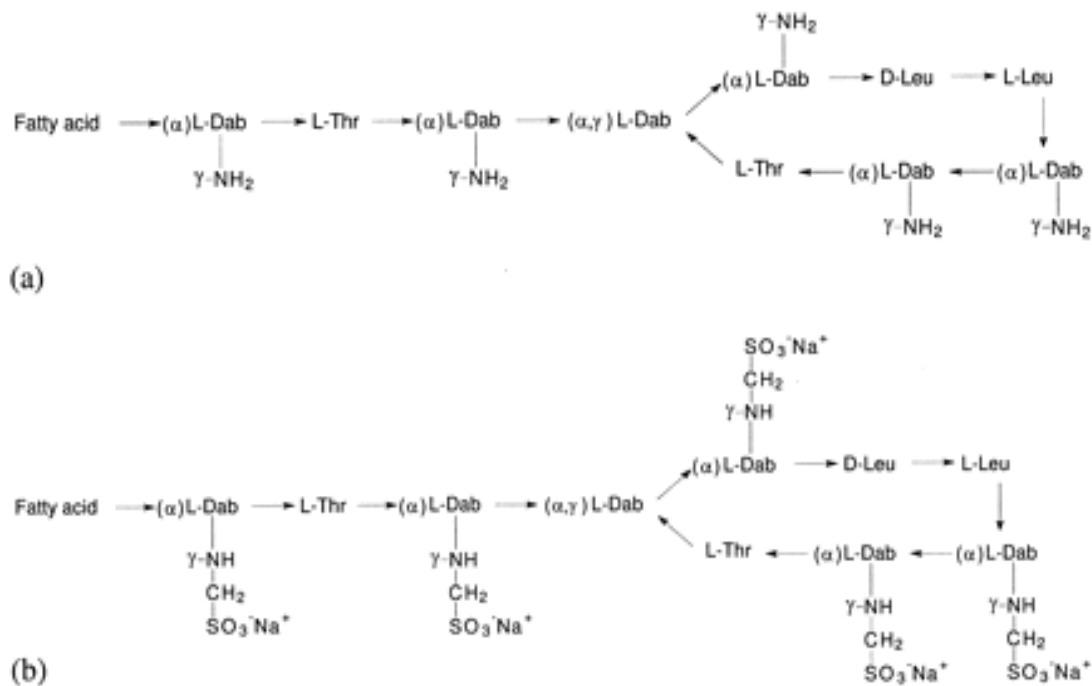
Πολυμυξίνη	Λιπαρό οξύ (FA)	Αμινοξύ στη θέση X
E ₁	6-μεθυλοοκτανοϊκό	Λευκίνη
E ₂	6-μεθυλοεπτανοϊκό	Λευκίνη
E ₃	οκτανοϊκό	Λευκίνη
E ₄	επτανοϊκό	Λευκίνη
E ₇	7-μεθυλοοκτανοϊκό	Λευκίνη
Ile-E ₁	6-μεθυλοοκτανοϊκό	Ισολευκίνη
Ile-E ₂	6-μεθυλοεπτανοϊκό	Ισολευκίνη
Ile-E ₈	7-μεθυλοεννιαονικό	Ισολευκίνη
Nva-E ₁	6-μεθυλοοκτανοϊκό	Νορβαλίνη
Val-E ₁	6-μεθυλοοκτανοϊκό	Βαλίνη
Val-E ₂	6-μεθυλοεπτανοϊκό	Βαλίνη

Ile: ισολευκίνη, *Nva*: Νορβαλίνη, *Val*: Βαλίνη.



Εικόνα 1.2: R: Λιπαρό οξύ, DAB: α, γ-διαμινοβουτυρικό οξύ, Thr: θρεονίνη, Leu: λευκίνη, X: αμινοξύ

Χαρακτηριστικό των πολυμυξινών είναι η ύπαρξη τμημάτων α, γ- διαμινοβουτυρικού οξέος και του λιποφίλου αμινοξέος D-λευκίνη¹¹ (εικόνα 1.2). Η κολιστίνη A (πολυμυξίνη E1) και η κολιστίνη B (πολυμυξίνη E2) είναι τα δύο κύρια συστατικά στο μείγμα, το ποσοστό των οποίων ξεπερνά το 85%. Η αναλογία αυτών των δύο στα εμπορικά σκευάσματα διαφέρει ανάλογα με τον προμηθευτή και την παρτίδα. Η αναλογία τους κυμαίνεται από 3:1 έως 1:1 κολιστίνη A προς κολιστίνη B¹². Η κολιστίνη A φέρει 6-μεθυλοοκτανοϊκό οξύ και η κολιστίνη B 6-μεθυλοεπτανοϊκό οξύ¹³ (εικόνα 1.3α). Οι μορφές κολιστίνης οι οποίες είναι διαθέσιμες εμπορικά είναι η θειική κολιστίνη για per os και τοπική χορήγηση και η μεθανοσουλφονική κολιστίνη για παρεντερική και δια εισπνοής χορήγηση¹⁴ (εικόνα 1.3β). Η κατανομή της κολιστίνης βάσης τόσο σε πολικό όσο και σε μη πολικό περιβάλλον είναι καλή εξαιτίας των λιπόφιλων και υδρόφιλων ομάδων που διαθέτει, με αποτέλεσμα να κατανέμεται ικανοποιητικά τόσο σε νερό (πολικό περιβάλλον) όσο και στις προκαρυωτικές και ευκαρυωτικές μεμβράνες¹⁰ (μη πολικό περιβάλλον). Το λιπαρό οξύ της πλάγιας αλυσίδας είναι υπεύθυνο για τις λιπόφιλες ιδιότητες της ενώ οι πέντε ελεύθερες γ-αμινομάδες των μορίων του α,γ-διαμινοβουτυρικού οξέος είναι υπεύθυνες για τις υδροφιλικές, βασικές ιδιότητες της¹ (pKa = 10). Η μεθανοσουλφονική κολιστίνη προκύπτει από την αντίδραση της κολιστίνης με φορμαλδεύδη και στη συνέχεια με θειώδες νάτριο¹⁵. Συγκεκριμένα με τη φορμαλδεύδη αντιδρούν οι 5 ελεύθερες γ-αμινομάδες του α,γ-διαμινοβουτυρικού οξέος.



Εικόνα 1.3 (α): χημική δομή κολιστίνης Α και Β. Fatty acid: Λιπαρό οξύ, 6-μεθυλοοκτανοϊκό οξύ για την κολιστίνη Α και 6-μεθυλοεπτανοϊκό οξύ για την κολιστίνη Β. 1.3 (β): χημική δομή άλατος μεθανοσουλφονικής κολιστίνης Α και Β. DAB: α, γ-διαμινοβουτυρικό οξύ, Thr: θρεονίνη, Leu: λευκίνη, α- και γ- είναι οι αντίστοιχες αμινομάδες που συμμετέχουν στον πεπτιδικό δεσμό.

1.3 ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΜΕΘΑΝΟΣΟΥΛΦΟΝΙΚΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΚΑΙ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ

Η μεθανοσουλφονική κολιστίνη παρουσιάζεται ασταθής τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. Υδρολύεται αμέσως σε υδατικά διαλύματα (37 °C) και στο πλάσμα, ενώ έχει αναφερθεί ότι είναι σταθερή στο νερό 4 °C για 2 ημέρες. Επιπρόσθετα έχει βρεθεί ότι *in vitro* σε πλάσμα 37 °C μέσα σε 4 ώρες το 31,2 % της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης έχει υδρολυθεί σε κολιστίνη². Με την υδρόλυση της δίνει ένα πολύπλοκο μείγμα μερικώς μεθανοσουλφοποιημένων παραγώγων και την κολιστίνη ως βάση. Αναφέρεται ότι τα μερικώς μεθανοσουλφοποιημένα παράγωγα μπορούν να φτάσουν σε αριθμό μέχρι και τα 32¹⁵.

Σε πρόσφατη μελέτη εκτιμήθηκε η σταθερότητα της κολιστίνης και της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης στο ανθρώπινο πλάσμα σε διάφορες συνθήκες αποθήκευσης¹⁶. Το πλάσμα εμβολιασμένο με κολιστίνη έδειξε ουσιαστικά καλύτερη σταθερότητα στους -80 °C και στους -70 °C απ' ότι στους -20 °C. Τα δείγματα

μεθανοσουλφονικής κολιστίνης συγκεντρώσεων 2 και 30 mg/L δεν παρουσίασαν υπολογίσιμη ποσότητα κολιστίνης σε περίοδο 4 μηνών στους -80 °C και στους -70 °C, ενώ στους -20 °C το δείγμα μεθανοσουλφονικής κολιστίνης 2 mg/L παρουσίασε συγκέντρωση κολιστίνης 0,4 mg/L σε 2 μήνες. Για τις τρεις θερμοκρασίες η σταθερότητα της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης ήταν καλύτερη στο δείγμα 30 mg/L σε σύγκριση με το δείγμα 2 mg/L.

Η κολιστίνη είναι σταθερή στο νερό στους 4 °C για 60 ημέρες ενώ στους 37 °C για 5 ημέρες. Στο πλάσμα (pH 7.4) στους 37 °C η κολιστίνη αποδομείται και έχει βρεθεί ότι η κολιστίνη A είναι λιγότερο σταθερή από την κολιστίνη B για άγνωστο λόγο¹⁵. Επίσης είναι ανθεκτική στην πεψίνη (σε εύρος pH 2.2 – 4.8), στην τρυψίνη (pH 4.4 – 7.5), στην παγκρεατίνη (pH 4.4 – 7.5) και στην ερεψίνη (pH 6.1 – 7.8) αλλά απενεργοποιείται από τη λιπάση. Η θεική κολιστίνη είναι λιγότερο σταθερή στο νερό σε pH μεγαλύτερο από 6 ενώ σε στέρεα κατάσταση σε θερμοκρασία δωματίου είναι πολύ σταθερή για 12 μήνες¹⁰. Γενικά αναφέρεται ότι η θεική κολιστίνη είναι σχετικά σταθερή σε όξινο pH από 2 έως 6 αλλά πάνω από αυτό το pH η σταθερότητα της μειώνεται. Μία μελέτη αναφέρει ότι η μέγιστη σταθερότητα εμφανίζεται σε pH 3.4¹⁷. Τα διαλύματα μεθανοσουλφονικής κολιστίνης για εισπνοή (77,5 mg/ml) ήταν σταθερά στους 4 °C και στους 25 °C για τουλάχιστον 12 μήνες¹⁸. Η λυοφιλοποιημένη κόνις μεθανοσουλφονικής κολιστίνης για παρεντερική χορήγηση παρέμεινε σταθερή για τουλάχιστο 20 εβδομάδες στους 4 °C και στους 25 °C σε σχετική υγρασία 60%¹⁸.

1.4 ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟ ΦΑΣΜΑ

Η κολιστίνη παρουσιάζει βακτηριοκτόνο δράση ενάντια στους περισσότερους Gram (-) αερόβιους βάκιλλους όπως είδη *Acinetobacter*, *P. Aeruginosa*, είδη *Klebsiella*, είδη *Enterobacter*, *Escherichia coli*, είδη *Salmonella*, είδη *Shigella*, είδη *Citrobacter*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Morganella morganni* και *Haemophilus influenzae*. Η κολιστίνη θεωρείται δραστική έναντι διαφόρων ειδών μυκοβακτηριδίων όπως *Mycobacterium xenopi*, *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium phlei* και *Mycobacterium smegmatis*. Επίσης έχει σημαντική in vitro δραστικότητα ενάντια σε στελέχη του μικροοργανισμού *Stenotrophomonas maltophilia* (83%-88% ευαίσθητα στελέχη).

Παρόλα αυτά οι μικροοργανισμοί *Pseudomonas mallei*, *Bukholderia cepacia*, τα είδη *Proteus*, είδη *Providencia*, είδη *Serratia*, είδη *Edwardsiella* και είδη *Brucella*

είναι όλα ανθεκτικά στην κολιστίνη. Επιπρόσθετα η κολιστίνη δεν είναι δραστική ενάντι: Gram (-) και Gram (+) αερόβιων κόκκων, Gram (+) αερόβιων βάκιλλων, όλων των αναερόβιων μικροβίων, μυκήτων και παρασίτων².

Ενδιαφέρον είναι το αποτέλεσμα μιας μελέτης με το μικροοργανισμό *P. Aeruginosa* σύμφωνα με το οποίο επιβεβαιώνεται ότι η μεθανοσουλφονική κολιστίνη είναι ένα αδρανές προφάρμακο της κολιστίνης ενάντια σε αυτό το μικρόβιο¹⁹. Μια εξήγηση που αναφέρει η ίδια μελέτη είναι το φορτίο που φέρουν τα δύο μόρια σε φυσιολογικό pH 7.4. Η κολιστίνη είναι θετικά φορτισμένη πράγμα που αποτελεί και τη βάση του μηχανισμού δράσης της ενώ αντίθετα η μεθανοσουλφονική κολιστίνη είναι αρνητικά φορτισμένη γεγονός που περιορίζει τη δραστηριότητά της. Με την υδρόλυση της όμως απομακρύνονται οι μεθανοσουλφονικές ομάδες και προκύπτει η δραστική κολιστίνη ως βάση με φορτίο +5 (με τις 5 ελεύθερες αμινομάδες πρωτονιωμένες) καθώς και τα μερικώς μεθανοσουλφοποιημένα παράγωγα με φορτίο που κυμαίνεται από -3 μέχρι +3 (-3 στα παράγωγα που φέρουν 4 σουλφομεθυλομάδες και +3 για αυτά που φέρουν μόνο μία σουλφομεθυλομάδα). Είναι πιθανό η έλλειψη δραστηριότητας της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης να ισχύει και για άλλους μικροοργανισμούς εκτός από την ψευδομονάδα καθώς ο μηχανισμός δράσης είναι περισσότερο φυσικοχημικός και στηρίζεται λιγότερο στη σύνδεση με κάποιο υποδοχέα²⁰. Η αναφορά ότι η μεθανοσουλφονική κολιστίνη είναι προφάρμακο είχε γίνει νωρίτερα και από άλλες μελέτες²¹ χωρίς όμως να αποδειχθεί πειραματικά.

1.5 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ

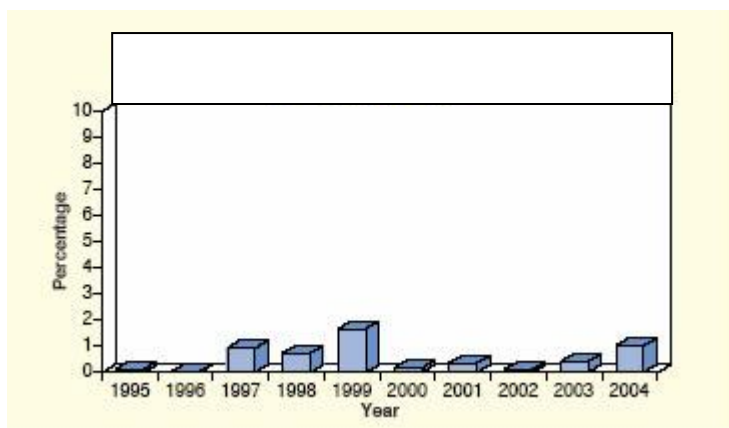
Η κολιστίνη δρα ως κατιοντικό απορρυπαντικό ή επιφανειοδραστική ουσία¹. Αυτό οφείλεται στις υδρόφιλες θετικά φορτισμένες γ-αμινομάδες του α,γ-διαμινοβουτυρικού οξέος που παραμένουν ελεύθερες στο υδατικό περιβάλλον ενώ το λιπόφιλο τμήμα της κολιστίνης ενώνεται με τα φωσφολιπίδια της εξωτερικής μεμβράνης του μικροβίου. Η ευαισθησία των μικροβίων στην κολιστίνη αυξάνεται με την αύξηση της περιεκτικότητας της μεμβράνης σε φωσφολιπίδια. Η ένωση της κολιστίνης με την εξωτερική στοιβάδα των μικροβίων είναι μη ειδική αλλά στηρίζεται αφενός στο ηλεκτροθετικό της φορτίο και αφετέρου στο ηλεκτραρνητικό φορτίο των Gram (-) μικροβίων. Βρέθηκε ότι ο υποδοχέας της εξωτερικής μεμβράνης του κυτταρικού τοιχώματος, για τη μη ειδική σύνδεση, βρίσκεται στο μόριο των λιποπολυσακχαριτών και συγκεκριμένα στο λιποειδές A ή στο εσώτατο μέρος του

κορμού της πολυσακχαρικής αλυσίδας¹. Η περιοχή αυτή φέρει πολλά μόρια ιονισμένου φωσφόρου και καλείται «θέση μαγνησίου» επειδή στα μόρια των πολυσακχαριτών οι θέσεις αυτές είναι συνδεδεμένες με ιόντα μαγνησίου. Με τον τρόπο αυτό στα Gram (-) βακτήρια τα παρακείμενα μόρια λιποπολυσακχαριτών ενώνονται μεταξύ τους με γέφυρες μαγνησίου που εκτείνονται μεταξύ των φωσφορικών ομάδων. Η κολιστίνη με το θετικό φορτίο που φέρει εκτοπίζει τα ιόντα μαγνησίου από τις θέσεις αυτές και παρεμβάλλεται μεταξύ των μορίων των πολυσακχαριτών διαταράσσοντας τη συνοχή και τη διαπερατότητα της μεμβράνης. Στη συνέχεια αφού διαπεράσει την εξωτερική μεμβράνη, προσδένεται στην αρνητικά φορτισμένη κυτταροπλασματική μεμβράνη. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται «αυτοπροαγόμενη οδός» (self-promoted pathway). Αποτέλεσμα είναι να εξέρχονται από το κύτταρο πολύτιμα ενδοκυττάρια συστατικά και να ακολουθεί ο θάνατος του βακτηρίου. Ο μηχανισμός αυτός εξηγεί και το γεγονός ότι η κολιστίνη όπως και όλες οι πολυμυξίνες δεν έχουν δράση ενάντια στα Gram (+) μικρόβια αφού αυτά δεν έχουν λιποπολυσακχαρίτες. Επίσης εξηγείται και η μεγαλύτερη δραστηριότητα της κολιστίνης για την *Pseudomonas aeruginosa*, καθώς οι λιποπολυσακχαρίτες αυτού του μικροοργανισμού έχουν πολλές θέσεις μαγνησίου σε σύγκριση με άλλα Gram (-) μικρόβια (περισσότερο από 98% των στελεχών της *P. Aeruginosa* είναι ευαίσθητα στην κολιστίνη)²⁰. Παράλληλα έχει αναφερθεί ότι τα δυσθενή κατιόντα μαγνησίου και ασβεστίου ασκούν ανταγωνιστική δράση στην κολιστίνη¹.

1.6 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗΣ

Η ανάπτυξη αντοχής στην κολιστίνη είναι σπάνια¹. Τα στοιχεία που υπάρχουν σχετικά με την αντοχή στην κολιστίνη είναι περιορισμένα¹⁰. Γενικά έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί ανάπτυξης αντοχής στην κολιστίνη οι περισσότεροι από τους οποίους θεωρούν ότι αυτή προκύπτει λόγω αλλαγών στην εξωτερική μεμβράνη των μικροβίων²². Μελέτες με την *P. Aeruginosa* έδειξαν ότι η υπερέκφραση μιας εξωτερικής πρωτεΐνης που εμφανίζεται σε χαμηλά επίπεδα ιόντων μαγνησίου οδηγεί σε ανάπτυξη αντοχής στην πολυμυξίνη Β και στη γενταμικίνη¹⁰. Μεταξύ της πολυμυξίνης Β και της κολιστίνης (πολυμυξίνη Ε) υπάρχει πλήρης διασταυρούμενη αντοχή¹. Στα εντεροβακτηριακά μικρόβια αναφέρεται ότι αλλαγές στην αρνητικά φορτισμένη επιφάνεια των λιποπολυσακχαριτών οδηγεί σε αντοχή στις πολυμυξίνες ενώ μικρή αντοχή λόγω μεταλλαγής εμφανίζεται στη *Salmonella*. Για την *P.*

Aeruginosa έχει αποδειχθεί ότι αναπτύσσεται υψηλή αντοχή *in vitro* από την παρουσία κολιστίνης ή πολυμυξίνης B ενώ είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι κάποια στελέχη ψευδομονάδας καθώς εμφάνιζαν αντοχή στην κολιστίνη παρουσίαζαν αυξημένη ευαισθησία σε άλλα αντιβιοτικά όπως στις τετρακυκλίνες και στη χλωραμφαινικόλη στα οποία οι μικροοργανισμοί αυτοί είναι ανθεκτικοί. Επιπρόθετα παρόλο που ενζυματική αντίσταση στην κολιστίνη από τα μικρόβια δεν έχει αναφερθεί ως τώρα είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι ο βάκιλλος *polymyxa* υποείδος *colistinus* παράγει κολιστινάση η οποία αδρανοποιεί την κολιστίνη². Επίσης η ανάπτυξη αντοχής στην κολιστίνη ενάντια σε πολυανθεκτική ψευδομονάδα δεν έχει παρατηρηθεί στη Δανία και στην Αγγλία παρόλη τη χρήση νεφελοποιημένης μεθανοσουλφονικής κολιστίνης σε συνδυασμό με *per os* σιπροφλοξασίνη για πάνω από 15 χρόνια, ενώ αντίθετα πολύ υψηλή συχνότητα αντοχής, λόγω μεταλλαγής, ενάντια στη μονοθεραπεία με κολιστίνη εμφανίστηκε σε Gram (-) μικρόβια συμπεριλαμβανομένου της *P. Aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*), *Klebsiella pneumonia* (*K. Pneumoniae*) και *Escherichia coli* (*E. Coli*)²². Τέλος σε μία πρόσφατη μελέτη αναφέρθηκε μια ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της χρήσης του φαρμάκου και της ανάπτυξης αντίστασης από κλινικά απομονωμένα στελέχη του μικροοργανισμού *A. Baumannii* τα οποία είχαν συλλεχθεί μεταξύ του 2001 και του 2004²³. Σε μία μελέτη των Pitt et al²⁴ μελετήθηκε η ευαισθησία στελεχών *P. Aeruginosa* σε 417 ασθενείς με κυστική ίνωση που νοσηλεύτηκαν σε 17 νοσοκομεία. Η μελέτη αφορούσε 6 αντιβιοτικά. Τα μισά στελέχη έδειξαν ανθεκτικότητα στην γενταμυκίνη σε σύγκριση με την κεφταζιμίδη (39%), την πιπερακιλλίνη (32%), την σιπροφλοξασίνη (30%) και την τομπραμυκίνη (10%). Μόνο 3% των βακτηρίων ήταν ανθεκτικά στη κολιστίνη, ενώ το 49% ήταν ανθεκτικά σε συνδυασμό δύο ή περισσότερων αντιβιοτικών (κεφταζιμίδη σε συνδυασμό με γενταμυκίνη, πιπερακιλλίνη ή σιπροφλοξασίνη, Schulin 2002). Τα περισσότερα στελέχη του *Burkholderia cepacia complex* παρέμειναν ανθεκτικά στη κολιστίνη. Στο παρακάτω διάγραμμα φαίνονται τα ποσοστά εμφάνισης των ανθεκτικών στελεχών *P. Aeruginosa* στη κολιστίνη την τελευταία δεκαετία (διάγραμμα 1.1). Η ανθεκτικότητα παραμένει σχετικά σταθερή παρά την καθημερινή χρήση ενδοφλέβιας και εισπνεόμενης κολιστίνης στην αντιμετώπιση της κυστικής ίνωσης.



Διάγραμμα 1.1: Ετήσια ποσοστά ασθενών με απομονωθέντες μικροοργανισμούς ανθεκτικούς στην κολιστίνη (The use of Colistin in Cystic Fibrosis, on line, Daniel Peckham, Jim Littlewood, April 2008)

1.7 ΑΝΕΠΙΘΥΜΗΤΕΣ ΕΝΕΡΓΕΙΕΣ

Οι συχνότερες παρενέργειες που εμφανίζονται με την παρεντερική χρήση της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης είναι η νεφροτοξικότητα και η νευροτοξικότητα. Η νεφροτοξικότητα εμφανίζεται κυρίως ως οξεία σκληρωτική νέκρωση με μειωμένη κάθαρση κρεατινίνης και αυξημένα επίπεδα ουρίας και κρεατινίνης στο αίμα. Η νευροτοξικότητα εμφανίζεται με ζάλη, αδυναμία, προσωπική και περιφερική παραισθησία, ίλιγγο, οπτικές διαταραχές, σύγχυση, αταξία και νευρομυϊκό αποκλεισμό που μπορεί να οδηγήσει σε αναπνευστική ανεπάρκεια ή άπνοια. Η αναφορά της πιθανότητας νευροτοξικότητας σχετιζόμενη με τη χρήση κολιστίνης στη παλαιά βιβλιογραφία ήταν σημαντικά μικρότερη σε σχέση με τη νεφροτοξικότητα. Οι πιο συχνές νευρολογικές ανεπιθύμητες ενέργειες ήταν η παραισθησία σε ποσοστό 27% μετά από ενδοφλέβια χορήγηση μεθανοσουλφονικής κολιστίνης και 7,3% μετά από ενδομυϊκή χορήγηση^{25,26}. Ο πιθανός μηχανισμός δράσης είναι ότι η πολυμυξίνη προσδένεται στον υποδοχέα ακετυλοχολίνης και μπλοκάρει την απελευθέρωση ακετυλοχολίνης στο συναπτικό χάσμα^{27,28}. Ωστόσο πρόσφατες μελέτες σε ασθενείς με κυστική ίνωση δεν συμφωνούσαν με τα παραπάνω δεδομένα^{29,30,31}. Στη βιβλιογραφία πάνω από 15 χρόνια έχει να αναφερθεί επεισόδιο νευρομυϊκού αποκλεισμού ή άπνοιας. Τόσο η νεφροτοξικότητα όσο και η νευροτοξικότητα θεωρείται ότι εξαρτώνται από τη δόση ενώ στις περισσότερες περιπτώσεις είναι αναστρέψιμες^{2,32}. Παράλληλα έχουν αναφερθεί αντιδράσεις υπερευαισθησίας, δερματικό εξάνθημα, κνησμός, πυρετός και ήπιες γαστρεντερικές διαταραχές. Μετά

από χορήγηση εισπνεόμενης μεθανοσουλφονικής κολιστίνης οι παρενέργειες που μπορούν να εμφανιστούν είναι αίσθημα σύσφιξης στο στήθος, ερεθισμός του λαιμού και βήχας. Τα συμπτώματα αυτά είναι συχνότερα με την εισπνοή θειικής κολιστίνης παρά με την εισπνοή μεθανοσουλφονικής κολιστίνης². Η αναπνευστική αντίδραση που παρουσιάζεται μπορεί να οδηγήσει σε διακοπή θεραπείας. Βρογχόσπασμος με αιφνίδια πτώση του FEV1 μετά από χορήγηση εισπνεόμενης κολιστίνης έχει παρατηρηθεί στο 17.7% των ασθενών. Ο βρογχόσπασμος μπορεί να προβλεφθεί ή να ελαχιστοποιηθεί προσθέτοντας έναν β2 αγωνιστή είτε πριν είτε κατά τη διάρκεια χορήγησης κολιστίνης³³.

Οι αρχικές κλινικές μελέτες μετά την εισαγωγή της κολιστίνης στη θεραπευτική έδειξαν υψηλά ποσοστά κυρίως νεφροτοξικότητας πράγμα που είχε ως αποτέλεσμα τον περιορισμό της χρήσης της. Σε τρεις μελέτες στη δεκαετία του 1960 όπου χορηγήθηκε ενδοφλέβια μεθανοσουλφονική κολιστίνη για λοιμώξεις με gram αρνητικά βακτήρια προέκυψαν τα ακόλουθα: Στη πρώτη³⁴ 10.5% των 48 ασθενών είχαν παρατεταμένη αύξηση της ουρίας του αίματος, στη δεύτερη³⁵ 26.1% των 23 ασθενών εμφάνισαν νεφρική βλάβη κατά τη διάρκεια της θεραπείας και στην τρίτη³⁶ 50% των 8 ασθενών παρουσίασαν πτώση της κάθαρσης της κρεατινίνης και αύξηση των επιπέδων της κρεατινίνης ορού. Σε μία μελέτη το 1970 βρέθηκε ότι στην αντιμετώπιση 317 περιπτώσεων λοιμώξεων η νεφροτοξικότητα ήταν 20,2%³⁷. Την ίδια χρονιά δημοσιεύτηκαν και άλλες μελέτες που συνηγορούσαν στο ότι το φάρμακο ήταν υψηλά νεφροτοξικό^{38,39,40}. Νεότερες μελέτες από τη δεκαετία 1990 και μετά έδειξαν ότι η νεφροτοξικότητα που είχε αναφερθεί είχε υπερεκτιμηθεί και ότι ο κίνδυνος δεν είναι στην πραγματικότητα μεγάλος. Το 1993 σε μία μελέτη με την κολιστίνη δεν εμφανίστηκε ούτε νεφροτοξικότητα ούτε νευροτοξικότητα⁴¹. Επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας σε ποσοστό 37% έχει αναφερθεί από τη χορήγηση μεθανοσουλφονικής κολιστίνης σε ασθενείς σε εντατικές μονάδες θεραπείας⁴², αλλά νεότερες μελέτες με ασθενείς σε εντατικές μονάδες θεραπείας έδειξαν ότι η συχνότητα εμφάνισης νεφροτοξικότητας είναι χαμηλότερη^{29,30,31,46}. Η νεφροτοξικότητα εκδηλώνεται με αύξηση των επιπέδων κρεατινίνης, μείωση της κάθαρσης της κρεατινίνης, αιματουρία, πρωτεинуρία, κυλινδρουρία, ολιγουρία και οξεία σωληναριακή νέκρωση⁴³.

Υπάρχουν στοιχεία σύγχρονων κλινικών μελετών σε ασθενείς στη μονάδα εντατικής θεραπείας που τους χορηγήθηκε μεθανοσουλφονική κολιστίνη παρεντερικά και προέκυψαν ποσοστά εμφάνισης νεφροτοξικότητας επί του συνόλου των ασθενών. Σε

μελέτη των Μάρκου et al²⁹ (2003) με δόση μεθανοσουλφονικής κολιστίνης (CMS) 675 mg την ημέρα συμμετείχαν 24 ασθενείς και η μέση διάρκεια θεραπείας ήταν 13,5 ημέρες. Η νεφρική ανεπάρκεια ορίστηκε ως μία αύξηση της κρεατινίνης του ορού μεγαλύτερη από 1 mg/dl κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Νεφροτοξικότητα προέκυψε στο 14.3% των ασθενών με έναν ασθενή που χρειάστηκε συνεχή φλεβοφλεβική αιμοδιήθηση. Σε μελέτη των Κασιάκου et al⁴⁴ (2005) σε 50 ασθενείς, με δόση CSM (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση) 337.5 mg ± 172.5 ή 360 mg ± 184 και με μέση διάρκεια θεραπείας 21,3 ημέρες η νεφροτοξικότητα παρουσιάστηκε στο 8%. Στη μελέτη αυτή η νεφρική ανεπάρκεια είχε οριστεί ως η αύξηση περισσότερο από 50% της αρχικής τιμής της κρεατινίνης σε μια τιμή υψηλότερη από 1,3 mg/dl ή η έκπτωση νεφρικής λειτουργίας που απαιτεί αιμοκάθαρση. Στη μελέτη των Michalopoulos et al³⁰ (2005) σε 43 ασθενείς, με δόση 720 ή 675 mg/ημέρα και με μέση διάρκεια θεραπείας 18,6 ημέρες η οξεία νεφρική ανεπάρκεια ορίστηκε ως μία αύξηση μεγαλύτερη από 2 mg/ml της κρεατινίνης σε ασθενείς με φυσιολογική νεφρική λειτουργία ενώ σε αυτούς με ιστορικό νεφρικής ανεπάρκειας ως ο διπλασιασμός της αρχικής τιμής της κρεατινίνης. Νεφροτοξικότητα εμφανίστηκε στο 18,6%. Στη μελέτη των Falaga et al³¹ (2005) σε 17 ασθενείς με δόση CMS : 352 ± 168 mg, με μέση διάρκεια θεραπείας 43,4 ημέρες και ορισμό νεφρικής ανεπάρκειας όπως των Κασιάκου et al⁴⁴, παρατηρήθηκε μικρή αύξηση διάμεσης τιμής της κρεατινίνης στο τέλος της θεραπείας κατά 0,1 mg/dl και πτώση της διάμεσης τιμής του αζώτου ουρίας αίματος κατά 1 mg/dl. Ένας ασθενής εμφάνισε αύξηση μεγαλύτερη από 50% σε σχέση με την αρχική τιμή κρεατινίνης σε ένα επίπεδο μεγαλύτερο από 1.3 mg/dl.

Η τοξικότητα της κολιστίνης ίσως μπορεί να αποδοθεί εν μέρει στο δ-αμινο οξύ της και στο λιπαρό οξύ της. Ο προτεινόμενος μηχανισμός με τον οποίο η κολιστίνη προκαλεί νεφροτοξικότητα είναι η αύξηση της διαπερατότητας της μεμβράνης των νεφρικών σωληναρίων, με αποτέλεσμα αυξημένη εισροή κατιόντων, ανιόντων και νερού. Αυτό οδηγεί σε διόγκωση των κυττάρων και λύση τους^{45,46}.

Ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι υπάρχουν μελέτες που δείχνουν ότι η χορήγηση κολιστίνης στη προτεινόμενη δόση είναι λιγότερο νεφροτοξική σε σύγκριση με τους παραδοσιακά νεφροτοξικούς αμινογλυκοσίδες^{47,48}.

Μια ενδιαφέρουσα περίπτωση των Ευαγγελοπούλου et al⁴⁹ αναφέρεται στη ραβδομύλυση που προέκυψε μετά από χορήγηση κολιστίνης. Στη διεθνή βιβλιογραφία δεν έχει αναφερθεί περιστατικό ραβδομύλυσης αποδιδόμενο στη

κολιστίνη. Υπήρχαν και άλλοι λόγοι που θα μπορούσαν να ήταν υπεύθυνοι για την πρόκληση ραβδομυόλυσης όπως η αιμοδυναμική αστάθεια, η υποξία, η χορήγηση φαρμάκων (κατασταλτικά, κορτικοστεροειδή, μυοχαλαρωτικά, διουρητικά). Το αξιοσημείωτο όμως ήταν η στενή χρονικά συσχέτιση της ραβδομύλυσης με την έναρξη και διακοπή χορήγησης κολιστίνης. Η ασθενής παρουσίασε υψηλή τιμή κρεατινικής φωσφοκινάσης (CPK) με την έναρξη χορήγησης κολιστίνης η οποία φαίνεται να μειώνεται αυτόματα 48 ώρες μετά τη διακοπή χορήγησης της κολιστίνης. Μια παροδική αλλά αναμενόμενη ύφεση στην τιμή της CPK υπήρξε κατά τη διάρκεια της συνεχούς φλεβοφλεβικής αιμιδιαδίθησης CVVHDF. Παρά την άμεση διακοπή μυοχαλαρωτικών μετά την εμφάνιση ραβδομύλυσης, η τιμή της CPK παρουσίαζε διαρκή άνοδο ακόμη και έξι μέρες μετά τη διακοπή τους και μόλις δύο ημέρες μετά την έναρξη χορήγησης κολιστίνης. Όλα αυτά οδηγούν στη στενή αιτιολογική σχέση ραβδομύλυσης και κολιστίνης. Η κολιστίνη αντενδείκνυται σε περιπτώσεις υπερευαισθησίας, βαριάς μυασθένειας και εγκυμοσύνης⁵⁰.

1.8 ΦΑΡΜΑΚΟΔΥΝΑΜΙΚΗ

Η κολιστίνη δείχνει εξαιρετική *in vitro* δραστηριότητα ενάντια στο 97% των απομονοθέντων στελεχών *P. Aeruginosa* και *Acinetobacter* ($MIC_{50} \leq 1 \mu\text{g/ml}$ και $MIC_{90} \leq 2 \mu\text{g/ml}$ για τα δύο παθογόνα)⁵¹. *In vitro* μελέτες χρόνου-θανάτου (time-kill) μικροβίων με τη θεϊκή κολιστίνη έδειξαν μια ισχυρή, εξαρτώμενη από τη συγκέντρωση θανάτωση πολυανθεκτικών μικροβίων *P. Aeruginosa* και *A. Baumannii* καθώς και ένα μέτριο μετά-αντιβιοτικό αποτέλεσμα (post-antibiotic effect)⁵². Η μεθανοσουλφονική κολιστίνη δεν είναι δραστική αφού θεωρείται ως ανενεργό προφάρμακο της ισχυρά δραστικής κολιστίνης^{22,19}. Για τις φαρμακοδυναμικές παραμέτρους της κολιστίνης όπως C_{max}/MIC , AUC/MIC , $\%T/MIC$ δεν έχουν καθοριστεί βέλτιστες τιμές²². Πρόσφατη μελέτη προσπάθησε να εξετάσει τη σχέση μεταξύ φαρμακοκινητικής (PK) και φαρμακοδυναμικής (PD) της κολιστίνης και προτείνει ότι ο δείκτης PK/PD που δίνει την καλύτερη συσχέτιση με την αντιβακτηριδιακή δραστηριότητα της κολιστίνης είναι το AUC/MIC ⁵³. Άλλα αντιβιοτικά με ισχυρώς εξαρτώμενη από τη συγκέντρωση θανάτωση μικροβίων έχουν βέλτιστο C_{max}/MIC από 8 έως 10^{54} . Κάτι τέτοιο δεν έχει αποδειχθεί για την κολιστίνη.

1.9 ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ

Οι μορφές της κολιστίνης που χρησιμοποιούνται στη θεραπευτική είναι η θειϊκή κολιστίνη για *per os* και τοπική χορήγηση (συνήθως σε οφθαλμικά και ωτικά διαλύματα)¹⁰ και η μεθανοσουλφονική κολιστίνη για παρεντερική χορήγηση. Επίσης και οι δύο μορφές χρησιμοποιούνται ως εισπνεόμενα αλλά επικρατεί η μεθανοσουλφονική λόγω λιγότερων και ηπιότερων παρενεργειών⁵⁵.

Τόσο η κολιστίνη όσο και η μεθανοσουλφονική μορφή της απορροφώνται ελάχιστα από το γαστρεντερικό σωλήνα, από βλεννογόνους, φλεγμαίνουσες περιοχές και εγκαύματα¹⁰.

Η κολιστίνη συνδέεται ισχυρά με τη λιπιδική μεμβράνη των κυττάρων πολλών ιστών του σώματος όπως συκώτι, πνεύμονες, νεφρά, εγκέφαλος, καρδιά και μυς. Η απελευθέρωση του φαρμάκου που είναι συνδεδεμένο στους ιστούς γίνεται πολύ αργά και δεν έχει ολοκληρωθεί ακόμη και μετά από 5 ημέρες μετά την τελευταία χορήγηση. Η σουλφομεθυλοποίηση της κολιστίνης καταργεί την αντιμικροβιακή δραστηριότητα και μειώνει την πρόσδεση με τις μεμβράνες. Περίπου το 55% της κολιστίνης βρέθηκε ότι είναι συνδεδεμένο με τις πρωτεΐνες του πλάσματος σε αρουραίους, σκυλιά και βοειδή. Επίσης αναφέρεται ότι η κολιστίνη έχει μειωμένη κατανομή στην πλευρική κοιλότητα, στο πνευμονικό παρέγχυμα και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό αν και έχει αναφερθεί η θεραπεία περιστατικού μηνιγγίτιδας από πολυανθεκτικό *A. Baumannii* με τη χορήγηση μεθανοσουλφονικής κολιστίνης^{2,56}. Οι φαρμακοκινητικές μελέτες που έχουν γίνει μετά από την παρεντερική χορήγηση μεθανοσουλφονικής κολιστίνης είναι λίγες λόγω της έλλειψης ειδικών μεθόδων ανάλυσης που μπορούν αξιόπιστα να διακρίνουν και να μετρούν τόσο την κολιστίνη όσο και τη μεθανοσουλφονική μορφή της. Οι μικροβιολογικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν αρχικά δεν μπορούν να μετρήσουν ξεχωριστά τις δύο μορφές ενώ παράλληλα προκαλούν επιπλέον υδρόλυση της μεθανοσουλφονικής σε κολιστίνη αυξάνοντας το σφάλμα¹³.

Η μελέτη των φαρμακοκινητικών παραμέτρων της μεθανοσουλφονικής και της κολιστίνης βάσης, μετά από ενδοφλέβια χορήγηση, σε ανθρώπους κατά τη σταθεροποιημένη κατάσταση έχει γίνει σε μερικές μελέτες όπου δεν χρησιμοποιήθηκαν μικροβιολογικές μέθοδοι αλλά HPLC μέθοδοι. Σε δύο μελέτες οι ασθενείς που πήραν μέρος είχαν κυστική ίνωση σε φάση έξαρσης και έπαιρναν το αντιβιοτικό για την καταπολέμηση της λοίμωξης από ψευδομονάδα ενώ είχαν

φυσιολογική νεφρική λειτουργία^{20,57}. Στη μελέτη των Li et al⁵⁷ μετρήθηκαν και οι δύο μορφές του φαρμάκου ενώ στη μελέτη των Reed et al²⁰ μετρήθηκε μόνο η κολιστίνη αλλά αμφισβητήθηκε από τους Li et al διότι κατά την προετοιμασία των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν σχετικά υψηλές θερμοκρασίες²⁰ που οδηγούν σε υδρόλυση της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης σε κολιστίνη βάση και έτσι σε μη αξιόπιστη αυξημένη μέτρηση⁵⁷. Σε πρόσφατη μελέτη⁵⁸ 14 ασθενών που νοσηλεύονταν στη μονάδα εντατικής θεραπείας με σταθερή νεφρική λειτουργία έλαβαν 225 mg μεθανοσουλφονικής κολιστίνης για αντιμετώπιση λοιμώξεων από πολυανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια. Τα αποτελέσματα των τριών παραπάνω μελετών παραθέτονται στον πίνακα 1.4.

Πίνακας 1.4: Σύγκριση των φαρμακοκινητικών παραμέτρων κολιστίνης στη σταθεροποιημένη κατάσταση, μετά από ενδοφλέβια χορήγηση μεθανοσουλφονικής κολιστίνης, σε τρεις μελέτες που δεν χρησιμοποιήθηκαν μικροβιολογικές μέθοδοι. Οι Li et al είχαν 12 ασθενείς με κυστική ίνωση, οι Reed et al είχαν 27 ασθενείς με κυστική ίνωση και οι Markou et al είχαν 14 σε κρίσιμη κατάσταση. Όλοι οι ασθενείς είχαν φυσιολογική νεφρική λειτουργία και έπασχαν από λοιμώξεις gram(-) βακτηρίων. Όλα τα δεδομένα εκτός από το εύρος εκφράζονται ως μέση τιμή±τυπική απόκλιση (SD). Οι εκτιμήσεις έγιναν με μη διαμερισματική ανάλυση.

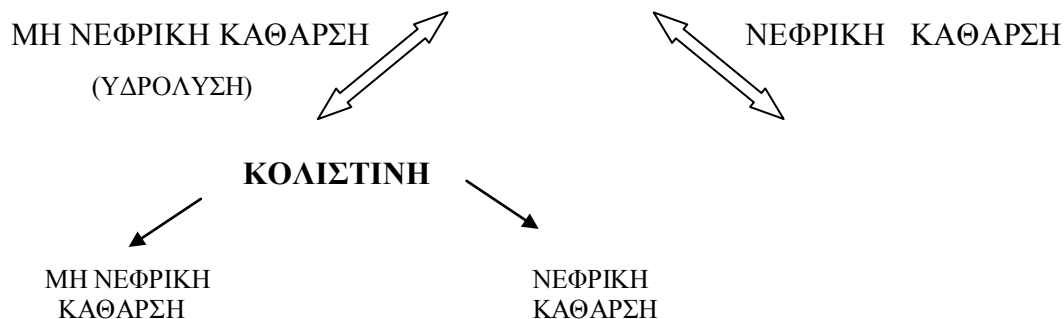
	Li et al ⁵⁷	Reed et al ²⁰	Markou et al ⁵⁸
V _d (L), (μέση τιμή±SD)	23,12	5,89	139,9±60,3
Cl(L/h), (μέση τιμή±SD)	2,01±0,46	1,37±0,35	13,6±5.8
T _{1/2} (h), (μέση τιμή±SD)	4.2±1.32	3.5±1	7,4±1,7
C _{max} (mg/L), (μέση τιμή ±SD)	1.2-3.1 (εύρος)	23±6	2,93±1,24
C _{min} (mg/L), (μέση τιμή ±SD)	0.14-1.3 (εύρος)	4.5±4,2	1,03±0,44

V_d: Όγκος κατανομής, T_{1/2}: χρόνος ημιζωής κολιστίνης, Cl: Ολική κάθαρση, C_{max} = μέγιστη συγκέντρωση, C_{min} = ελάχιστη συγκέντρωση.

Υπάρχει μία δημοσίευση ενός περιστατικού όπου μία ασθενής σε κρίσιμη κατάσταση ελάμβανε συνεχή φλεβοφλεβική αιμοδιαδιήθηση και στην οποία χορηγήθηκε μεθανοσουλφονική κολιστίνη λόγω λοίμωξης από πολυανθεκτική ψευδομονάδα⁵⁹. Στη μελέτη αυτή μετρήθηκαν και οι δύο μορφές του φαρμάκου στο αίμα και στο υγρό διάλυσης της αιμοδιαδιήθησης και προέκυψε ότι τόσο η κολιστίνη όσο και η μεθανοσουλφονική μορφή της απομακρύνονται με την αιμοδιαδιήθηση ενώ για το μεγαλύτερο χρόνο μέσα στο μεσοδιάστημα χορήγησης τα επίπεδα ήταν κάτω από την ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση για το μικρόβιο^{22,59}. Η μεθανοσουλφονική κολιστίνη (CMS) είναι ένα ανενεργό προφάρμακο, μέρος του

οποίου μετατρέπεται (υδρολύεται) *in vivo* σε κολιστίνη, όπου είναι και το ενεργό συστατικό. Μελέτη των Li et al¹⁴ έχει δείξει ότι το 7% του CMS μετατρέπεται σε κολιστίνη και μελέτη των Marchand S et al⁶⁰ δίνει αντίστοιχο ποσοστό 14%. Ενώ μελέτη των Balaji V et al⁶¹ δίνει ποσοστό μετατροπής 31%. Η κυρίαρχη οδός κάθαρσης της CMS είναι η νεφρική (60%) μέσω σωληναριακής έκκρισης και σπειραματικής διήθησης¹⁴ όπως έχει διαπιστωθεί από μελέτες σε αρουραίους¹⁴. Η σχηματιζόμενη κολιστίνη απομακρύνεται κυρίως με μη-νεφρικό μηχανισμό που δεν έχει ακόμη περιγραφεί ενώ ένα μέρος της απομακρύνεται από τα νεφρά (σχήμα 1.1)¹⁴. Μόνο 1% της αποβάλλεται στα ούρα και υφίσταται εκτεταμένη σωληναριακή επαναπορρόφηση μετά τη διήθηση στο νεφρικό σπείραμα¹⁴. Αυτή η μελέτη αφορούσε αρρouraίο και θεωρήθηκε ότι το ίδιο συμβαίνει και σε άνθρωπο. Σε νεφρική βλάβη η απομάκρυνση της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης από τα νεφρά μειώνεται με αποτέλεσμα ένα μεγαλύτερο μέρος της χορηγούμενης δόσης να μετατρέπεται σε κολιστίνη και αυτό εξηγεί για ποιο λόγο σε αυτούς τους ασθενείς πρέπει να μειωθεί η δόση της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης²².

ΜΕΘΑΝΟΣΟΥΛΦΟΝΙΚΗ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗ



*Σχήμα 1.1: Σχηματική αναπαράσταση της πορείας που ακολουθεί *in vivo* η μεθανοσουλφονική κολιστίνη και η κολιστίνη που σχηματίζεται από αυτή μετά τη χορήγηση της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης.*

Επίσης η φαρμακοκινητική της κολιστίνης έχει μελετηθεί μετά από εισπνοή σε ασθενείς με κυστική ίνωση. Αυτές οι μελέτες έδειξαν πολύ χαμηλά επίπεδα του φαρμάκου στη συστηματική κυκλοφορία^{21,62}.

1.10 ΚΛΙΝΙΚΗ ΧΡΗΣΗ

Η θειική κολιστίνη χορηγείται από το στόμα για την αντιμετώπιση διάρροιας από βακτηρίδια σε νεογέννητα και παιδιά ενώ εφαρμόζεται τοπικά σε εξωτερική ωτίτιδα και οφθαλμικές λοιμώξεις από *P. Aeruginosa*⁹.

Για παρεντερική χορήγηση χρησιμοποιείται η μεθανοσουλφονική μορφή της κολιστίνης, αλλά μετά τις πρώτες μελέτες στις αρχές του 1970 όπου έδειξαν υψηλή τοξικότητα, η χρήση της περιορίστηκε μέχρι τα μέσα του 1990 όπου και άρχισε να επανεκτιμάται η τοξικότητα της. Η κυρίαρχη χρήση της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης τα τελευταία 20 χρόνια έγγυται στην καταπολέμηση λοιμώξεων από ψευδομονάδα σε ασθενείς με κυστική ίνωση όπου χορηγείται σε εισπνεόμενη μορφή¹⁰. Όλο και περισσότερο χρησιμοποιείται η μεθανοσουλφονική κολιστίνη για την αντιμετώπιση λοιμώξεων από πολυανθεκτικά στελέχη *P. Aeruginosa* και *A. Baumannii* ιδιαίτερα στις μονάδες εντατικής θεραπείας όπου δεν είναι λίγες οι περιπτώσεις στις οποίες το αντιβιοτικό είναι η τελευταία λύση για την αντιμετώπιση της λοίμωξης⁶³. Στον πίνακα 1.5 παραθέτονται πρόσφατες μελέτες όπου χρησιμοποιήθηκε μεθανοσουλφονική κολιστίνη για την αντιμετώπιση λοιμώξεων από πολυανθεκτικά gram(-) βακτήρια σε μονάδες εντατικής θεραπείας και τα αντίστοιχα αποτελέσματα επί του συνόλου των ασθενών.

Πίνακας 1.5: Αποτελέσματα μελετών όπου χρησιμοποιήθηκε μεθανοσουλφονική κολιστίνη για την αντιμετώπιση πολυανθεκτικών στελεχών Gram (-) μικροβίων σε μονάδες εντατικής θεραπείας.

Ερευνητές	Αριθμός ασθενών	Παθογόνα μικρόβια	Αποτελέσματα
Levin et al ⁴²	59	P.Aeruginosa A.Baumannii	Καλή έκβαση 58%
Markou et al ²⁹	24	P.Aeruginosa Acinetobacter spp	Ανταπόκριση 73%
Linden et al ⁶⁴	23	P.Aeruginosa	Καλή εκβαση 61%
Garnacho-Montero et al ⁶⁵	21	A.Baumannii	Ίαση 57%
Kasiakou et al ⁴⁴	50	P.Aeruginosa A.Baumannii K.Pneumoniae	Ανταπόκριση 66.7%
Michalopoulos et al ³⁰	43	P.Aeruginosa A.Baumannii	Ίαση 69.8% Βελτίωση 4.7%
Falagas et al ³¹	17	P.Aeruginosa A.Baumannii K.Pneumoniae Enterobacter cloacae	Ίαση 52.6% Βελτίωση 21.1%
Hatem Kallel et al ⁶³	75	P.Aeruginosa A.Baumannii	Ανταπόκριση 76.9%

Καλή έκβαση: έξοδος από ΜΕΘ, Ανταπόκριση: ανταπόκριση στη θεραπεία, Ίαση: έξοδος από νοσοκομείο, Βελτίωση: έξοδος από ΜΕΘ.

1.11 ΔΟΣΟΛΟΓΙΑ

Ως προς τη δοσολογία, οι προτεινόμενες δόσεις κολιστίνης είναι διαφορετικές ανάλογα με τον παρασκευαστή και τον τρόπο έκφρασης της δραστηρότητας του σκευάσματος. Στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής (ΗΠΑ) ο παρασκευαστής του σκευάσματος της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης για ενδοφλέβια χορήγηση διαθέτει φιαλίδια των 400mg καθένα από τα οποία έχει δραστηρότητα ίση με 150mg βάσης κολιστίνης. Η προτεινόμενη δόση για ενήλικες με φυσιολογική νεφρική λειτουργία είναι 2,5-5,0 mg/Kg κολιστίνης βάσης, 2 με 4 φορές την ημέρα, που ισοδυναμούν με 6,67-13,3 mg/Kg/ημέρα μεθανοσουλφονικής κολιστίνης. Η μέγιστη ημερήσια δόση που προτείνεται από τον συγκεκριμένο παρασκευαστή αυτού του σκευάσματος είναι 800mg μεθανοσουλφονικής κολιστίνης για έναν ασθενή 60 κιλών με φυσιολογική νεφρική λειτουργία. Στην Ευρώπη το πιο γνωστό εμπορικά διαθέσιμο σκεύασμα μεθανοσουλφονικής κολιστίνης προέρχεται από παρασκευαστή στη Δανία όπου η δραστηρότητα του αντιβιοτικού εκφράζεται σε διεθνείς μονάδες (International Units ή

I.U). Αυτός ο παρασκευαστής διαθέτει φιαλίδια των 40, 80, και 160 mg μεθανοσουλφονικής κολιστίνης και ορίζεται ως η ελάχιστη συγκέντρωση που αναστέλλει την ανάπτυξη της *Escherichia coli* σε 1 ml ζωμού καλλιέργειας σε pH 7,2⁶⁶. Ένα mg καθαρής βάσης κολιστίνης αντιστοιχεί σε 30.000 διεθνείς μονάδες. Η προτεινόμενη δοσολογία για έναν ενήλικα κάτω από 60 Kg με φυσιολογική νεφρική λειτουργία είναι 50.000-75.000 I.U/ Kg την ημέρα σε 3 δόσεις που ισοδυναμεί με 4-6 mg/Kg την ημέρα μεθανοσουλφονικής κολιστίνης, ενώ για κάποιον πάνω από 60 Kg 1-2 εκατομμύρια μονάδες 3 φορές την ημέρα που ισοδυναμούν με 80-160 mg μεθανοσουλφονικής κολιστίνης 3 φορές την ημέρα. Η μέγιστη ημερήσια δόση με βάση τον συγκεκριμένο παρασκευαστή για έναν ενήλικα 60 κιλών με φυσιολογική νεφρική λειτουργία είναι 480 mg μεθανοσουλφονικής κολιστίνης²². Σε πρόσφατη μελέτη με 18 ασθενείς σε κρίσιμη κατάσταση, ο χρόνος ημιζωής της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης ήταν 2.3 ώρες και της κολιστίνης 14.4 ώρες. Η μέγιστη συγκέντρωση κολιστίνης (C_{max}) ήταν 0.60 mg/L μετά την πρώτη δόση των 3.000.000 μονάδων μεθανοσουλφονικής κολιστίνης και 2.3 mg/L μετά από επαναλαμβανόμενη χορήγηση 3.000.000 μονάδων κάθε 8 ώρες. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι οι συγκεντρώσεις κολιστίνης γενικά παραμένουν κάτω από την ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση MIC (2 µg/ml) μετά τις πρώτες δόσεις. Αυτό ανησύχησε τους ερευνητές ιδιαίτερα για ασθενείς σε σηπτικό σοκ όπου πρέπει να λαμβάνουν επαρκή αντιμικροβιακή θεραπεία. Έτσι πρότειναν δόση εφόδου 9.000.000 μονάδες και δόση συντήρησης 4.500.000 μονάδες κάθε 12 ώρες, με στόχο να επιτευχθούν οι ίδιες κατά μέσο όρο συγκεντρώσεις κολιστίνης αλλά αρκετά πιο γρήγορα.

Η ενδοκοιλιακή και ενδορραχιαία δόση μεθανοσουλφονικής κολιστίνης είναι ίση με 125.000-250.000 μονάδες την ημέρα ενώ διά της αναπνευστικής οδού οι προτεινόμενες δόσεις είναι από 500.000 έως 2.000.000 μονάδες κάθε 12 ή 8 ώρες.

Είναι γεγονός όμως ότι σε αρκετές μελέτες καθώς και στη καθημερινή πρακτική στη μονάδα εντατικής θεραπείας, οι δόσεις που χρησιμοποιούνται είναι υψηλότερες από τις προτεινόμενες²⁹.

1.12 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΜΕ ΑΛΛΑ ΦΑΡΜΑΚΑ

Η μεθανοσουλφονική κολιστίνη όταν χορηγείται παρεντερικά μπορεί να επιτείνει το νευρομυϊκό αποκλεισμό που προκαλείται από γενικά αναισθητικά, διάφορα μυοχαλαρωτικά φάρμακα και νευρομυϊκούς αποκλειστές. Η ταυτόχρονη ή διαδοχική

παρεντερική χορήγηση της με φάρμακα που είναι νεφροτοξικά ή/και νευροτοξικά όπως οι αμινογλυκοσίδες, η αμφοτερικίνη, η κυκλοσπορίνη, η φוסκαρνέτη, τα διουρητικά της αγκύλης, η κινίνη, η κινιδίνη, η τακρολίμη και η βανκομυκίνη πρέπει να αποφεύγεται^{67,68}. Η κολιστίνη συνδυάζεται με αρκετά αντιμικροβιακά ωστόσο καλύτερη συνεργιστική δράση παρουσιάζει με τετρακυκλίνες, ενισχυμένες σουλφοναμίδες και αμοξικιλίνη. Δεν πρέπει να συνδυάζεται με κεφαλοσπορίνες. Η δράση της μειώνεται αισθητά από την παρουσία στην τροφή δισθενών κατιόντων (υψηλό ποσοστό ασβεστίου) και ακόρεστων λιπαρών οξέων. Με αλενδρονάτη και ετιδρονάτη έχει παρατηρηθεί αυξημένος κίνδυνος υποκαλσιαιμίας. Με διουρητικά αγκύλης έχει παρατηρηθεί αυξημένος κίνδυνος ωτοτοξικότητας⁶⁹.

1.13 ΧΡΗΣΗ ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ

Η συστηματική χορήγηση κολιστίνης εμφανίζεται να είναι μία ικανοποιητική θεραπευτική επιλογή στα παιδιά με gram αρνητικές λοιμώξεις χωρίς κυστική ίνωση. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μιας ανασκόπησης⁷⁰ σε σύνολο 271 παιδιών το 86,7% των παιδιών θεραπεύτηκαν, το 3,7% εμφάνισαν βελτίωση, το 2,2% χειροτέρεψαν και το 7,4 απεβίωσαν (70% των θανάτων αποδόθηκε στη λοίμωξη). Παρατηρήθηκε νεφροτοξικότητα σε ποσοστό 2,8%. Στις ανεπιθύμητες ενέργειες καταγράφηκαν η νευροτοξικότητα, η υποθερμία, η απώλεια ακοής, η ηωσινοφιλία, η λευκοκυττάρωση. Άλλη μία έρευνα έδειξε ότι η κολιστίνη έπαιξε σημαντικό ρόλο στη θεραπεία παιδιών με λοιμώξεις προκαλούμενες από gram αρνητικά βακτήρια σε παιδιά χωρίς κυστική ίνωση⁷¹. Σε σύνολο επτά παιδιών το 85,7% παρουσίασε βελτίωση ενώ δεν παρατηρήθηκε νεφροτοξικότητα ή άλλα φαινόμενα τοξικότητας. Σε μελέτη με παιδιά που έπασχαν από κυστική ίνωση και είχαν λοίμωξη με *Pseudomonas aeruginosa* συγκρίθηκαν δύο δόσεις εισπνεόμενης κολιστίνης (30mg/δύο φορές την ημέρα, 75mg/δύο φορές την ημέρα) για τρεις εβδομάδες. Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στην αποτελεσματικότητα μεταξύ των δύο δόσεων εισπνεόμενης κολιστίνης σαν μονοθεραπεία για την εκρίζωση της ψευδομονάδας⁷².

1.14 ΚΥΗΣΗ ΚΑΙ ΘΗΛΑΣΜΟΣ

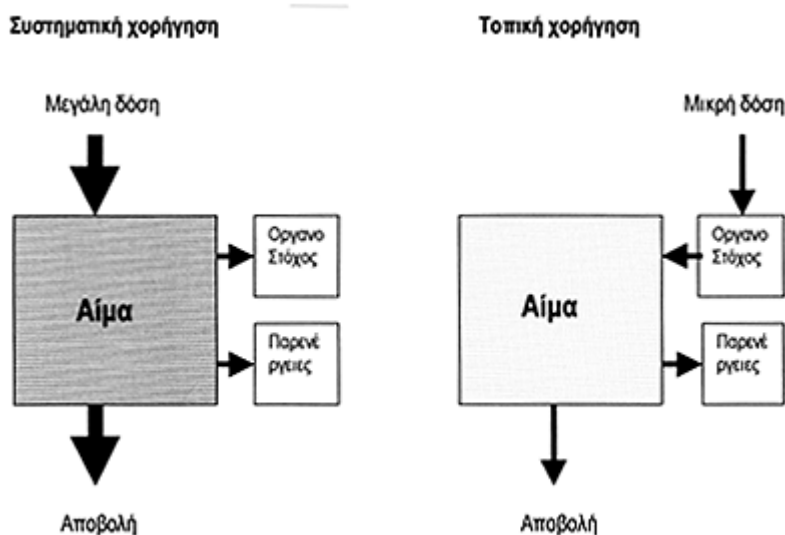
Τα στοιχεία που υπάρχουν σχετικά με τη χρήση της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης σε έγκυες γυναίκες είναι ανεπαρκή. Μελέτες με τη χορήγηση μιας δόσης του

αντιβιοτικού σε εγκύους έδειξαν ότι η μεθανοσουλφονική κολιστίνη διαπερνά το φραγμό του πλακούντα και ότι υπάρχει η πιθανότητα εμφάνισης τοξικότητας για το έμβρυο σε περίπτωση επαναλαμβανόμενης χορήγησης. Μελέτες σε ζώα για την επίδραση του φαρμάκου στην αναπαραγωγή και την ανάπτυξη είναι ελλιπείς και δεν έχουν προκύψει σαφή στοιχεία. Η χορήγηση της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης σε εγκύους πρέπει να γίνεται μόνο όταν το όφελος για τη μητέρα υπερβαίνει το δυνητικό κίνδυνο για το έμβρυο.

Τέλος επειδή η μεθανοσουλφονική κολιστίνη απεκκρίνεται στο γάλα (5% των συγκεντρώσεων του ορού καταλήγουν στο μητρικό γάλα) συνίσταται να χορηγείται σε γυναίκες που θηλάζουν μόνο όταν είναι απολύτως απαραίτητο⁶⁷.

1.15 ΕΙΣΠΝΕΟΜΕΝΗ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗ

Η διά της εισπνοής χορήγηση αυξάνει κατά πολύ τον θεραπευτικό δείκτη των φαρμάκων (επιθυμητές/ανεπιθύμητες ενέργειες), εφόσον το φάρμακο χορηγείται σε μικρή δόση, δρα τοπικά και απορροφάται ελάχιστα στη συστηματική κυκλοφορία (σχήμα 1.2).



Σχήμα 1.2: Σχηματική αναπαράσταση διαδρομής φαρμάκου στον οργανισμό

Το αερόλυμα (spray, aerosol) είναι ένα κολλοειδές διάλυμα σωματιδίων μέσα σε μια συνεχή, αέρια φάση. Η μη συνεχής, σωματιδιακή φάση του αερολύματος μπορεί να είναι σωματίδια από υγρή ή στερεά ουσία, διαφόρων μεγεθών. Ετσι, διακρίνουμε εισπνευστικές συσκευές, όπου το φάρμακο βρίσκεται με τη μορφή υγρού διαλύματος

και χορηγείται μέσω δοσιμετρικής βαλβίδας (εισπνευστικές συσκευές υπολογισμένης δόσης ή MDI: metered dose inhaler) και συσκευές όπου το φάρμακο είναι αποθηκευμένο με τη μορφή κόνης (εισπνευστικές συσκευές κόνης ή DPI: dry power inhaler). Η παραγωγή του αερολύματος επιτυγχάνεται με αρκετούς τρόπους. Το κοινό χαρακτηριστικό όλων των μεθόδων είναι ότι παράγουν σωματίδια μικρού μεγέθους ώστε να μην αναχαιτίζονται από τα ανατομικά και φυσιολογικά εμπόδια που συναντά κάθε εισπνεόμενο σωματίδιο. Το θεραπευτικό αερόλυμα χαρακτηρίζεται σαν "πολυδιεσπαρμένο", επειδή περιλαμβάνει σωματίδια διαφόρων μεγεθών. Το αερόλυμα αυτό πρέπει να διαθέτει δύο φυσικά χαρακτηριστικά: μικρό μέγεθος σωματιδίων, που εκφράζεται σαν μέση, μαζική, αεροδυναμική διάμετρος (MMAD, mass median aerodynamic diameter) και μικρό εύρος κατανομής των σωματιδιακών μεγεθών, που εκφράζεται με την κατανομή συχνότητας των σωματιδιακών, αεροδυναμικών διαμέτρων (FDAD, frequency distribution of aerodynamic diameters). Η MMAD ορίζεται σαν η διάμετρος των σωματιδίων για την οποία το ήμισυ του βάρους του εισπνεομένου νέφους περιλαμβάνεται σε σωματίδια μεγαλύτερου μεγέθους και το άλλο ήμισυ σε σωματίδια μικρότερου μεγέθους. Η αεροδυναμική διάμετρος ορίζεται σαν η διάμετρος μιας ομοιογενούς σφαίρας που κινείται με ταχύτητα ίση με αυτήν των σωματιδίων ενός συγκεκριμένου εισπνεομένου νέφους, ανεξάρτητα με το σχήμα ή την πυκνότητά τους. Το ενδιαφέρον για τη χρήση εισπνεομένων αντιβιοτικών υπό μορφή αεροζόλ στην κυστική ίνωση έχει ανανεωθεί την τελευταία δεκαετία. Τα πλεονεκτήματα της λήψης των αντιβιοτικών υπό τη μορφή αυτή περιλαμβάνουν τα εξής: α) Απευθείας εναπόθεση των φαρμάκων στην ενδοβρογχική θέση της φλεγμονής β) Μειωμένη τοξικότητα επειδή η συστηματική απορρόφηση είναι μικρή γ) Μειωμένο κόστος δ) Μικρότερη διαταραχή της ζωής των ασθενών, ειδικά σε σύγκριση με τη ενδοφλέβια χορήγηση των αντιβιοτικών. Τα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται σε εισπνοή με νεφελοποιητή είναι: αμινογλυκοσίδες (γενταμυκίνη, τοπραμυκίνη) β) Β-Λακτάμες (κεφταζιδίμη, καρβενισιλίνη), συνδυασμός αυτών και γ) πολυμυξίνες. Οι περισσότερες μελέτες που έχουν γίνει, έδειξαν βελτίωση της λειτουργίας του πνεύμονα, ή επιβράδυνση της λειτουργικής έκπτωσης και μείωση του αριθμού των εισαγωγών στο νοσοκομείο στην ομάδα ασθενών που έπαιρναν εισπνεόμενα αντιβιοτικά σε σύγκριση με placebo⁷³. Οι μελέτες αφορούν στην αποτελεσματικότητα των εισπνεομένων αντιβιοτικών κυρίως σε ασθενείς με κυστική ίνωση σε σταθερή κατάσταση (υποστηρικτική θεραπεία). Λίγες εξετάζουν το ρόλο της κολιστίνης στις παροξύνσεις⁷⁴ (θεραπεία) και άλλες στη

χρόνια λοίμωξη - αποικισμό με *P. aeruginosa*⁷⁵. Η θεραπευτική αποτελεσματικότητα της πολυμυξίνης χορηγούμενης υπό μορφή αερολύματος σαν υποστηρικτική αγωγή σε ασθενή με κυστική ίνωση, έχει εκτιμηθεί σε λίγες μελέτες. Σε μία⁷⁶ έδειξε μείωση της συχνότητας απομόνωσης ψευδομονάδας στα πτύελα ασθενών με κυστική ίνωση, που έλαβαν 500.000 U πολυμυξίνης δύο φορές ημερησίως και σε μία άλλη⁷⁷ επιβράδυνση του ρυθμού μείωσης της FVC (δυναμική ζωτική χωρητικότητα) σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Σε *P. aeruginosa* με πολλαπλή ανθεκτικότητα φαίνεται ότι η θεραπεία με κολιστίνη δεν προσφέρει⁷⁸. Η μέση FEV₁ (δυναμικά εκπνεόμενος όγκος) δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των ομάδων ασθενών που πήραν ή δεν πήραν θεραπεία, αλλά αυτοί που πήραν το φάρμακο εμφάνισαν πιο γρήγορα ευαίσθητους μικροοργανισμούς⁷⁸. Έχει επίσης παρατηρηθεί ότι το διάλυμα κολιστίνης που είναι σήμερα διαθέσιμο προκαλεί βρογχόσπασμο σ' ένα σημαντικό αριθμό ασθενών με κυστική ίνωση^{75,76}. Σε μελέτη⁷⁹ με χοιρίδια που έπασχαν από λοίμωξη με *Pseudomonas aeruginosa* συγκρίθηκε η ενδοφλέβια χορήγηση και η εισπνεόμενη χορήγηση. Στον πνευμονικό ιστό δεν ανιχνεύτηκε κολιστίνη μετά από ενδοφλέβια χορήγηση ενώ βρέθηκε ικανοποιητική συγκέντρωση κολιστίνης μετά από την χορήγηση αερολύματος και μάλιστα υψηλότερη συγκέντρωση στις περιοχές του πνεύμονα με μέση πνευμονία και χαμηλότερη σε αυτές με σοβαρή πνευμονία. Σε μελέτη⁸⁰ ασθενών με πνευμονία του αναπνευστήρα οφειλόμενη σε *Acinetobacter* και/ή *Pseudomonas aeruginosa*, εκτός από τη συστηματική αντιβιοτική αγωγή στους μισούς ασθενείς χορηγήθηκε και εισπνεόμενη κολιστίνη, η οποία έδειξε να είναι ασφαλής (βρογχόσπασμος 7,8% vs 2,0% ομάδα ελέγχου, νεφρική βλάβη 25,5% vs 22,4% ομάδα ελέγχου). Ωστόσο ένα ωφέλιμο κλινικό αποτέλεσμα της επιπρόσθετης χορήγησης εισπνεόμενης κολιστίνης δεν μπορεί να επιβεβαιωθεί. Σε άλλη μελέτη⁸¹ ασθενών με λοίμωξη από πολυανθεκτική ψευδομονάδα ο θεραπευτικός συνδυασμός ενδοφλέβιας και εισπνεόμενης κολιστίνης έδειξε να είναι ασφαλής επιλογή με αποδεκτό κλινικό αποτέλεσμα. Ωστόσο πλήρης βακτηριακή εκρίζωση είναι δύσκολο να επιτευχθεί σε ασθενείς με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια⁸¹. Επιπλέον η προφυλακτική χρήση της πολυμυξίνης στην προφύλαξη από πνευμονία με Gram αρνητικά βακτήρια, μπορεί να οδηγήσει σε ανάπτυξη ανθεκτικών στο φάρμακο στελεχών όπως *Burkholderia cepacia* και *Serratia marcescens*⁸¹. Σε μελέτη⁸² ασθενών που έλαβαν ενδοφλέβια και εισπνεόμενη κολιστίνη για πολυανθεκτική ψευδομονάδα η κλινική απόκριση ήταν η επιθυμητή αλλά η χρήση της ενδοφλέβιας κολιστίνης συνδέθηκε με πρόκληση μέσης νεφροτοξικότητας στα δύο τρίτα των

ασθενών. Σε πρόσφατη μελέτη⁸³ έγινε σύγκριση συνδυαστικής εισπνεόμενης και ενδοφλέβιας χορήγησης (43 ασθενείς) με μόνο ενδοφλέβια χορήγηση (43 ασθενείς) προκειμένου να αντιμετωπιστεί πνευμονία από αναπνευστήρα (*Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*). Δεν παρατηρήθηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες. Η εισπνεόμενη κολιστίνη δεν παρείχε επιπλέον της ενδοφλέβιας χορήγησης θεραπευτικό αποτέλεσμα. Σε άλλη μελέτη με ασθενείς με πνευμονία από πολυανθεκτικό *Acinetobacter* και *Pseudomonas* που χορηγήθηκε εισπνεόμενη κολιστίνη η κλινική και μικροβιολογική απόκριση ήταν 57,1% και 85,7% αντίστοιχα⁸⁴. Για λοιμώξεις από *Acinetobacter* το αντιβιοτικό εκλογής⁸⁵ είναι οι καρβαπενέμες αλλά η εισπνεόμενη κολιστίνη σε συνδυασμό με ενδοφλέβια χορήγηση γίνεται το αντιβιοτικό εκλογής όταν υπάρχει ανθεκτικότητα στις καρβαπενέμες.

2. ΜΟΝΑΔΑ ΕΝΤΑΤΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ (ΜΕΘ)

2.1 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΜΟΝΑΔΑΣ ΕΝΤΑΤΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Η Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ) αποτελεί ανεξάρτητο τμήμα ιατρικής και νοσηλευτικής δραστηριότητας, όπου ασκείται η Εντατική Θεραπεία. Η Ιατρική Εντατικής Θεραπείας υποστηρίζει τις ζωτικές λειτουργίες του ασθενούς ανεξάρτητα από την πρωτοπαθή νόσο με στόχο την αποκατάσταση της πρωτοπαθούς διαταραχής και τη βελτίωση των ζωτικών λειτουργιών.



2.2 ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΣΤΗ ΜΟΝΑΔΑ ΕΝΤΑΤΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Περισσότερο από 20% των ασθενών που εισάγονται στη ΜΕΘ αναπτύσσουν λοιμώξεις της ΜΕΘ⁸⁶. Έχει αναφερθεί 5-10 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα ανάπτυξης ενδονοσοκομειακής λοίμωξης συγκριτικά με τους ασθενείς που εισάγονται στα υπόλοιπα τμήματα του νοσοκομείου^{86,87}. Σημειώνεται ότι σε ποσοστό 50% οι λοιμώξεις αυτές οφείλονται σε πολυανθεκτικά παθογόνα⁸⁶. Οι λοιμώξεις αυτές σχετίζονται με αυξημένη θνητότητα, με αυξημένο χρόνο μηχανικής υποστήριξης και παραμονής στη ΜΕΘ, με αυξημένη ενδονοσοκομειακή νοσηλεία, με αυξημένο κόστος νοσηλείας. Μία μελέτη⁸⁸ σε 5 ευρωπαϊκές πόλεις στις ΜΕΘ (18 νοσοκομεία

στο Βέλγιο, 40 στη Γαλλία, 20 στη Πορτογαλία, 30 στην Ισπανία και 10 στη Σουηδία) έδειξε ότι τα συχνότερα gram αρνητικά βακτήρια ήταν τα *Enterobacter species* 59% και η *Pseudomonas aeruginosa* 24% και οι συχνότερες εστίες: Αναπνευστικό σύστημα 42%, ουροποιητικό σύστημα 26%, αιμοποιητικό 14%, κοιλία 11%. Σύμφωνα με τα στοιχεία του *National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS)* από το 1986 έως 2003 προκύπτει ότι τα Gram(-) αερόβια ήταν τα πιο συχνά (65,9%) στην πνευμονία της ΜΕΘ το 2003. Επίσης η ανεύρεση του *A. Baumannii* ήταν σημαντικά συχνότερη το 2003 συγκριτικά με το χρόνο έναρξης της μελέτης το 1986. Τα Gram(-) είναι τα πιο συχνά παθογόνα στις ουρολοιμώξεις της ΜΕΘ. Στις χειρουργικές λοιμώξεις της ΜΕΘ η συχνότητα του *E.coli* και του *Enterobacter* μειώθηκε και αυξήθηκε η συχνότητα των στελεχών *Acinetobacter* (2,1%)⁸⁶. Στις πρωτοπαθείς βακτηριαμίες, τα gram θετικά ήταν τα παθογόνα που ανευρέθησαν συχνότερα⁸⁷. Στις ΜΕΘ υπάρχει συχνά το πρόβλημα της ανάπτυξης αντοχής που μπορεί να είναι εγγενής ή επίκτητη. Γενικά οι ασθενείς της ΜΕΘ είναι ασθενείς με αρκετές ιδιαιτερότητες. Παρουσιάζουν μεγάλο όγκο κατανομής, μειωμένα επίπεδα λευκωματινών του πλάσματος, διαταραχές του μεταβολισμού, υποάρδευση και δυσλειτουργία οργάνων. Οι γενικές αρχές αντιμικροβιακής αγωγής στη ΜΕΘ είναι: Μελέτη αρχών φαρμακοκινητικής-φαρμακοδυναμικής, εφαρμογή μέγιστης δοσολογίας, εφαρμογή εμπειρικής αγωγής και στρατηγικής αποκλιμάκωσης, επιλογή της μονοθεραπείας ή της συνδυασμένης αγωγής κατά περίπτωση και επιλογή της καταλληλότερης διάρκειας αγωγής.

2.3 ΧΡΗΣΗ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ ΣΤΗ ΜΟΝΑΔΑ ΕΝΤΑΤΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Τα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται συνήθως για την αντιμετώπιση των λοιμώξεων στη μονάδα εντατικής θεραπείας είναι οι καρβαπενέμες όπου περιλαμβάνονται η ιμιπενέμη που παρουσιάζει ισχυρό Post Antibiotic Effect (PAE) και δεν καλύπτει τα *Pseudomonas cepacia* και *Stenotrophomonas maltophilia*, η μεροπενέμη που υπερτερεί της ιμιπενέμης διότι παρουσιάζει γρήγορη είσοδο διαμέσου του κυτταρικού τοιχώματος και η ερταπενέμη της οποίας η δράση προσομοιάζεται μ' αυτή της μεροπενέμης για τα εντεροβακτηριοειδή, ενώ δεν έχει καμία δράση έναντι της *P. aeruginosa* και του *Acinetobacter sp.* Ο ρόλος τους στη ΜΕΘ έγκειται κυρίως στην πνευμονία του αναπνευστήρα όψιμης έναρξης, σε ασθενείς με προηγούμενη ενδονοσοκομειακή νοσηλεία ή με πρόσφατη χρήση

αντιβιοτικών και στις λοιμώξεις του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ) με φάρμακο εκλογής τη μεροπενέμη⁸⁹. Επίσης χρησιμοποιούνται οι μονομπακτάμες (αζτρεονάμη). Η αζτρεονάμη δεν έχει δράση έναντι των gram θετικών ή των αναερόβιων βακτηρίων και είναι γενικά σταθερή στη παρουσία των β-λακταμασών εκτός των πλασμιδιακών ευρέος φάσματος β-λακταμασών (ESBLs). Γενικά η χρήση της στη ΜΕΘ είναι περιορισμένη ενώ ουσιαστική ένδειξη της είναι σε ασθενείς που έχουν παρουσιάσει αλλεργία στα β-λακταμικά αντιβιοτικά. Στη συνέχεια έχουμε τους αναστολείς β-λακταμασών όπου είναι β-λακταμικά σύμπλοκα με ασθενή αντιβακτηριδιακή δράση που διευρύνουν το φάσμα δράσης των β-λακταμικών και παρουσιάζουν εξαιρετική δράση έναντι των αναερόβιων, καλή in vitro δράση εναντίον του *Acinetobacter Iwoffii* (περίπου 15% είναι ανθεκτικά), αλλά είναι λιγότερο αποτελεσματικά έναντι του *Acinetobacter baumannii* (20-30% είναι ανθεκτικά στη πιπερακιλλίνη-ταζομπακτάμη)⁹⁰. Η αμπικιλίνη-σουλμπακτάμη είναι δραστική έναντι στελεχών *Acinetobacter baumannii*. Η πιπερακιλλίνη-ταζομπακτάμη είναι αποτελεσματικές στις ενδοκοιλιακές λοιμώξεις, στις λοιμώξεις της πυέλου, στις επιπλεγμένες λοιμώξεις δέρματος και μαλακών μορίων και στην όψιμη πνευμονία του αναπνευστήρα. Επίσης πρέπει να χορηγείται στη μέγιστη δοσολογία ανά 6ωρο ή και ανά 4ωρο όταν πρόκειται για ψευδομοναδική λοίμωξη⁹¹. Στη συνέχεια σημαντικές στις λοιμώξεις είναι οι γ' γενεάς κεφαλοσπορίνες. Η κεφτριαξόνη και κεφοταξίμη στις λοιμώξεις της ΜΕΘ χρησιμοποιούνται στη πρόιμη πνευμονία σε ασθενείς χωρίς παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη πολυανθεκτικών στελεχών καθώς και η κεφταξιδίμη στη όψιμη πνευμονία ή όταν υπάρχουν παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης πολυανθεκτικών ή υποψία λοίμωξης από *P.aeruginosa*⁹². Κατόπιν υπάρχουν οι δ' γενεάς – κεφαλοσπορίνες – όπως η κεφεπίμη όπου παρουσιάζουν αντίσταση στην υδρόλυση από τις β-λακταμάσες πολλών gram αρνητικών βακτηρίων. Έχουν ένδειξη στις μη επιπλεγμένες και επιπλεγμένες ουρολοιμώξεις, στις μη επιπλεγμένες λοιμώξεις δέρματος και μαλακών μορίων, στις ενδοκοιλιακές λοιμώξεις, στις γυναικολογικές λοιμώξεις, στην εμπύρετη ουδετεροπενία, στις ενδονοσοκομειακές λοιμώξεις όπου η *Pseudomonas* και τα *Enterobacteriaceae* έχουν κύρια θέση ενώ κατά τη διάρκεια της θεραπείας μπορεί εύκολα να αναπτυχθεί αντοχή⁹³. Μία άλλη κατηγορία αντιβιοτικών στη ΜΕΘ είναι οι αμινογλυκοσίδες. Οι αμινογλυκοσίδες είναι ακατάλληλοι σαν μονοθεραπεία σε λοιμώξεις από gram αρνητικά εκτός του ουροποιητικού συστήματος. Παρουσιάζουν συνέργεια και όχι διεύρυνση αντιβιοτικού φάσματος^{94,95}. Η ριφαμικίνη έχει ενδοκυττάρια αντιβακτηριακή δράση⁹⁶. Οι

κινολόνες εμφανίζουν ανάπτυξη αντοχής - πλασμιδιακή αντοχή. Στο περιβάλλον της ΜΕΘ η χρήση των κινολονών φαίνεται περιορισμένη λόγω της ανάπτυξης πολυανθεκτικών στελεχών. Η σιπροφλοξασίνη χρησιμοποιείται συνδυαστικά έναντι της ψευδομονάδας στη θέση των αμινογλυκοσιδών στη νοσοκομειακή πνευμονία ή στην όψιμη έναρξη της πνευμονίας του αναπνευστήρα. Οι αναπνευστικές κινολόνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν εναλλακτικά αντί των μακρολιδών για την άτυπη πνευμονία από *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Legionella*. Επίσης οι κινολόνες έχουν ένδειξη στις περιπτώσεις αλλεργικής αντίδρασης στις πενικιλίνες και στα β-λακταμικά. Οι γλυκυλκυκλίνες (glycylcyclines) ανακαλύφθηκαν το 1993. Είναι ημισυνθετικά παράγωγα των τετρακυκλινών. Η πρώτη γλυκυλκυκλίνη έλαβε άδεια χρήσης από το FDA των ΗΠΑ τον Ιούνιο 2005. Είναι δραστική: έναντι των θετικών ή αρνητικών στην κοαγκουλάση σταφυλοκόκκων ακόμα και των ανθεκτικών στη μεθικιλίνη ή στα γλυκοπεπτίδια στελεχών (*MRSA:Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus*, *GISA:Glycopeptide Intermediate Staphylococcus Aureus*, *VISA:Vancomycin Intermediate Staphylococcus Aureus*), των πνευμονιοκόκκων (ακόμη και των ανθεκτικών στη πενικιλίνη ή τις μακρολίδες), των β-αιμολυτικών και πρασινιζόντων στρεπτοκόκκων, των εντεροκόκκων (και *VRE:Vancomycin Resistant Enterococcus*)⁹⁷. Ειδικότερα στη ΜΕΘ σε λοιμώξεις του χειρουργικού τραύματος, ιδίως από *MRSA* και εντεροβακτηριακά, σε λοιμώξεις από πολυανθεκτικά παθογόνα (*MRSA*, *VISA* ή *GISA*, *VRE*, εντεροβακτηριακά που παράγουν ESBLs: extended spectrum beta-lactamases), σε λοιμώξεις από πολυανθεκτικά στελέχη *Acinetobacter baumannii* και σε περιπτώσεις αλλεργίας στις β-λακτάμες με περιορισμένες θεραπευτικές επιλογές⁹⁷. Τέλος οι πολυμιξίνες όπου ανήκει η κολιστίνη για την οποία εκπονήθηκε η παρούσα εργασία ανακαλύφθηκαν το 1947⁹⁸. Ο ρόλος των πολυμιξινών στις λοιμώξεις της ΜΕΘ από πολυανθεκτικά gram αρνητικά είναι καθημερινός⁹⁹. Η πολυμιξίνη Β έχει χρησιμοποιηθεί μαζί με ριφαμπικίνη στη θεραπεία λοιμώξεων από *S. Marcesens* και *P. Cepacia*¹⁰⁰.

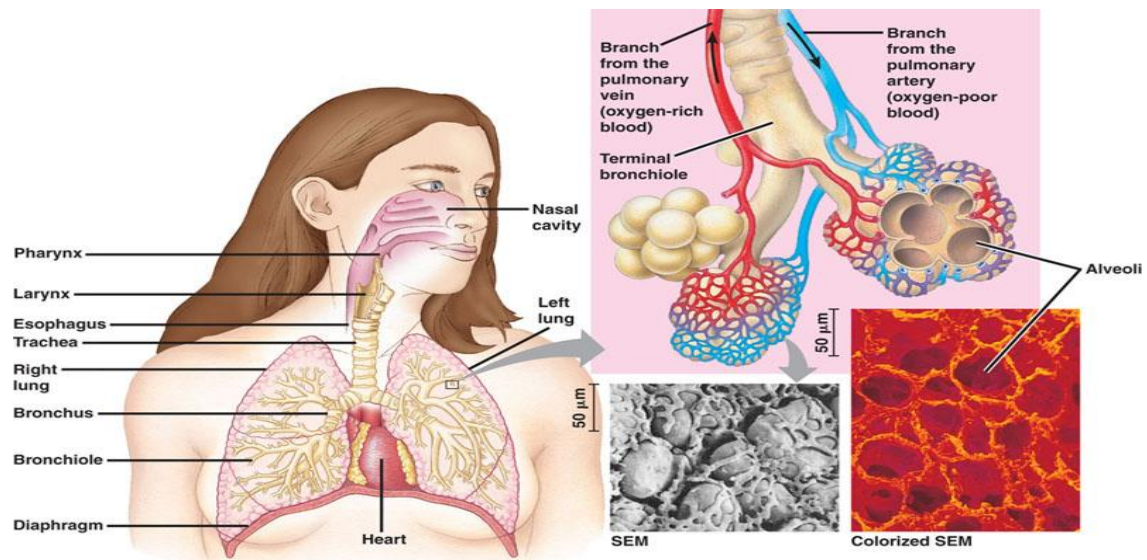
2.4 ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟΥ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΟΝΑΔΑΣ ΕΝΤΑΤΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

2.4.1 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΠΝΕΥΜΟΝΩΝ-ΑΕΡΟΦΟΡΟΙ ΟΔΟΙ

Η λειτουργία του αναπνευστικού συστήματος είναι η παραλαβή του αίματος που εξέρχεται από τη δεξιά κοιλία της καρδιάς, η μείωση της περιεκτικότητας του σε διοξείδιο του άνθρακα και η επαναφορά επαρκώς οξυγονωμένου αίματος στον αριστερό κόλπο. Για να είναι εφικτή η γρήγορη και αποτελεσματική ανταλλαγή αερίων και η διακίνηση επαρκών ποσοτήτων αίματος απαιτείται επιφάνεια με αρκετά μεγάλο εμβαδόν.

Η διαδρομή που διανύει ο εξωτερικός αέρας είναι περίπλοκη (εικόνα 2.1). Ο εισπνεόμενος αέρας διέρχεται από τη μύτη και το φάρυγγα όπου απαλάσσεται από σωματίδια διαμέτρου μεγαλύτερης από 10μ. Στη συνέχεια ο αέρας διέρχεται από το λάρυγγα και εισέρχεται στην τραχεία, έναν σωλήνα μήκους 10-12 cm. Από την τραχεία οι αεροφόροι οδοί διακλαδίζονται στους δύο κυρίους βρόγχους (δεξιό και αριστερό) και από εκεί σε ολόένα και μικρότερης διαμέτρου βρόγχους καταλήγοντας στα τελικά βρογχιόλια σχηματίζοντας μια τεράστια επιφάνεια με διατομή η οποία αυξάνεται από τα 2,5 cm² στην τραχεία σε περίπου 900 cm² στα τελικά βρογχιόλια. Κατόπιν υπάρχουν τρεις διακλαδώσεις αναπνευστικών βρογχολίων, στα τοιχώματα των οποίων αυξάνει διαρκώς η αναλογία των κυψελίδων, που καταλήγουν στους κυψελωτούς πόρους και στις κοιλότητες των κυψελίδων (αεροθυλάκια).

Το σύνολο των κυψελιδοτριχοειδικών μεμβρανών μέσω των οποίων επιτελείται η ανταλλαγή αερίων μεταξύ του κυψελιδικού αέρα και του αίματος των τριχοειδών είναι γνωστό ως αναπνευστική μεμβράνη. Τα βασικά δομικά και λειτουργικά στοιχεία της αναπνευστικής μεμβράνης αποτελούνται από: α) τη στοιβάδα υγρού που επαλείφει την κυψελίδα, β) το κυψελιδικό επιθήλιο, γ) τη βασική επιθηλιακή μεμβράνη, δ) έναν πολύ λεπτό μεσοκυττάριο χώρο μεταξύ του κυψελιδικού επιθηλίου και της τριχοειδικής μεμβράνης, ε) τη βασική τριχοειδική μεμβράνη, στ) το τριχοειδικό ενδοθήλιο.



Εικόνα 2.1: Αεροφόροι οδοί (αριστερά) και οι υποδιαίρέσεις τους ([http://kvhs.nbed.nb.ca/gallant/biology/mamalian respiratory system](http://kvhs.nbed.nb.ca/gallant/biology/mamalian%20respiratory%20system))

2.4.2 ΠΝΕΥΜΟΝΙΑ- ΕΝΔΟΝΟΣΟΚΟΜΙΑΚΗ ΠΝΕΥΜΟΝΙΑ

Η πνευμονία ευθύνεται για το 10% των εισαγωγών ενηλίκων στα νοσοκομεία και είναι μια από τις κύριες αιτίες θανάτου μεταξύ ατόμων παραγωγικής ηλικίας¹⁰¹. Προκαλείται από όλα τα είδη των μικροοργανισμών: ιοί, γλαμύδια, ρικέτσιες, μυκοπλάσματα, βακτήρια, πρωτόζωα και παράσιτα. Οι μικροοργανισμοί μπορούν να φτάσουν στους πνεύμονες και να προκαλέσουν λοίμωξη με αιματογενή διασπορά ή με επέκταση από γειτονική λοιμώδη εστία ή με την εισπνοή μολυσμένων σταγονιδίων ή τις περισσότερες φορές με την εισρόφιση στοματοφαρυγγικών εκκρινμάτων. Οι περισσότεροι ασθενείς με πνευμονία παρουσιάζουν βήχα, πυρετό, ταχύπνοια και ταχυκαρδία, ενώ πυρετός χωρίς ταυτόχρονη αύξηση του αριθμού των σφύξεων είναι δυνατό να παρατηρηθεί στη λεγιονέλλωση, σε λοιμώξεις από μυκόπλασμα και σε άλλες «μη μικροβιακές» πνευμονίες. Η ταχύπνοια, η κυάνωση και η χρησιμοποίηση των επικουρικών αναπνευστικών μυών είναι ενδείξεις σοβαρής λοίμωξης, ενώ η δύσοσμη αναπνοή αποτελεί ένδειξη λοίμωξης από αναερόβια μικρόβια. Η διανοητική σύγχυση του ασθενούς με πνευμονία οδηγεί στη δημιουργία υπόνοιας προσβολής των μηνίγγων, κάτι που παρατηρείται συχνότερα στην πνευμονιοκοκκική πνευμονία. Στα ηλικιωμένα, μάλιστα, άτομα η σύγχυση μπορεί να είναι το πιο έντονο κλινικό γνώρισμα της πνευμονίας χωρίς να υπάρχει μηνιγγίτιδα. Παρόλα αυτά, η παρουσία διανοητικής σύγχυσης σε ασθενή με πνευμονία επιβάλλει

την εξέταση και του εγκεφαλονωτιαίου υγρού. Τα κλινικά σημεία πύκνωσης (επικρουστική αμβλύτητα, βρογχική αναπνοή, ρόγχοι, αύξηση των φωνητικών δονήσεων) αποτελούν ενδείξεις μικροβιακής πνευμονίας, αν και στην αρχική φάση της πνευμονίας, η κλινική εξέταση μπορεί να είναι αρνητική.

Σύμφωνα με μια μελέτη 181.993 ασθενών της μονάδας εντατικής θεραπείας, η πνευμονία μαζί με τη βακτηραιμία αποτελούν (μετά τις λοιμώξεις του ουροποιητικού) τις δύο συχνότερες εμφανιζόμενες ενδονοσοκομειακές λοιμώξεις (27% και 19% αντίστοιχα)¹⁰², επιδεικνύοντας παράλληλα ένα ιδιαίτερα υψηλό ποσοστό θνητότητας (μέχρι και 40% στις ΜΕΘ)¹⁰³. Παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη ενδονοσοκομειακής πνευμονίας θεωρούνται οι ακραίες ηλικιακές ομάδες, οι χρόνιες παθήσεις των πνευμόνων, προηγούμενη χειρουργική επέμβαση θώρακος, ενδοτραχειακή διασωλήνωση και η χρονική διάρκεια του μηχανικού αερισμού¹⁰⁴. Ο μηχανικός αερισμός στον οποίο υποβάλλονται οι διασωληνωμένοι ασθενείς στις ΜΕΘ έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει τον κίνδυνο νοσοκομειακής πνευμονίας κατά 3-10 φορές¹⁰⁵ ενώ σύμφωνα με άλλη μελέτη η επίπτωση της νοσοκομειακής πνευμονίας στους μηχανικά αεριζόμενους ασθενείς κυμαίνεται πολύ υψηλά (9-68%) με ποσοστά θνησιμότητας από 33 έως 71%¹⁰⁶.

Αν και μερικές ενδονοσοκομειακές πνευμονίες είναι δυνατό να οφείλονται σε αιματογενή διασπορά μικροβίων, οι περισσότερες είναι συνέπεια εισρόφησης παθογόνων μικροοργανισμών από τις ανώτερες αναπνευστικές οδούς ή τον τραχειοσωλήνα, ο οποίος σε πολύ σύντομο χρόνο από την εισαγωγή του ασθενούς στο νοσοκομείο αποικίζεται από gram(-) βακτηρίδια και πολλές φορές από σταφυλόκοκκους. Στον αποικισμό αυτό προδιαθέτουν η χορήγηση αντιμικροβιακών φαρμάκων ευρέος φάσματος, οι βαριές παθήσεις (π.χ πνευμονοπάθειες), η διασωλήνωση των αναπνευστικών οδών, η προχωρημένη ηλικία και η παρατεταμένη νοσηλεία του ασθενούς. Η τραχεία και οι μεγάλοι βρόγχοι όλων, πρακτικά, των διασωληνωμένων ασθενών της ΜΕΘ αποικίζονται μέσα στις πρώτες 48 ώρες από τους επικρατούντες (ανθεκτικούς συνήθως) μικροοργανισμούς της μονάδας, γεγονός που μπορεί να εξελιχθεί σε σχετικά απλές λοιμώξεις όπως παραρρινοκολπίτιδα, πυώδη βρογχίτιδα μέχρι σοβαρές λομώξεις όπως η νοσοκομειακή πνευμονία σχετιζόμενη με το μηχανικό αερισμό (ventilator-associated pneumonia, VAP). Η VAP διακρίνεται σε πρόιμη (early-onset pneumonia) και όψιμη (late-onset pneumonia) ανάλογα με το αν εμφανιστεί σε χρόνο μικρότερο των 4 ημερών (κυρίως λόγω εισρόφησης κατά τη φάση της διασωλήνωσης) ή μεγαλύτερο των 5 ημερών από

την έναρξη του μηχανικού αερισμού αντίστοιχα¹⁰⁵. Στις καλλιέργειες που προέρχονται από την πρόιμη πνευμονία συνήθως ανιχνεύονται ευαίσθητοι στα αντιβιοτικά μικροοργανισμοί π.χ ευαίσθητος στη μεθικυλλίνη *Staph. Aureus* (MSSA), *Haemophilus influenzae*, *S. Pneumoniae* και *Moraxella catarrhalis*. Αντίθετα στην όψιμη πνευμονία συχνά εμπλέκονται ανθεκτικοί μικροοργανισμοί π.χ ανθεκτικός στη μεθικυλλίνη *Staph. Aureus* (MRSA), *Ps. Aeruginosa*, *Acinetobacter spp* και *Enterobacter spp*¹⁰⁷. Αρκετοί είναι οι παράγοντες κινδύνου που έχουν κατά καιρούς αναφερθεί για την ανάπτυξη VAP στους χώρους των ΜΕΘ όπως, η ύπαρξη του ενδοτραχειακού σωλήνα, η διαδικασία της επαναδιασωλήνωσης, η δημιουργία αλκαλικού γαστρικού pH^{108,109}. Κάποιες επιδημίες ενδονοσοκομειακής πνευμονίας είναι υπεύθυνες για τη μόλυνση των σωλήνων, των κυκλωμάτων των αναπνευστήρων και των ανταλλακτών θερμότητας-υγρασίας (HME)¹¹⁰.

Για τον περιορισμό της συχνότητας εμφάνισης της VAP και των κινδύνων λόγω εισρόφησης του στοματογαστρικού περιεχομένου στο τραχειοβρογχικό δέντρο του ασθενούς έχει προταθεί η ημικαθιστή θέση (το κεφάλι του ασθενούς ανυψωμένο κατά 45° σε σχέση με το σώμα), η οποία φαίνεται να μειώνει σημαντικά τον όγκο των εισροφούμενων εκκρίσεων σε σχέση με την ύπτια θέση^{111,112,113}. Οι ασθενείς με ενδονοσοκομειακή πνευμονία πρέπει επίσης να υποβάλλονται σε αναπνευστική φυσικοθεραπεία με επίκρουση, παροχέυτευση και υποβοήθηση του βήχα (όταν αυτό είναι εφικτό), με σκοπό την προαγωγή της αποβολής των εκκριμάτων. Τέλος, δεδομένου ότι η χρονική διάρκεια του μηχανικού αερισμού είναι άμεσα συνδεδεμένη με τον κίνδυνο εμφάνισης VAP, πρωταρχικό μέλημα αποτελεί η συνεχής προσπάθεια για σταδιακή απεξάρτηση και τελική αποσύνδεση του ασθενούς από το μηχανικό αναπνευστήρα (weaning) βάσει συγκεκριμένων στρατηγικών και κατευθυντήριων οδηγιών^{114,115}.

Λόγω της υψηλής θνητότητας της ενδονοσοκομειακής πνευμονίας η άμεση έναρξη εμπειρικής αντιμικροβιακής αγωγής με βάση κατάλληλα επιλεγμένα αντιμικροβιακά φάρμακα θεωρείται μείζονος σημασίας για την περαιτέρω εξέλιξη και τελική έκβαση της νόσου^{116,117}. Στη συνέχεια με βάση τα αποτελέσματα των καλλιέργειών από τα πτύελα, την ενδοτραχειακή αναρρόφηση η ακόμη και τη βρογχοσκόπηση, η αντιμικροβιακή αγωγή μπορεί να τροποποιηθεί περαιτέρω αναλόγως του είδους του απομονωθέντος παθογόνου μικροβιακού στελέχους. Ιδιαίτερα οι ασθενείς με νοσοκομειακή πνευμονία σχετιζόμενη με το μηχανικό αερισμό (VAP), οι οποίοι αντιμετωπίστηκαν από νωρίς με κατάλληλη αντιμικροβιακή αγωγή πριν την

ολοκλήρωση των επεμβατικών διαγνωστικών τεχνικών (π.χ βρογχοσκόπης με βρογχοκυψελιδική έκπλυση), επέδειξαν τα χαμηλότερα ποσοστά θνητότητας, ασχέτως εάν η νοσοκομειακή πνευμονία επιβεβαιώθηκε στη συνέχεια και από τα μικροβιολογικά δεδομένα¹¹⁸.

2.4.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΩΝ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΟ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΟ ΚΥΨΕΛΙΔΙΚΟ ΥΓΡΟ (ALF) - ΒΡΟΓΧΟΣΚΟΠΗΣΗ

Πολύ συχνά η κλινική διάγνωση της νοσοκομειακής πνευμονίας στο χώρο της ΜΕΘ τίθεται με βάση τα κλασσικά διαγνωστικά κριτήρια δηλαδή ένα νεό ακτινολογικό εύρημα (πύκνωση), πυρετική κίνηση, λευκοκυττάρωση, αυξημένες και πυώδεις βρογχικές εκκρίσεις με ή χωρίς την απομόνωση παθογόνων μικροοργανισμών από τις ενδοτραχειακές αναρροφήσεις¹¹⁹. Η καθαρά κλινική αυτή προσέγγιση μπορεί να οδηγήσει σε υπερεκτίμηση της επίπτωσης της νοσοκομειακής πνευμονίας σχετιζόμενης με το μηχανικό αερισμό (VAP) δεδομένου ότι συμπεριλαμβάνει και τις περιπτώσεις απλού τραχειοβρογχικού αποικισμού καθώς και άλλων μη φλεγμονώδων διεργασιών που μιμούνται την πνευμονία. Η υπερεκτίμηση αυτή έχει σημαντικές επιπτώσεις στους ασθενείς δεδομένου ότι πολλοί από αυτούς ενδέχεται να λάβουν χωρίς πραγματικό λόγο κάποια αντιμικροβιακή αγωγή, εκθέτοντας τους σε αυξημένο κίνδυνο ανεπιθύμητων ενεργειών, αυξημένο κόστος θεραπείας καθώς και στην ανάπτυξη ανθεκτικών μικροοργανισμών. Για το λόγο αυτό, πολλοί ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι επεμβατικές διαγνωστικές μέθοδοι (π.χ βρογχοσκόπηση με βρογχοκυψελιδική έκπλυση), που επιτρέπουν την ποιοτική αλλά και ποσοτική καλλιέργεια δειγμάτων από τον χώρο της πνευμονικής λοίμωξης, βελτιώνουν την αναγνώριση και ταυτοποίηση ασθενών με πραγματική νοσοκομειακή σχετιζόμενη με μηχανικό αερισμό πνευμονία (VAP) καθώς και την επιλογή των κατάλληλων αντιμικροβιακών φαρμάκων^{120,121,122}. Επιπροσθέτως, όπως φαίνεται και από το συμπέρασμα μιας μεγάλης τυχαιοποιημένης πολυκεντρικής μελέτης, η υιοθέτηση της επεμβατικής στρατηγικής με τη χρήση ινοπτικής βρογχοσκόπησης σε σχέση με την κλασσική διαγνωστική προσέγγιση της νοσοκομειακής πνευμονίας σχετιζόμενη με το μηχανικό αερισμό (VAP), μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένα ποσοστά επιβίωσης καθώς και σε μείωση της χρήσης αντιμικροβιακών φαρμάκων¹²³.

Το ινοπτικό βρογχοσκόπιο (FOB) αποτελείται από έναν εύκαμπτο σωλήνα διαμέτρου 1-6 mm (εικόνα 2.2) τον οποίο διατρέχουν οπτικές ίνες προσδίδοντας του ικανότητα ισχυρού φωτισμού από τη μια άκρη του και δυνατότητα οπτικής διόπτρευσης από την άλλη. Το βρογχοσκόπιο εισάγεται μέσω του στόματος (ή απευθείας μέσω της τραχειοστομίας σε τραχειοτομημένους ασθενείς της ΜΕΘ, εικόνα 2.3) και φτάνει με τους κατάλληλους χειρισμούς μέσω της τραχείας στους πρώτους μεγάλους βρόγχους, συνήθως στο μέσο δεξιό λοβό (εικόνα 2.4). Από τα διάφορα σημεία των βρόγχων μπορεί να γίνει αναρρόφηση υγρών και εκκρίσεων για καλλιέργεια ή και μικρών τμημάτων ιστών για βιοψία του πνευμονικού παρεγχύματος ενώ με την τεχνική της βρογχοκυψελιδικής έκπλυσης (bronchoalveolar lavage-BAL) είναι δυνατή η τοπική έκπλυση περιοχών του πνεύμονα και η συλλογή υλικού για κυτταρολογική εξέταση και καλλιέργεια (υγρή βιοψία). Τέλος στο λαμβανόμενο βρογχοκυψελιδικό υγρό μπορούν να γίνουν διάφοροι χρήσιμοι προσδιορισμοί όπως είναι ο προσδιορισμός των επιπέδων αντιβιοτικών προκειμένου να καθοριστεί ο βαθμός διείσδυσης τους στο πνευμονικό παρέγχυμα και κατά συνέπεια η αποτελεσματικότητά τους σε βαριές πνευμονικές λοιμώξεις. Οι συγκεντρώσεις των αντιβιοτικών στον κατεξοχήν ανατομικό χώρο όπου λαμβάνει χώρα η πνευμονική φλεγμονή δηλ. οι κυψελίδες και το περιβάλλον κυψελιδικό υγρό (alveolar epithelial lining fluid – ALF) έχουν ιδιαίτερη σημασία για την ταχύτερη και αρτιότερη αντιμετώπιση κατεσταλμένων και μηχανικά αεριζόμενων ασθενών με πνευμονία στο χώρο των εντατικών μονάδων. Το κυψελιδικό διαμέρισμα θεωρείται ο κατεξοχήν ανατομικός χώρος πολλαπλασιασμού ανθεκτικών (κυρίως gram-αρνητικών) μικροβίων κατά την ανάπτυξη ενδονοσοκομειακής βακτηριδιακής πνευμονίας και συνεπώς ικανοποιητικές συγκεντρώσεις επιλεγμένων αντιμικροβιακών φαρμάκων όπως η κολιστίνη στον παραπάνω χώρο, θεωρείται ότι προσδίδουν αυξημένα ποσοστά επιτυχούς αντιμετώπισης της πνευμονικής λοίμωξης.

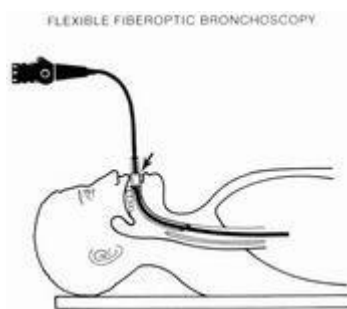
Το αίμο-κυψελιδικό φράγμα αποτελείται από δύο μεμβράνες (εικόνα 2.5), το τριχοειδές τοίχωμα και το κυψελιδικό τοίχωμα, τα οποία χωρίζονται από ένα γεμάτο υγρό διάμεσο χώρο. Τα αντιβιοτικά πρέπει να διαχέονται το τριχοειδές τοίχωμα, το διάμεσο υγρό, και τα κυψελιδικά επιθηλιακά κύτταρα για να φτάσουν στο ALF. Κύτταρα μπορούν να μεταφέρουν τα αντιβιοτικά στο ALF. Πολλοί παράγοντες επηρεάζουν την εισαγωγή των αντιβιοτικών στο ALF: Πρώτον, μόνο το ελεύθερο κλάσμα των αντιβιοτικών θεωρείται ότι φθάνει σε ισορροπία μεταξύ ορού και διαμέσου υγρού, με αποτέλεσμα διαφορετικό βαθμό σύνδεσης με τις πρωτεΐνες ο

οποίος θα επηρεάσει τα επίπεδα των αντιβιοτικών στο διάμεσο υγρό και στο ALF. Δεύτερον, η μεταφορά μέσω των κυψελιδικών επιθηλιακών κυττάρων θα εξαρτηθεί από τη λιποφιλία και ικανότητα διάχυσης (diffusibility) των αντιβιοτικών, παρόμοια με την είσοδο στο κεντρικό νευρικό σύστημα.

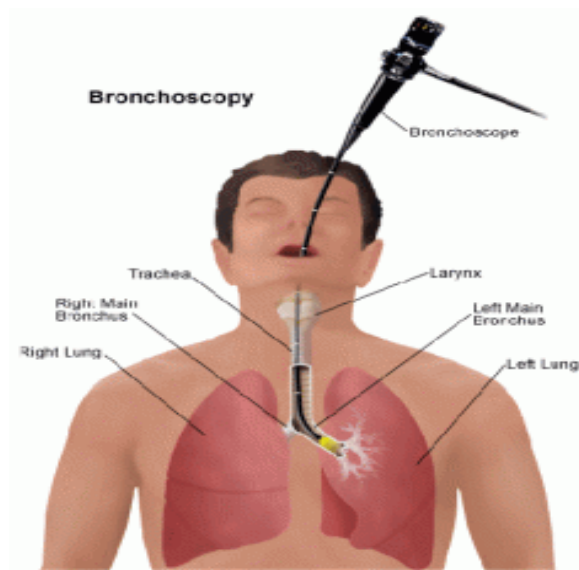
Επίσης το ALF είναι ένα μίγμα συστατικών όπου εκτός από το υγρό συστατικό υπάρχουν και κύτταρα, όπως κυψελιδικά μακροφάγα που κατά τη μέτρηση της συγκέντρωσης αντιβιοτικού στο BAL τα κύτταρα μπορεί να λυθούν και μπορεί να αυξηθεί τεχνητά η μετρούμενη συγκέντρωση του αντιβιοτικού στο ALF. Το μέγεθος του λάθους, θα ποικίλλει ανάλογα με το ποσό των αντιβιοτικών στα κύτταρα και τους αριθμούς των κυττάρων.



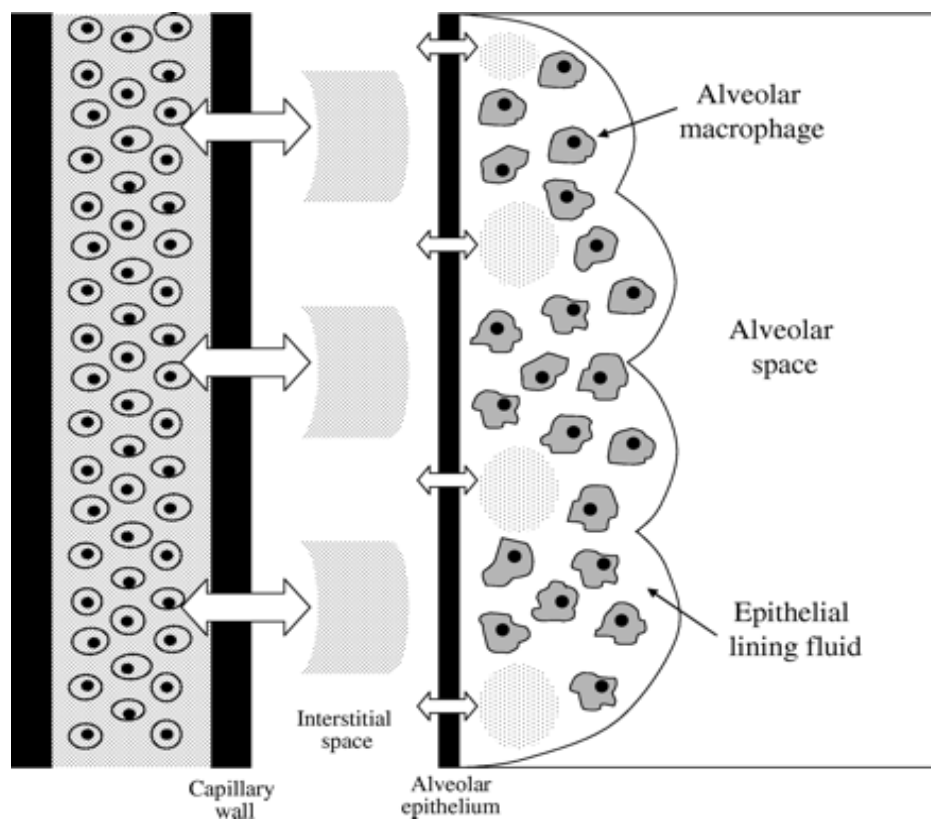
Εικόνα 2.2: Έυκαμπτο ινοοπτικό μικροσκόπιο (πραγματική φωτογράφιση)



Εικόνα 2.3: Κατά τη διάρκεια της βρογχοσκόπησης (www.answers.com/broncoscopy)



Εικόνα 2.4: Σχηματικό διάγραμμα της βρογχοσκόπησης με τη χρήση εύκαμπτου οπτικού μικροσκοπίου(www.yalemedicalgroup.org)



Εικόνα 2.5: Ερμηνεία κλασμάτων αντιβιοτικών συγκεντρώσεων μετρημένα στο πνευμονικό κυψελιδικό υγρό. Sungmin Kiem and Jerome J. Schentag, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, January 2008, p. 24-36, Vol. 52, No. 1

2.4.4 ΔΙΕΙΣΔΥΣΗ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΟ ΚΥΨΕΛΙΔΙΚΟ ΥΓΡΟ

Πραγματικά αξιόλογο είναι το ερώτημα αν η κολιστίνη μπορεί να προσδιοριστεί στο βρογχοκυψελιδικό υγρό και σε ποιο ποσοστό σε σύγκριση με τον ορό. Η μελέτη των Imberti R et al¹²⁴ ήταν η πρώτη προσπάθεια προσδιορισμού κολιστίνης στο ανθρώπινο κυψελιδικό υγρό. Οι ερευνητές κατέληξαν ότι μετά από δύο ημέρες θεραπείας με ενδοφλέβια μεθανοσουλφονική κολιστίνη η κολιστίνη στο πνευμονικό υγρό δεν ήταν ανιχνεύσιμη σε δείγματα που έλαβαν δύο ώρες μετά την έναρξη της ενδοφλέβιας έγχυσης. Σε παρόμοια συμπεράσματα κατέληξαν οι Lu Q et al¹²⁵ χρησιμοποιώντας διασωληνωμένα χοιρίδια. Η κολιστίνη δεν ανιχνεύτηκε στον πνευμονικό ιστό μετά την τρίτη ημέρα θεραπείας με ενδοφλέβια χορήγηση. Παρά ταύτα υπάρχουν ενδείξεις ότι η κολιστίνη διεισδύει στο πνευμονικό υγρό. Στη μελέτη των Aoki N et al¹²⁶ χρησιμοποιώντας μια βιολογική μέθοδο παρατήρησαν ότι, μετά από ενδοφλέβια χορήγηση μεγάλης δόσης μεθανοσουλφονικής κολιστίνης σε ποντίκι η διείσδυση κολιστίνης εκτιμώμενη σαν κλάσμα των περιοχών κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης-χρόνου (AUC₀₋₂) σε ομογενοποιημένο πνευμονικό ιστό και στον ορό ήταν 61%. Στη μελέτη των Reed MD et al¹²⁷ σε ασθενείς με κυστική ίνωση χρησιμοποιώντας μία μέθοδο HPLC βρέθηκε ότι οι συγκεντρώσεις κολιστίνης στο σίελο μετά από τουλάχιστον τρεις μέρες χορήγησης ενδοφλέβιας μεθανοσουλφονικής κολιστίνης υπερβαίνουν τις παρατηρούμενες συγκεντρώσεις στο πλάσμα.

2.5 ΝΕΦΡΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΤΗΣ ΜΟΝΑΔΑΣ ΕΝΤΑΤΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

2.5.1 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΝΕΦΡΩΝ

Ο ρόλος των νεφρών στη λειτουργία του οργανισμού είναι η απομάκρυνση των άχρηστων ουσιών και υγρών μέσω των ούρων αλλά και η ρύθμιση των σωματικών υγρών, της αρτηριακής πίεσης, των ερυθρών αιμοσφαιρίων και της ενεργοποίησης της βιταμίνης D. Τα ούρα που παράγονται από τους νεφρούς απεκκρίνονται από το σώμα μέσω των ουρητήρων, της ουροδόχου κύστης και της ουρήθρας.

Η πολύπλοκη διαδικασία της παραγωγής ούρων γίνεται από τους νεφρώνες. Σε κάθε νεφρό υπάρχουν κατά προσέγγιση ένα εκατομμύριο νεφρώνες ενώ ο αριθμός αυτός μειώνεται σταδιακά με την πάροδο της ηλικίας. Λόγω της μεγάλης

αποθηκευτικής ικανότητας των νεφρών, τα άτομα μπορούν να επιβιώσουν με ένα υγιές νεφρό.

Οι νεφροί ρυθμίζουν την αρτηριακή πίεση, προσαρμόζοντας την απορρόφηση και την επαναπορρόφηση νατρίου και νερού, ενώ συντελούν στην παραγωγή των ερυθρών αιμοσφαιρίων με την έκκριση της ορμόνης ερυθροποιητίνης. Επίσης, οι νεφροί μετατρέπουν τη βιταμίνη D στην ενεργό μορφή της, η οποία απαιτείται για τη διατήρηση φυσιολογικών επιπέδων ασβεστίου και φωσφόρου στο αίμα, καθώς και για την οστική υγεία.

2.5.2 ΝΕΦΡΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ

2.5.2.1 Χρόνια Νεφρική Ανεπάρκεια

Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (ΧΝΑ) είναι η προοδευτική, γενικά μη αναστρέψιμη μείωση της νεφρικής λειτουργίας που προκαλείται από βλάβη του νεφρού ποικίλης αιτιολογίας¹²⁸. Η μείωση της νεφρικής λειτουργίας μπορεί να προσδιοριστεί ως ελάττωση του ρυθμού σπειραματικής διηθήσεως (GFR) δηλαδή του συνόλου του υπερδιηθήματος που περνά από το αίμα στον αυλό των σωληναρίων στη μονάδα του χρόνου. Οι φυσιολογικές τιμές του GFR, όπως μετράται με τις συνήθεις μεθόδους καθάρσεως της κρεατινίνης είναι για τους άνδρες 85-125 ml/min/1,73m² και για τις γυναίκες 75-115 ml/min/1,73m². Η προοδευτική μείωση της νεφρικής λειτουργίας δίνει τη δυνατότητα στο νεφρώνα να προχωρήσει σε προσαρμοστικές μεταβολές και έτσι η ΧΝΑ μπορεί να διαδράμει για μεγάλο χρονικό διάστημα χωρίς συμπτώματα¹²⁸.

Οι κυριότερες παθήσεις¹²⁸ που μπορούν να προκαλέσουν ΧΝΑ είναι τα πρωτοπαθή νεφρικά νοσήματα (σπειραματοπάθειες, διάμεσες νεφροπάθειες), οι συστηματικές παθήσεις (αρτηριακή υπέρταση, σακχαρώδης διαβήτης, κολλαγονώσεις κ.λ.π.) και οι συγγενείς νεφρικές παθήσεις (πολυκυστική νόσος των νεφρών, σύνδρομο Alport κ.λ.π.).

2.5.2.2 Οξεία Νεφρική Ανεπάρκεια

Η οξεία νεφρική ανεπάρκεια (ΟΝΑ) αποτελεί μια κατάσταση η οποία απαντάται συχνά στην κλινική πράξη. Η ΟΝΑ μπορεί να οφείλεται σε προνεφρικά (υποογκαιμία, shock), νεφρικά (π.χ οξεία σωληναριακή νέκρωση μετά από χρήση

νεφροτοξικών φαρμάκων) και μετανεφρικά αίτια (π.χ αποφρακτική ουροπάθεια)¹²⁹. Τα συμπτώματα που εμφανίζονται είναι η μείωση διούρησης, η αύξηση νερού και ηλεκτρολυτών (οίδημα, υπέρταση και πνευμονική συμφόρηση), η οξεία κατακράτηση ουραιμικών τοξινών (αιματέμεση, διαταραχές αιμόστασης, σπασμοί, έμετος, περικαρδίτις, αναιμία, κώμα) και η οξέωση που μπορεί να προκαλέσει "αναπνοή Kussmaul" (πίνακας 2.1)¹²⁹.

Πίνακας 2.1: Επιπλοκές οξείας νεφρικής ανεπάρκειας

<u>Καρδιαγγειακό</u>	<u>Αιματολογικές</u>	<u>Λοιμώξεις</u>	<u>Μεταβολικές</u>	<u>Νευρολογικές</u>
<ul style="list-style-type: none"> •Οίδημα ανά σάρκα •Υπέρταση •Συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια •Πνευμονικό οίδημα •Αρρυθμίες •Έμφραγμα μυοκαρδίου •Περικαρδίτις 	<ul style="list-style-type: none"> •Αναιμία •Δυσλειτουργία αιμοπεταλίων •Αιμορραγία ΓΕΣ •Διαταραχές στην αιμόσταση 	<ul style="list-style-type: none"> •Σηψαιμία •Πνευμονία •Λοιμώξεις σχετιζόμενες με το καθετήρα •Ουρολοιμώξεις •Επιμόλυνση πληγών 	<ul style="list-style-type: none"> •Υπερκαλιαιμία •Υπονατριαιμία •Υπασβεστιαμία •Υποφωσφαταιμία •Υπερ-, υπόμαγνησαιμία •Οξέωση •Αλκάλωση (έμετοι, Levine) •Υπογλυκαιμία (αυξημένος καταβολισμός ινσουλίνης) 	<ul style="list-style-type: none"> •Ευερεθιστότητα •Υπνηλία •Κώμα •Σπασμοί •Ναντία •Έμετος •Γαστρίτις

Σχετικά με την έκβαση της ONA στη ΜΕΘ, η μεμονωμένη ONA εντός ή εκτός ΜΕΘ έχει πολύ καλύτερη πρόγνωση απ' ό,τι η ONA που συνοδεύεται από πολλαπλή ανεπάρκεια οργάνων. Η αντιμετώπιση της ONA μπορεί να είναι συντηρητική (ειδική διαίτα, περιορισμός ή χορήγηση υγρών, χρήση αντιβιοτικών) ή μπορεί να είναι επεμβατική (διαλείπουσα ή συνεχής αγωγή)¹²⁹.

2.5.3 ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΝΕΦΡΙΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΣΤΙΣ ΜΕΘ

2.5.3.1 Αρτηριο-Φλεβικές Τεχνικές

Οι τεχνικές αυτές απαιτούν καθετηριασμό αρτηρίας και φλέβας. Δεν απαιτείται μηχανήμα η αντλία αίματος και οδηγός δύναμη είναι η αρτηριο-φλεβική διαφορά πίεσης του αίματος. Στην τεχνική αυτή εμφανίζονται επιπλοκές από το μακροχρόνιο καθετηριασμό της αρτηρίας. Σήμερα οι αρτηριο-φλεβικές μέθοδοι έχουν εγκαταληφθεί λόγω προβλημάτων λειτουργίας και παρενεργειών¹²⁹.

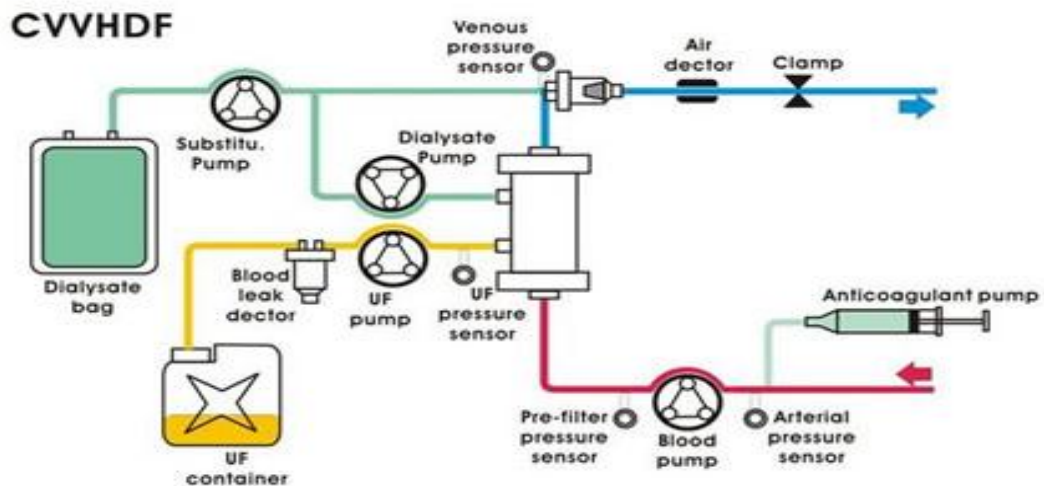
2.5.3.2 Περιτοναϊκή Κάθαρση

Είναι μία εύκολα εφαρμοζόμενη τεχνική, συνεχής ή διαλείπουσα, η οποία είναι καλά ανεκτή από αιμοδυναμικά ασταθείς ασθενείς¹²⁹. Επιτρέπει τον επαρκή και προοδευτικό έλεγχο ηλεκτρολυτών και οξεοβασικής ισορροπίας. Είναι μία τεχνική που δεν χρειάζεται αγγειακή προσπέλαση καθώς και αντιπηκτική αγωγή. Είναι βιοσυμβατή μέθοδος και έχει καλά αποτελέσματα στα παιδιά. Ωστόσο παρουσιάζει και κάποια μειονεκτήματα όπως το γεγονός ότι αντενδείκνυται σε εγχειρήσεις κοιλίας και στον ειλεό, όπως και το ότι είναι αναποτελεσματική (χαμηλή κάθαρση ουρίας 6ml/min) κυρίως σε υπερκαταβολικούς ασθενείς. Παρουσιάζει σηπτικές επιπλοκές ιδιαίτερα αν παραταθεί η οξεία νεφρική ανεπάρκεια και έχει παρατηρηθεί ότι επιβαρύνει την αναπνοή. Σήμερα η χρήση της για αρρώστους στη ΜΕΘ έχει περιορισθεί (<3%).

2.5.3.3 Φλεβο-Φλεβικές Τεχνικές Κάθαρσης

Στις τεχνικές αυτές ανήκουν: η αιμοκάθαρση (HD) διαλείπουσα και καθημερινή, η συνεχής φλεβοφλεβική αιμοδιήθηση (CVVH), η συνεχής φλεβοφλεβική αιμοδιαδιήθηση (CVVHDF, εικόνα 2.6) και η συνεχής καθημερινή ήπια αιμοκάθαρση-SLEDD. Η κλασική αιμοκάθαρση στην οξεία νεφρική ανεπάρκεια είναι αποτελεσματική όταν ο άρρωστος δεν είναι παχύσαρκος, δεν είναι υπερκαταβολικός και δεν είναι αιμοδυναμικά ασταθής. Η μέθοδος της κλασικής αιμοκάθαρσης στη ΜΕΘ παρουσιάζει κάποια μειονεκτήματα όπως η ανάγκη απομάκρυνσης μεγάλου όγκου υγρών πράγμα που δημιουργεί υπόταση και αιμοδυναμική αστάθεια και τεχνικά προβλήματα (παροχή –σύστημα απιονισμού νερού, εκπαίδευση προσωπικού, δυνατότητα καθημερινής ή έκτακτης συνεδρίας, δεν απομακρύνονται τα μόρια μέσου μεγέθους, η ταχεία αλλά πρόσκαιρη απομάκρυνση ουσιών μπορεί να προκαλέσει μεγάλες αυξομειώσεις ηλεκτρολυτών, pH και ωσμωτικής πίεσης). Η ανάπτυξη τεχνικών συνεχούς υποκατάστασης¹²⁹ της νεφρικής λειτουργίας ήταν η λύση ανάγκης για τη διαχείριση ασθενών στη ΜΕΘ με ONA. Οι συνεχείς μέθοδοι στη ONA παρέχουν αιμοδυναμική σταθερότητα ή και βελτίωση, ελεύθερο χειρισμό υγρών, δυνατότητα συνεχών τροποποιήσεων, πλήρη θρέψη, συνεχή σταθερό έλεγχο ουρίας, κρεατινίνης, καλίου, φωσφόρου, pH, ωσμωτικής πίεσης, απομάκρυνση μορίων

μεσαίου μεγέθους, καλύτερη κάθαρση, ελάχιστες παρενέργειες (θρόμβωση φίλτρου), άμεση διαθεσιμότητα, εύκολη εκμάθηση από προσωπικό και αυτονομία κινήσεων-χειρισμών.



Εικόνα 2.6: Σχηματική αναπαράσταση συνεχούς φλεβοφλεβικής αιμοδιήθησης. (www.smilegroup.com.twcvvhdf)

2.5.4 ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΔΟΣΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΝΕΦΡΙΚΗ ΒΛΑΒΗ

Για τους ασθενείς με νεφρική βλάβη το φύλλο οδηγιών του εμπορικού προϊόντος προτείνει την διατήρηση του μεγέθους της δόσης και την ταυτόχρονη αύξηση του μεσοδιαστήματος χορήγησης. Σύμφωνα με δύο μελέτες οι τρέχουσες προτάσεις είναι ότι η καθημερινή δόση κολιστίνης πρέπει να προσαρμοστεί σύμφωνα με την πρώτη¹²⁸ μελέτη σε ασθενείς που έχουν κάθαρση κρεατινίνης χαμηλότερη από 80mL/min και σύμφωνα με την δεύτερη¹²⁹ μελέτη όταν η κρεατινίνη ορού είναι μεγαλύτερη από 1.2mg/dl. Υπάρχει έλλειψη γνώσεων στο γεγονός αν είναι απαραίτητη η τροποποίηση των δόσεων κολιστίνης σε ασθενείς με μέτρια νεφρική ανεπάρκεια.

2.5.5 ΚΟΛΙΣΤΙΝΗ ΚΑΙ CVVHDF

Το φύλλο οδηγιών του φαρμάκου στην Αυστραλία αποσιωπεί εάν η κολιστίνη απομακρύνεται από τη διύλιση¹³⁰. Το φύλλο οδηγιών του φαρμάκου στη Αμερική αναφέρει ότι δεν είναι γνωστό εάν η κολιστίνη απομακρύνεται από τη διήθηση¹³¹. Στη μελέτη τους οι Goodwin et al σημείωσαν τις επιδράσεις της νεφρικής δυσλειτουργίας, της περιτοναϊκής διύλισης και της αιμοδιύλισης στις συγκεντρώσεις

της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης στον ορό. Δυστυχώς οι μικροβιολογικές μέθοδοι με τις οποίες εργάστηκαν απέτυχαν να μετρήσουν τα επίπεδα κολιστίνης και μεθανοσουλφονικής κολιστίνης ξεχωριστά¹³². Μερικές μελέτες έχουν προτείνει ότι αυτά τα φάρμακα μπορούν αποτελεσματικά να μετακινηθούν από τον ορό με αιμοδιύλιση^{133,134} ή περιτοναϊκή κάθαρση^{135,136}, ενώ άλλες έχουν αντίθετα αποτελέσματα^{132,137,138}. Παρά αυτές τις παρεκκλίσεις, οι περισσότεροι επιστήμονες συμφωνούν ότι ακόμα και αν η κολιστίνη μετακινείται από τον ορό με αυτές τις μεθόδους, το επίπεδο του φαρμάκου δεν είναι αρκετά χαμηλό ώστε να δικαιολογείται η χορήγηση μιας επιπλέον δόσης μετά από κάθε συνεδρία αιμοκάθαρσης προκειμένου να επιτευχθούν θεραπευτικά επίπεδα στο πλάσμα. Η φτωχή ικανότητα της κολιστίνης να απομακρύνεται ίσως οφείλεται στο μεγάλο μοριακό βάρος και όχι στη συνδυαστική ικανότητα του φαρμάκου με το πλάσμα ή τους ιστούς¹³⁹. Σε δύο άλλες μελέτες έχει προταθεί: Επιπλέον ενδοφλέβιες δόσεις 2-3 mg/Kg μετά από κάθε συνεδρία αιμοδιάλυσης¹³³ ή επιπλέον 2mg/Kg καθημερινά κατά τη διάρκεια της περιτοναϊκής διάλυσης¹³⁸. Σε άλλη μελέτη¹⁴⁰ που πραγματοποιήθηκε δεν ανιχνεύθηκε κολιστίνη στο υγρό του διηθήματος παρά την παρουσία της στον ορό. Έτσι πρότειναν ότι το φάρμακο μπορεί να μη διυλίζεται με την μέθοδο CVVHDF και έτσι να μην χρειάζονται επιπλέον δόσεις όπως στην αιμοδιάλυση ή την περιτοναϊκή διάλυση. Σε μετέπειτα μελέτη περιστατικού¹⁴¹ ασθενούς με πολυανθεκτική ψευδομονάδα και υπό CVVHDF προτείνεται ότι η τροποποίηση δόσης πρέπει να είναι μέτρια (π.χ 2 με 3 mg/kg κάθε 12 ώρες). Στη συγκεκριμένη μελέτη από 0 έως 8 ώρες μετά την δόση, 20.3% της δόσης ανακτήθηκε στο διήθημα σαν μεθανοσουλφονική κολιστίνη και 6.88% σαν κολιστίνη, έτσι προκύπτει ότι και η μεθανοσουλφονική κολιστίνη και η κολιστίνη μπορούν πράγματι να απομακρύνονται από CVVHDF. Συμπερασματικά υπάρχει κενό δεδομένων και γνώσεων στη χορήγηση κολιστίνης σε ασθενείς που υπόκεινται σε CVVHDF.

2.6 ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΚΕΝΤΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ ΤΗΣ ΜΕΘ

2.6.1 ΑΙΜΑΤΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟΣ ΦΡΑΓΜΟΣ-ΕΓΚΕΦΑΛΟΝΩΤΙΑΙΟ ΥΓΡΟ

Ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός (ΑΕΦ) χωρίζει τον εγκεφαλικό ιστό από το υπόλοιπο σώμα. Είναι ένας εκλεκτικός φραγμός που δεν επιτρέπει σε πολλές ουσίες

που υπάρχουν στη κυκλοφορία του αίματος να περάσουν διαμέσου του τοιχώματος των τριχοειδών στον εγκέφαλο. Ο φραγμός αυτός παρέχει ένα σταθερό χημικά περιβάλλον για τη λειτουργία των νευρώνων, συμβάλλει στη σταθεροποίηση και στη προστασία του μικροπεριβάλλοντος των νευρώνων διευκολύνοντας την είσοδο των απαραίτητων ουσιών, απομακρύνοντας τους άχρηστους μεταβολίτες και αποκλείοντας τις τοξικές ή αποδομητικές ουσίες. Αποτελεί ένα σύνολο εκλεκτικών ρυθμιστικών μηχανισμών¹⁴². Η δομή των τριχοειδών του εγκεφάλου διαφέρει σημαντικά από εκείνη των τριχοειδών άλλων οργάνων¹⁴³. Σε γενικές γραμμές τα τριχοειδή άλλων οργάνων έχουν μικρά, απλά διάκενα ή σχισμές ανάμεσα στα ενδοθηλιακά τους κύτταρα. Σε ορισμένα υπάρχουν θυρίδες που δημιουργούν μια οδό μέσω της οποίας παρακάμπτεται το κυτταρόπλασμα των ενδοθηλιακών κυττάρων. Με τον τρόπο αυτό, στα περισσότερα τριχοειδή που βρίσκονται εκτός του ΚΝΣ, οι διαλυμένες ουσίες μπορούν να διαχέονται εύκολα μέσω των σχισμών και των θυρίδων. Στα τριχοειδή του εγκεφάλου, ο φυσικός φραγμός στη διάχυση διαλυμένων ουσιών εξασφαλίζεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα των τριχοειδών, τα οποία συνάπτονται στενά μεταξύ τους με συνεχείς σφικτές συνάψεις. Οι σφικτές συνάψεις εμποδίζουν τη διέλευση υδατοδιαλυτών ιόντων και μορίων από το αίμα προς τον εγκέφαλο μέσω της παρακυτταρικής οδού. Σε άλλα σημεία της συστηματικής κυκλοφορίας, τα μόρια μπορούν να διασχίσουν το ενδοθηλιακό κύτταρο με τη διαδικασία της ενδοκυττάρωσης. Στα τριχοειδή του εγκεφάλου, η ενδοκυττάρωση είναι σπάνια κι αυτό γιατί τα κύτταρα αυτά έχουν λιγότερα ενδοκυτταρικά κυστίδια συγκριτικά με τα τριχοειδή της συστηματικής κυκλοφορίας. Άλλα ενδιαφέροντα χαρακτηριστικά των τριχοειδών του εγκεφάλου είναι η παχιά βασική μεμβράνη που βρίσκεται κάτω από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, η παρουσία αραιών περικυττάρων στη βασική μεμβράνη και οι αποφυάδες των αστροκυττάρων που καλύπτουν σχεδόν πλήρως τα τριχοειδή. Τα αστροκύτταρα πιθανώς παίζουν σημαντικό ρόλο στη δημιουργία στεγανών συνδέσεων μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων ενώ και η στενή επαφή των τελικών ποδίσκων των αστροκυττάρων με τα τριχοειδή θα μπορούσε ακόμα να διευκολύνει τη μεταφορά ουσιών μεταξύ αυτών των κυττάρων και του αίματος. Ωστόσο το χοριοειδές πλέγμα και αρκετές καθορισμένες περιοχές του εγκεφάλου στερούνται ΑΕΦ, δηλαδή αιματώνονται από τριχοειδή που είναι διαπερατά. Οι μικρές αυτές εγκεφαλικές περιοχές ονομάζονται περικοιλιακά όργανα επειδή περιβάλλουν το σύστημα των κοιλιών¹⁴⁴. Σε ορισμένες από αυτές τις περιοχές, τα επενδυματικά κύτταρα που επικαλύπτουν τα διαπερατά τριχοειδή, συνδέονται

μεταξύ τους με στεγανές συνδέσεις. Με αυτόν τον τρόπο, αυτά τα εξειδικευμένα επενδυματικά κύτταρα σχηματίζουν ένα φραγμό ανάμεσα στο εξωκυτταρικό υγρό της περιοχής (το οποίο μοιάζει με το πλάσμα του αίματος περισσότερο απ'ό,τι άλλα μέρη του εξωκυτταρικού υγρού του εγκεφάλου) και το εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY) το οποίο πρέπει να απομονώνεται από το αίμα. Ο φραγμός αυτός είναι γνωστός ως φραγμός αίματος-ENY¹⁴². Ο εγκέφαλος διαθέτει τρεις μήνιγγες: την σκληρά, την χοριοειδή και την αραχνοειδή μήνιγγα. Ο χώρος ανάμεσα στη χοριοειδή και στην αραχνοειδή μήνιγγα ονομάζεται υπαραχνοειδής χώρος και περιέχει το εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Το ENY είναι ένα υπερδιήθημα με όγκο περίπου 80-150 ml. Σχηματίζεται με ρυθμό περίπου 800 ml/24ωρο, πενταπλάσια ποσότητα από το συνολικό του όγκο¹⁴³. Ο ρόλος του ENY έγκυται στο να προστατεύει τον εγκέφαλο και το νωτιαίο μυελό από τραυματισμούς, να ρυθμίζει την ενδοκρανιακή πίεση, να μεταφέρει θρεπτικές ουσίες και να απομακρύνει τις άχρηστες ουσίες. Το ENY παράγεται από το χοριοειδές πλέγμα (90%) και από την εγκεφαλική ουσία (10%).

Δεδομένου ότι η επιφάνεια του ΚΝΣ που «προστατεύεται» από τον ΑΕΦ είναι περίπου 5000 φορές μεγαλύτερη από αυτή που αφορά στο φραγμό αίματος-ENY, είναι προφανές ότι το περιοριστικό βήμα για την είσοδο διαφόρων μορίων από το πλάσμα στον εγκέφαλο, είναι κατά κύριο λόγο η ύπαρξη άθικτου ΑΕΦ. Ο βασικός ρόλος που διαδραματίζει ο ΑΕΦ είναι η διατήρηση της ομοιόστασης του ΚΝΣ η οποία εξασφαλίζει τη βέλτιστη λειτουργικότητα των νευρώνων. Αυτό επιτυγχάνεται με τον περιορισμό της μετακίνησης μεγάλων μορίων και άλλων ουσιών, συμπεριλαμβανομένων και πολλών φαρμάκων, από το αίμα προς το διάμεσο χώρο του ΚΝΣ.

Συνοπτικά, οι λειτουργίες του ΑΕΦ περιλαμβάνουν τα παρακάτω¹⁴⁴:

- Ρύθμιση της εισόδου των μεταβολικών υποστρωμάτων. Ιδιαίτερα η γλυκόζη αποτελεί σημαντική πηγή ενέργειας για τους νευρώνες. Η συγκέντρωση της γλυκόζης στο εξωκυτταρικό υγρό του εγκεφάλου είναι πιο σταθερή απ'ό,τι στο αίμα, επειδή ο ειδικός μεταφορέας της υφίσταται κορεσμό όταν αυξάνει η γλυκόζη του αίματος και γίνεται υπερδραστικός όταν αυτή πέφτει.
- Έλεγχος της μεταφοράς των ιόντων. Η Na^+ K^+ ΑΤΡάση στα κύτταρα του φραγμού αντλεί νάτριο μέσα στο ENY και κάλιο από το ENY στο αίμα.

- Αποτρέπει την είσοδο στο ΕΝΥ τοξινών και περιφερικών νευροδιαβιβαστών, οι οποίοι διαφεύγουν στην αιματική κυκλοφορία από τις απολήξεις των νευρώνων του αυτόνομου νευρικού συστήματος.

Ο φραγμός αυτός εντοπίστηκε για πρώτη φορά από τον Ehrlich¹⁴⁴ το 1885, ο οποίος χορήγησε ενδοφλεβίως χρωστική ανιλίνης και ανακάλυψε ότι οι ιστοί του σώματος χρωματίζονταν ομοιόμορφα, με εξαίρεση τον εγκέφαλο. Σχετικά με τη μεταφορά ουσιών, το νερό, οι λιποδιαλυτές ουσίες και τα αέρια μεταφέρονται ελεύθερα. Η γλυκόζη, τα αμινοξέα, το κάλιο, το ασβέστιο και το μαγνήσιο μεταφέρονται με μόρια μεταφορείς. Οι πρωτεΐνες δεν παίρνουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό.

2.6.2 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΔΙΑΜΕΣΟΥ ΑΙΜΑΤΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟΥ ΦΡΑΓΜΟΥ

Η ύπαρξη του ΑΕΦ επηρεάζει καθοριστικά τη μετακίνηση των σχετικά μεγάλων και υδρόφιλων μορίων από το αίμα στο ΚΝΣ σε τέτοιο βαθμό μάλιστα που η διάθεση ακόμη και απαραίτητων θρεπτικών συστατικών στον εγκέφαλο, όπως είναι η γλυκόζη, να είναι ελεγχόμενη και περιορισμένη. Η ικανότητα των τριχοειδών του εγκεφάλου να εμποδίζουν τη διόδο μεγάλων μορίων σχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με το μοριακό βάρος (MB) του εκάστοτε μορίου και τη διάμετρο της ένυδρης μορφής του. Σε γενικές γραμμές, η διάχυση μιας διαλυμένης ουσίας περιορίζεται επίσης από τον ιοντισμό της ουσίας σε φυσιολογικές τιμές pH, από τη χαμηλή λιποδιαλυτότητα και από τη δέσμευση της από πρωτεΐνες του πλάσματος. Για παράδειγμα, αέρια με μεγάλη λιποδιαλυτότητα όπως το CO₂ και το O₂ και φάρμακα όπως η αιθανόλη, η καφεΐνη, η νικοτίνη, η ηρωίνη, και η μεθαδόνη διέρχονται εύκολα τον ΑΕΦ¹⁴⁵. Ωστόσο, ιόντα όπως το K⁺ ή το Mg²⁺ και πρωτεΐνοδεσμευμένοι μεταβολίτες όπως η χολερυθρίνη, έχουν πολύ περιορισμένη πρόσβαση στον εγκέφαλο. Επίσης, ο ΑΕΦ είναι ιδιαίτερα διαπερατός από το ύδωρ λόγω της παρουσίας διαύλων ύδατος στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Τέλος, τα τριχοειδή του εγκεφάλου εκφράζουν ένζυμα που μπορούν να επηρεάσουν τη μετακίνηση ουσιών από το αίμα προς τον εγκέφαλο και αντίστροφα όπως πεπτιδάσεις, όξινες υδρολάσεις και μονοαμινοξειδάση.

Συμπερασματικά, δύο κατηγορίες ουσιών μπορούν να διέλθουν εύκολα από το αίμα στον εγκέφαλο¹⁴⁶. Η πρώτη αφορά τα μικρά, ιδιαίτερα λιποδιαλυτά μόρια που αναφέρθηκαν προηγουμένως. Η δεύτερη ομάδα συνιστάται από ενώσεις που δεν είναι ιδιαίτερα λιποδιαλυτές, αλλά εισέρχονται μέσω ειδικών μεταφορέων (συστήματα

διαμεσολαβούμενης μεταφοράς). Ορισμένα παραδείγματα είναι η γλυκόζη, αρκετά αμινοξέα, οι πρόδρομες ουσίες των νουκλεϊνικών οξέων, οι θυροειδικές ορμόνες και αρκετά οργανικά οξέα. Οι μεταφορείς είναι διπλής κατεύθυνσης και παρουσιάζουν κινητική κορεσμού και στερεοεξειδίκευση. Με τους μηχανισμούς αυτούς εξασφαλίζεται η είσοδος σημαντικών, υδατοδιαλυτών θρεπτικών συστατικών στον εγκέφαλο, αλλά και η έξοδος των υδατοδιαλυτών μεταβολιτών.

2.6.3 ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟΥ ΦΡΑΓΜΟΥ ΣΕ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ.

Σε περιπτώσεις φλεγμονής παρατηρείται εκτεταμένη μετανάστευση λευκοκυττάρων μέσω των τριχοειδών αγγείων, η οποία συνοδεύεται συνήθως και από αυξημένη εισροή στον εγκέφαλο πρωτεϊνών του πλάσματος, μικρογλοιακών κυττάρων και μακροφάγων¹⁴⁷. Ως εκ τούτου, η λειτουργία του ΑΕΦ διαφοροποιείται σημαντικά. Συγκεκριμένα, η αυξημένη διαπερατότητα του ΑΕΦ που παρατηρείται στις φλεγμονώδεις παθήσεις του εγκεφάλου, μπορεί να είναι το αποτέλεσμα της διάνοιξης των στεγανών συνδέσεων των ενδοθηλιακών κυττάρων ή της αυξημένης πινοκυττωτικής δραστηριότητας και του σχηματισμού διαύλων μεταφοράς διαμέσου του ενδοθηλίου. Η παρουσία των μεσολαβητών της φλεγμονώδους αντίδρασης (κυτοκίνες, εικοσανοειδή, ελεύθερες ρίζες) επηρεάζει και τροποποιεί σημαντικά τη λειτουργία του ΑΕΦ.

2.6.4 ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ ΣΤΟ ΕΓΚΕΦΑΛΟΝΩΤΙΑΙΟ ΥΓΡΟ

Τα αντιβιοτικά δεν υπόκεινται σε μεταβολισμό κατά την είσοδο τους στο ΕΝΥ και έτσι οι συγκεντρώσεις τους σε συνάρτηση με το χρόνο και τα άλλα φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά τους όπως ο χρόνος ημίσειας ζωής τους, καθορίζονται από τη δυναμική ισορροπία μεταξύ των δύο διαδικασιών : της εισόδου του φαρμάκου στο ΕΝΥ και της απομάκρυνσης του από τον εγκέφαλο μέσω του ΑΕΦ. Βασικός μηχανισμός μεταφοράς των αντιβιοτικών εντός του ΕΝΥ είναι η παθητική διάχυση ενώ καθοριστικός παράγοντας για τη διαπέραση του ΑΕΦ είναι ο συντελεστής λιποφιλίας του εκάστοτε μορίου¹⁴⁵ (πίνακας 2.2).

Οι καμπύλες συσχέτισης συγκέντρωσης φαρμάκου στο ΕΝΥ – χρόνου υστερούν σε σχέση με αυτές της συγκέντρωσης στο πλάσμα-χρόνου¹⁴⁸. Συμπερασματικά κάθε

εκτίμηση της διαπέρασης ενός αντιβιοτικού παράγοντα που γίνεται με βάση μεμονωμένες μετρήσεις συγκεντρώσεων του φαρμάκου στο ΕΝΥ και στο πλάσμα μπορεί να είναι παραπλανητική.

Πίνακας 2.2: Παράγοντες που επιδρούν στη διαπέραση ενός αντιβιοτικού στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό.

Παράγοντας	Φάρμακο/Μικροοργανισμός	Αποτέλεσμα
Λιποφιλία Φαρμάκου	ΡΙφαμπικίνη, Κινιλόνες	Ταχύτες μέγιστες συγκεντρώσεις στο ΕΝΥ, παθητική διάχυση.
Ιονισμός φαρμάκου	Β-λακταμικά αντιβιοτικά	Χαμηλή λιποδιαλυτότητα, περιορισμένη καθυστερημένη, διαπέραση του ΕΝΥ.
Ενεργός μεταφορά	Πενικιλίνη	Ταχεία είσοδος ΕΝΥ, μικρή διάρκεια θεραπευτικών επιπέδων ΕΝΥ.
Μηνιγγίτιδα		Αυξημένη διαπερατότητα υδρόφιλων παραγόντων.
Πρωτεϊνική σύνδεση	Κεφτριαξόνη	Καθυστερημένη είσοδος στο ΕΝΥ.
Μικροοργανισμοί	Listeria, Haemophilus,	Εκτεταμένη διαπερατότητα
Μικροοργανισμοί	E.coli, S.pneumoniae	Περιορισμένη διαπερατότητα

2.6.5 ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΤΟΥ ΚΕΝΤΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Οι λοιμώξεις του κεντρικού νευρικού συστήματος αποτελούν μια συχνή αιτία εισαγωγής στη μονάδα εντατικής θεραπείας (ΜΕΘ). Οι λοιμώξεις αυτές μπορεί να αποτελούν την αιτία προσέλευσης στο νοσοκομείο ή την επιπλοκή μιας άλλης εγκεφαλικής βλάβης ή μιας χειρουργικής επέμβασης. Η διάγνωση αυτών των λοιμώξεων μπορεί να είναι πολύ δύσκολη, δεδομένης της ανεπάρκειας των εξετάσεων με υψηλή ευαισθησία και εξειδίκευση. Ωστόσο, αν και η αναγνώριση και θεραπεία της υποκείμενης αιτίας παραμένει ο πρωτεύων στόχος σε κάθε μια από αυτές τις περιπτώσεις, η αντιμετώπιση των επιπλοκών αποτελεί την πιο συνήθη αιτία εισαγωγής στη ΜΕΘ. Οι συχνότερες επιπλοκές περιλαμβάνουν την αυξημένη ενδοκράνια πίεση, το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, το κώμα και την επιληπτική κατάσταση¹⁴⁹. Παρόλο που η υποκείμενη λοίμωξη προκαλεί συχνά βλάβη στον ασθενή, η ανοσολογική αντίδραση στον υπεύθυνο παράγοντα και οι συνεπακόλουθες επιπλοκές αυτής είναι συχνά υπεύθυνες για μια μεγαλύτερη βλάβη. Ακόμη και όταν δεν υπάρχει ειδική θεραπεία για τον υποκείμενο λοιμώδη παράγοντα, η αναγνώρισή του είναι σημαντική για την αποφυγή περιττών διαγνωστικών εξετάσεων¹⁵⁰. Όταν υπάρχει υποψία συγκεκριμένων λοιμώξεων, όπως μικροβιακή μηνιγγίτιδα ή ιογενής

εγκεφαλίτιδα, η εμπειρική θεραπεία πρέπει να ξεκινήσει άμεσα¹⁵¹. Οι εκβάσεις τέτοιων καταστάσεων συνδέονται με το πόσο γρήγορα ξεκινούν οι κατάλληλες θεραπείες.

Οι πιθανές λοιμώξεις του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) αποτελούν συχνή αιτία αιτήματος για νευρολογική αξιολόγηση στις μονάδες εντατικής θεραπείας (ΜΕΘ). Οι λοιμώδεις παράγοντες θεωρούνται πιθανοί επίσης όταν χρειάζεται νευρολογική εκτίμηση για μια μεταβολή του επιπέδου συνείδησης, για κάποιο εστιακό νευρολογικό έλλειμμα ή για επιληπτικές κρίσεις. Επομένως, είναι ουσιώδης η ύπαρξη μιας πρότυπης προσέγγισης ως προς τη συμπερίληψη αυτών των καταστάσεων στο διαγνωστικό σκεπτικό, προκειμένου να παρέχεται μια επαρκής και έγκαιρη περίθαλψη σε ασθενείς με βαριά νοσήματα. Όπως συμβαίνει σε όλα τα πεδία της νευρολογίας, η προσέγγιση στις λοιμώξεις ξεκινά με τον ανατομικό εντοπισμό της διαταραχής¹⁵². Οι λοιμώξεις του ΚΝΣ μπορεί να εμφανιστούν με τη μορφή της μηνιγγίτιδας, (είτε φλεγμονή της σκληράς μήνιγγας, είτε φλεγμονή της υπαραχνοειδούς μήνιγγας και του υπαραχνοειδούς χώρου, είτε και τα δύο) της εγκεφαλίτιδας, της μυελίτιδας ή ενός εντοπισμένου αποστήματος. Πιθανοί παθογόνοι μικροοργανισμοί είναι *S. pneumoniae*, *N.meningitidis*, *L. monocytogenes*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes*, *P. mirabilis*, *Salmonella spp*, *S. aureus*, *E. coli*, *H. influenzae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*. Από έρευνα για την παθογένεια νοσοκομειακής βακτηριακής μηνιγγίτιδας με gram αρνητικούς μικροοργανισμούς διάρκειας 20 ετών προέκυψαν: *Acinetobacter spp*. 35.71%, *Pseudomonas spp*. 25%, *Klebsiella pneumoniae*. 17.85%, *Escherichia coli* 14.28% και διάφορα 3.57%¹⁵³. Η παρουσία του *Acinetobacter baumannii* αυξάνεται συνεχώς στο χώρο του νοσοκομείου. Η μηνιγγίτιδα οφειλόμενη στο παθογόνο αυτό παρουσιάζει θνησιμότητα στο 20-27%¹⁵⁴. Η επιλογή του αντιβιοτικού εξαρτάται και από τη διεισδυτικότητα του φαρμάκου στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (πενικιλίνη-αμπικιλίνη 15%, χλωραμφαινικόλη >20%, κεφοταξίμη-κεφτριαξόνη 5-15%, κεφεπίμη-μεροπενέμη 5-15%, βανκομυκίνη <5%, φλουοροκινολόνες >20%) και από τη βακτηριοκτόνο δράση¹⁵⁵.

Αν και οι γιατροί χρησιμοποιούν ενίοτε αδιάκριτα τους όρους μηνιγγίτιδα και εγκεφαλίτιδα, θα πρέπει να θυμόμαστε ότι οι οντότητες αυτές είναι ξεχωριστές και έχουν ειδική παθολογία που σχετίζεται με την κάθε μία. Μετά τη λήψη του ιστορικού και τη διενέργεια της αντικειμενικής εξέτασης, ο νευρολόγος θα πρέπει να λάβει υπ' όψιν όλες τις πιθανές εντοπίσεις μιας λοίμωξης και να σχηματίσει ανάλογα τη λίστα

της διαφορικής ανάγνωσής του. Όταν τελειώσει με το παραπάνω καθήκον, οι συνοδοί παράγοντες, όπως η χρονική πορεία, τα σχετιζόμενα ευρήματα, η έκθεση σε κάποιους παράγοντες και τα παρακλινικά ευρήματα μπορεί να βοηθήσουν στον περιορισμό της διαφορικής διάγνωσης, σε σχέση με τον πιθανώς ευθυνόμενο μικροοργανισμό. Η διαφορική διάγνωση στις λοιμώξεις του ΚΝΣ διαφέρει επίσης στην περίπτωση που η πιθανή λοίμωξη αποτελεί την κύρια αιτία προσέλευσης στο νοσοκομείο, σε αντίθεση με μια λοίμωξη που αποκτήθηκε εντός του νοσοκομείου¹⁵⁶. Οι περισσότερες λοιμώξεις του ΚΝΣ θα πρέπει να θεωρούνται ως νευρολογικά επείγοντα περιστατικά, οπότε η κατάλληλη θεραπεία θα πρέπει να ξεκινά όσο το δυνατό συντομότερα. Συχνή λοίμωξη στις μονάδες με νευρολογικά περιστατικά (από 5% έως περισσότερο από 20%) είναι η κοιλίτιδα προκαλούμενη από εξωτερική συσκευή κοιλίας. Οι ιατροί της πανεπιστημιακής μονάδας Λάρισσας από προσωπικό ενδιαφέρον μελέτησαν 121 ασθενείς που έφεραν εξωτερική συσκευή κοιλίας εκ των οποίων οι 21 εμφάνισαν κοιλίτιδα λόγω αυτής (19%). Αυτό συνδέθηκε με αυξημένη διάρκεια στη ΜΕΘ. Μέση παραμονή 40 ημέρες σημείωσαν οι ασθενείς που ανέπτυξαν κοιλίτιδα και μέση παραμονή 15 ημέρες αυτοί που δεν εμφάνισαν κοιλίτιδα. Άλλος λόγος είναι η παρατεταμένη ακινησία. Η θνησιμότητα της άγγιξε το 33,8%. Η κοιλίτιδα οφειλόταν κυρίως σε *Acinetobacter baumannii* και *Klebsiella*. Η μελέτη αυτή δεν δημοσιευτηκε, παρέμεινε στα αρχεία της μονάδας.

2.6.6 ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΤΟΥ ΚΕΝΤΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗ

Οι λοιμώξεις του κεντρικού νευρικού συστήματος με gram αρνητικά βακτήρια οφείλονται κυρίως σε *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*. Κανονικά οι λοιμώξεις αυτές αντιμετωπίζονται με καρβαπενέμες, όπου είναι και η θεραπεία εκλογής διότι παρουσιάζουν υψηλή διείσδυση στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Παρά ταύτα, παγκοσμίως, υπάρχει αύξηση της ανθεκτικότητας αυτών των βακτηρίων στις καρβαπενέμες¹⁵⁷. Πολλές φορές το πολυανθεκτικό *Acinetobacter baumannii* παρουσιάζει ανθεκτικότητα σε όλα τα διαθέσιμα παρεντερικά αντιβιοτικά εκτός από την αμικασίνη, ή οποία παρουσιάζει φτωχή διείσδυση στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό και κατά την μορφοποίηση της σε άλας νατρίου δεν είναι κατάλληλη για ενδορραχιαία και ενδοκοιλιακή χρήση. Σε μελέτη με τρεις ασθενείς απέτυχε η αμικασίνη να αντιμετωπίσει τη λοίμωξη παρά το θετικό in

in vitro αποτέλεσμα¹⁵⁸. Η νέα γλυκυλκυκλική τικκεκυκλίνη, ενεργή in vitro εναντίον του *Acinetobacter baumannii*, είναι βακτηριοστατική και ο ρόλος της στο κεντρικό νευρικό σύστημα αδιευκρίνιστος¹⁵⁹. Μέχρι τώρα τρία είναι τα διαθέσιμα αντιβιοτικά κατάλληλα για ενδοκοιλιακή χορήγηση: Βανκομυκίνη, γενταμυκίνη και κολιστίνη. Η λινεζολίδη έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς σαν συστηματική θεραπεία σε τέτοιες περιπτώσεις αλλά αυτό το αντιβιοτικό δεν έχει βακτηριοκτόνο δράση και η παρατεταμένη χρήση αυξάνει το κίνδυνο ανεπιθύμητων ενεργειών¹⁶⁰. Πρόσφατα σημειώθηκε η ενδοκοιλιακή χρήση της δαπτομυκίνης σαν αποτελεσματική θεραπεία ασθενών με κοιλίτιδα εξωτερικής συσκευής οφειλόμενη σε εντερόκοκκο¹⁶¹. Έτσι η χρήση κολιστίνης αποτελεί πολλές φορές την θεραπευτική επιλογή-λύση. Συχνά το 90% των κόκκων *Acinetobacter spp.* εμφανίζουν ευαισθησία στην κολιστίνη (MIC στο 90% των απομονωθέντων που αντιμετωπίστηκαν ήταν μικρότερο από 2 µg/ml). Η *Pseudomonas Aeruginosa* παραμένει ένας οργανισμός με υψηλή αντίσταση και υψηλή ικανότητα να αποκτήσει προσαρμοστική αντίσταση κατά τη διάρκεια της θεραπείας^{162,163}. Σχετικά με ενδοφλέβια χορήγηση κολιστίνης για αντιμετώπιση λοιμώξεων του κεντρικού νευρικού συστήματος έχουν γίνει αρκετές μελέτες δείχνοντας θετική έκβαση των λοιμώξεων. Σε αναφορά ενός περιστατικού άντρας 55 ετών με απομονωθέν *Acinetobacter baumannii* από το εγκεφαλονωτιαίο υγρό, ανθεκτικό σε καρβαπενέμες και άλλα β-λακταμικά αντιβιοτικά, μετά από ενδοφλέβια χορήγηση κολιστίνης είχε θετική έκβαση και αντιμετώπιση της λοίμωξης¹⁶⁴. Σε μελέτη πέντε ασθενών που έπασχαν από μηνιγγίτιδα οφειλόμενη σε *Acinetobacter baumannii* ανθεκτικό σε αμινογλυκοσίδες, κεφαλοσπορίνες, κινολόνες, πενικιλίνες, μονοβακτάμες, ιμιπενέμες αντιμετωπίστηκαν με μόνο ενδοφλέβια κολιστίνη και όχι ενδορραχιαία και είχαν πολύ καλή έκβαση¹⁶⁵. Σε μελέτη 14 ασθενών που έπασχαν από διάφορες λοιμώξεις *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* και *Klebsiella pneumoniae* μετά από ενδοφλέβια χορήγηση, θετική κλινική ανταπόκριση έδωσε το 78,6% των ασθενών¹⁶⁶. Πολλές περιπτώσεις βακτηριακής μηνιγγίτιδας δεν μπορούν πάντα να αντιμετωπιστούν με τη συνηθισμένη ενδοφλέβια αγωγή κολιστίνης. Οι ασθενείς με μηνιγγίτιδα με πολυανθεκτικούς gram-αρνητικούς κόκκους μπορούν να αντιμετωπιστούν με ενδορραχιαία/ενδοκοιλιακή χορήγηση μεθανοσουλφονικής κολιστίνης (δόσεις που έχουν καταγραφεί στη βιβλιογραφία είναι 1,6-20mg/ημέρα είτε εφάπαξ είτε διαιρεμένες) ή συνδυασμό ενδοφλέβιας και ενδορραχιαίας χορήγησης¹⁶⁷. Η ενδοφλέβια αγωγή επίσης μπορεί να προκαλέσει νεφροτοξικότητα, ενώ η ενδορραχιαία όχι¹⁶⁷. Η απευθείας ενστάλλαξη κολιστίνης

στον εγκέφαλο σύμφωνα με μια μελέτη μπορεί να προκαλέσει αλλαγή των παραγόντων φλεγμονής και αύξηση των λευκοκυττάρων στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ασηπτική ή χημική μηνιγγίτιδα)¹⁶⁸. Δευτερογενής επιληψία οφειλόμενη σε ενδορραχιαία χορήγηση δόσης 8 mg παρατηρήθηκε σε μία μελέτη¹⁶⁸. Σε αυτή την περίπτωση είτε διακόπτεται η χορήγηση κολιστίνης από την συγκεκριμένη οδό είτε μειώνεται η δόση της απευθείας χορήγησης στον εγκέφαλο¹⁶⁸. Μέχρι το 2000 δεν υπήρχαν δημοσιευμένα δεδομένα για ενδοκοιλιακή/ενδορραχιαία χορήγηση κολιστίνης. Σε μια δημοσιευμένη αναφορά περιστατικού ασθενούς με μηνιγγίτιδα οφειλόμενη σε πολυανθεκτικά gram αρνητικά βακτήρια η χορήγηση ενδορραχιαίως/ενδοκοιλιακώς κολιστίνης (5mg/ημέρα για την πρώτη ημέρα και μετά 10mg/ημέρα για 21 ημέρες) ήταν επιτυχής. Οι συγγραφείς επιπλέον συμπεραίνουν ότι σε τέτοιες περιπτώσεις μηνιγγίτιδας που οφείλονται σε πολυανθεκτικά βακτήρια, η ενδορραχιαία/ενδοκοιλιακή χορήγηση αποτελεί αποτελεσματική εναλλακτική λύση¹⁶⁹. Σε άλλη μελέτη περιστατικού δύο ασθενών με μηνιγγίτιδα οφειλόμενη σε πολυανθεκτική *Pseudomonas aeruginosa* μετά από νευροχειρουργική επέμβαση συμπεραίνεται ότι η ενδορραχιαία χορήγηση κολιστίνης (στο συγκεκριμένο 10mg/ημέρα) αποτελεί ασφαλή και αποτελεσματική θεραπευτική επιλογή για την πολυανθεκτική ψευδομονάδα¹⁷⁰. Σε άλλη μελέτη περιστατικού ενός 16χρόνου που έπασχε από κοιλίτιδα οφειλόμενη σε ψευδομονάδα, η χορήγηση ενδορραχιαίας κολιστίνης (5mg/ημέρα για 21 ημέρες) ήταν αποτελεσματική¹⁷¹. Σε μία μελέτη επτά περιστατικών, όλων με λοιμώξεις του κεντρικού νευρικού συστήματος οφειλόμενες σε ακινητοβακτηρίδιο, ο θεραπευτικός συνδυασμός ενδοκοιλιακής και ενδοφλέβιας χορήγησης φάνηκε ασφαλής και αποτελεσματικός¹⁷² και μάλιστα η κλινική και μικροβιολογική απάντηση στη θεραπεία ήταν 83% και 92% αντίστοιχα. Όταν η μεθανοσουλφονική κολιστίνη χορηγείται από τοπική οδό σε ασθενείς με συνεχή παροχέτευση εγκεφάλου, προτείνουν δόση κολιστίνης 10mg κάθε 12 ώρες με περιστασιακές διακοπές παροχέτευσης εγκεφάλου. Σε ένα άλλο περιστατικό κοιλίτιδας από *Pseudomonas aeruginosa* η οποία έδειξε μέτρια ευαισθησία στην αμικασίνη και ανθεκτικότητα στα άλλα αντιβιοτικά, αφού απέτυχε η θεραπεία με ενδοφλέβια ιμιπενέμη καθώς και με ενδοφλέβια και ενδορραχιαία αμικασίνη, ο ασθενής αντιμετωπίστηκε επιτυχώς με ενδοφλέβια και ενδορραχιαία κολιστίνη¹⁷³. Σε μελέτη περιστατικού 24χρονης με υψηλό πυρετό αγνώστου αιτιολογίας, υδροκέφαλο και αλλαγή στη διανοητική κατάσταση, η χορήγηση εμπειρικής αντιβιοτικής θεραπείας δεν επέφερε βελτίωση. Από το εγκεφαλονωτιαίο υγρό απομονώθηκε

πολυανθεκτική *Klebsiella pneumoniae*. Ακολούθησε θεραπεία επτά ημερών με ενδορραχιαία κολιστίνη και το εγκεφαλονωτιαίο υγρό που εξετάστηκε ήταν στείρο¹⁷⁴. Σε μελέτη πέντε ασθενών η άμεση ενστάλλαξη κολιστίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό αποτέλεσε αποτελεσματική θεραπευτική επιλογή για λοιμώξεις με gram αρνητικά βακτήρια. Παρά ταύτα όπως αναφέρουν οι συγγραφείς η χορήγηση αυτή μπορεί να προκαλέσει ασηπτική μηνιγγίτιδα (χημική) ή κοιλίτιδα¹⁷⁵. Σε μελέτη περιστατικού γυναίκας 61 ετών με μηνιγγίτιδα από πολυανθεκτικό *Acinetobacter* απέτυχαν οι υψηλές δόσεις μεροπενέμης και σουλβακτάμης ενώ ο συνδυασμός ενδοφλέβιας και ενδοκοιλιακής κολιστίνης για 28 ημέρες έφερε θετικά αποτελέσματα¹⁷⁶. Σε μελέτη περιστατικού 23χρονης με πολυανθεκτικό ακινετοβακτηρίδιο απέτυχε η θεραπεία με ιμιπενέμη και σιπροφλοξασίνη ενώ η χορήγηση ενδοφλέβιας κολιστίνης σε συνδυασμό με ενδοκοιλιακή κολιστίνη 125.000 μονάδων δύο φορές ημερησίως για τρεις εβδομάδες απέφερε θετική κλινική έκβαση¹⁷⁷. Μελέτη παιδιατρικού περιστατικού βρέφους 2 μηνών με κοιλίτιδα από πολυανθεκτικό ακινετοβακτηρίδιο αντιμετωπίστηκε με συνδυαστική χορήγηση ενδοφλέβιας και ενδοκοιλιακής κολιστίνης¹⁷⁸.

2.6.7 ΕΠΙΠΕΔΑ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΕΝΥ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΝΔΟΦΛΕΒΙΑ Η ΕΝΔΟΡΡΑΧΙΑΙΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗ.

Είναι γνωστό ότι τα επίπεδα αντιβιοτικών στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό είναι ένας σημαντικός προγνωστικός παράγοντας στη θεραπεία λοιμώξεων του ΚΝΣ. Αυτά τα επίπεδα πρέπει συχνά να ξεπερνούν κατά πολύ την ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) για πολλούς οργανισμούς ώστε να είναι αποτελεσματικά. Αυτό που έχει επίσης παρατηρηθεί είναι ότι πολλοί θάνατοι μπορούν να προβλεφθούν από πρώιμη διάγνωση και θεραπεία της κοιλίτιδας με ενδοκοιλιακώς χορηγούμενα αντιβιοτικά όταν γνωρίζουμε τα επίπεδα τους στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό.

Αρκετές μελέτες έχουν γίνει με ασθενείς που πάσχουν από μηνιγγίτιδα οφειλόμενη σε *Acinetobacter baumannii* οι οποίες έδειξαν θετικά αποτελέσματα μετά από χορήγηση μεθανοσουλφονικής κολιστίνης όπως προαναφέρθηκε. Υπήρχαν υποψίες ότι η κολιστίνη παρουσιάζει φτωχή διείσδυση στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό λόγω πολυκατιοντικής δομής και υψηλού μοριακού βάρους και ότι η φλεγμονή των μηνίγγων δεν την αυξάνει¹⁷⁹. Παρά ταύτα δεν υπάρχουν μελέτες στις οποίες μετρήθηκαν τα επίπεδα κολιστίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό μετά από ενδοφλέβια

χορήγηση κολιστίνης με εξαίρεση μία αναφορά περιστατικού. Πρόσφατη δημοσιευμένη μελέτη περιστατικού ασθενούς με μηνιγγίτιδα οφειλόμενη σε *Acinetobacter baumannii* έδειξε ότι 1.000.000 μονάδες κολιστίνης ενδοφλεβίως κάθε 6 ώρες έδωσαν ικανοποιητική διείσδυση στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό και μάλιστα η συγκέντρωση κολιστίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό αγγίζει το 25% της συγκέντρωσης του ορού μετά από ενδοφλέβια χορήγηση¹⁸⁰. Ανεπιθύμητες ενέργειες δεν παρουσιάστηκαν και η κολιστίνη ήταν καλώς ανεκτή.

Μετά από απευθείας χορήγηση κολιστίνης στον εγκέφαλο (ενδορραχιαία/ενδοκοιλιακή) δεν έχουν μετρηθεί ως τώρα επίπεδα κολιστίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό και δεν έχουν γίνει συγκρίσεις επιπέδων με αυτά του ορού.

3. ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η μεθανοσουλφονική κολιστίνη (CMS) χρησιμοποιείται για αντιμετώπιση σοβαρών λοιμώξεων από gram αρνητικούς μικροοργανισμούς, κυρίως έναντι *P. Aeruginosa*, *K. Pneumonia*, *A. Baumannii* για λοιμώξεις αναπνευστικού και κεντρικού νευρικού συστήματος σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς με ποικίλο βαθμό νεφρικής λειτουργίας. Η χορήγηση της μπορεί να γίνει ενδοφλέβια, ενδοκοιλιακά και με νεφροποίηση. Παρόλο που η χρήση της επεκτείνεται είναι ελάχιστα τα φαρμακοκινητικά της δεδομένα στα διάφορα βιολογικά υγρά (εγκεφαλονωτιαίο υγρό, κυψελιδικό επιθηλιακό υγρό) που θεωρούνται περιοχές των παραπάνω λοιμώξεων. Επίσης, η κατάλληλη δόση και κατάλληλη διάρκεια θεραπείας του αντιμικροβιακού στους ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια δεν έχουν διευκρινιστεί πλήρως. Με βάση τα πιο πάνω ο σκοπός της διδακτορικής διατριβής ήταν να πραγματοποιηθούν ερευνητικά πρωτόκολλα προκειμένου να εμπλουτίσουμε τις γνώσεις μας ως προς τη φαρμακοκινητική συμπεριφορά της κολιστίνης (η δραστική μορφή του CMS) σε διάφορα βιολογικά υγρά και διάφορες κρίσιμες παθολογικές καταστάσεις. Μελετήσαμε το ποσοστό διείσδυσης της κολιστίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό μετά από ενδοφλέβια χορήγηση και μετά από ενδοκοιλιακή χορήγηση σε ασθενείς με ή χωρίς φλεγμαίνουσες μήνιγγες. Ερωτηματικά υπήρχαν αν μετά από ενδοφλέβια χορήγηση εμφανίζεται κολιστίνη στο πνευμονικό κυψελιδικό υγρό ώστε να αντιμετωπιστούν λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος. Γι'αυτό μετρήσαμε επίπεδα κολιστίνης στο πνευμονικό κυψελιδικό υγρό και τα συγκρίναμε με τα αντίστοιχα επίπεδα στον ορό. Επίσης, προκειμένου να απαντήσουμε στην αποτελεσματικότητα της χορήγησης εισπνεόμενης CMS σε λοιμώξεις αναπνευστικού όπως η πνευμονία και η τραχειοβρογχίτιδα, μελετήσαμε τα επίπεδα στον ορό μετά από χορήγηση του φαρμάκου με νεφροποίηση μόνο ή σε συνδυασμό με ενδοφλέβια χορήγηση. Για χρόνια υπάρχει το δίλημμα αν στους ασθενείς με μέτρια αλλά σταθερή νεφρική ανεπάρκεια, στους ασθενείς με σαφή νεφρική δυσλειτουργία και στους ασθενείς που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης νεφρικής λειτουργίας χρειάζεται τροποποίηση του δοσολογικού σχήματος. Είναι απαραίτητο να μειώνονται οι δόσεις και να αυξάνονται τα μεσοδιαστήματα; Γι' αυτό τον λόγο αναπτύχθηκαν τρία πρωτόκολλα για τους συγκεκριμένους υποπληθυσμούς και μελετήσαμε την επίδραση της μειωμένης νεφρικής λειτουργίας στα επίπεδα της κολιστίνης και στην επίτευξη αποτελεσματικών φαρμακοδυναμικών παραμέτρων.

4. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΥΓΡΑ

4.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΟΝ ΟΡΟ

4.1.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Στις μελέτες που θα ακολουθήσουν χορηγήθηκε μεθανοσουλφονική κολιστίνη (CMS) είτε ενδοφλεβίως είτε ενδοκοιλιακώς είτε με νεφελοποίηση. Όπως προαναφέρθηκε η μεθανοσουλφονική κολιστίνη αποτελεί ανενεργό προφάρμακο το οποίο *in vivo* και *in vitro* μετατρέπεται στην ενεργή μορφή κολιστίνης (κολιστίνη Α, κολιστίνη Β). Με την υδρόλυση της δίνει ένα πολύπλοκο μείγμα μερικώς μεθανοσουλφοποιημένων παραγώγων και την κολιστίνη (κολιστίνη Α, κολιστίνη Β). Αναφέρεται ότι τα μερικώς μεθανοσουλφοποιημένα παράγωγα μπορούν να φτάσουν σε αριθμό μέχρι και τα 32 ενώ δεν διαθέτουν αντιβακτηριακή δραστηριότητα. Στη παρούσα μελέτη προσδιορίστηκαν μόνο τα επίπεδα της ενεργής μορφής του φαρμάκου (κολιστίνη Α και κολιστίνη Β).

Η αναλυτική μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση επιπέδων κολιστίνης στα βιολογικά υλικά των ασθενών ήταν η μέθοδος των Li et al¹³ όπως τροποποιήθηκε από τους Ratjen et al²¹. Στη παρούσα μελέτη έγιναν δύο επιπλέον τροποποιήσεις. Συγκεκριμένα οι Ratjen et al χρησιμοποίησαν κινητή φάση αποτελούμενη από ακετονιτρίλιο, μεθανόλη, τετραϋδοφουράνιο και νερό σε αναλογία 78,85/9,6/3,85/7,7 (όγκος/όγκος/όγκος%), ενώ εμείς χρησιμοποίησαμε κινητή φάση ακετονιτρίλιο, τετραϋδοφουράνιο, νερό σε αναλογία 80/7,5/12,5. Οι Ratjen et al χρησιμοποίησαν στήλη Luna (Phenomenex) C18, (150 x 4,6mm, διάμετρος σωματιδίων 5μm) ενώ στη παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε στήλη Symmetry (Waters, USA) C 18, (250 x 4,6mm, διάμετρος σωματιδίων 5 μm).

Συνοπτικά η μέθοδος αυτή περιλαμβάνει προσθήκη εσωτερικού προτύπου σε καθορισμένη ποσότητα ορού δείγματος ασθενούς, καθίζηση πρωτεϊνών με όξινο αντιδραστήριο και φυγοκέντρηση, μεταφορά του υπερκείμενου σε στήλες εκχύλισης στερεάς φάσης (Solid Phase Extraction S.P.E), αντίδραση παραγωγοποίησης με αντιδραστήριο φθορισμού, έκλουση των παραγώγων από τις στήλες και υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης αντιστρόφου φάσεως (reversed-phased high performance liquid chromatography, HPLC) με ανιχνευτή φθορισμού.

Είναι αξιοσημείωτο ότι η κολιστίνη είναι ένα μόριο που δεν φθορίζει με αποτέλεσμα να είναι απαραίτητη η μετατροπή της σε ένα μόριο που φθορίζει ώστε να προσδιορίζεται φθορισμομετρικά. Αυτό επιτυγχάνεται με την αντίδρασή της με περίσσεια ενός αντιδραστήριου φθορισμού. Η χημική ονομασία του αντιδραστήριου αυτού είναι 9-fluoronylmethyl chloroformate (9-φλουορενομεθυλο-χλωροφορμικό οξύ) και αντιδρά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος με πρωτοταγείς και δευτεροταγείς αμινομάδες σχηματίζοντας σταθερά παράγωγα ικανά να φθορίζουν. Η κολιστίνη βάση διαθέτει 5 ελεύθερες πρωτοταγείς αμινομάδες που αντιδρούν με το αντιδραστήριο φθορισμού.

4.1.2 ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ

4.1.2.1 Οργανολογία

- Αναλυτικός ζυγός Kern 770, Kern & Sohn GmbH (Albstadt, Germany)
- Πεχάμετρο Schott, model CG842 (Mainz, Germany)
- Σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης αποτελούμενο από αντλία Spectra Physics 8800 και ανιχνευτή φθορισμού
- Φυγόκεντρος Universal II, D-7200 Hettich Zentrifugen (Tuttlingen, Germany).
- Συσκευή ανάδευσης με περιδίνηση, Heidolph reax top (Germany)
- Συσκευή κενού VacMaster Sample Processing Station (I.S.T., International Sorbent Technology, Hengoed Mid Glamorgan U.K).
- Σύστημα εξάτμισης με ρεύμα αζώτου Techne Dri-Block[®] DB3 sample Concentrator

4.1.2.2 Υλικά και συνθήκες

Στήλη HPLC:

Στήλη SYMMETRY (Waters, USA) C 18, (250 × 4,6mm, 5 μm)

Στήλες εκχύλισης στερεάς φάσης (solid phase extraction, S.P.E., cartridges)

Στήλες C 18, 100mg όγκου 1ml για εκχύλιση στερεάς φάσης, Isolute (I.S.T., International Sorbent Technology, Hengoed Mid Glamorgan U.K)

Αντιδραστήρια και χημικές ουσίες:

- ❖ Ακετονιτρίλιο, βαθμού καθαρότητας HPLC, E. Merck (Darmstadt, Germany)
- ❖ Μεθανόλη, βαθμού καθαρότητας HPLC, E. Merck (Darmstadt, Germany)
- ❖ Τετραϋδοφουράνιο, βαθμού καθαρότητας HPLC, Lab Scan (Dublin, Ireland)
- ❖ Νερό, βαθμού καθαρότητας HPLC, προερχόμενο από συσκευή Labconco® water pro ps. System (Kansas City, Missouri, USA).
- ❖ Ακετόνη, βαθμού καθαρότητας HPLC, Lab Scan (Dublin, Ireland)
- ❖ Υδροξείδιο του νατρίου, (NaOH, αναλυτικού βαθμού καθαρότητας), Panreac Quimica (Barcelona, Spain).
- ❖ Τριφθοροοξικό οξύ, F₃C-COOH 99% Merck KgaA (Darmstadt, Germany).
- ❖ Όξινο ανθρακικό νάτριο, NaHCO₃ 99.7% Panreac Quimica (Barcelona, Spain).
- ❖ Αντιδραστήριο φθορισμού FMOC-CL (9-fluorenylmethyl chloroformate) 98% Acros Organics (New Jersey, USA)
- ❖ Βορικό οξύ, H₃BO₃ 99.8% Panreac Quimica (Barcelona, Spain).
- ❖ Διμεθυλοσουλφοξείδιο, DMSO 99.9% Merck KgaA (Darmstadt, Germany).

Αναλώσιμα:

Πλαστικά σωληνάκια πολυπροπυλενίου όγκου 1.5 ml τύπου Eppendorf

Γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες διαστάσεων 16x100 mm

Πρότυπη ουσία:

Θειική Κολιστίνη (πρότυπη ουσία) Alpharma ApS Denmark, LOT: A1690062. Σύμφωνα με την ευρωπαϊκή Φαρμακοποιία (European Pharmacopoeia, Ph. Eur.) η περιεκτικότητα μιας παρτίδας θειικής κολιστίνης καθορίζεται ως το επί τοις 100 περιεχόμενο του αθροίσματος των κολιστινών E1, E2, E3, E1-Ισολευκίνη (E1-Ile) και E1-7 μεθυλοοκτανοϊκό οξύ (E1-7 MOA) που μετρώνται με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) ως βάσεις. Το ελάχιστο περιεχόμενο των παραπάνω πολυμυξινών όπως καθορίζεται από την Ευρωπαϊκή Φαρμακοποιία και υπολογίζεται σε σχέση με την ξηρά ουσία παρουσιάζεται στον πίνακα 4.1. Οι μόνες πολυμυξίνες που μετρώνται ξεχωριστά είναι η E3, η E1-Ile και η E1-7MOA. Αυτό συμβαδίζει τόσο με την Αμερικάνικη (U.S.P) όσο και με την Ευρωπαϊκή Φαρμακοποιία. (Ph. Eur).

Πίνακας 4.1.1 : Ελάχιστο περιεχόμενο πολυμυξινών από Ευρωπαϊκή Φαρμακοποιία

ΠΟΛΥΜΥΞΙΝΕΣ	ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ (%)
E1+E2+E1-IIe+E1-7MOA	Όχι λιγότερο από 77,7 %
E1-IIe	Όχι περισσότερο από 10,0 %
E1-7MOA	Όχι περισσότερο από 10,0 %
E3	Όχι περισσότερο από 10,0 %
Κύρια Πρόσμιξη	Όχι περισσότερο από 4,0 %
Συνολικά σχετικές ουσίες	Όχι περισσότερο από 23,0 %

Σκεύασμα Μεθανοσουλφονικής Κολιστίνης

Το σκεύασμα της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης (CMS) που χρησιμοποιήθηκε στους ασθενείς ήταν της εταιρίας NORMA- ΕΛΛΑΣ το οποίο κυκλοφορεί μόνο στα νοσοκομεία σε φιαλίδια των 75mg που αντιστοιχούν σε 1.000.000 Διεθνείς Μονάδες (International units, IU). Για το συγκεκριμένο σκεύασμα 1mg μεθανοσουλφονικής κολιστίνης αντιστοιχεί σε 13.333 Διεθνείς Μονάδες.

Εσωτερικό Πρότυπο

Θευική νετιλμικίνη: Schering Plough, LOT :05-07

Αποθήκευση βιολογικών δειγμάτων μετά την δειγματοληψία

Τα λαμβανόμενα δείγματα βιολογικών δειγμάτων τοποθετήθηκαν σε πάγο προκειμένου να μεταφερθούν άμεσα στο εργαστήριο όπου γινόταν ψυχόμενη φυγοκέντρηση (3500g για 10 λεπτά, 4 °C), λήψη υπερκείμενου και φύλαξη αυτού στους - 70 °C. Η άμεση μεταφορά του δείγματος ήταν επιτακτική ανάγκη διότι υπάρχει πρόβλημα σταθερότητας. Η μεθανοσουλφονική κολιστίνη παρουσιάζεται ασταθής τόσο in vitro όσο και in vivo. Το ποσοστό της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης που μετατρέπεται σε κολιστίνη στο πλάσμα στους 37 °C είναι 60-80%. Η υδρόλυση είναι άμεση αφού σε λιγότερο από μια ώρα έχει μετατραπεί το 10%. Το ποσοστό της κολιστίνης A και της κολιστίνης B που παραμένει στο πλάσμα σε θερμοκρασία 37 °C μετά από 24 ώρες είναι 80% και 95%.

Χρωματογραφικές συνθήκες:

Οι συνθήκες στο εργαστήριο (θερμοκρασία, ανανέωση αέρα) ήταν οι ενδεδειγμένες και παρέμεναν σταθερές καθ' όλη τη διάρκεια της ανάλυσης.

Κινητή φάση:

Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελείτο από ακετονιτρίλιο, τετραϋδοφουράνιο και νερό σε αναλογία 80/7,7/12,3 όγκος/όγκος/όγκος. Στη συνέχεια η κινητή φάση διηθήθηκε δύο φορές υπό κενό με μικροπορώδες φίλτρο (Millipore) για την απομάκρυνση τυχόν σωματιδίων σκόνης, αιωρούμενων σωματιδίων και αέρα.

Ταχύτητα ροής και βρόγχος:

Η ταχύτητα ροής της κινητής φάσης κατά τη διάρκεια του χρωματογραφικού προσδιορισμού ήταν 1.0 ml/min ενώ ο βρόγχος που χρησιμοποιούνταν ήταν χωρητικότητας όγκου 20 μ L.

Ανιχνευτής:

Η ανίχνευση της κολιστίνης έγινε με τη βοήθεια του αντιδραστηρίου φθορισμού 9-fluorenylmethyl chloroformate αφού μετατράπηκε σε φθορίζον παράγωγο. Το ίδιο ισχύει και για την νετιλμικίνη. Ο φθορισμομετρικός ανιχνευτής ρυθμίστηκε σε μήκος κύματος διέγερσης 260 νανόμετρα (nm) και μήκος κύματος εκπομπής 316 nm.

Παρασκευή διαλυμάτων:

Διάλυμα παρακαταθήκης θειικής κολιστίνης :

Για τη παρασκευή του παραπάνω διαλύματος ακολουθήθηκαν τα παρακάτω βήματα: ζύγιση 0,100 g πρότυπης ουσίας (θειικής κολιστίνης), παραλαβή της με μικρό όγκο νερού σε ογκομετρική φιάλη χωρητικότητας όγκου 100 mL και συμπλήρωση μέχρι τη χαραγή με νερό (διάλυμα παρακαταθήκης θειικής κολιστίνης, stock A, 1000 mg/L). Ακολούθησε έντονη ανακίνηση της και προσεχτική μεταφορά της σε ειδικό σκεύος ανθεκτικό σε ακραίες θερμοκρασίες φύλαξης. Το υδατικό διάλυμα της κολιστίνης (stock A) αποθηκεύθηκε σε θερμοκρασία -70.

Διάλυμα παρακαταθήκης θειικής νετιλμικίνης:

Για τη παρασκευή του παραπάνω διαλύματος ακολουθήθηκαν τα παρακάτω βήματα: ζύγιση 0,05 g εσωτερικού προτύπου (νετιλμικίνης), παραλαβή του με μικρό όγκο νερού σε ογκομετρική φιάλη χωρητικότητας όγκου 100 mL και συμπλήρωση μέχρι τη χαραγή με νερό (διάλυμα παρακαταθήκης θειικής νετιλμικίνης). Ακολούθησε έντονη ανακίνηση της και προσεχτική μεταφορά της σε ειδικό σκεύος ανθεκτικό σε ακραίες θερμοκρασίες φύλαξης. Το υδατικό διάλυμα της νετιλμικίνης (stock A, 500 mg/L) αποθηκεύθηκε σε θερμοκρασία -70.

Διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) 10%

Ζυγίστηκαν 10 γραμμάρια στερεού υδροξειδίου του νατρίου, μεταφέρθηκαν με τη βοήθεια νερού σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml και ακολούθησε συμπλήρωση με νερό μέχρι τα 2/3 περίπου της φιάλης. Το θερμό διάλυμα λόγω της εξώθερμης αντίδρασης αφέθηκε να ψυχθεί και κατόπιν έγινε πρόσθεση νερού μέχρι τη γραμμή. Τέλος από την ογκομετρική φιάλη το διάλυμα μεταφέρθηκε σε πλαστικό μπουκάλι πολυαιθυλενίου για να αποφευχθεί η προσρόφηση του NaOH στο γυαλί.

Ρυθμιστικό διάλυμα όξινου ανθρακικού νατρίου (NaHCO₃) 1% pH 10

Ζυγίστηκε 1 γραμμάριο όξινου ανθρακικού νατρίου, μεταφέρθηκε με μικρό όγκο νερού σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml και στη συνέχεια συμπληρώθηκε ο όγκος με νερό μέχρι τη γραμμή. Το διάλυμα αυτό ρυθμίστηκε σε pH 10 με την προσθήκη διαλύματος NaOH 10% και με τη βοήθεια του πεχάμετρου.

Διάλυμα βορικού οξέος 0,2M (H₃BO₃)

Ζυγίστηκαν 1,24 γραμμάρια βορικού οξέος, μεταφέρθηκαν με μικρό όγκο νερού σε ογκομετρική φιάλη των 100ml και συμπληρώθηκε ο όγκος με νερό μέχρι τη χαραγή. Για την πλήρη διάλυση το διάλυμα μπήκε για λίγο στη συσκευή υπερήχων.

Διάλυμα αντιδραστηρίου φθορισμού FMOC-CL (9-fluorenylmethyl chloroformate) 50 mM

Ζυγίστηκαν 0,13 γραμμάρια αντιδραστηρίου, μεταφέρθηκαν με μικρό όγκο ακετονιτριλίου σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml και συμπληρώθηκε ο όγκος με ακετονιτρίλιο μέχρι τη γραμμή.

Παρασκευή διαλυμάτων εργασίας (working solutions) για προσδιορισμό κολιστίνης στον ορό:

Παρασκευάζονταν καθημερινά πέντε διαλύματα εργασίας κολιστίνης με μεταφορά με πιπέτα ακριβείας από το διάλυμα παρακαταθήκης θειικής κολιστίνης (stock A) σε καθεμία από έξι ογκομετρικές φιάλες χωρητικότητας όγκου 10 mL των παρακάτω όγκων: 125 μ L, 250 μ L, 500 μ L, 750 μ L, 1000 μ L και 1250 μ L. Ακολούθησε συμπλήρωση μέχρι τη χαραγή του όγκου με νερό HPLC. Για την παρασκευή διαλύματος εργασίας εσωτερικού προτύπου προστέθηκε από το αντίστοιχο διάλυμα παρακαταθήκης 200 μ l σε ογκομετρική φιάλη των 10ml και συμπλήρωση μέχρι τη χαραγή με νερό HPLC οπότε προέκυψε διάλυμα εργασίας εσωτερικού προτύπου συγκέντρωσης 10mg/ml. Τα διαλύματα αυτά δεν αποθηκεύοντουσαν αλλά παρασκευάζονταν κάθε μέρα. Η προτεινόμενη θερμοκρασία φύλαξης τους είναι 20^oC.

- ✓ Όλα τα διαλύματα αποθηκεύτηκαν στους 4 ^oC μέχρι να χρησιμοποιηθούν.

4.1.3 ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ

Σύμφωνα με τη μέθοδο ανάλυσης σε πλαστικό σωληνάκι πολυπροπυλενίου όγκου 1,5 ml τύπου Ependorff προστέθηκαν 250 μ l εμβολιασμένου δείγματος ορού ή άλλου βιολογικού υλικού (εγκεφαλονωτιαίο υγρό, διήθημα, πνευμονικό κυψελιδικό υγρό) ή δείγματος ορού ασθενούς ή δείγματος άλλου βιολογικού υλικού ασθενούς, 50 μ l εσωτερικού προτύπου (θειική νετιλμικίνη 10 mg/L σε νερό) και 50 μ l τριφθοροοξεικού οξέος 50 %. Ακολούθησε ανακίνηση 30'' με vortex και φυγοκέντρηση για 10 λεπτά στους 5 ^oC στα 5700 rpm. Στη συνέχεια όλο το υπερκείμενο διάλυμα μεταφέρθηκε σε στήλη εκχύλισης στερεάς φάσης (100 mg, C 18, 1 ml) η οποία είχε προηγουμένως ενεργοποιηθεί πρώτα με 1 ml μεθανόλης και μετά είχε ρυθμιστεί σε pH 10 με ρυθμιστικό διάλυμα όξινου ανθρακικού νατρίου 1 %. Τα βήματα αυτά πραγματοποιήθηκαν με τη βοήθεια κενού (I.S.T Vacuum Master) χωρίς να επιτραπεί στις στήλες να στεγνώσουν. Αφού πέρασε το υπερκείμενο από τη στήλη και προσδέθηκε η κολιστίνη στη σίλικα άλλο 1 ml ρυθμιστικού διαλύματος NaHCO₃ pH 10 προστέθηκε και το κενό παρέμεινε ανοιχτό έτσι ώστε να στεγνώσει η στήλη. Κατόπιν η ροή του κενού διακόπηκε και προστέθηκαν 60 μ l αντιδραστηρίου φθορισμού FMOC-CL 50mM σε κάθε στήλη. Σημαντικό είναι σε αυτό το σημείο να αναφερθεί ότι η προσθήκη αυτού του όγκου έγινε πολύ αργά και σταγόνα-σταγόνα

από ειδική πιπέτα ρυθμισμένη στα 60 μl έτσι ώστε κάθε σταγόνα να απορροφηθεί πλήρως και ομοιόμορφα από τη μάζα της σίλικα, να μην σχηματιζόταν μηνίσκος στην επιφάνεια της και να γινόταν όσο το δυνατό καλύτερα η αντίδραση παραγωγοποίησης. Αφού έγινε αυτό ακολούθησαν 15 λεπτά για την πραγματοποίηση της αντίδρασης. Στη συνέχεια προστέθηκαν 2 ml διαλύματος ακετονιτριλίου/νερού σε αναλογία 70/30 και ανοίχτηκε το κενό μέχρι να στεγνώσουν για άλλη μια φορά οι στήλες. Μετά έγινε έκλυση των παραγώγων με 1 ml ακετόνης και εξάτμιση των δειγμάτων σε ρεύμα αζώτου θερμοκρασίας 30 $^{\circ}\text{C}$. Τέλος η ανασύσταση πραγματοποιήθηκε με 200 μl διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO) και 300 μl βορικού οξέος 0,2 M. Από αυτό το διάλυμα 50 μl ενέθηκαν στην HPLC. Υπενθυμίζεται ότι η ανίχνευση των παραγώγων της κολιστίνης και της νετιλμικίνης έγινε σε μήκος κύματος διέγερσης 260 nm και εκπομπής 316 nm.

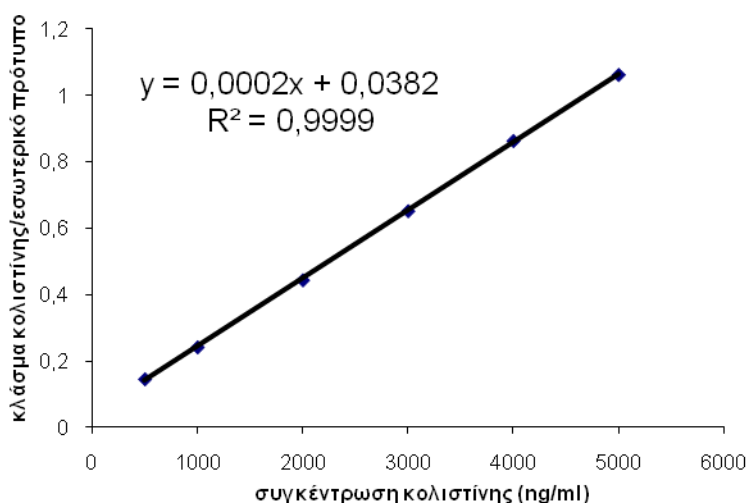
4.1.3.1 Κατασκευή καμπύλης αναφοράς

Κάθε εργαστηριακή ημέρα συνοδευόταν από τη πραγματοποίηση καμπύλης αναφοράς. Η κατασκευή της καμπύλης αναφοράς στον ορό περιλάμβανε έξι σημεία τα οποία αντιστοιχούσαν σε συγκεντρώσεις κολιστίνης 500 ng/ml, 1000 ng/ml, 2000 ng/ml, 3000 ng/ml, 4000 ng/ml, 5000 ng/ml. Αυτό πραγματοποιήθηκε με την προσθήκη 10 μl από κάθε ένα από τα διαλύματα εργασίας της κολιστίνης σε 240 μL ορού οπότε προέκυπταν εμβολιασμένα δείγματα βιολογικού υλικού των ανάλογων συγκεντρώσεων και όγκου 250 μl το καθένα. Σε καθένα από τα παραπάνω εμβολιασμένα δείγματα ακολουθούσε προσθήκη 50 μL από το διάλυμα εργασίας της νετιλμικίνης και 50 μl διαλύματος τριφθοροοξεικού οξέος. Ακολούθησε ανακίνηση 30'' με vortex και φυγοκέντρηση για 10 λεπτά στους 5 $^{\circ}\text{C}$ στα 5700 rpm. Στη συνέχεια ακολούθησε εκχύλιση στερεάς φάσης, αντίδραση παραγωγοποίησης πάνω στις στήλες εκχύλισης στερεάς εκχύλισης, έκλυση των παραγώγων, εξάτμιση σε ρεύμα αζώτου με θέρμανση και ανασύσταση με διάλυμα διμεθυλοσουλφοξειδίου και βορικού οξέος ώστε να προκύψει τελικός όγκος 500 μl . Κατόπιν έγιναν ένεσεις στην HPLC.

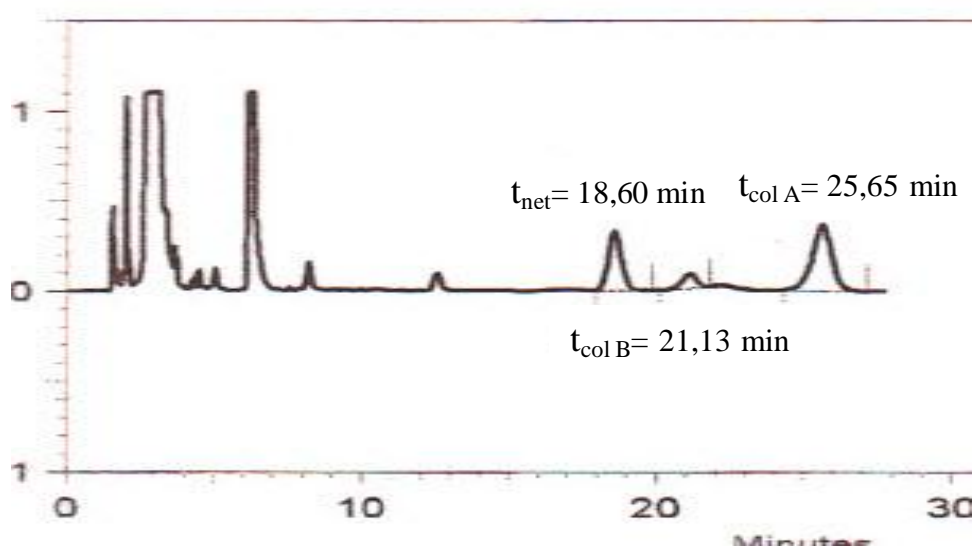
4.1.3.2 Γραμμικότητα και επαναληψιμότητα καμπύλων αναφοράς

Η καμπύλη αναφοράς περιλάμβανε τα εξής σημεία 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 ng/ml (έξι σημεία) και η ποσοτικοποίηση έγινε με χρήση του λόγου του

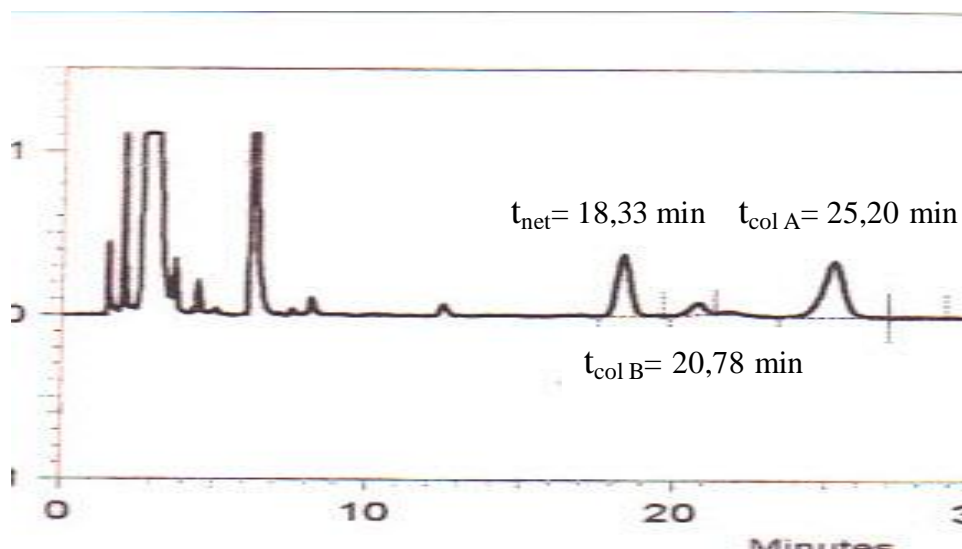
αθροίσματος των επιφανειών των κορυφών της κολιστίνης A και της κολιστίνης B προς την επιφάνεια της κορυφής του εσωτερικού προτύπου (νετιλμικίνη). Στο εύρος συγκεντρώσεων 500-5000 ng/mL για τον ορό η γραμμικότητα ήταν ικανοποιητική ($R^2=0,9999$) και επέτρεπε την ανάλυση βιολογικών δειγμάτων ορού (σχήμα 4.1.1, Χρωματογράφημα 4.1.1, Χρωματογράφημα 4.1.2).



Σχήμα 4.1.1: Καμπύλη αναφοράς σε ανθρώπινο ορό με συγκεντρώσεις κολιστίνης εμβολιασμένων δειγμάτων 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000ng/mL.



Χρωματογράφημα 4.1.1: Αναλυτικός προσδιορισμός με γρήγη χρωματογραφία υψηλής απόδοσης εμβολιασμένου δείγματος ορού (3000 ng/ml) με προσθήκη εσωτερικού προτύπου (1670 ng/ml), net:νετιλμικίνη, col B: κολιστίνη B, col A: κολιστίνη A.



Χρωματογράφημα 4.1.2: Αναλυτικός προσδιορισμός με γρήγη χρωματογραφία υψηλής απόδοσης δείγματος ασθενούς ορού με προσθήκη εσωτερικού προτύπου 1670 (ng/ml), net: νετιλμικίνη, col B: κολιστίνη B, col A: κολιστίνη A.

Συγκρίθηκαν τα χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς κολιστίνης στον ορό διαφορετικών εργαστηριακών ημερών (n=4) και μετά από στατιστική επεξεργασία των εξισώσεων των καμπυλών αναφοράς με χρήση του paired students test (πίνακας 4.2) προέκυψε ότι αυτές δεν διέφεραν σημαντικά και οι διαφορές μεταξύ τους οφείλονταν σε τυχαία και όχι συστηματικά σφάλματα. Το όριο εμπιστοσύνης που χρησιμοποιήθηκε ήταν 95% (πιθανότητα σφάλματος τύπου α μικρότερη του 0,05).

Ο συντελεστής συσχέτισης στις συγκεκριμένες εξισώσεις παλινδρόμησης ήταν ικανοποιητικός ($r^2 > 0,9998$, πίνακας 4.1.2).

Πίνακας 4.1.2: στατιστική επεξεργασία κλίσης και τομής καμπυλών αναφοράς

Εξισώσεις παλινδρόμησης	Κλίση \pm τυπικό σφάλμα	Τομή \pm τυπικό σφάλμα	Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης
1	$0.0002 \pm 1,09 \times 10^{-6}$	0.0381 ± 0.0033	0.9999
2	$0.0002 \pm 1,13 \times 10^{-5}$	0.0509 ± 0.0317	0.9998
3	$0.0003 \pm 1,03 \times 10^{-6}$	0.0372 ± 0.0032	0.9998
4	$0.0002 \pm 1,23 \times 10^{-5}$	0.0387 ± 0.0047	0.9999

4.1.3.3 Εκλεκτικότητα και ειδικότητα

Υπολογίσαμε τη διαχωριστική ικανότητα (resolution, R_s) στον ορό από το αντίστοιχο χρωματογράφημα με εφαρμογή της σχέσης

$$\text{Resolution} = 2 * t_{R2} - t_{R1} / (W_1 + W_2)$$

Όπου resolution είναι το μέγεθος που εκφράζει τη διαχωριστική ικανότητα, t_{R1} και t_{R2} είναι ο χρόνος έκλουσης για τις κορυφές κολιστίνης A και εσωτερικού προτύπου αντίστοιχα, ενώ W_1 και W_2 είναι το εύρος των κορυφών της κολιστίνης A και του εσωτερικού προτύπου αντίστοιχα.

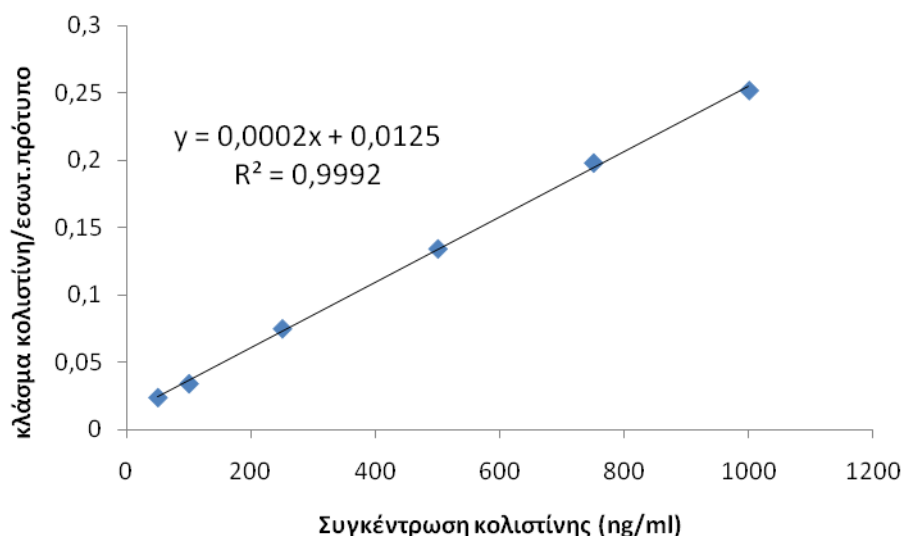
Η διαχωριστική ικανότητα υπολογίστηκε στα 1.53. Όπως άλλωστε είναι φανερό και από το χρωματογράφημα, οι κορυφές εσωτερικού προτύπου και κολιστίνης A είναι πλήρως διαχωρισμένες.

Όμοια resolution είναι το μέγεθος που εκφράζει τη διαχωριστική ικανότητα, t_{R1} και t_{R2} είναι ο χρόνος έκλουσης για τις κορυφές κολιστίνης B και εσωτερικού προτύπου αντίστοιχα, ενώ W_1 και W_2 είναι το εύρος των κορυφών της κολιστίνης B και του εσωτερικού προτύπου αντίστοιχα.

Η διαχωριστική ικανότητα υπολογίστηκε στα 1.03. Όπως άλλωστε είναι φανερό και από το χρωματογράφημα, οι κορυφές εσωτερικού προτύπου και κολιστίνης B είναι διαχωρισμένες.

4.1.3.4 Όριο ανίχνευσης και όριο ποσοτικοποίησης

Πραγματοποιήθηκαν καμπύλες αναφοράς έξι σημείων στο κατώτερο τμήμα της καμπύλης αναφοράς που πραγματοποιείται καθημερινά κατά το προσδιορισμό των δειγμάτων ορού των ασθενών. Το εύρος των συγκεκριμένων καμπυλών για τον ορό ήταν από 50ng/mL έως 1000 ng/mL και περιελάμβαναν τα σημεία: 50, 100, 250, 500, 750 και 1000ng/mL (σχήμα 4.1.2). Η γραμμικότητα ήταν ικανοποιητική ($R^2=0,9992$).



Σχήμα 4.1.2: Καμπύλη αναφοράς σε ανθρώπινο ορό με εύρος συγκεντρώσεων 50-1000 ng/mL για τη κολιστίνη και συγκέντρωσης 830 ng/mL για το εσωτερικό πρότυπο με σκοπό το προσδιορισμό του ορίου ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης

Μετά από επεξεργασία των παραπάνω στοιχείων με Ανάλυση Διασποράς υπολογίστηκε τόσο το όριο ανίχνευσης όσο και το όριο ποσοτικοποίησης. Για τον υπολογισμό του ορίου ανίχνευσης (LOD-Limit of detection) χρησιμοποιήθηκε η σχέση:

$$\text{LOD} = 3.3 s_{y/x} / b$$

και για τον υπολογισμό του ορίου ποσοτικοποίησης (LOQ-Limit of quantification) χρησιμοποιήθηκε η σχέση

$$\text{LOQ} = 10 s_{y/x} / b$$

όπου b είναι η κλίση της καμπύλης αναφοράς που κατασκευάστηκε, SD είναι η τυπική απόκλιση της απόκρισης και της οποίας η εκτιμήτρια μπορεί να είναι η τυπική απόκλιση των υπολοίπων $s_{y/x}$ που υπολογίζεται με τη σχέση $\text{SQR:MS}_{\text{residual}}$ και $\text{SQR:MS}_{\text{residual}}$ είναι η τετραγωνική ρίζα των μέσων τετραγώνων των υπολοίπων όπως προκύπτει από την ανάλυση διασποράς για τη γραμμική παλινδρόμηση.

Σύμφωνα με τα παραπάνω το όριο ανίχνευσης προσδιορίστηκε στα 64 ng/mL και το όριο ποσοτικοποίησης στα 106 ng/mL.

4.1.3.5 Επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα μεθόδου αναλυτικού προσδιορισμού (intra- and inter-assay variability)

Σε τρεις συνεχόμενες εργαστηριακές ημέρες πραγματοποιήθηκαν προσδιορισμοί δειγμάτων ορού εμβολιασμένων με κολιστίνη ώστε να επιτύχουμε συγκεντρώσεις 500, 2000 και 5000 ng/mL. Κάθε πρότυπο δείγμα παρασκευάστηκε εις τριπλούν. Ακόμα την ίδια ημέρα πραγματοποιήθηκε καμπύλη αναφοράς.

Ακολούθησε επεξεργασία των πειραματικών δεδομένων και υπολογίστηκε η επαναληψιμότητα και η αναπαραγωγιμότητα του αναλυτικού προσδιορισμού ως εξής:

Η επαναληψιμότητα ($CV_{\text{repeatability}}$) προσδιορίστηκε με βάση τη σχέση:

$$CV_{\text{repeatability}} = SD \times 100 / \text{mean}$$

όπου mean είναι ο μέσος όρος και SD (standard deviation) η τυπική απόκλιση των συγκεντρώσεων μετά την ποσοτικοποίηση στο σύνολο των ημερών εργασίας.

Η αναπαραγωγιμότητα ($CV_{\text{reproducibility}}$) προσδιορίστηκε με βάση τη σχέση :

$$CV_{\text{reproducibility}} = SD \times 100 / \text{mean}$$

όπου mean είναι ο μέσος όρος και SD (standard deviation) η τυπική απόκλιση των συγκεντρώσεων μετά την ποσοτικοποίηση καθεμιά από τις ημέρες εργασίας.

Η ακρίβεια (accuracy) της μεθόδου προσδιορίστηκε ως η μέση απόκλιση της προσδιοριζόμενης τιμής από τη πραγματική για τις τρεις εργαστηριακές ημέρες και για καθεμιά από τις τρεις συγκεντρώσεις 500, 2000 και 5000 ng/mL.

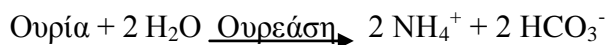
Τα αποτελέσματα των παραπάνω υπολογισμών παρουσιάζονται στο πίνακα 4.1.3

Πίνακας 4.1.3: Αποτελέσματα επαναληψιμότητας, αναπαραγωγιμότητας και ακρίβειας της μεθόδου για τρεις συνεχόμενες εργαστηριακές ημέρες και για τρεις γνωστές συγκεντρώσεις 500, 2000 και 5000 ng/mL (n=3)

Συγκεντρώσεις Κολιστίνης (ng/ml)	Επαναληψιμότητα (intra-assay variability)	Αναπαραγωγιμότητα (inter-assay variability)	Ακρίβεια (accuracy)
500	7.9%	2,2%	1.5%
2000	2.8%	6.2%	0.9%
5000	3.7%	4.9%	1.3%

4.1.4 ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΟΥΡΙΑΣ - ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ

Τα επίπεδα της ουρίας τόσο στα δείγματα ορού όσο και στα δείγματα βρογχοκυψελιδικού υγρού των ασθενών της μελέτης προσδιορίστηκαν με τη βοήθεια μιας ενζυματικής UV μεθόδου με τη χρήση της ουρεάσης και της γλουταμικής αφυδρογονάσης (GLDH) ως ενζυμικών υποστρωμάτων και τη μέτρηση της αλλαγής της οπτικής πυκνότητας του καταναλισκόμενου στην αντίδραση NADH με φωτομέτρηση στα 340 nm από λυχνία ξένου. Αναλυτικά οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα είναι οι ακόλουθες :



Η παραπάνω μέθοδος έχει αυτοματοποιηθεί στο βιοχημικό αναλυτή COBAS Mira Plus (ABX Diagnostics, Montpellier, France) με τον οποίο γίνεται σε βάση ρουτίνας ο προσδιορισμός στο αίμα της συγκέντρωσης ουρίας και άλλων βιοχημικών μορίων (π.χ κρεατινίνη, αλβουμίνη, χολερυθρίνη, χοληστερόλη, κ.α) με κλινική σημασία.

4.1.4.1 Αντιδραστήρια

Για τη βαθμονόμηση του αναλυτή χρησιμοποιήθηκε το προτεινόμενο για τον αναλυτή κιτ βαθμονόμησης (ABX Pentra Multical, Ref. A11A01652, ABX Diagnostics, Montpellier, France) που περιείχε έναν πρότυπο βαθμονομητή ουρίας συγκέντρωσης 96.0 mg/ml.

Για τον περιοδικό εσωτερικό έλεγχο ποιότητας χρησιμοποιήθηκε το προτεινόμενο για τον αναλυτή κιτ προτύπων ορού ελέγχου (ABX Pentra N Control, Ref. A11A01653, ABX Diagnostics, Montpellier France) με αποδεκτό εύρος τιμών ουρίας 34-46 mg/dl.

Για τη διενέργεια όλων των εξετάσεων ουρίας χρησιμοποιήθηκε το προτεινόμενο για τον αναλυτή κιτ αντιδραστηρίων ουρίας (ABX Pentra Urea CP, Ref.A11A01641, ABX Diagnostics, Montpellier, France).

Όλα τα ανωτέρω απαιτούμενα κιτ αντιδραστηρίων, πρότυπων βαθμονομητών και πρότυπων ορών ελέγχου του αναλυτή φυλάσσονταν σε ελεγχόμενες συνθήκες (2-8 °C) σύμφωνα με τις υποδείξεις του κατασκευαστή. Όλες οι αναλύσεις των δειγμάτων έγιναν σε συνθήκες σύμφωνες με τις υποδείξεις του κατασκευαστή (θερμοκρασία χώρου 15-32 °C και υγρασία max 80% στους 32 °C).

4.1.4.2 Διαδικασία προσδιορισμού των συγκεντρώσεων ουρίας στον ορό

Πριν την ανάλυση των δειγμάτων έγινε βαθμονόμηση του αναλυτή σύμφωνα με την κλασσική μεθοδολογία του κατασκευαστή και αποθηκεύτηκε μια καμπύλη βαθμονόμησης (calibration curve) η οποία έγινε αποδεκτή από τον αναλυτή αφού πέρασε επιτυχώς τον αυτόματο εσωτερικό έλεγχο ακριβείας και γραμμικότητας.

Στη συνέχεια τα δείγματα ορού των ασθενών της μελέτης τοποθετούνταν στη σειρά στην εσχάρα δειγμάτων (sample rack) του αναλυτή και οι συγκεντρώσεις ουρίας στον ορό προσδιορίζονταν σύμφωνα με την κλασσική διαδικασία που περιγράφεται στο εγχειρίδιο του παρασκευαστή. Με τη χρήση της εν λόγω κλασσικής μεθόδου είναι δυνατή η μέτρηση συγκεντρώσεων ουρίας στον ορό σε ένα εύρος 1.0 – 277.0 mg/dl το οποίο καλύπτει τις αναμενόμενες φυσιολογικές συγκεντρώσεις στο αίμα των ασθενών της μελέτης.

4.1.4.3 Προσδιορισμός συγκεντρώσεων ουρίας στο βρογχοκυψελιδικό υγρό

Δεδομένου ότι οι συγκεντρώσεις ουρίας στο βρογχοκυψελιδικό υγρό ανευρίσκονται στη χαμηλή περιοχή μετρήσιμων συγκεντρώσεων του αναλυτή (< 3.0 mg/dl), χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των Carcas et al η οποία επιτρέπει τον αξιόπιστο προσδιορισμό συγκεντρώσεων ουρίας στην παραπάνω περιοχή. Η μέθοδος είναι ουσιαστικά ίδια με την αντίστοιχη μέθοδο προσδιορισμού της ουρίας στον ορό με τη μόνη διαφορά ότι χρησιμοποιείται τριπλάσιος όγκος δείγματος για την ανάλυση (9 αντί 3 μ L). Η τροποποίηση αυτή επιτελείται μέσω αλλαγής του κλασσικού πρωτοκόλλου ανάλυσης της ουρίας στο λογισμικό του οργάνου και αμέσως μετά ο αναλυτής προχωρεί αυτόματα σε νέα βαθμονόμηση προκειμένου να αυξηθεί η ευαισθησία του στις χαμηλές συγκεντρώσεις. Κατόπιν η νέα καμπύλη βαθμονόμησης αποθηκεύτηκε στον αναλυτή αφού προηγουμένως πέρασε επιτυχώς τον αυτόματο εσωτερικό έλεγχο ακριβείας και γραμμικότητας.

Στη συνέχεια όλα τα δείγματα βρογχοκυψελιδικού υγρού των ασθενών της μελέτης τοποθετήθηκαν στην εσχάρα τοποθέτησης δειγμάτων του αναλυτή και οι συγκεντρώσεις ουρίας προσδιορίστηκαν εις διπλούν, λαμβάνοντας υπόψιν το μέσο όρο των δύο μετρήσεων.

4.1.4.4 Έλεγχος επαλήθευσης της αξιοπιστίας της μεθόδου

Προκειμένου να επαληθευτεί η αξιοπιστία της τροποποιημένης μεθόδου των Carcas et al στη χαμηλή περιοχή συγκεντρώσεων ουρίας, ο πρότυπος βαθμονομητής ουρίας (calibrator) με τιμή συγκέντρωσης 96.0 mg/dl αραιώθηκε κατάλληλα με διάλυμα φυσιολογικού ορού, δημιουργώντας 4 νέους πρότυπους ορούς ελέγχου συγκεντρώσεων 0.4, 0.8, 1.5 και 3.0 mg/dl ουρίας αντίστοιχα. Στη συνέχεια 6 δείγματα των 100 μ l από κάθε έναν από τους προαναφερθέντες πρότυπους ορούς ελέγχου μετρήθηκαν διαδοχικά στον αναλυτή δίνοντας τα αποτελέσματα στον πίνακα 4.1.4.

Πίνακας 4.1.4: Αποτελέσματα της μέσης τιμής, τυπικής απόκλισης (SD) και του συντελεστή μεταβλητότητας (CV) για τον έλεγχο επαλήθευσης της ακρίβειας και της επαναληπτικότητας της μεθόδου των *Carcas et al.*

Συγκέντρωση πρότυπου ορού ελέγχου ουρίας	n	Μέση τιμή	SD	CV%
0.40 mg/dl	6	0.37	0.05	14.1
0.80 mg/dl	6	0.83	0.08	9.8
1.5 mg/dl	6	1.57	0.10	6.6
3.00 mg/dl	6	3.08	0.15	4.8

Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα το όριο ποσοτικοποίησης της μεθόδου (L_Q) οριζόμενο ως η χαμηλότερη μετρήσιμη συγκέντρωση ουρίας με συντελεστή μεταβλητότητας (CV) μικρότερο του 15% θεωρήθηκε η τιμή συγκέντρωσης 0.40 mg/dl.

4.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΒΡΟΓΧΟΚΥΨΕΛΙΔΙΚΟ ΕΚΠΛΥΜΑ

Για τον προσδιορισμό επιπέδων κολιστίνης στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα (BAL) χρησιμοποιήθηκε ακριβώς η ίδια αναλυτική μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση επιπέδων κολιστίνης στον ορό των ασθενών όπως περιγράφεται στο αντίστοιχο κεφάλαιο. Η οργανολογία, τα υλικά, οι συνθήκες και η αναλυτική διαδικασία ήταν ακριβώς η ίδια.

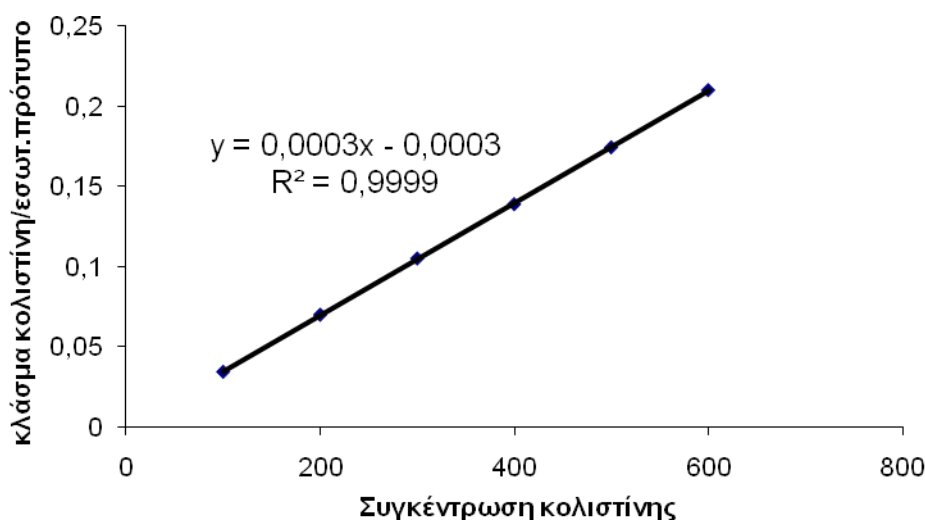
4.2.1 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΕΡΓΑΣΙΑΣ (WORKING SOLUTIONS) ΓΙΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΟ ΚΥΨΕΛΙΔΙΚΟ ΥΓΡΟ

Παρασκευάζονταν καθημερινά έξι διαλύματα εργασίας κολιστίνης με μεταφορά με πιπέττα ακριβείας από το διάλυμα παρακαταθήκης θειικής κολιστίνης (stock A) σε καθεμία από έξι ογκομετρικές φιάλες χωρητικότητας όγκου 10 mL των παρακάτω όγκων: 25μL, 50μL, 75μL, 100μL, 125μL και 150μL. Ακολούθησε συμπλήρωση μέχρι τη χαραγή του όγκου με νερό HPLC. Για την παρασκευή διαλύματος εργασίας εσωτερικού προτύπου προστέθηκε από το αντίστοιχο διάλυμα παρακαταθήκης 15μl σε ογκομετρική φιάλη των 10ml και συμπλήρωση μέχρι τη χαραγή με νερό HPLC.

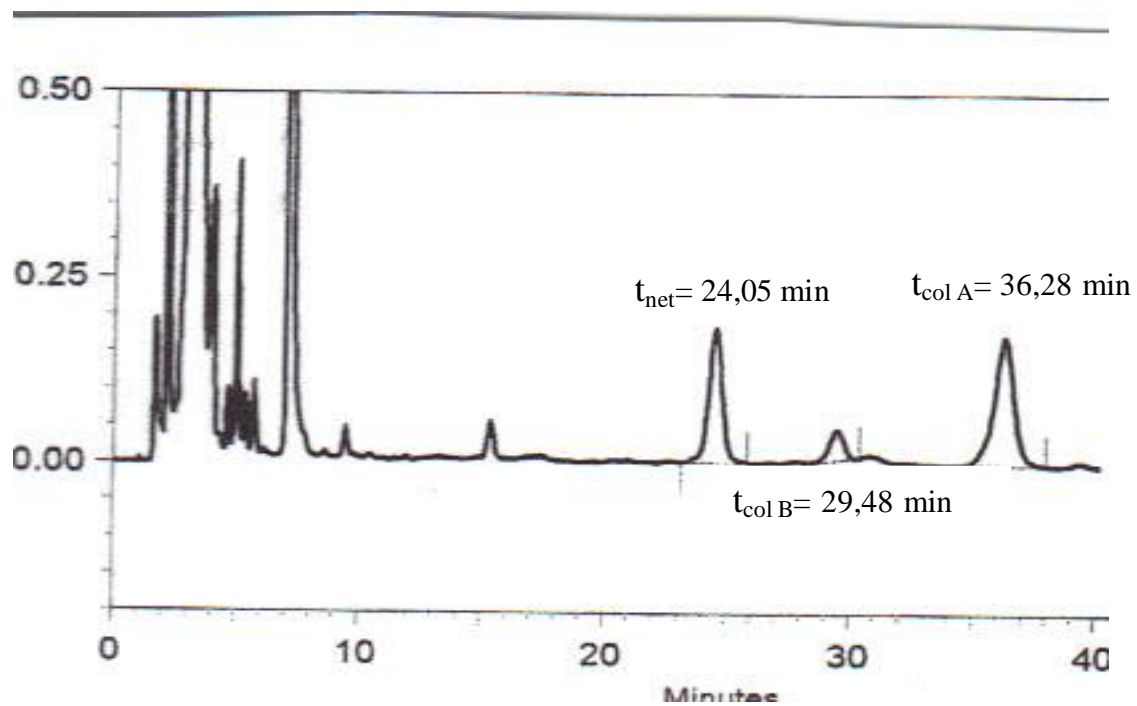
Τα διαλύματα αυτά δεν αποθηκεύοντουσαν αλλά παρασκευάζονταν κάθε μέρα. Η προτεινόμενη θερμοκρασία φύλαξης τους είναι -20°C .

4.2.2 ΚΑΜΠΥΛΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΣΤΟ ΒΡΟΓΧΟΚΥΨΕΛΙΔΙΚΟ ΕΚΠΛΥΜΑ ΓΡΑΜΜΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ ΚΑΜΠΥΛΩΝ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

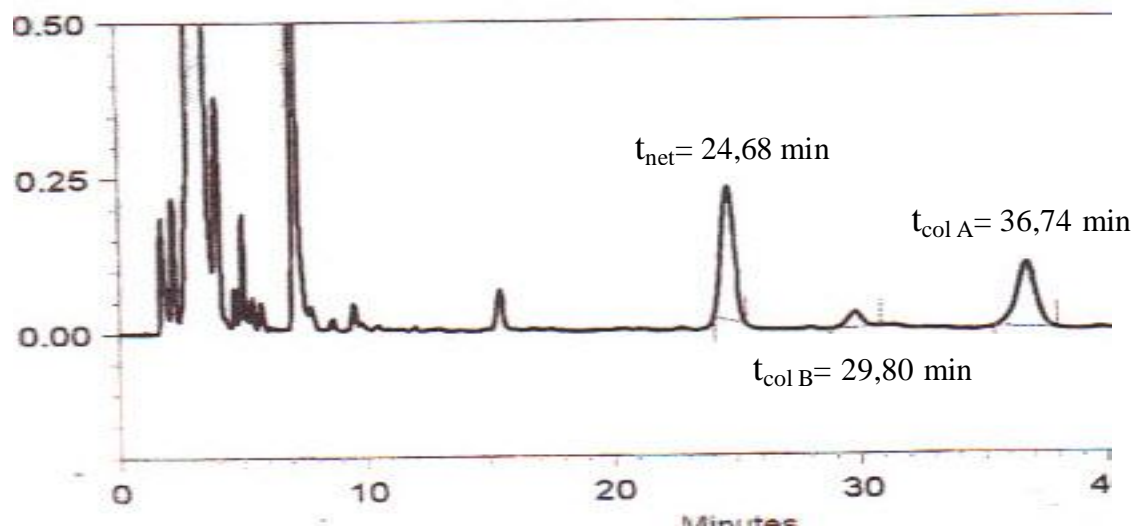
Με τον ίδιο τρόπο που παρασκευάστηκε η καμπύλη αναφοράς για τον προσδιορισμό κολιστίνης στον ορό παρασκευάστηκε και η καμπύλη αναφοράς για τον προσδιορισμό κολιστίνης στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα. Τα έξι σημεία της καμπύλης αντιστοιχούσαν στις συγκεντρώσεις 100 ng/ml, 200 ng/ml, 300 ng/ml, 400 ng/ml, 500 ng/ml, 600 ng/ml (έξι σημεία) και η ποσοτικοποίηση έγινε με χρήση του λόγου του αθροίσματος των επιφανειών των κορυφών της κολιστίνης Α και της κολιστίνης Β προς την επιφάνεια της κορυφής του εσωτερικού προτύπου. Στο εύρος συγκεντρώσεων 100-600 ng/mL για το βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα η γραμμικότητα ήταν ικανοποιητική ($R^2=0,9999$) και επέτρεπε την ανάλυση βιολογικών δειγμάτων βρογχοκυψελιδικού εκπλύματος (σχήμα 4.2.1, χρωματογράφημα 4.2.1, χρωματογράφημα 4.2.2). Τα διαλύματα εργασίας που απαιτούνται για την καμπύλη αυτή αναφέρονται παραπάνω.



Σχήμα 4.2.1: Καμπύλη αναφοράς στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα με συγκεντρώσεις κολιστίνης των εμβολιασμένων δειγμάτων 100, 200, 300, 400, 500, 600 ng/mL και εσωτερικού προτύπου (νετιλμικίνης) 500 ng/mL.



Χρωματογράφημα 4.2.1: Αναλυτικός προσδιορισμός με γρήγορη χρωματογραφία υψηλής απόδοσης εμβολιασμένου δείγματος βρογχοκυψελιδικού εκπλύματος με κολιστίνη (600 ng/mL) και προσθήκη εσωτερικού προτύπου (500 ng/mL), net: νετιλμικίνη, col B: κολιστίνη B, col A: κολιστίνη A.



Χρωματογράφημα 4.2.2: Αναλυτικός προσδιορισμός με γρήγορη χρωματογραφία υψηλής απόδοσης δείγματος ασθενούς βρογχοκυψελιδικού εκπλύματος με προσθήκη εσωτερικού προτύπου (500 ng/mL), net: νετιλμικίνη, col B: κολιστίνη B, col A: κολιστίνη A.

Συγκρίθηκαν τα χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς κολιστίνης στον ορό διαφορετικών εργαστηριακών ημερών (n=4) και μετά από στατιστική επεξεργασία των εξισώσεων των καμπύλων αναφοράς με χρήση του paired students test (πίνακας 4.2.1) προέκυψε ότι αυτές δεν διέφεραν σημαντικά και οι διαφορές μεταξύ τους οφείλονταν σε τυχαία και όχι συστηματικά σφάλματα. Το όριο εμπιστοσύνης που χρησιμοποιήθηκε ήταν 95% (πιθανότητα σφάλματος τύπου α μικρότερη του 0,05).

Ο συντελεστής συσχέτισης στις συγκεκριμένες εξισώσεις παλινδρόμησης ήταν ικανοποιητικός ($r^2 > 0,9992$, πίνακας 4.2.1).

Πίνακας 4.2.1:στατιστική επεξεργασία κλίσης και τομής καμπυλών αναφοράς

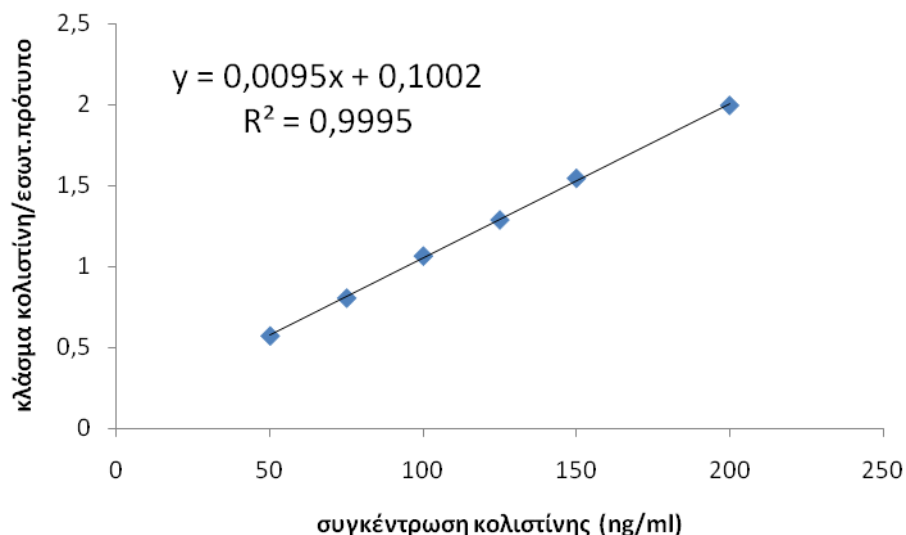
Εξισώσεις παλινδρόμησης	Κλίση \pm τυπικό σφάλμα	Τομή \pm τυπικό σφάλμα	Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης
1	$0.0009 \pm 1,19 \times 10^{-5}$	0.0689 ± 0.0046	0.9992
2	$0.0003 \pm 4,42 \times 10^{-6}$	0.0034 ± 0.0017	0.9999
3	$0.0004 \pm 3,55 \times 10^{-6}$	0.01239 ± 0.0013	0.9997
4	$0.0003 \pm 2,9 \times 10^{-6}$	0.0005 ± 0.0011	0.9995

4.2.3 ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Υπολογίσαμε τη διαχωριστική ικανότητα (resolution, R_s) στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα όπως στην παράγραφο 4.1.3.3 από το αντίστοιχο χρωματογράφημα 4.2.1. Η διαχωριστική ικανότητα της κολιστίνης Α από το εσωτερικό πρότυπο υπολογίζεται στα 1,55. Όμοια η διαχωριστική ικανότητα της κολιστίνης Β από το εσωτερικό πρότυπο υπολογίζεται στα 0,9.

4.2.4 ΟΡΙΟ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΟΡΙΟ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

Πραγματοποιήθηκαν καμπύλες αναφοράς έξι σημείων στο κατώτερο τμήμα της καμπύλης αναφοράς που πραγματοποιείται καθημερινά κατά το προσδιορισμό των δειγμάτων ορού των ασθενών. Το εύρος των συγκεκριμένων καμπυλών για το βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα ήταν από 50 ng/mL έως 200 ng/mL και περιελάμβαναν τα σημεία: 50, 75, 100, 125, 150 και 200 ng/mL (σχήμα 4.2.2). Η γραμμικότητα ήταν ικανοποιητική ($R^2 = 0,9995$).



Σχήμα 4.2.2: Καμπύλη αναφοράς σε βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα με εύρος συγκεντρώσεων 50-200 ng/mL για τη κολιστίνη και συγκέντρωσης 200 ng/mL για το εσωτερικό πρότυπο με σκοπό το προσδιορισμό του ορίου ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης

Μετά από επεξεργασία των παραπάνω στοιχείων με Ανάλυση Διασποράς υπολογίστηκε τόσο το όριο ανίχνευσης όσο και το όριο ποσοτικοποίησης όπως στην παράγραφο 4.1.3.4. Σύμφωνα με τα παραπάνω το όριο ανίχνευσης προσδιορίστηκε στα 27 ng/mL και το όριο ποσοτικοποίησης στα 90 ng/mL.

4.2.5 ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑ ΜΕΘΟΔΟΥ ΑΝΑΛΥΤΙΚΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

Σε τρεις συνεχόμενες εργαστηριακές ημέρες πραγματοποιήθηκαν προσδιορισμοί δειγμάτων βρογχοκυψελιδικού εκπλύματος εμβολιασμένων με μεθανοσουλφονική κολιστίνη ώστε να επιτυγχάνονται συγκεντρώσεις 100, 300 και 600 ng/mL. Κάθε πρότυπο δείγμα παρασκευάστηκε εις τριπλούν. Επίσης την ίδια ημέρα πραγματοποιήθηκε καμπύλη αναφοράς. Ακολούθησε επεξεργασία των πειραματικών δεδομένων και υπολογίστηκε η επαναληψιμότητα και η αναπαραγωγιμότητα όπως περιγράφεται στην παράγραφο 4.1.3.5. Η ακρίβεια (accuracy) της μεθόδου προσδιορίστηκε για τις τρεις εργαστηριακές ημέρες και για καθεμιά από τις τρεις συγκεντρώσεις 100, 300 και 600 ng/mL (παρ 4.1.3.5).

Τα αποτελέσματα των παραπάνω υπολογισμών παρουσιάζονται στο πίνακα 4.2.2.

Πίνακας 4.2.2: Αποτελέσματα επαναληψιμότητας, αναπαραγωγιμότητας και ακρίβειας της μεθόδου για τρεις συνεχόμενες εργαστηριακές ημέρες και για τρεις γνωστές συγκεντρώσεις 100, 300, 600 ng/mL (n=3)

Συγκεντρώσεις Κολιστίνης (ng/ml)	Επαναληψιμότητα (intra-assay variability)	Αναπαραγωγιμότητα (inter-assay variability)	Ακρίβεια (accuracy)
100	4,8	3,1	1,2
300	3,3	2,8	1.8
600	5,3	4,9	1.5

4.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΕΓΚΕΦΑΛΟΝΩΤΙΑΙΟ ΥΓΡΟ

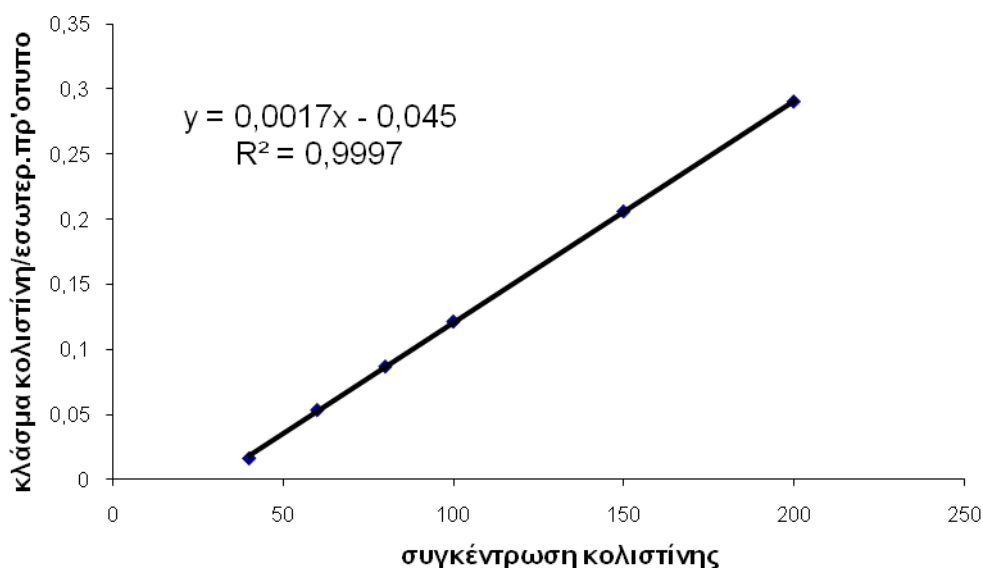
Για τον προσδιορισμό επιπέδων κολιστίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY) χρησιμοποιήθηκε ακριβώς η ίδια αναλυτική μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση επιπέδων κολιστίνης στον ορό. Η οργανολογία, τα υλικά, οι συνθήκες και η αναλυτική διαδικασία ήταν ακριβώς η ίδια.

4.3.1 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΕΡΓΑΣΙΑΣ (WORKING SOLUTIONS) ΓΙΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΕΓΚΕΦΑΛΟΝΩΤΙΑΙΟ ΥΓΡΟ

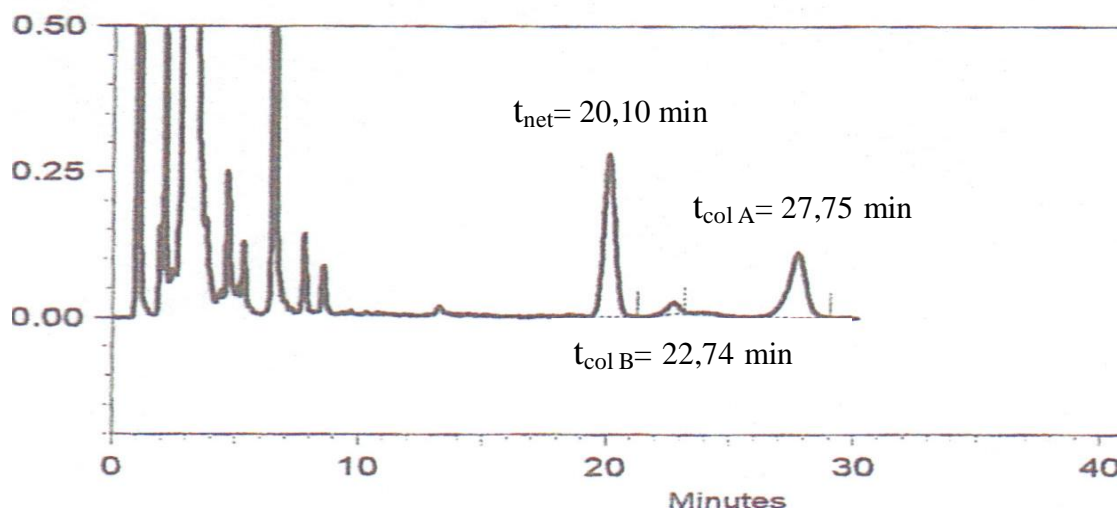
Για την ανάλυση των δειγμάτων εγκεφαλονωτιαίου υγρού του συγκεκριμένου ερευνητικού πρωτοκόλλου παρασκευάζονταν καθημερινά καμπύλη αναφοράς στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό εύρους συγκεντρώσεων 40-200 ng/mL. Έτσι παρασκευάζονταν καθημερινά έξι διαλύματα εργασίας θειϊκής κολιστίνης με μεταφορά με πιπέττα ακριβείας από το διάλυμα παρακαταθήκης θειϊκής κολιστίνης σε καθεμία από έξι ογκομετρικές φιάλες χωρητικότητας όγκου 10 mL των παρακάτω όγκων: 10μL, 15μL, 20μL, 25 μL, 37.5 μL και 50μL. Ακολούθησε συμπλήρωση μέχρι τη χαραγή του όγκου με νερό HPLC. Για την παρασκευή διαλύματος εργασίας εσωτερικού προτύπου προστέθηκε από το αντίστοιχο διάλυμα παρακαταθήκης 10μl σε ογκομετρική φιάλη των 10ml και συμπλήρωση μέχρι τη χαραγή με νερό HPLC. Τα διαλύματα αυτά δεν αποθηκευόντουσαν αλλά παρασκευάζονταν κάθε μέρα. Η προτεινόμενη θερμοκρασία φύλαξης τους είναι -20⁰C.

4.3.2 ΚΑΜΠΥΛΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΣΤΟ ΕΓΚΕΦΑΛΟΝΩΤΙΑΙΟ ΥΓΡΟ ΓΡΑΜΜΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ ΚΑΜΠΥΛΩΝ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

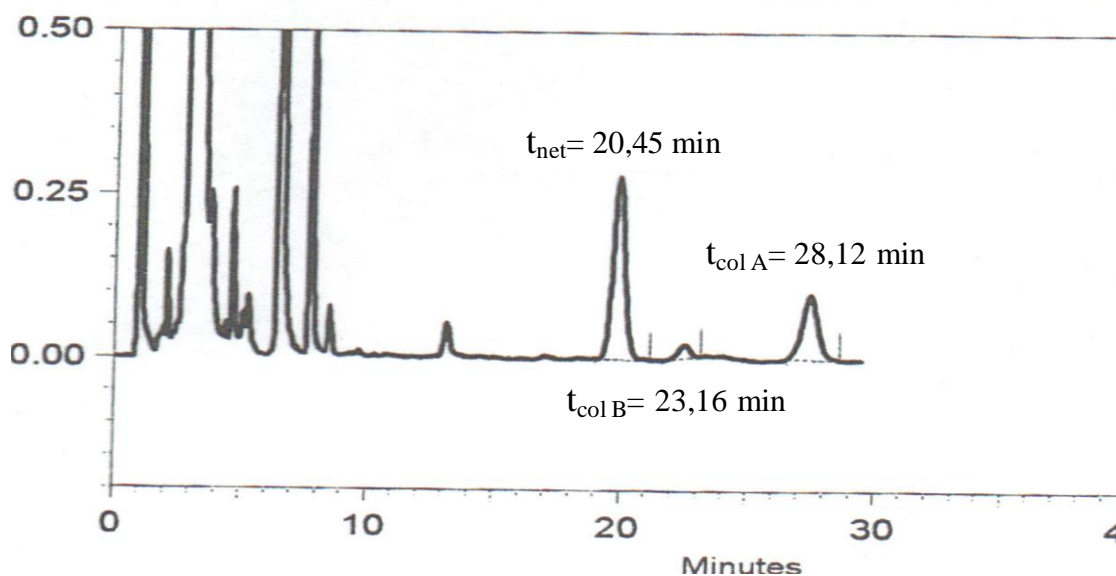
Με τον ίδιο τρόπο που παρασκευάστηκε η καμπύλη αναφοράς για τον προσδιορισμό κολιστίνης στον ορό παρασκευάστηκε και η καμπύλη αναφοράς για τον προσδιορισμό κολιστίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Η καμπύλη αναφοράς όμως περιλάμβανε τα εξής σημεία 40, 60, 80, 100, 150, 200 ng/ml (έξι σημεία) και η ποσοτικοποίηση έγινε με χρήση του λόγου της επιφάνειας της κορυφής της κολιστίνης προς την επιφάνεια της κορυφής του εσωτερικού προτύπου (νετιλμικίνη) σε σχέση με τη συγκέντρωση της (σχήμα 4.3.1, χρωματογράφημα 4.3.1, χρωματογράφημα 4.3.2). Στο εύρος συγκεντρώσεων 40-200 ng/mL για το εγκεφαλονωτιαίου υγρού η γραμμικότητα ήταν ικανοποιητική ($R^2=0,9997$).



Σχήμα 4.3.1: Καμπύλη αναφοράς στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό με συγκεντρώσεις κολιστίνης των εμβολιασμένων δειγμάτων 40, 60, 80, 100, 150, 200 ng/mL και εσωτερικού προτύπου (νετιλμικίνης) 200 ng/



Χρωματογράφημα 4.3.1: Αναλυτικός προσδιορισμός με γρήγορη χρωματογραφία υψηλής απόδοσης εμβολιασμένου δείγματος εγκεφαλονωτιαίου υγρού με κολιστίνη (200 ng/mL) και προσθήκη εσωτερικού προτύπου (200 ng/mL), net: νετιλμικίνη, col B: κολιστίνη B, col A: κολιστίνη A.



Χρωματογράφημα 4.3.2: Αναλυτικός προσδιορισμός με γρήγορη χρωματογραφία υψηλής απόδοσης δείγματος ασθενούς εγκεφαλονωτιαίου υγρού με κολιστίνη και προσθήκη εσωτερικού προτύπου (200 ng/mL), net: νετιλμικίνη, col B: κολιστίνη B, col A: κολιστίνη A.

Συγκρίθηκαν τα χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς κολιστίνης στον ορό διαφορετικών εργαστηριακών ημερών ($n=4$) και μετά από στατιστικά επεξεργασία των εξισώσεων των καμπυλών αναφοράς με χρήση του paired students test (πίνακας 6.1) προέκυψε ότι αυτές δεν διέφεραν σημαντικά και οι διαφορές μεταξύ τους οφείλονταν σε τυχαία και όχι συστηματικά σφάλματα. Το όριο εμπιστοσύνης που χρησιμοποιήθηκε ήταν 95% (πιθανότητα σφάλματος τύπου α μικρότερη του 0,05).

Ο συντελεστής συσχέτισης στις συγκεκριμένες εξισώσεις παλινδρόμησης ήταν ικανοποιητικός ($r^2 > 0,9963$, πίνακας 4.3.1).

Πίνακας 4.3.1: στατιστική επεξεργασία κλίσης και τομής καμπυλών αναφοράς

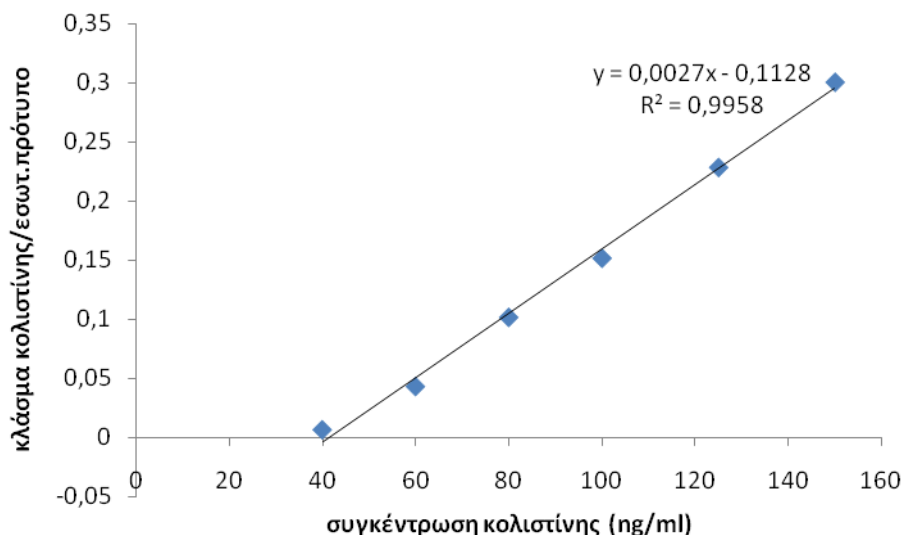
Εξισώσεις παλινδρόμησης	Κλίση \pm τυπικό σφάλμα	Τομή \pm τυπικό σφάλμα	Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης
1	$0,0045 \pm 8,59 \times 10^{-5}$	$0,5125 \pm 0,0101$	0,999
2	$0,0017 \pm 9,28 \times 10^{-6}$	$0,0496 \pm 0,0010$	0,9997
3	$0,0042 \pm 0,0001$	$0,1222 \pm 0,0184$	0,9963
4	$0,0020 \pm 4,43 \times 10^{-5}$	$0,0753 \pm 0,0052$	0,9982

4.3.3 ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Υπολογίσαμε πάλι τη διαχωριστική ικανότητα (resolution, R) στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό από το αντίστοιχο χρωματογράφημα 6.1 όπως αναλύεται στην παράγραφο 4.1.3.3. Η διαχωριστική ικανότητα της κολιστίνης Α από το εσωτερικό πρότυπο υπολογίζεται στα 1,57. Η διαχωριστική ικανότητα της κολιστίνης Β από το εσωτερικό πρότυπο υπολογίζεται στα 1.08.

4.3.4 ΟΡΙΟ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΟΡΙΟ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

Πραγματοποιήθηκαν καμπύλες αναφοράς έξι σημείων στο κατώτερο τμήμα της καμπύλης αναφοράς που πραγματοποιείται καθημερινά. Το εύρος των συγκεκριμένων καμπυλών για το εγκεφαλονωτιαίο υγρό ήταν από 40ng/mL έως 150 ng/mL και περιελάμβαναν τα σημεία: 40, 60, 80, 100, 125 και 150ng/mL (σχήμα 4.3.2). Η γραμμικότητα ήταν ικανοποιητική ($R^2 = 0,9958$).



Σχήμα 4.3.2: Καμπύλη αναφοράς σε εγκεφαλονωτιαίο υγρό με εύρος συγκεντρώσεων 40-150 ng/mL για τη κολιστίνη και συγκέντρωσης 150 ng/mL για το εσωτερικό πρότυπο με σκοπό το προσδιορισμό του ορίου ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης

Μετά από επεξεργασία των παραπάνω στοιχείων με Ανάλυση Διασποράς υπολογίστηκε τόσο το όριο ανίχνευσης στα 10 ng/mL όσο και το όριο ποσοτικοποίησης στα 31 ng/mL.

4.3.5 ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Σε τρεις συνεχόμενες εργαστηριακές ημέρες πραγματοποιήθηκαν προσδιορισμοί δειγμάτων ορού εμβολιασμένων με κολιστίνη συγκέντρωσης 40, 80 και 200 ng/mL. Κάθε πρότυπο δείγμα παρασκευάστηκε εις τριπλούν. Ακόμα την ίδια ημέρα πραγματοποιήθηκε καμπύλη αναφοράς. Ακολούθησε επεξεργασία των πειραματικών δεδομένων και υπολογίστηκε η επαναληψιμότητα και η αναπαραγωγιμότητα του αναλυτικού προσδιορισμού όπως προαναφέρθηκε στο κεφάλαιο 4.2.5. Η ακρίβεια της μεθόδου προσδιορίστηκε για τρεις εργαστηριακές ημέρες και για καθεμιά από τις τρεις συγκεντρώσεις 40, 80 και 200 ng/mL. Τα αποτελέσματα των παραπάνω υπολογισμών παρουσιάζονται στο πίνακα 4.3.2.

Πίνακας 4.3.2: Αποτελέσματα επαναληψιμότητας, αναπαραγωγιμότητας και ακρίβειας της μεθόδου για τρεις συνεχόμενες εργαστηριακές ημέρες και για τρεις γνωστές συγκεντρώσεις 40, 80 και 200 ng/mL (n=3)

Συγκεντρώσεις Κολιστίνης (ng/ml)	Επαναληψιμότητα (intra-assay variability)	Αναπαραγωγιμότητα (inter-assay variability)	Ακρίβεια (accuracy)
40	5,1	4,8	0,9
80	7,4	4,8	1,6
200	6,7	6,1	1,2

4.4 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΔΙΗΘΗΜΑ

4.4.1 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΕΡΓΑΣΙΑΣ (WORKING SOLUTIONS) ΓΙΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΔΙΗΘΗΜΑ

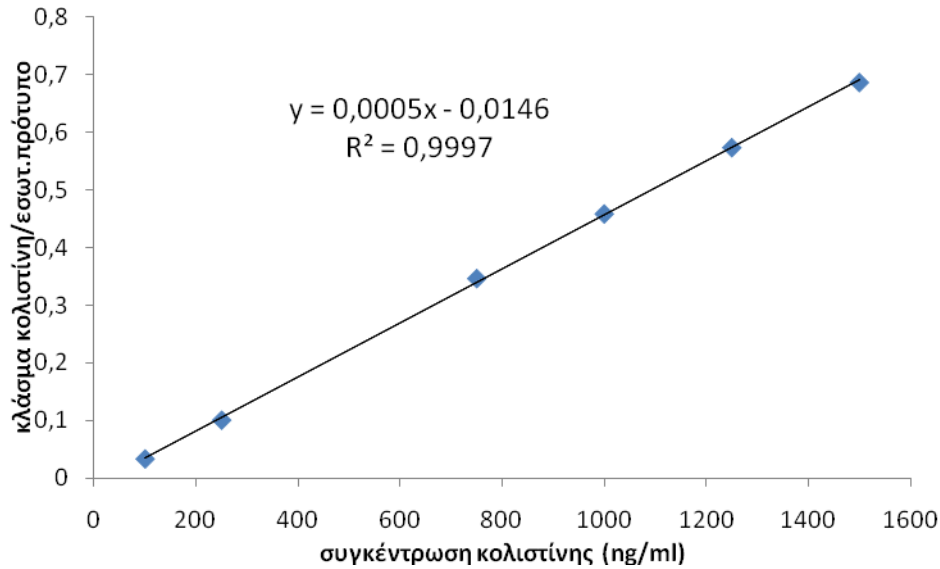
Παρασκευάζονταν καθημερινά πέντε διαλύματα εργασίας κολιστίνης με μεταφορά με πιπέττα ακριβείας από το διάλυμα παρακαταθήκης θεϊκής κολιστίνης σε καθεμία από πέντε ογκομετρικές φιάλες χωρητικότητας όγκου 10 mL των παρακάτω όγκων: 25μL, 62,5μL, 187,5μL, 250μL, 312,5μL και 375μL. Οι όγκοι αυτοί αφορούν την καμπύλη αναφοράς για το διήθημα. Ακολούθησε συμπλήρωση μέχρι τη χαραγή του όγκου με νερό HPLC. Για την παρασκευή διαλύματος εργασίας εσωτερικού προτύπου προστέθηκε από το αντίστοιχο διάλυμα παρακαταθήκης 25μl σε ογκομετρική φιάλη των 10ml και συμπλήρωση μέχρι τη χαραγή με νερό HPLC. Τα διαλύματα αυτά δεν αποθηκευόντουσαν αλλά παρασκευάζονταν κάθε μέρα. Η προτεινόμενη θερμοκρασία φύλαξης τους είναι -20°C.

Όμοια παρασκευάστηκε η καμπύλη αναφοράς για τον προσδιορισμό κολιστίνης για στο διήθημα. Τα έξι σημεία της καμπύλης αντιστοιχούσαν στις συγκεντρώσεις 100 ng/ml, 250 ng/ml, 750 ng/ml, 1000ng/ml, 1250 ng/ml, 1500 ng/ml. Τα διαλύματα εργασίας που απαιτούνται για την καμπύλη αυτή αναφέρονται παραπάνω.

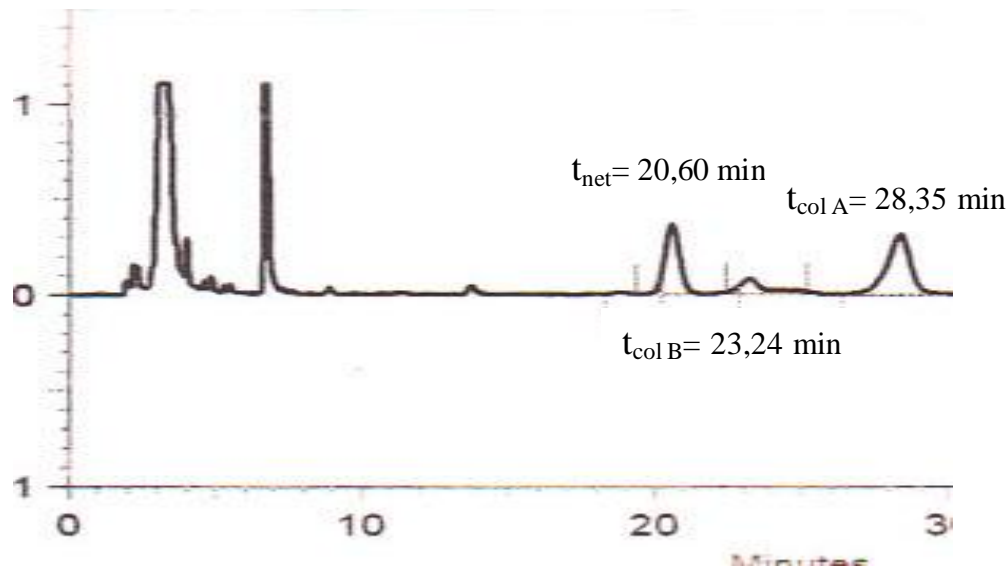
4.4.2 ΚΑΜΠΥΛΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΣΤΟ ΔΙΗΘΗΜΑ, ΓΡΑΜΜΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ ΚΑΜΠΥΛΩΝ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Η καμπύλη αναφοράς περιλάμβανε τα εξής σημεία 100, 250, 750, 1000, 1250, 1500 ng/ml (έξι σημεία) και η ποσοτικοποίηση έγινε με χρήση του λόγου της επιφάνειας της κορυφής της κολιστίνης προς την επιφάνεια της κορυφής του εσωτερικού

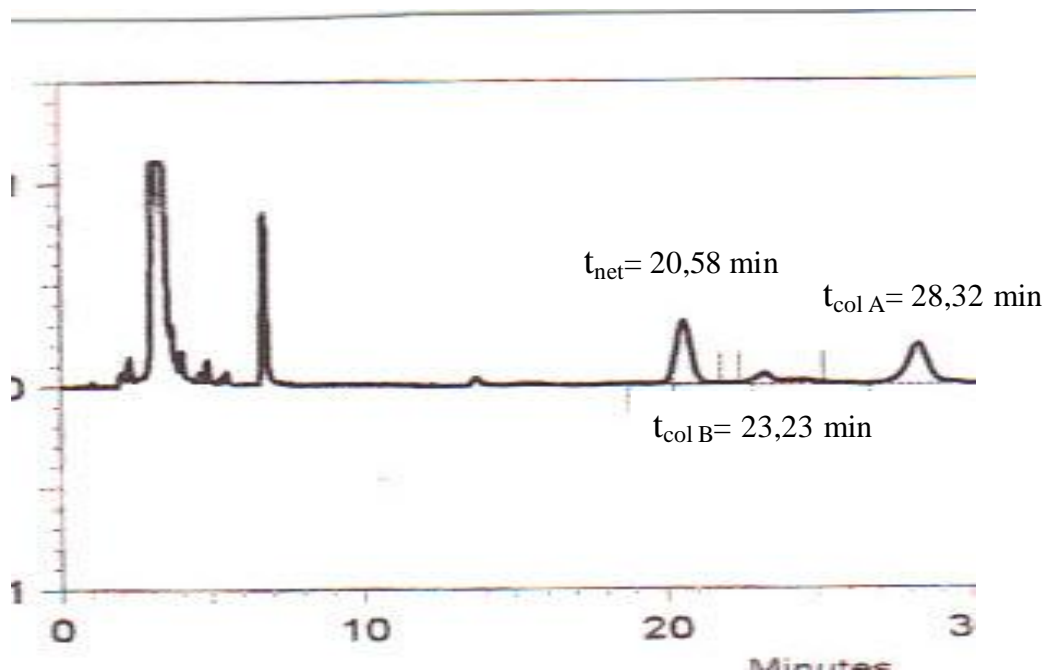
προτύπου (νετιλμικίνη) σε σχέση με τη συγκέντρωσή της. Στο εύρος συγκεντρώσεων 100-1500 ng/mL για τον ορό η γραμμικότητα ήταν ικανοποιητική ($R^2=0,9997$) και επέτρεπε την ανάλυση βιολογικών δειγμάτων διηθήματος (σχήμα 4.4.1, χρωματογράφημα 4.4.1, χρωματογράφημα 4.4.2).



Σχήμα 4.4.1: Καμπύλη αναφοράς στο διήθημα με συγκεντρώσεις κολιστίνης των εμβολιασμένων δειγμάτων 100, 250, 750, 1000, 1250, 1500 ng/mL και εσωτερικού προτύπου (νετιλμικίνης) 830 ng/mL.



Χρωματογράφημα 4.4.1: Αναλυτικός προσδιορισμός με γρήγορη χρωματογραφία υψηλής απόδοσης εμβολιασμένου δείγματος διηθήματος με κολιστίνη (1500 ng/mL) και προσθήκη εσωτερικού προτύπου (830 ng/mL), net: νετιλμικίνη, col B: κολιστίνη B, col A: κολιστίνη A.



Χρωματογράφημα 4.4.2: Αναλυτικός προσδιορισμός με γρήγη χρωματογραφία υψηλής απόδοσης δείγματος διηθήματος ασθενούς με κολιστίνη και προσθήκη εσωτερικού προτύπου (830 ng/mL), net: νετιλικίνη, col B: κολιστίνη B, col A: κολιστίνη A. .

Συγκρίθηκαν τα χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς κολιστίνης στον ορό διαφορετικών εργαστηριακών ημερών (n=4) και μετά από στατιστικά επεξεργασία των εξισώσεων των καμπύλων αναφοράς με χρήση του paired students test (πίνακας 7.1) προέκυψε ότι αυτές δεν διέφεραν σημαντικά και οι διαφορές μεταξύ τους οφείλονταν σε τυχαία και όχι συστηματικά σφάλματα. Το όριο εμπιστοσύνης που χρησιμοποιήθηκε ήταν 95% (πιθανότητα σφάλματος τύπου α μικρότερη του 0,05).

Ο συντελεστής συσχέτισης στις συγκεκριμένες εξισώσεις παλινδρόμησης ήταν ικανοποιητικός ($r^2 > 0,9972$, πίνακας 4.4.1).

Πίνακας 4.4.1: στατιστική επεξεργασία κλίσης και τομής καμπυλών αναφοράς

Εξισώσεις παλινδρόμησης	Κλίση \pm τυπικό σφάλμα	Τομή \pm τυπικό σφάλμα	Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης
1	$0.0004 \pm 5,08 \times 10^{-5}$	0.0104 ± 0.0048	0.9995
2	$0.0004 \pm 3,90 \times 10^{-6}$	0.0129 ± 0.0037	0.9997
3	$0.0004 \pm 1,22 \times 10^{-5}$	0.0286 ± 0.0117	0.9972
4	$0.0003 \pm 9,98 \times 10^{-6}$	0.0194 ± 0.0095	0.9978

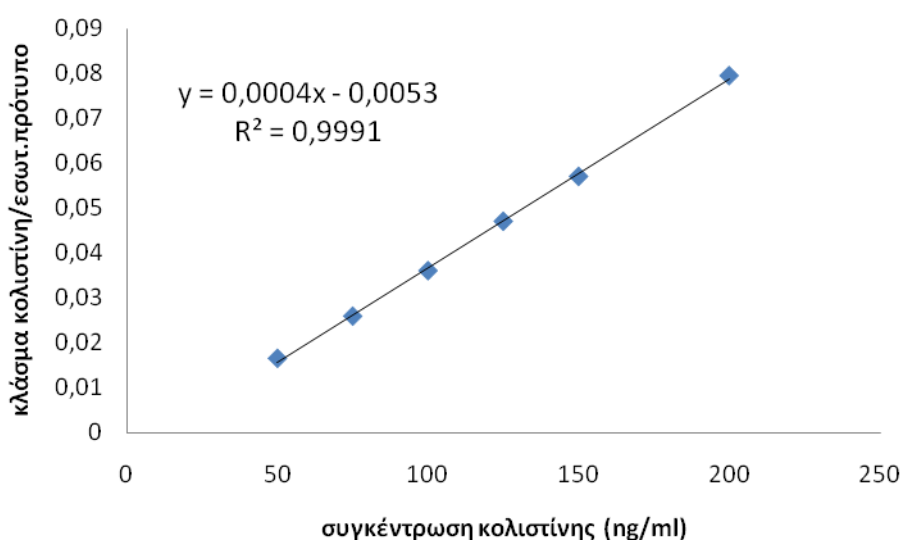
4.4.3 ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Υπολογίσαμε πάλι τη διαχωριστική ικανότητα (resolution, R) στο διήθημα από το αντίστοιχο χρωματογράφημα 4.4.1 με εφαρμογή της διαδικασίας όπως στην παράγραφο 4.1.3.3. Η διαχωριστική ικανότητα της κολιστίνης A από το εσωτερικό

πρότυπο υπολογίστηκε στα 1,48. Η διαχωριστική ικανότητα της κολιστίνης Β από το εσωτερικό πρότυπο υπολογίστηκε στα 1,10.

4.4.4 ΟΡΙΟ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΟΡΙΟ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

Πραγματοποιήθηκαν καμπύλες αναφοράς έξι σημείων στο κατώτερο τμήμα της καμπύλης αναφοράς που πραγματοποιείται καθημερινά κατά το προσδιορισμό των δειγμάτων διηθήματος των ασθενών. Το εύρος των συγκεκριμένων καμπυλών για τον ορό ήταν από 50 ng/mL έως 200 ng/mL και περιελάμβαναν τα σημεία: 50, 75, 100, 125, 150 και 200ng/mL (σχήμα 4.4.2). Η γραμμικότητα ήταν ικανοποιητική ($R^2=0.9991$). Οι υπολογισμοί πραγματοποιήθηκαν όπως ακριβώς στο κεφ. 4.1.3.4. Σύμφωνα με τα παραπάνω το όριο ανίχνευσης προσδιορίστηκε στα 16 ng/mL και το όριο ποσοτικοποίησης στα 53 ng/mL.



Σχήμα 4.4.2: Καμπύλη αναφοράς στο διήθημα με εύρος συγκεντρώσεων 50-200 ng/mL για τη κολιστίνη και συγκέντρωσης 200 ng/mL για το εσωτερικό πρότυπο με σκοπό το προσδιορισμό του ορίου ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης.

4.4.5 ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Σε τρεις συνεχόμενες εργαστηριακές ημέρες πραγματοποιήθηκαν προσδιορισμοί δειγμάτων διηθήματος εμβολιασμένων με κολιστίνη συγκέντρωσης 100, 750 και 1500 ng/mL. Κάθε πρότυπο δείγμα παρασκευάστηκε εις τριπλούν. Ακόμα την ίδια ημέρα πραγματοποιήθηκε καμπύλη αναφοράς. Η ακρίβεια (accuracy) της μεθόδου προσδιορίστηκε για τις τρεις εργαστηριακές ημέρες και για καθεμιά από τις τρεις

συγκεντρώσεις 100, 750 και 1500 ng/mL (παράγραφος 4.1.3.5). Τα αποτελέσματα των παραπάνω υπολογισμών παρουσιάζονται στο πίνακα 4.4.2.

Πίνακας 4.4.2: Αποτελέσματα επαναληψιμότητας, αναπαραγωγιμότητας και ακρίβειας της μεθόδου για τρεις συνεχόμενες εργαστηριακές ημέρες και για τρεις γνωστές συγκεντρώσεις 100, 750 και 1500 ng/mL (n=3)

Συγκεντρώσεις Κολιστίνης (ng/ml)	Επαναληψιμότητα (intra-assay variability)	Αναπαραγωγιμότητα (inter-assay variability)	Ακρίβεια (accuracy)
100	5,4%	4,3%	1.2%
750	9,4%	9,6%	1.1%
1500	9.9%	8,2%	0.8%

5. ΜΕΛΕΤΗ ΔΙΕΙΣΔΥΣΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΕΓΚΕΦΑΛΟΝΩΤΙΑΙΟ ΥΓΡΟ ΣΕ ΒΑΡΕΩΣ ΠΑΣΧΟΝΤΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ

5.1 ΥΠΑΡΧΟΥΣΑ ΓΝΩΣΗ

Διάφορες μελέτες έχουν περιγράψει με επιτυχία την θεραπεία λοιμώξεων του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) με κολιστίνη (χορηγούμενη στη μορφή της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης) ενδοφλεβίως ή ενδορραχιαίως ή ενδοκοιλιακά^{167,164-174,180}. Ωστόσο αρχικά δεδομένα, που αφορούσαν συγκεντρώσεις κολιστίνης, προερχόμενα από μικροβιολογικές μετρήσεις έδειξαν φτωχή διείσδυση του φαρμάκου στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό η οποία δεν αυξανόταν παρουσία φλεγμονής στις μήνιγγες¹⁷⁹. Πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι η συγκέντρωση του φαρμάκου στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό ήταν το 25% της συγκέντρωσης του φαρμάκου στον ορό¹⁸¹ ενώ άλλοι ερευνητές ανέφεραν ότι το εμβαδό της επιφάνειας κάτω από τη καμπύλη συγκέντρωσης-χρόνου (AUC) για το εγκεφαλονωτιαίο υγρό ήταν ίσο με το 15% του αντίστοιχου στον ορό¹⁸⁰.

Αυτά τα ευρήματα εγείρουν ερωτήματα για την αποτελεσματικότητα της ενδοφλέβιας χορήγησης μεθανοσουλφονικής κολιστίνης σαν μονοθεραπεία σε λοιμώξεις του ΚΝΣ. Επιπλέον, επειδή τα παραπάνω δεδομένα βασίστηκαν αποκλειστικά σε μικροβιολογικές μετρήσεις, έπρεπε να επιβεβαιωθούν με HPLC μετρήσεις οι οποίες τώρα θεωρούνται η μόνη έγκυρη προσέγγιση για την ποσοτικοποίηση των επιπέδων κολιστίνης.

5.2 ΣΤΟΧΟΙ ΜΕΛΕΤΗΣ

Οι στόχοι της μελέτης ήταν η μέτρηση των επιπέδων κολιστίνης στο ENY και στον ορό μετά από ενδοφλέβια χορήγηση CMS σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς, οι οποίοι νοσηλεύονταν στη ΜΕΘ για βαριές λοιμώξεις από πολυανθεκτικά Gram (-) μικρόβια (όχι απαραίτητα λοιμώξεις του κεντρικού νευρικού συστήματος), προκειμένου να καθοριστεί η διείσδυση του φαρμάκου στο ENY.

5.3 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε στο νοσοκομείο ΚΑΤ στη πανεπιστημιακή ΜΕΘ από Σεπτέμβριο 2007 έως Απρίλη 2008. Η μελέτη είχε έγκριση από την επιτροπή έρευνας και ηθικής του νοσοκομείου και εφαρμόστηκε σύμφωνα με τις οδηγίες της καλής κλινικής πρακτικής. Οι ασθενείς (ή οι συγγενείς) αφού πληροφορήθηκαν έδωσαν συγκατάθεση. Τα σχετικά έγγραφα φυλάσσονται στο αρχείο της ΜΕΘ.

Τα χαρακτηριστικά των ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη παρουσιάζονται στον πίνακα 5.1. Ο πρώτος και δεύτερος ασθενής είχαν λοίμωξη του κεντρικού νευρικού συστήματος (κοιλίτιδα) από *Acinetobacter baumannii*, ενώ ο τρίτος ασθενής είχε λοίμωξη του κεντρικού νευρικού συστήματος από εντερόκοκκο ανθεκτικό στη βανκομυκίνη. Ο δεύτερος ασθενής έλαβε ενδορραχιαία κολιστίνη, αλλά η τελευταία δόση είχε χορηγηθεί τέσσερις ημέρες πριν τη λήψη δείγματος εγκεφαλονωτιαίου υγρού και υποθέσαμε ότι αυτό δεν επηρέαζε τις μετρήσεις μας. Σχετικά με την εξέταση εγκεφαλονωτιαίου υγρού, οι τρεις ασθενείς με λοίμωξη του κεντρικού νευρικού συστήματος είχαν μικρή φλεγμονή των μηνίγγων κατά το χρόνο δειγματοληψίας.

Η μεθανοσουλφονική κολιστίνη (CMS, Norma, Athens, Greece) χορηγήθηκε ενδοφλέβια σε 100 ml N/S που εγχύθηκε με αντλία σε 30 λεπτά. Το δοσολογικό σχήμα επιλέχθηκε από τον θεράποντα ιατρό κατά την κρίση του (πίνακας 5.1). Τα δείγματα συλλέχθηκαν μετά τουλάχιστον από πέντε ημερών χορήγηση μεθανοσουλφονικής κολιστίνης, ώστε οι συγκεντρώσεις κολιστίνης να είχαν φτάσει σε σταθεροποιημένη κατάσταση (με εξαίρεση τον πέμπτο ασθενή ο οποίος παρουσίασε ραγδαία επιδείνωση της νεφρικής του λειτουργίας). Τα δείγματα εγκεφαλονωτιαίου υγρού πάρθηκαν μέσω παρακέντησης της οσφυϊκής μοίρας, με εξαίρεση τον πρώτο ασθενή από τον οποίο πάρθηκε δείγμα μέσω μιας προϋπάρχουσας εξωτερικής κοιλιοστομίας για παροχέυτηση υδροκεφάλου. Για τον πρώτο ασθενή, τα δείγματα ορού και εγκεφαλονωτιαίου υγρού συλλέχθηκαν: Πριν την έγχυση της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης, στα 10 λεπτά και 1, 2, 4, 6 και 8 ώρες μετά το τέλος της έγχυσης. Για τους υπόλοιπους ασθενείς, ζεύγη δειγμάτων συλλέχθηκαν σε δύο χρονικές στιγμές.

Σε όλους τους ασθενείς έγινε αναρρόφηση εγκεφαλονωτιαίου υγρού είτε για διαγνωστικούς λόγους (υποψία μηνιγγίτιδας ή κοιλίτιδας) είτε για παρακολούθηση της πορείας μιας επιβεβαιωμένης λοίμωξης του κεντρικού νευρικού συστήματος.

Πίνακας 5.1: Χαρακτηριστικά ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη.

ΑΣΘ.	ΦΥΛΟ	ΗΛΙΚΙΑ (ΕΤΗ)	ΑΙΤΙΑ ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ ΣΤΗΝ ΜΕΘ	ΒΑΡΟΣ (kg)	ΚΡΕΑΤΙΝΙΝΗ ΟΡΟΥ (mg/dl)	ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ	ΆΛΛΑ ΧΟΡΗΓΗΘΕΝΤΑ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ
1	Θ	40	Τραυματισμός στο κεφάλι	81	0.5	Κοιλίτιδα/A. baumannii	Τιγκεκυκλίνη
2	Θ	68	Τραυματισμός στο κεφάλι	67	1.1	Κοιλίτιδα/A. baumannii	Μεροπενέμη
3	A	62	Υπαραχνοειδής αιμορραγία. Ενδοκοιλιακή αιμορραγία	68	0.6	VAP/A. baumannii	Μεροπενέμη Λινεζολίδη
4	A	36	Ενδοεγκεφαλική αιμορραγία	80	0.8	VAP/A. baumannii	Μεροπενέμη
5	A	60	Υπαραχνοειδής αιμορραγία	74	Ανουρικός CVVHDF	Βακτηριαμία/A. baumannii	Μεροπενέμη

Θ: θήλυ, A: άρρεν, VAP: νοσοκομειακή πνευμονία σχετιζόμενη με μηχανικό αερισμό, CVVHDF: συνεχής φλεβοφλεβική αιμοδιαδιήθηση.

5.4 ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Οι φαρμακοκινητικές παράμετροι της κολιστίνης στον ορό και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό εκτιμήθηκαν από τα δεδομένα συγκέντρωσης-χρόνου του πρώτου ασθενή με μη διαμερισματική ανάλυση στη σταθεροποιημένη κατάσταση χρησιμοποιώντας το λογισμικό WinNonlin (Pharsight Corporation, Mountain View, CA).

5.5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα δεδομένα χορήγησης μεθανοσουλφονικής κολιστίνης και οι συγκεντρώσεις του φαρμάκου στον ορό και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό παρουσιάζονται στον πίνακα 5.2. Ο πρώτος και ο τέταρτος ασθενής έδειξαν ανταπόκριση στη θεραπεία και επιβίωσαν. Ο δεύτερος και ο τρίτος έδειξαν ανταπόκριση αλλά απεβίωσαν από άλλο λόγο ανεξάρτητο από τη λοίμωξη. Ο πέμπτος ασθενής δεν παρουσίασε καμία ανταπόκριση και απεβίωσε.

Πίνακας 5.2: Λεπτομέρειες δοσολογικού σχήματος μεθανοσουλφονικής κολιστίνης, χρόνοι δειγματοληψίας βιολογικών υγρών και συγκεντρώσεις κολιστίνης στον ορό και στο ENY (εγκεφαλονωτιαίο υγρό) μετά από ενδοφλέβια χορήγηση.

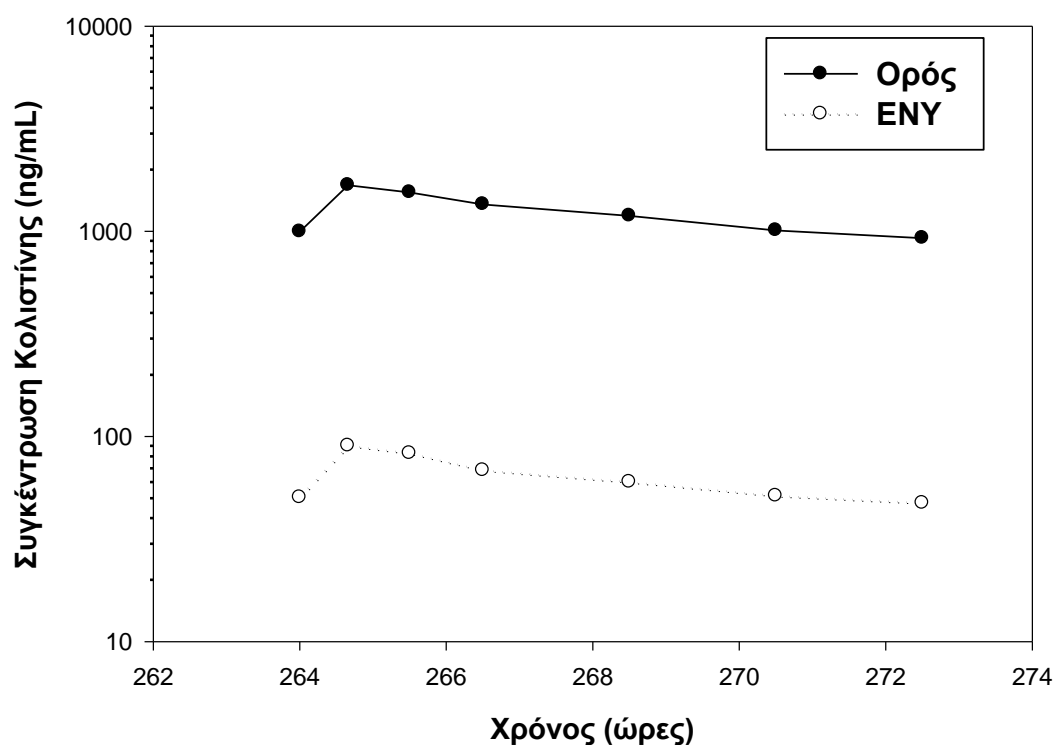
ΑΣΘΕΝΗΣ	ΔΟΣΟΛΟΓΙΚΟ ΣΧΗΜΑ CMS (MG/ΗΜΕΡΑ)	ΗΜΕΡΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ	ΧΡΟΝΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ (NG/ML)		ΚΛΑΣΜΑ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ (ENY/ΟΡΟΣ)
				ENY	ΟΡΟΣ	
1	225×3	12	1 h	83	1548	0.054
2	225×3	12	2 h	97	1810	0.054
		14	1 h	99	1920	0.052
3	150×2	6	2 h	43	819	0.053
		10	3 h	41	802	0.051
4	225×3	6	1 h	83	1551	0.054
		5	πριν την επόμενη δόση	42	820	0.051
5	150×1	8	1 h	88	1534	0.057
		8	πριν την επόμενη δόση	48	871	0.055

Για τον πρώτο ασθενή υπάρχουν δεδομένα σε επτά χρονικά σημεία. Ενδεικτικά αναφέρονται οι λήψεις την πρώτη ώρα.

Οι συγκεντρώσεις της κολιστίνης στον ορό και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό για τον πρώτο ασθενή απεικονίζονται στο σχήμα 5.1 και οι εκτιμώμενες φαρμακοκινητικές παράμετροι του ίδιου ασθενή φαίνονται στον πίνακα 5.3. Το κλάσμα του εμβαδού κάτω από τη καμπύλη συγκέντρωσης-χρόνου (AUC) για ένα μεσοδιάστημα χορήγησης για το εγκεφαλονωτιαίο υγρό προς το αντίστοιχο στον ορό (AUC_{csf} /AUC_s) ήταν 0.051.

Στον πρώτο ασθενή, οι καμπύλες συγκέντρωσης-χρόνου στον ορό και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό φαίνεται ότι εξελίσσονται παράλληλα (με ένα κλάσμα συγκέντρωσης κολιστίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό προς συγκέντρωση φαρμάκου στον ορό 0.05 σε όλες τις χρονικές στιγμές, παρόμοιο με το κλάσμα AUC_{CSF}/AUC_S το οποίο ήταν 0.051) (σχήμα 5.1). Ο χρόνος της μέγιστης συγκέντρωσης ήταν ο ίδιος και οι χρόνοι ημισείας ζωής ήταν παρόμοιοι στα δύο βιολογικά υγρά, σε αντίθεση με τα περισσότερα αντιβιοτικά όπου η καμπύλη συγκέντρωσης-χρόνου στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό συνήθως παρουσιάζει υστέρηση σε σχέση με την αντίστοιχη καμπύλη στον ορό εξαιτίας της πολύς αργής εισόδου/διέλευσης του φαρμάκου διαμέσου του αιματοεγκεφαλικού φραγμού¹⁴⁸. Παραταύτα, επειδή η έλλειψη χρονικής υστέρησης των δύο καμπυλών επιβεβαιώθηκε μόνο σε έναν ασθενή, είναι απαραίτητο αυτό το συμπέρασμα να επιβεβαιωθεί χρησιμοποιώντας μεγαλύτερο

αριθμό ασθενών. Τα κλάσματα συγκεντρώσεων εγκεφαλονωτιαίου υγρού προς ορό για τους πέντε ασθενείς της μελέτης είναι παρόμοια σε όλες τις περιπτώσεις, παρά τις μεγάλες διαφορές στους χρόνους δειγματοληψίας. Αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι οι χρόνοι ημιζωής της κολιστίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό και στον ορό ήταν παρόμοιοι. Επιπλέον, και στους πέντε ασθενείς τα κλάσματα στη σταθεροποιημένη κατάσταση ήταν παρόμοια με το κλάσμα AUC_{CSF}/AUC_S του πρώτου ασθενούς, υποδεικνύοντας ότι η ανταλλαγή (ο μερισμός) κολιστίνης ανάμεσα στο κεντρικό διαμέρισμα και το εγκεφαλονωτιαίο υγρό είναι ταχύτατος και διέπεται από πρωτοταξική κινητική¹⁸¹.



Σχήμα 5.1. Συγκεντρώσεις Κολιστίνης ορού και εγκεφαλονωτιαίου υγρού σε σχέση με το χρόνο, σε σταθεροποιημένη κατάσταση μετά από τρεις δόσεις 225 mg ημερησίως μεθανοσουλφονικής κολιστίνης στον πρώτο ασθενή.

Πίνακας 5.3: Φαρμακοκινητικές παράμετροι κολιστίνης εκτιμηθείσες από συγκεντρώσεις ορού και εγκεφαλονωτιαίου υγρού σε σταθεροποιημένη κατάσταση μετά από ενδοφλέβια χορήγηση μεθανοσουλφονικής κολιστίνης στον πρώτο ασθενή

Τύπος Δείγματος	C_{max} (ng/ml)	C_{min} (ng/ml)	$T_{1/2}$ (h)	Cl_{ss} (liter/h)	Vd_{ss} (liters)	AUC_{0-8} (h·mg/liter)
Ορός	1679,3	925,6	11,1	15,2	238	10,4
ΕΝΥ	90,0	47,3	11,7			0,53

C_{max} : συγκέντρωση κολιστίνης 10 λεπτά μετά το τέλος της έγχυσης, C_{min} : η συγκέντρωση κολιστίνης στις 8 ώρες, $T_{1/2}$: ο χρόνος ημιζωής του φαρμάκου, Cl_{ss} : κάθαρση στη σταθεροποιημένη κατάσταση υπολογισμένη ως δόση/AUC, Vd_{ss} : φαινόμενος όγκος κατανομής στη σταθεροποιημένη κατάσταση υπολογισμένος σαν μέσος χρόνος παραμονής επί Cl_{ss} .

Υπενθυμίζεται ότι για τη φαρμακοκινητική εκτίμηση, η δόση του CMS μετατράπηκε σε μία ισοδύναμη δόση κολιστίνης, σύμφωνα με τα μοριακά βάρη των δύο κύριων συστατικών π.χ CMS δόση $\times 1,163/1,743$ ή CMS δόση $\times 0.667$, όπου 1163 είναι το μέσο μοριακό βάρος κολιστίνης A και B και 1743 είναι το μέσο μοριακό βάρος των αντίστοιχων αλάτων μεθανοσουλφονικού νατρίου. Εφόσον το ακριβές ποσοστό κολιστίνης A και B, στη χορηγηθείσα δόση μεθανοσουλφονικής κολιστίνης, ήταν άγνωστο, η ακριβής δόση της κολιστίνης βάσης δεν μπορεί να εκτιμηθεί με μεγάλη ακρίβεια.

5.6 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το κύριο εύρημα της μελέτης μας είναι ότι η κολιστίνη διεισδύει στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό κατά 5%. Αυτό είναι ακόμα λιγότερο από αυτό που έδειξε μελέτη περιστατικού ενός ασθενούς (25%) βασιζόμενο σε βιολογικές μεθόδους^{180,181}. Αυτό το υψηλότερο επίπεδο ίσως οφείλεται πρώτον, στο ότι αυτός ο ασθενής είχε φλεγμαίνουσες μήνιγγες και δεύτερον, στη μέτρηση της κολιστίνης με βιοανάλυση. Σε μελέτη¹⁸² επιπέδων στον ορό και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό παιδιών βρέθηκαν παρόμοια χαμηλά επίπεδα με τη δική μας μελέτη σε παιδιά με μη φλεγμαίνουσες μήνιγγες, ενώ σε παιδί με έντονη φλεγμονή λόγω μηνιγγίτιδας το ποσοστό διείσδυσης ανερχόταν στο 34% και 67% πριν και μετά την έγχυση ενδοφλέβιας κολιστίνης. Από ότι γνωρίζουμε για τη φαρμακοδυναμική της κολιστίνης^{51,52}, τα επίπεδα που προέκυψαν στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό δεν είναι αποτελεσματικά για την εκρίζωση gram αρνητικών βακτηρίων από το κεντρικό νευρικό σύστημα. Η καλή έκβαση και η ανταπόκριση του πρώτου ασθενούς πιθανόν οφείλεται στη συνχορήγηση ενδοφλεβίως τιγκεκυκλίνης ενώ στο δεύτερο ασθενή στην ενδορραχιαία χορήγηση κολιστίνης και στην ενδοφλέβια μεροπενέμη.

Δεν είναι εύκολο να δώσουμε μία σαφή εξήγηση για το χαμηλό ποσοστό διείσδυσης κολιστίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις που εμφανίζει στον ορό, καθώς και για την κινητική του φαρμάκου στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό και στον ορό.

Το πολύ υψηλό μοριακό βάρος του φαρμάκου ίσως συνεισφέρει σε αυτό, καθώς γνωρίζουμε ότι τουλάχιστον για τα υδροφιλικά μόρια, ο ρυθμός της διάχυσης ενός μορίου στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό είναι αντιστρόφως ανάλογος με το μέγεθος του¹⁸³. Το μέσο μοριακό βάρος κολιστίνης είναι 1163, κάτι που ξεπερνάει κατά πολύ το όριο διαπερατότητας στο ΑΕΦ (450). Το logP (συντελεστής κατανομής σε οκτανόλη-νερό)

των δύο κύριων συστατικών κολιστίνης είναι 3,15 και 3,68, χαμηλότερα από το εύρος των $\log P$ που επιτρέπουν την παθητική διαπέραση του ΑΕΦ¹⁸³. Ακριβή στοιχεία για τη λιποφιλία της κολιστίνης δεν υπάρχουν. Επίσης όπως άλλα μεγάλα κατιονικά μόρια, η κολιστίνη αποκλείεται ενεργητικά από το εγκεφαλικό παρέγχυμα με συστήματα ενεργητικής εκροής, όπως η Ρ-γλυκοπρωτεΐνη (μοντέλο αουραίου)¹⁸³. Η έκταση της πρωτεϊνικής σύνδεσης της κολιστίνης²² (60% σε ένα μοντέλο αουραίου) δεν επηρέασε τη διείσδυση του φαρμάκου στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Οι αδυναμίες της μελέτης μας είναι ότι κανένας ασθενής δεν είχε έντονα φλεγμαίνουσες μήνιγγες την ημέρα της δειγματοληψίας και έτσι δεν μπορούμε να εξάγουμε συμπεράσματα αν τα επίπεδα κολιστίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό είναι υψηλότερα σε ασθενείς με βακτηριακή μηνιγγίτιδα και έντονα φλεγμαίνουσες μήνιγγες. Άλλη αδυναμία της μελέτης είναι το γεγονός ότι ολοκληρωμένη καμπύλη συγκέντρωσης-χρόνου υπήρχε μόνο για έναν ασθενή. Ωστόσο, τα παρόμοια κλάσματα συγκέντρωσης κολιστίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό προς την αντίστοιχη συγκέντρωση στον ορό τα οποία υπολογίστηκαν στη μελέτη μας, ανεξάρτητα από το χρόνο δειγματοληψίας, μας επιτρέπουν να ισχυριστούμε ότι ακόμα και ξεχωριστοί προσδιορισμοί στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό και στον ορό μπορούν να παρέχουν αξιόπιστες πληροφορίες για την διαπέραση της κολιστίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό όταν δεν υπάρχει φλεγμονή.

5.7 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το συμπέρασμα της μελέτης¹⁸⁴ είναι ότι η διαπέραση της κολιστίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό είναι πολύ χαμηλή (5%), τουλάχιστον για ασθενείς χωρίς έντονα φλεγμαίνουσες μήνιγγες. Όλοι οι ασθενείς είχαν ελάχιστα φλεγμαίνουσες μήνιγγες την ημέρα της δειγματοληψίας, επομένως δεν μπορούμε να συμπεράνουμε ότι τα επίπεδα κολιστίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό μπορεί να είναι υψηλότερα σε ασθενείς με βακτηριακή μηνιγγίτιδα και έντονα φλεγμαίνουσες μήνιγγες. Στη βάση αυτής της διαπίστωσης, ταυτόχρονη ενδορραχιαία/ενδοκοιλιακή χορήγηση κολιστίνης φαίνεται να είναι απαραίτητη για την θεραπεία λοιμώξεων του κεντρικού νευρικού συστήματος από gram-αρνητικούς βάκιλλους. Σύμφωνα με αυτό, χρειάζεται να γίνουν περισσότερες μελέτες όπου θα προκύψουν φαρμακοκινητικά δεδομένα.

6. ΕΝΔΟΚΟΙΛΙΑΚΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΜΕΘΑΝΟΣΟΥΛΦΟΝΙΚΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΓΙΑ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΟΙΛΙΤΙΔΑΣ- ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑΣ

6.1 ΥΠΑΡΧΟΥΣΑ ΓΝΩΣΗ

Ασθενείς που νοσηλεύονται στη μονάδα εντατικής θεραπείας με εγκεφαλική αιμορραγία ή εγκεφαλικό τραύμα συχνά παρουσιάζουν λοιμώξεις που περιπλέκουν την κλινική πρακτική. Συνηθισμένη λοίμωξη στις μονάδες με νευρολογικά περιστατικά είναι η κοιλίτιδα προκαλούμενη από εξωτερική συσκευή κοιλίας (EVD). Η συχνότητα της λοίμωξης αυτής είναι υψηλή και το ποσοστό κυμαίνεται από 5% έως περισσότερο από 20%. Η κοιλίτιδα είναι δυνητικά μία θανατηφόρα λοίμωξη. Προδιαθεσικοί παράγοντες για τη λοίμωξη είναι η μη τήρηση των πρωτοκόλλων κατά την εισαγωγή και διατήρηση στη μονάδα, η διαρροή εγκεφαλονωτιαίου μυελού, η άρδευση του καθετήρα και η συχνότητα χειρισμού της συσκευής. Παρά τα αξιοσημείωτα βήματα στη διαχείριση των λοιμώξεων στη μονάδα εντατικής θεραπείας, η νοσηρότητα προκαλούμενη από κοιλίτιδα δεν έχει μειωθεί στο βαθμό που αναμενόταν. Η λοίμωξη αυτή του κεντρικού νευρικού συστήματος όταν προέρχεται από gram αρνητικά βακτήρια οφείλεται κυρίως σε *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*. Η θεραπεία της κοιλίτιδας μπορεί να γίνει με ενδοφλεβίως χορηγούμενες καρβαπενέμες (μεροπενέμη) μαζί με ενδοκοιλιακώς χορηγούμενη αμινογλυκοσίδη. Όμως στην πραγματικότητα υπάρχει μεγάλη ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά αυτά και έτσι η κολιστίνη αποτελεί θεραπευτική επιλογή. Η χορήγηση της CMS ενδοφλεβίως αποτελεί καθημερινή πρακτική ενώ η ενδοκοιλιακή χορήγηση υπόσχεται πολλά τα τελευταία χρόνια. Υπάρχουν λίγες δημοσιευμένες αναφορές περιστατικών για τη θεραπεία της κοιλίτιδας μετά από ενδοκοιλιακή χορήγηση κολιστίνης^{167,164-174,180}. Στη μελέτη ενός περιστατικού¹⁶⁹ γυναίκας 41 ετών με κοιλίτιδα και εξωτερική συσκευή κοιλίας θεραπεύτηκε με ενδοκοιλιακώς χορηγούμενη κολιστίνη σε δόση 5mg την πρώτη ημέρα και 10 mg την ημέρα για 21 ημέρες. Στη μελέτη άλλου περιστατικού¹⁷¹ ενός ασθενή 16 ετών με κοιλίτιδα, θεραπεύτηκε με ενδοκοιλιακώς χορηγούμενη κολιστίνη δια μέσου εξωτερικής συσκευής της κοιλίας σε δόση 5 mg την ημέρα. Μέχρι τώρα υπάρχει έλλειψη φαρμακοκινητικών δεδομένων για την ενδοκοιλιακή χορήγηση κολιστίνης στη θεραπεία κοιλίτιδας.

6.2 ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Στη παρούσα μελέτη ο στόχος ήταν να προσδιορίσουμε τα επίπεδα κολιστίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό μετά από ενδοφλέβια χορήγηση σε ασθενείς σε κρίσιμη κατάσταση με ή χωρίς λοίμωξη του κεντρικού νευρικού συστήματος καθώς και τα επίπεδα στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό και στον ορό μετά από συνδυασμό ενδοφλέβιας και ενδοκοιλιακής χορήγησης.

6.3 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

6.3.1 ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Η μελέτη έλαβε χώρα στη Πανεπιστημιακή Μονάδα Εντατικής Θεραπείας Λάρισσας από τον Ιανουάριο 2011 έως Δεκέμβριο 2011. Οι ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη έδωσαν έγγραφη συγκατάθεση συμμετοχής στη μελέτη (ή οι συγγενείς τους) και τα σχετικά έγγραφα φυλάσσονται στα αρχεία του νοσοκομείου.

Στη μελέτη αυτή πήραν μέρος δώδεκα ασθενείς. Στους 7 ασθενείς (4 άνδρες και 3 γυναίκες) διαγνώστηκε κοιλίτιδα από εξωτερική συσκευή κοιλίας οφειλόμενη σε gram αρνητικά βακτήρια, τα δημογραφικά στοιχεία των οποίων φαίνονται στον πίνακα 6.1. Πέντε ασθενείς με εξωτερική συσκευή κοιλίας αλλά χωρίς σημάδια κοιλίτιδας νοσηλεύόμενοι στη ΜΕΘ όχι για λοίμωξη του ΚΝΣ χρησιμοποιήθηκαν ως ομάδα ελέγχου (control) προκειμένου να μελετηθούν τα επίπεδα της κολιστίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό μετά από ενδοφλέβια χορήγηση απουσία φλεγμονής. Σε όλους τους ασθενείς που έφεραν τη συσκευή χορηγήθηκε προφυλακτική αγωγή. Στους επτά ασθενείς μόλις διαγνώστηκε η κοιλίτιδα αφαιρέθηκε αμέσως ο καθετήρας κοιλιοστομίας και αντικαταστάθηκε πριν την έναρξη της θεραπείας. Οι ασθενείς είχαν φυσιολογική νεφρική λειτουργία.

Πίνακας 6.1: Χαρακτηριστικά των επτά ασθενών.

Ασθενής	Ηλικία (έτη)	Βάρος (kg)	Ουρία (mg/dl)	Κρεατινίνη (mg/dl)	Αίτια	κ/α	Κοιλίτιδα
1	50	80	155	0,8	υπαραχνοειδήσαιμορραγία	στείρα	ΝΑΙ
2	58	93	58	0.99	ενδοκοιλιακή αιμορραγία	στείρα	ΝΑΙ
3	52	90	34	1.2	υπαραχνοειδήσαιμορραγία	A.b	ΝΑΙ
4	52	78	65	0.74	ενδοκοιλιακή αιμορραγία	A.b	ΝΑΙ
5	17	75	24	1.03	ενδοκοιλιακή αιμορραγία	A.b	ΝΑΙ
6	55	67	23	0.8	υπαραχνοειδήσαιμορραγία	K.p	ΝΑΙ
7	58	80	50	1.51	ενδοκοιλιακή αιμορραγία	K.p	ΝΑΙ

κ/α: καλλιέργεια, A.b: *Acinetobacter baumannii*, K.p: *Klebsiela pneumoniae*

6.3.2 ΔΟΣΟΛΟΓΙΚΟ ΣΧΗΜΑ ΜΕΘΑΝΟΣΟΥΛΦΟΝΙΚΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ

Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες σε αυτούς που έλαβαν μεθανοσουλφονική κολίστινη (CMS) είτε μόνο ενδοφλεβίως σε δόση 3.000.000 μονάδες (225mg) τρεις φορές ημερησίως και δεν είχαν (5 ασθενείς, ομάδα 1) ή είχαν (3 ασθενείς, ομάδα 2) φλεγμαίνουσες μήνιγγες (κοιλίτιδα) και σε αυτούς που έλαβαν ενδοφλεβίως (ίδια δόση) σε συνδυασμό με ενδοκοιλιακώς χορηγούμενη CMS 125.000 μονάδες εφάπαξ ημερησίως (4 ασθενείς, ομάδα 3). Όλες οι διαδικασίες έγιναν από εξειδικευμένη ιατρική ομάδα.

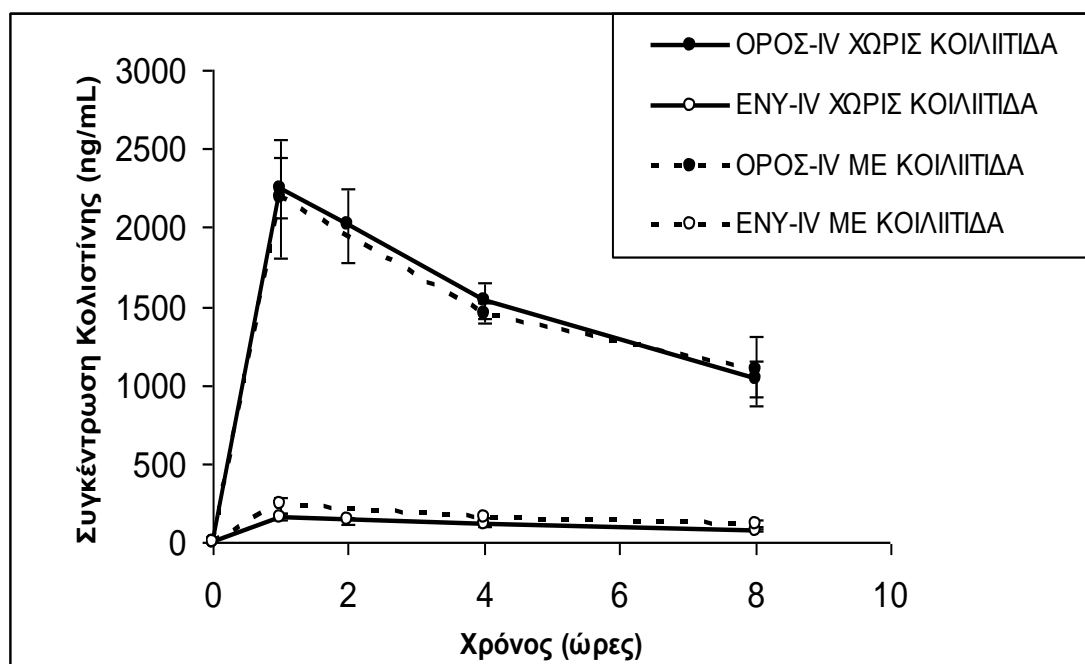
6.3.3 ΣΥΛΛΟΓΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Οι δειγματοληψίες έγιναν την πρώτη μέρα, την τρίτη και την πέμπτη μέρα. Κατά τη πρώτη ημέρα πριν τη χορήγηση της CMS λήφθηκαν 2 ml εγκεφαλονωτιαίου υγρού και 2 ml αίματος. Η ενδοφλεβίως χορηγούμενη CMS (3.000.000) διαλύεται πρώτα σε 100ml φυσιολογικού ορού και χορηγείται αμέσως μετά τη διάλυση κάθε 8 ώρες και με διάρκεια 30 λεπτών. Η ενδοκοιλιακή χορήγηση της γίνεται μέσω ενστάλαξης της στο κοιλιακό καθετήρα και αμέσως μετά χορηγούνται 2 ml φυσιολογικού ορού 0,9%. Η ενδοκοιλιακή χορήγηση λαμβάνει χώρα μετά το τέλος της ενδοφλέβιας χορήγησης. Η αντλία παροχέτευσης κλείνει για δύο ώρες μετά την ενδοκοιλιακή χορήγηση. Για την πρώτη ημέρα δείγματα εγκεφαλονωτιαίου υγρού και αίματος λαμβάνονται στις 1, 4 και 8 ώρες μετά την χορήγηση του φαρμάκου. Την τρίτη και την πέμπτη μέρα ζεύγη δειγμάτων λήφθηκαν 1 και 8 ώρες μετά την αρχή της ενδοφλέβιας χορήγησης (ομάδα 1, ομάδα 2) ή ενδοκοιλιακής χορήγησης (ομάδα 3). Για τη λήψη δειγμάτων αίματος αρχικά αφαιρούνταν 2 ml αίματος και στη συνέχεια γινόταν λήψη 2 ml αίματος από αρτηριακή ή κεντρική φλεβική γραμμή και φύλαξη σε περιέκτη τύπου

Vacutainer/Vacurette που περιείχε ηπαρίνη. Ακολουθήθηκε η επαναχορήγηση των αρχικών 2 ml που αφαιρέθηκαν, ενώ η φλεβική γραμμή από τη οποία έγινε η αιμοληψία δεν ήταν εκείνη από την οποία έγινε η έγχυση του φαρμάκου και δεν βρισκόταν στο ίδιο μέλος του σώματος. Για τη λήψη δειγμάτων εγκεφαλονωτιαίου υγρού αρχικά αφαιρούνταν 2 ml εγκεφαλονωτιαίου υγρού και στη συνέχεια λαμβάνονταν 2 ml δείγμα. Το λαμβανόμενο δείγμα αίματος τοποθετήθηκε σε πάγο και μεταφέρθηκε άμεσα στο εργαστήριο όπου γινόταν ψυχόμενη φυγοκέντρηση (3500g για 10 λεπτά) για λήψη υπερκείμενου και φύλαξη αυτού στους - 70 °C. Τα δείγματα εγκεφαλονωτιαίου υγρού φυγοκεντρήθηκαν στις 3500 στροφές για 5 λεπτά και έγινε λήψη του υπερκείμενου και φύλαξη αυτού στους - 70 °C. Σε όλα τα ζεύγη δεδομένων έγινε έλεγχος κανονικότητας με το Kolmogorov-Smirnov ενώ συγκρίσεις έγιναν και με τα Mann-Whitney test ή t-test αναλόγως.

6.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Δώδεκα ασθενείς νευροχειρουργικής συμμετείχαν στη μελέτη (8 άντρες, 4 γυναίκες). Όλοι έφεραν εξωτερική συσκευή κοιλίας. Δεν παρατηρήθηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες στους ασθενείς. Τα παθογόνα που απομονώθηκαν ήταν ευαίσθητα στην κολιστίνη. Οι συγκεντρώσεις κολιστίνης στον ορό και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό φαίνονται στα γραφήματα 6.1 έως 6.4. Σε πέντε ασθενείς (ομάδα ελέγχου) χορηγήθηκε κολιστίνη i.v. ως μέρος του θεραπευτικού σχήματος για την αντιμετώπιση του VAP και/ή μόλυνση του αίματος. Τρεις ασθενείς (1 άνδρας, 2 γυναίκες, ομάδα 2) αντιμετωπίστηκαν με ενδοφλέβια CMS για κοιλίτιδα. Κλινική ανταπόκριση εμφάνισε η μία γυναίκα. Την πρώτη ημέρα, η μέση συγκέντρωση κολιστίνης \pm τυπική απόκλιση στον ορό ($C_{\text{serum}} \pm \text{SD}$) την 1^η ώρα ήταν 2252 ± 193 ng/ml, την 4^η ώρα 1537 ± 110 ng/ml και 1033 ± 114 ng/ml την 8^η ώρα σε ασθενείς χωρίς κοιλίτιδα (ομάδα ελέγχου). Σε ασθενείς με κοιλίτιδα οι $C_{\text{serum}} \pm \text{SD}$ που μετρήθηκαν αντιστοίχως ήταν 2189 ± 377 ng/ml ($p > 0.05$), 1451 ± 65 ng/ml ($p > 0.05$) και 1089 ± 224 ng/ml ($p > 0.05$) αντιστοίχως. Η μέση συγκέντρωση κολιστίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (C_{csf}) ήταν 158 ± 21 ng/ml την 1^η ώρα και σταδιακά μειωνόταν την 4^η ώρα σε 108 ± 11 ng/ml και 75 ± 9 ng/ml την 8^η ώρα, σε ασθενείς χωρίς κοιλίτιδα. Στους ασθενείς με κοιλίτιδα η μέση C_{csf} ήταν 237 ± 54 ng/ml ($p > 0.05$), 156 ± 5 ng/ml ($p = 0.002$) και 120 ± 24 ng/ml ($p > 0.05$) την 1^η, την 4^η, την 8^η ώρα αντιστοίχως.

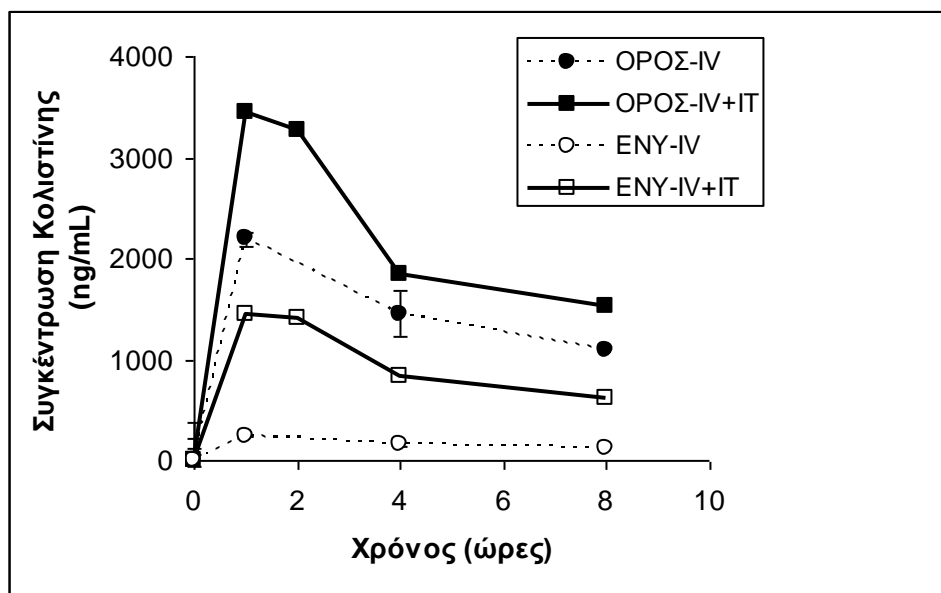


Γράφημα 6.1: Μέσες συγκεντρώσεις κολιστίνης μετά από την πρώτη δόση ασθενών με ή χωρίς κοιλίτιδα μετά από ενδοφλέβια χορήγηση.

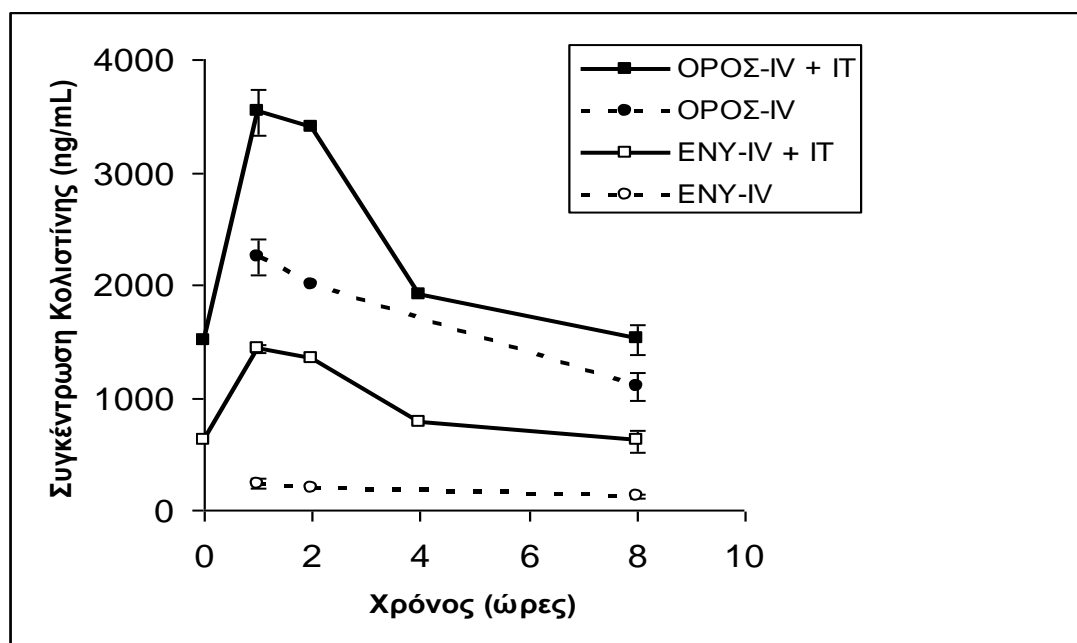
Την τρίτη ημέρα την 1^η ώρα παρατηρήθηκε ότι σε σταθεροποιημένη κατάσταση η $C_{\max\text{csf}}$ ήταν παρόμοια με αυτή που παρατηρήθηκε την πρώτη ημέρα την 1^η ώρα, για παράδειγμα 158 ± 21 ng/ml και 254 ± 58 ng/ml σε ασθενείς χωρίς και με κοιλίτιδα αντίστοιχα (1^η ώρα, $p > 0,05$), ένδειξη ότι η συσσώρευση φαρμάκου με το χρόνο είναι ελάχιστη. Τα κλάσματα συγκεντρώσεων ENY/ορό (μέση τιμή \pm διακύμανση) την πρώτη ημέρα ήταν παρόμοια σε ασθενείς με κοιλίτιδα την 1^η, την 4^η και 8^η ώρα για παράδειγμα 0.11 ± 0.006 , 0.107 ± 0.001 και 0.11 ± 0.001 , αλλά υψηλότερα από την ομάδα ελέγχου 0.07 ± 0.001 ($p < 0,05$), 0.070 ± 0.005 ($p < 0,001$) και 0.07 ± 0.002 ($p < 0,001$) αντίστοιχα. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν την τρίτη και πέμπτη ημέρα. Επίσης τα μέσα κλάσματα $AUC_{\text{csf}}/AUC_{\text{serum}}$ βρέθηκαν να είναι υψηλότερα κατά 60% σε ασθενείς με κοιλίτιδα συγκρινόμενα με ασθενείς χωρίς (0.110 vs. 0.070 , $p < 0,001$).

Στην ομάδα της συνδυαστικής θεραπείας (ενδοφλέβια και ενδοκοιλιακή) μελετήθηκαν τέσσερις ασθενείς (3 άνδρες, 1 γυναίκα, ομάδα 3) με κοιλίτιδα. Τα υπεύθυνα παθογόνα ήταν *A. baumannii* (δύο περιπτώσεις) and *K. pneumoniae* (δύο περιπτώσεις). Βακτηριολογική ανταπόκριση επετεύχθη σε 2 από τους 3 ασθενείς που έλαβαν πλήρη ενδοκοιλιακή θεραπεία (ο τέταρτος ασθενής έλαβε μία μονή δόση ενδοκοιλιακής CMS). Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις κολιστίνης στο ENY ($C_{\max\text{csf}}$) παρατηρήθηκαν την 1^η ώρα μετά την ενδοκοιλιακή χορήγηση με 1449 ± 124 ng/ml

την πρώτη ημέρα, $1357 \pm 80 \text{ ng/ml}$ την τρίτη ημέρα και $1430 \pm 40 \text{ ng/ml}$ την πέμπτη ημέρα. Ωστόσο τα επίπεδα κολιστίνης στο ENY μειώθηκαν 8 ώρες μετά την συνδυαστική χορήγηση κάτω από τα 700 ng/ml . Με την ενδοκοιλιακή χορήγηση επιτεύχθηκαν σημαντικά υψηλότερες C_{maxserum} και C_{maxcsf} σε σύγκριση με μόνο ενδοφλέβια χορήγηση με κοιλίτιδα ($p < 0.0001$) και με την ομάδα ελέγχου ($p < 0.0001$), Παρόμοια τα κλάσματα ENY/ορού σε όλες τις χρονικές στιγμές ήταν υψηλότερα ($0,395$ έως $0,456$ έναντι $0,064$ έως $0,127$, $p < 0.0001$). Στη παρούσα μελέτη οι συγκεντρώσεις κολιστίνης στον ορό ήταν πάνω από 2000 ng/ml μετά από ενδοφλέβια μόνο χορήγηση και το MIC των απομονωθέντων μικροοργανισμών ήταν από $0,5$ έως $2,00 \text{ µg/ml}$. Οι συγκεντρώσεις κολιστίνης στο ENY μετά από συνδυαστική χορήγηση ήταν ακόμα μεγαλύτερες. Ωστόσο, όλες οι συγκεντρώσεις κολιστίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό ήταν κάτω από το $\text{MIC} = 0,5 \text{ µg/ml}$ μετά από ενδοφλέβια μόνο χορήγηση, μέση τιμή (εύρος) $0,14$ ($0,07 - 0,3$) µg/ml , αλλά πάνω από αυτό [$1,4$ ($0,6 - 1,6$) µg/ml] σε όλες τις χρονικές στιγμές μετά από συνδυαστική χορήγηση.



Γράφημα 6.2: Μέσες συγκεντρώσεις κολιστίνης μετά την πρώτη δόση ασθενών με κοιλίτιδα μετά από ενδοφλέβια χορήγηση ή ενδοφλέβια και ενδοκοιλιακή χορήγηση.



Γράφημα 6.3: Μέσες συγκεντρώσεις κολιστίνης σε σταθεροποιημένη κατάσταση ασθενών με κοιλίτιδα μετά από ενδοφλέβια χορήγηση ή ενδοφλέβια και ενδοκοιλιακή χορήγηση.

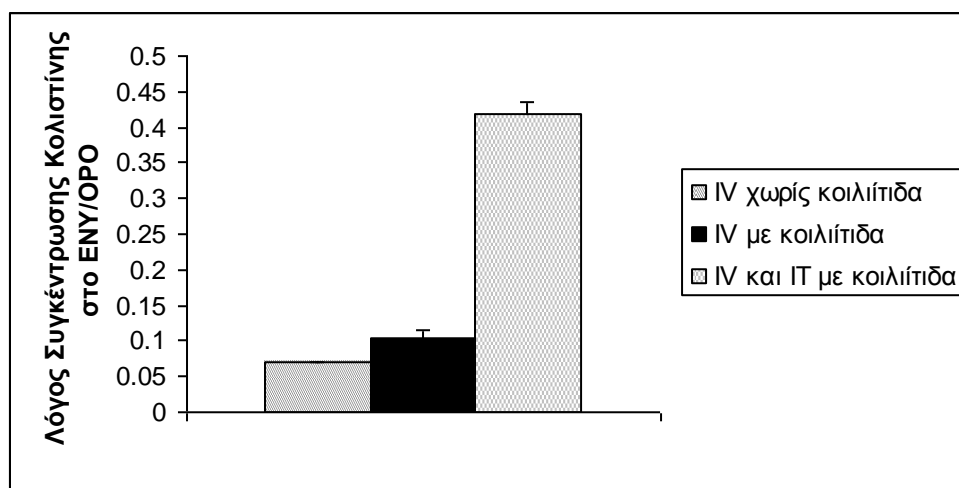
6.5 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι συγκεντρώσεις κολιστίνης στον ορό και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό στους ασθενείς αξιολογήθηκαν ανάλογα με τον τρόπο χορήγησης του φαρμάκου και την ύπαρξη ή όχι κοιλίτιδας. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το μέσο κλάσμα ENY/ορού κολιστίνης, υπολογιζόμενο από τα ζεύγη ENY και ορού (στον ίδιο χρόνο), ήταν σημαντικά υψηλότερα σε ασθενείς που έλαβαν ενδοφλεβίως CMS για κοιλίτιδα σε σύγκριση με αυτούς που έλαβαν ενδοφλεβίως CMS για άλλο λόγο. Επίσης, το κλάσμα AUC_{csf}/AUC_{serum}, το οποίο αντανακλά την διείσδυση του φαρμάκου, την πρώτη μέρα είναι περίπου 60% υψηλότερο στους ασθενείς με κοιλίτιδα σε σύγκριση με αυτούς χωρίς (0,110 έναντι 0,070). Το υψηλότερο αυτό κλάσμα είναι ενδεικτικό της μεγαλύτερης διείσδυσης φαρμάκου παρουσία φλεγμαίνουσων μηνιγγών.

Τα δεδομένα φαρμακοκινητικής της κολιστίνης σε ασθενείς με κοιλίτιδα είναι περιορισμένα. Σε προηγούμενη μελέτη (κεφ. 5) σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς, με ελάχιστη φλεγμονή μηνιγγων φάνηκε ότι η κολιστίνη διεισδύει στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό κατά 5% (0,05-0,057) μετά από ενδοφλέβια χορήγηση¹⁸⁴. Αυτά τα αποτελέσματα είναι παρόμοια με τα αποτελέσματα των ασθενών της ομάδας ελέγχου

της παρούσας μελέτης (0,07), δείχνοντας ότι η διείσδυση κολιστίνης στις μήνιγγες απουσία φλεγμονής είναι φτωχή.

Στη παρούσα μελέτη τα κλάσματα AUC_{csf}/AUC_{serum} στη σταθεροποιημένη κατάσταση (μετά την 3^η μέρα) δεν ήταν δυνατόν να υπολογιστούν λόγω του μικρού αριθμού δειγμάτων. Παρά ταύτα, το μέσο κλάσμα ENY/ορό στη σταθεροποιημένη κατάσταση [0,068(ομάδα ελέγχου) 0,105(ομάδα 2)] ήταν παρόμοιο με το κλάσμα AUC_{csf}/AUC_{serum} την πρώτη ημέρα [0,069(ομάδα ελέγχου) 0,108(ομάδα 2)], υποδεικνύοντας ότι ο μερισμός του φαρμάκου ανάμεσα στο κεντρικό διαμέρισμα και στο ENY ακολουθεί παθητική διαδικασία που διέπεται από πρωτοταξική κινητική. Στη παρούσα μελέτη εκτιμήσαμε τα επίπεδα κολιστίνης σε ασθενείς με κοιλίτιδα χρησιμοποιώντας δύο τρόπους θεραπείας, ενδοφλέβια και ενδοφλέβια-ενδοκοιλιακή. Στη συνδυαστική χορήγηση, τα υψηλότερα επίπεδα κολιστίνης παρατηρήθηκαν την πρώτη ώρα μετά την ενδοκοιλιακή χορήγηση. Οι C_{max} στο ENY και τα κλάσματα συγκεντρώσεων κολιστίνης ENY/ορού ήταν σημαντικά υψηλότερα στην ομάδα 3 σε σύγκριση με την ομάδα 2. Τα μέσα κλάσματα συγκεντρώσεων ENY/ορού που επετεύχθησαν ήταν σημαντικά υψηλότερα όλες τις χρονικές στιγμές ($\geq 0,40$) συγκρινόμενα με εκείνα που επετεύχθησαν με μόνο ενδοφλέβια χορήγηση με κοιλίτιδα (0,11) και χωρίς κοιλίτιδα (0,07) ($p < 0.0001$).



Γράφημα 6.4: Σύγκριση μέσων λόγων συγκεντρώσεων κολιστίνης εγκεφαλονωτιαίου υγρού προς ορό σε ενδοφλέβια χορήγηση χωρίς κοιλίτιδα, σε ενδοφλέβια χορήγηση με κοιλίτιδα και σε συνδυαστική χορήγηση (ενδοφλέβια και ενδοκοιλιακή) με κοιλίτιδα.

Με την συνδυαστική χορήγηση παρατηρούνται συγκεντρώσεις πάνω από το MIC=0,5μg/ml ενώ με μόνο ενδοφλέβια χορήγηση κάτω από το MIC όπως

προαναφέρθηκε. Αυτά τα δεδομένα φανερώνουν πιο αποτελεσματική τη συνδυαστική θεραπεία έναντι της ενδοφλέβιας στο να εκριζώσουν gram αρνητικούς βάκιλλους από το ΚΝΣ.

Η βέλτιστη δόση και η διάρκεια ενδοκοιλιακής θεραπείας παραμένουν αδιευκρίνιστα και οι δόσεις ποικίλουν από 40.000 έως 500000 IU/ημέρα¹⁸⁵. Πρόσφατα, οι Imberti et al¹⁸⁶ μελέτησαν τη φαρμακοκινητική της κολιστίνης στο ENY μετά από ενδοκοιλιακή χορήγηση CMS σε διαφορετικές δόσεις (2.62-10.44 mg) σε ασθενείς με κοιλίτιδα. Στη παρούσα μελέτη χορηγήθηκε δόση 125000 IU (ή 9,38 mg) CMS μία φορά την ημέρα σύμφωνα με την κλινική πρακτική του νοσοκομείου. Η πιθανή τοξικότητα από απευθείας χορήγηση στις κοιλίες (χημική κοιλίτιδα και σπασμοί) ίσως αποτελεί πρόβλημα. Στη παρούσα μελέτη δεν παρατηρήθηκε τοξικότητα ή ανεπιθύμητες ενέργειες μετά από τις κατάλληλες διαγνωστικές εξετάσεις. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι τα επίπεδα κολιστίνης στις οκτώ ώρες μετά από ενδοκοιλιακή χορήγηση μειώνονται (< 700 ng/ml) ακόμα και όταν τα μέγιστα επίπεδα έχουν φτάσει πάνω από 1400 ng/ml. Βέβαια, ο πληθυσμός της μελέτης είναι μικρός και δεν είναι επαρκής ώστε να εξαχθούν απόλυτα συμπεράσματα σχετικά με την ασφάλεια αυτής της θεραπείας ή εάν αυτός ο τύπος θεραπείας μπορεί να συνδεθεί με ανάπτυξη βακτηριδιακής αντίστασης στα αντιβιοτικά. Στους ασθενείς με συνδυαστική χορήγηση η κλινική ανταπόκριση ήταν 75%, ενώ σε δύο ασθενείς με μόνο ενδοφλέβια χορήγηση, μετά από αποτυχία θεραπείας, έγινε επιπλέον ενδοκοιλιακή χορήγηση. Από την άλλη πλευρά οι συγκεντρώσεις κολιστίνης ίσως δεν είναι επαρκείς, ακόμα και μετά από συνδυαστική χορήγηση, σε περιπτώσεις ασθενών μολυσμένων με *Klebsiella pneumoniae* (βακτήριο που παράγει καρβαπενεμάση) με MIC > 2 μg/ml.

6.6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα ευρήματα δείχνουν ότι η ενδοφλέβια χορήγηση CMS 3.000.000 IU τρεις φορές την ημέρα σε βαρέως πάσχοντες με κοιλίτιδα από εξωτερική συσκευή κοιλίας οφειλόμενη σε Gram αρνητικά βακτήρια παρέχει διείσδυση κολιστίνης 11% στο ENY. Σε αντίθεση η συνδυαστική χορήγηση (ενδοκοιλιακή-ενδοφλέβια) CMS επιφέρει καλύτερη διείσδυση και υψηλότερα επίπεδα του φαρμάκου στο ENY τα οποία είναι πάνω από το MIC στόχο του *Acinetobacter* σε σε όλο το μεσοδιάστημα των δόσεων. Συνεπώς, προτείνεται ότι η συνδυαστική θεραπεία, σε λοιμώξεις από

gram αρνητικά βακτήρια, για κοιλίτιδα από συσκευή είναι σημαντικότερη. Βέβαια, θα πρέπει να σημειωθεί ότι χρειάζεται να γίνουν περισσότερες μελέτες σχετικά με τη δοσολογία της CMS και την ασφαλή χορήγηση σε κοιλίτιδα χρειάζονται να γίνουν.

7. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΙΕΙΣΔΥΣΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΚΥΨΕΛΙΔΙΚΟ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΟ ΥΓΡΟ ΒΑΡΕΩΝ ΠΑΣΧΟΝΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ.

7.1 ΥΠΑΡΧΟΥΣΑ ΓΝΩΣΗ

Η βακτηριαμία μαζί με τη νοσοκομειακή πνευμονία αποτελούν τις πιο συχνές σοβαρές νοσοκομειακές λοιμώξεις στους ασθενείς σε κρίσιμη κατάσταση.

Η πρώτη μελέτη των Imberti R et al¹²⁴ σε ανθρώπους έδειξε ότι μετά από δύο ημέρες θεραπείας με ενδοφλέβια CMS, η κολιστίνη στο πνευμονικό υγρό δεν ήταν ανιχνεύσιμη. Τα αποτελέσματα αυτά υποστηρίχθηκαν από τα ευρήματα της μελέτης των Lu Q et al¹²⁵ σε χοιρίδια με πνευμονία. Στη μελέτη των Lu Q et al¹²⁵ η κολιστίνη δεν ανιχνεύτηκε στον πνευμονικό ιστό μετά από τρεις ενδοφλέβιες δόσεις CMS. Κάποια προηγούμενα πειραματικά δεδομένα από ζώα και ανθρώπους πρότειναν ότι τουλάχιστον κάποιο ποσοστό κολιστίνης διεισδύει στους πνεύμονες μετά από ενδοφλέβια έγχυση CMS. Οι Aoki et al¹²⁶ χρησιμοποιώντας μία βιολογική μέθοδο, βρήκαν ότι μετά από ενδοφλέβια χορήγηση μιας μονής πολύ υψηλής δόσης CMS σε ποντίκι, η διείσδυση της κολιστίνης εκτιμώμενη σαν ένα κλάσμα του AUC_{0-2h} ομογενοποιημένου ιστού πνεύμονα προς το αντίστοιχο AUC_{0-2h} στον ορό ήταν 61%. Οι Reed MD et al¹²⁷ χρησιμοποιώντας μία μέθοδο μέτρησης κολιστίνης HPLC σε ασθενείς με κυστική ίνωση, βρήκαν ότι οι συγκεντρώσεις κολιστίνης στα πτύελα μετά από τρεις τουλάχιστον ημέρες χορήγησης ενδοφλέβιας CMS υπερέβαιναν τις παρατηρούμενες συγκεντρώσεις στο πλάσμα. Συμπερασματικά τα ευρήματα αυτών των μελετών μας έκαναν να πιστέψουμε ότι η διείσδυση της κολιστίνης στο πνευμονικό κυψελιδικό υγρό δεν μπορεί να είναι αμελητέα.

7.2 ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ο σκοπός της μελέτης μας ήταν να μελετήσουμε τη διείσδυση της κολιστίνης στο επιθηλιακό κυψελιδικό υγρό.

7.3 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

7.3.1 ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Στη μελέτη έλαβαν μέρος δύο σοβαρά μηχανικά υποστηριζόμενοι πολυτραυματίες νοσηλευόμενοι στη Μονάδα του ΚΑΤ από Μάιο 2008 έως Ιούλιο 2008 οι οποίοι υποβλήθηκαν σε προγραμματισμένη βρογχοσκόπηση ενώ βρίσκονταν υπό αντιμικροβιακή θεραπεία με κολιστίνη για σήψη. Στους ασθενείς αυτούς μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις κολιστίνης στον ορό και στο πνευμονικό κυψελιδικό υγρό (ALF).

Ο πρώτος ασθενής ήταν ένας άντρας ηλικίας 40 ετών πολυτραυματίας ο οποίος έλαβε ενδοφλέβια μεθανοσουλφονική κολιστίνη (225 mg x 3) για βακτηριαμία. Ο δεύτερος ασθενής ήταν μία γυναίκα 50 ετών πολυτραυματίας η οποία έλαβε μεθανοσουλφονική κολιστίνη ενδοφλέβια (225mg x 3) για πνευμονία προκαλούμενη από αναπνευστήρα. Κανένας ασθενής δεν έλαβε εισπνεόμενη κολιστίνη.

Το συγγενικό περιβάλλον των ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη είχε λάβει προηγουμένως σχετική ενημέρωση και έδωσε τη συγκατάθεση του. Το πρωτόκολλο της μελέτης είχε επίσης λάβει σχετική έγκριση από την επιστημονική επιτροπή του νοσοκομείου. Η διεξαγωγή της μελέτης έγινε σύμφωνα με τις αρχές καλής κλινικής πρακτικής. Τα έγγραφα κρατούνται στο αρχείο του νοσοκομείου.

7.3.2 ΒΡΟΓΧΟΚΥΨΕΛΙΔΙΚΗ ΕΚΠΛΥΣΗ (BAL)

Οι δύο ασθενείς της μελέτης υπέστησαν ινοπτική βρογχοσκόπηση και πάρθηκαν δείγματα ALF με την μέθοδο της βρογχοκυψελιδικής έκπλυσης (BAL).

Αν και ο όγκος του εγχεόμενου υγρού για τη διενέργεια του BAL δεν έχει ακόμη πλήρως τυποποιηθεί, σε μελέτες που περιελάμβαναν χρήση της τεχνικής του BAL σε ασθενείς σε κρίσιμη κατάσταση οι εγχεόμενοι όγκοι κυμαίνονταν μεταξύ 100-300 ml. Στη παρούσα μελέτη λόγω της κρίσιμης κατάστασης των ασθενών και για την ελαχιστοποίηση του κινδύνου επιπλοκών, προτιμήθηκε η έγχυση συνολικά 100 ml φυσιολογικού ορού διαιρεμένων σε δύο κλάσματα των 50 ml. Σύμφωνα με την παραπάνω μέθοδο ένα εύκαμπτο ινοπτικό βρογχοσκόπιο εισάγονταν διαμέσου του ενδοτραχειακού σωλήνα και ενσφηνώνονταν σε κάποιο τμήμα βρόγχου των ασθενών όπου στη συνέχεια γινόταν έγχυση δύο κλασμάτων των 50 ml φυσιολογικού ορού. Το αναρροφηθέν υγρό από το πρώτο κλάσμα των 50 ml απορριπτόταν καθότι θεωρείτο επιμολυσμένο από τα υγρά των ανωτέρων αναπνευστικών οδών (αντιπροσωπευτικό των βρογχικών εκκρίσεων). Αντίθετα, το υγρό από το δεύτερο

κλάσμα θεωρείται αντιπροσωπευτικό του κυψελιδικού υγρού, συλλεγόταν σε αποστειρωμένες σύριγγες και χρησιμοποιήθηκε στη συνέχεια για τον υπολογισμό των συγκεντρώσεων της κολιστίνης στο ALF. Τα δείγματα του BAL φυγοκετρήθηκαν αμέσως σε ψυχόμενη φυγόκεντρο προκειμένου να λάβει χώρα ο πλήρης διαχωρισμός κυτταρικής-υγρής φάσης και στη συνέχεια η υπερκείμενη λαμβανόμενη υγρή φάση αφού τοποθετήθηκε σε κατάλληλους περιέκτες καταψύχθηκε στους $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ μέχρι την στιγμή της ανάλυσης με HPLC.

7.3.3 ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΟΡΟΥ ΚΑΙ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ALF

Δείγματα ορού πάρθηκαν παράλληλα με τα ζεύγη BAL. Οι συγκεντρώσεις της κολιστίνης στο ALF υπολογίστηκαν μετρώντας την ουρία στο BAL και στον ορό. Κατά τη διάρκεια της βρογχοκυψελιδικής έκπλυσης το κυψελιδικό υγρό που περιβάλλει τις επιφάνειες του πνεύμονα υφίσταται αραιώση από το εκχεόμενο κατά τη βρογχοσκόπηση διάλυμα. Προσέγγιση για την ποσοτικοποίηση της αραιώσης που υφίσταται το κυψελιδικό υγρό αποτελεί ο προσδιορισμός στο αναρροφούμενο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα μιας διαλυμένης ουσίας η οποία έχει την ίδια περίπου συγκέντρωση στο ALF και στον ορό. Η ουρία υποδείχθηκε από τους Rennard¹⁸⁷ et al ως μια τέτοια ουσία λόγω του μικρού μοριακού της βάρους και της χαρακτηριστικής ευκολίας και ταχύτητας με την οποία διαχέεται μέσω των κυτταρικών μεμβρανών, με συνέπεια οι συγκεντρώσεις της ουρίας στον ορό και στο ALF να θεωρούνται σχεδόν ίσες. Έτσι η ουρία χρησιμοποιήθηκε ως ενδογενής ουσία αναφοράς (endogenous reference marker) και ενδεικτικός συντελεστής αραιώσης (dilution factor) για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης της κολιστίνης στο κυψελιδικό υγρό (ALF), καθότι διαθέτει το πλεονέκτημα της ελεύθερης διάχυσης διαμέσου των διαφόρων ανατομικών διαμερισμάτων του σώματος συμπεριλαμβανομένων και των ανατομικών φραγμών της κυψελιδοπνευμονικής περιοχής. Έτσι η συγκέντρωση της ουρίας στο κυψελιδικό υγρό (ALF) θεωρείται κατά προσέγγιση ίση με την αντίστοιχη συγκέντρωση της ουρίας στον ορό δηλαδή $[\text{Urea}]_{\text{ALF}} = [\text{Urea}]_{\text{serum}}$. Σύμφωνα με το παραπάνω και με τη χρήση απλών σχέσεων αραιώσης επιτυγχάνεται ο προσδιορισμός του φαινομένου όγκου του ALF και κατ'επέκταση ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης διαφόρων μορίων στο ALF. Επιπλέον, λόγω των φυσικοχημικών της χαρακτηριστικών, η διαβατότητα της ουρίας δεν επηρεάζεται ιδιαίτερα από νοσήματα του αναπνευστικού συστήματος που μεταβάλλουν τη

διαπερατότητα της κυψελοτριχοειδικής μεμβράνης (π.χ πνευμονία) επιτρέποντας έτσι τον ποσοτικό προσδιορισμό του ALF τόσο παρουσία όσο και απουσία αναπνευστικής νόσου. Εντούτοις, η ουρία ως μικρομοριακός δείκτης αραιώσης που διαχέεται εύκολα έχει το μειονέκτημα ότι μπορεί να προέρχεται και από άλλες εκτός του ALF περιοχές (π.χ μεσοκυττάριος χώρος, αίμα) δίνοντας έτσι ψευδώς αυξημένες συγκεντρώσεις ουρίας στο αναρροφούμενο βρογχοκυψελιδικό υγρό έκπλυσης. Αυτό έχει ως συνέπεια να υπερεκτιμάται ο προσδιοριζόμενος όγκος του ALF και να υποεκτιμούνται οι συγκεντρώσεις των προσδιοριζόμενων σε αυτό φαρμάκων.

7.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στους δύο ασθενείς ολοκληρώθηκε επιτυχώς η διαδικασία της βρογχοσκόπησης και της λήψης δειγμάτων βρογχοκυψελιδικού υγρού. Και στους δύο ασθενείς οι συγκεντρώσεις κολιστίνης στο ALF ήταν πολύ μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις στον ορό. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 7.1.

Πίνακας 7.1. Διείσδυση κολιστίνης στο πνευμονικό κυψελιδικό υγρό μετά από ενδοφλέβια χορήγηση μεθανοσουλφονικής κολιστίνης (δόση 225mg τρεις φορές την ημέρα), ALF: πνευμονικό κυψελιδικό υγρό

Ασθενής	Ημέρα θεραπείας	Χρόνος(h) δείγματος	Κολιστίνη BAL(μg/ml)	Κολιστίνη ALF(μg/ml)	Κολιστίνη ΟΡΟΣ(μg/ml)	ALF/ΟΡΟΣ Κλάσμα
1	12	1,5	0,36	4,84	2,85	1,7
2	4	4,0	0,42	25,82	3,48	7,4

7.5 ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μελέτη επιχειρήθηκε ο παράλληλος προσδιορισμός συγκεντρώσεων κολιστίνης στον ορό και στο πνευμονικό επιθηλιακό υγρό βαρέων πάσχοντων ασθενών νοσηλευομένων σε μονάδα εντατικής θεραπείας. Υπολογίστηκε ο σχετικός συντελεστής διείσδυσης της κολιστίνης στο κυψελιδικό υγρό συγκρίνοντας κάθε δεδομένη χρονική στιγμή τα επίπεδα κολιστίνης στο κυψελιδικό διαμέρισμα με τα αντίστοιχα επίπεδα στον ορό μετά από ενδοφλέβια χορήγηση. Με βάση την έως τώρα γνώση και υπάρχουσα βιβλιογραφία, αυτή είναι η πρώτη μελέτη που παρουσιάζει συγκριτικά δεδομένα για τις επιτυγχανόμενες συγκεντρώσεις κολιστίνης στο κυψελιδικό υγρό και στον ορό σε ανθρώπους. Η διείσδυση των αντιμικροβιακών

φαρμάκων στο αναπνευστικό σύστημα επηρεάζεται από τη διαβατότητα ορισμένων τοπικών ανατομικών φραγμών, από τις φυσικοχημικές ιδιότητες των φαρμάκων καθώς και από το βαθμό αδρανοποίησης τους από ένζυμα. Έτσι λοιπόν μεγαλύτερη κλινική αξία έχει η απευθείας μέτρηση και αξιολόγηση των συγκεντρώσεων κολιστίνης στην περιοχή της αναπνευστικής λοίμωξης. Η διείσδυση των φαρμάκων στον πνευμονικό ιστό αυξάνεται παρουσία φλεγμονής σχετιζόμενης με βακτηριακή λοίμωξη, η οποία χαρακτηρίζεται από αυξημένη αιματική ροή, αγγειοδιαστολή, αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα και δημιουργία εξιδρώματος αποτελούμενο από ένα υγρό πλούσιο σε πρωτεΐνες και φλεγμονώδη κύτταρα.

Οι δύο ασθενείς αντιμετωπίστηκαν κάποιες μέρες με μεθανοσουλφονική κολιστίνη ενδοφλεβίως και οι συγκεντρώσεις κολιστίνης στο πνευμονικό κυψελιδικό υγρό ήταν μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες στον ορό, υποδεικνύοντας συσσώρευση φαρμάκου. Καθώς η κολιστίνη έχει πολύ μεγάλο μοριακό βάρος και θεωρητικά σχετικά φτωχή λιποδιαλυτότητα, τα υψηλά επίπεδα κολιστίνης στο κυψελιδικό υγρό μπορούν ίσως να αποδοθούν στη εκτεταμένη σύνδεση του φαρμάκου με τον ιστό¹⁸⁸ ή σε μερικούς μέχρι τώρα άγνωστους μηχανισμούς της μεταφοράς του ενεργού φαρμάκου διαμέσου της επιθηλιακής-τριχοειδικής μεμβράνης. Η πολύ μεγαλύτερη διείσδυση κολιστίνης στον δεύτερο ασθενή ίσως οφείλεται στην παρουσία ενεργής βακτηριακής λοίμωξης (πνευμονία) ή ενδεχομένως σε μια χρονική υστέρηση μεταξύ των καμπυλών συγκέντρωσης-χρόνου στον ορό και της αντίστοιχης στο κυψελιδικό υγρό, όπως έχει παρατηρηθεί σε πολλές περιπτώσεις άλλων αντιβιοτικών¹⁸⁹.

Μία πιθανή εξήγηση για την απόκλιση των αποτελεσμάτων μας με την μελέτη των Imberti et al¹²⁴ είναι ότι στη συγκεκριμένη μελέτη τα πολύ χαμηλά επίπεδα κολιστίνης στο BAL μπορεί να οφείλονταν στη αραιωτική επίδραση της έγχυσης με φυσιολογικό ορό. Έτσι, παρά την πολύ ευαίσθητη μέθοδο την οποία χρησιμοποίησαν για την κολιστίνη, τα επίπεδα κολιστίνης στο BAL ήταν πολύ χαμηλότερα από το κατώτερο όριο ανίχνευσης της μεθόδου τους (50 ng/ml). Ένας επιπλέον παράγοντας ο οποίος μπορεί να συνείσφερε στα πολύ χαμηλά επίπεδα ήταν η χορήγηση μιας σχετικά χαμηλής δόσης κολιστίνης.

Πιστεύουμε ότι χρειάζονται περαιτέρω έρευνες για να εκτιμηθεί η διείσδυση της κολιστίνης στο πνευμονικό κυψελιδικό υγρό και κυρίως έρευνες με νεότερες και πιο αξιόπιστες προσεγγίσεις όπως το μίνι βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα ή αλλιώς τυφλό βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα.

8. ΕΠΙΠΕΔΑ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΟΡΟΥ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΝΔΟΦΛΕΒΙΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΚΑΙ ΝΕΦΕΛΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕΘΑΝΟΣΟΥΛΦΟΝΙΚΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ

8.1 ΥΠΑΡΧΟΥΣΑ ΓΝΩΣΗ

Η αυξανόμενη εμφάνιση αντοχής βακτηριδίων στα υπάρχοντα αντιβιοτικά σήμερα, σε συνδυασμό με τη δυσχέρεια ανακάλυψης νέων αντιμικροβιακών φαρμάκων αποτελεί σημαντικό πρόβλημα στην αντιμετώπιση λοιμώξεων. Η ανάπτυξη ανθεκτικών μικροβίων στην πνευμονία του αναπνευστήρα και της κοινότητας με κύριους εκπροσώπους *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas Aeruginosa* και *Klebsiella pneumoniae* καθώς και η δυσχέρεια εισαγωγής νέων αντιβιοτικών επιβάλλουν την επανεισαγωγή παλαιών δραστικών αντιβιοτικών όπως η κολιστίνη.

Η χορήγηση της κολιστίνης με τη μορφή CMS γίνεται ενδοφλεβίως, ενδομυϊκά, δια εισπνοής και ενδοκοιλιακά. Τα τελευταία χρόνια ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η χρησιμοποίηση της εισπνεόμενης κολιστίνης σε ασθενείς με κυστική ίνωση⁷⁵ και σε ασθενείς με νοσοκομειακή πνευμονία κυρίως σε συνδυασμό με συστηματικά χορηγούμενα αντιβιοτικά⁸⁴ αλλά και ως μονοθεραπεία σε ορισμένες περιπτώσεις¹⁹⁰. Ο στόχος της χρησιμοποίησης εισπνεόμενης κολιστίνης είναι η αύξηση της συγκέντρωσης του φαρμάκου στον πνεύμονα και παράλληλα η μείωση της πιθανότητας εμφάνισης συστηματικών ανεπιθύμητων ενεργειών. Ασθενείς που έπασχαν από πνευμονία αναπνευστήρα συμμετείχαν σε μελέτη¹⁹¹ όπου οι 78 έλαβαν ενδοφλέβια και εισπνεόμενη κολιστίνη συνδυαστικά ενώ 43 έλαβαν μόνο ενδοφλέβια κολιστίνη. Το 80% των ασθενών που έλαβαν τον συνδυασμό θεραπεύτηκαν, ενώ το 60% των ασθενών που έλαβαν μόνο ενδοφλέβια κολιστίνη θεραπεύτηκαν. Σε μελέτη περιστατικών¹⁹² πέντε ασθενών που έλαβαν μόνο εισπνεόμενη κολιστίνη (χωρίς ενδοφλέβια χορήγηση) το 80% των ασθενών παρουσίασε βελτίωση. Αρκετές κλινικές μελέτες αποτελεσματικότητας εισπνεόμενης κολιστίνης έχουν γίνει που δείχνουν ότι μπορεί να αποτελέσει θεραπευτική επιλογή.

Παρά τη χρήση της εισπνεόμενης κολιστίνης ελάχιστα δεδομένα¹⁹³ υπάρχουν ως προς τις φαρμακοκινητικές ιδιότητες της εισπνεόμενης κολιστίνης και τη δυνατότητα επίτευξης επαρκών συγκεντρώσεων φαρμάκου στο τραχειοβρογχικό δέντρο και στις κυψελίδες. Ο όλο και πιο σημαντικός ρόλος της εισπνεόμενης κολιστίνης στις ενδονοσοκομειακές αναπνευστικές λοιμώξεις καθιστά αναγκαίο τον προσδιορισμό

της επαρκούς δοσολογίας του εισπνεόμενου φαρμάκου, ώστε να επιτυγχάνεται ικανοποιητικό θεραπευτικό αποτέλεσμα και να ελαχιστοποιείται ο κίνδυνος εμφάνισης συστηματικών ανεπιθύμητων ενεργειών.

8.2 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ο σκοπός της μελέτης ήταν η διερεύνηση του αν η χορηγούμενη με νεφελοποίηση CMS μπορεί να διαπεράσει τη κυψελιδοτριχοειδική μεμβράνη και έτσι να αυξήσει σημαντικά τα επίπεδα του φαρμάκου στο αίμα των ασθενών που έλαβαν επιπλέον ενδοφλέβια το φάρμακο.

8.3 ΕΓΓΡΑΦΗ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗ

Οι ασθενείς που συμμετείχαν στο πρωτόκολλο έδωσαν έγγραφη συγκατάθεση συμμετοχής στη μελέτη και δημοσίευσης των αποτελεσμάτων αφού ενημερώθηκαν για τον σκοπό, τη μεθοδολογία και ότι δεν θα επιβαρυνόταν η υγεία τους από την μελέτη. Δόθηκε έμφαση ότι η μελέτη δεν είναι παρεμβατική και δεν αποτελούσε κλινική δοκιμή φαρμάκου. Στη μελέτη αυτή συμπεριλήφθηκαν ασθενείς που είχαν απόλυτη ένδειξη χορήγησης κολιστίνης και γι' αυτό το λόγο έγινε απλή καταγραφή των κλινικών και εργαστηριακών τους παραμέτρων. Έτσι, η έγγραφη συγκατάθεση περιορίστηκε ουσιαστικά στην καταγραφή κλινικών δεδομένων, την αιμοληψία για τη μέτρηση εργαστηριακών παραμέτρων και τη δημοσίευση των ευρημάτων.

8.4 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

8.4.1 ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε στο νοσοκομείο ΚΑΤ από Ιανουάριο 2010 έως Δεκέμβριο 2010. Οι ασθενείς που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη ήταν βαριά πάσχοντες ασθενείς που νοσηλεύονταν σε ΜΕΘ και είχαν ένδειξη χορήγησης του φαρμάκου. Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε τέσσερις ομάδες. Η ομάδα Α περιελάμβανε ασθενείς που έλαβαν ενδοφλέβια μεθανοσουλφονική κολιστίνη μόνο (3 εκατομμύρια μονάδες κάθε 8 ώρες) και είχαν βακτηριαιμία ή πνευμονία. Η ομάδα Β περιελάμβανε ασθενείς που έλαβαν ενδοφλέβια αγωγή (3 εκατομμύρια μονάδες κάθε 8 ώρες ενδοφλέβια) σε συνδυασμό με νεφελοποίηση κολιστίνης (1.000.000 μονάδες κάθε 8 ώρες) χρησιμοποιώντας παλαιότερης τεχνολογίας νεφελοποιητές και είχαν πνευμονία.

Η ομάδα Γ περιελάμβανε ασθενείς που έλαβαν κολιστίνη με νεφελοποίηση (1.000.000 μονάδες κάθε 8 ώρες) χρησιμοποιώντας παλαιότερης τεχνολογίας νεφελοποιητές και είχαν τραχειοβρογχίτιδα. Η ομάδα Δ περιελάμβανε ασθενείς που έλαβαν κολιστίνη με νεφελοποίηση (συνήθης δόση 1.000.000 κάθε 8 ώρες) με νεφελοποιητή Aeroneb PRO και είχαν τραχειοβρογχίτιδα. Ο πρώτος ασθενής (ομάδα Α) ήταν άντρας 59 ετών πολυτραυματίας 80 κιλών ο οποίος παρουσίασε βελτίωση. Ο δεύτερος ασθενής (ομάδα Α) ήταν άντρας 50 ετών 70 κιλών με πνευμονία εξ αναπνευστήρα οφειλόμενη σε *A. Baumanni*, έδειξε βελτίωση από τις καλλιέργειες αλλά απεβίωσε αργότερα από άλλες επιπλοκές. Ο τρίτος ασθενής (ομάδα Α) 62 χρονών άντρας με υπαραχνοειδή αιμορραγία 72 κιλών έδειξε κλινική και βακτηριολογική απάντηση στη θεραπεία αλλά ο ασθενής απεβίωσε από άλλες επιπλοκές στη μονάδα εντατικής θεραπείας 15 ημέρες αργότερα. Ο τέταρτος ασθενής (ομάδα Α) άντρας 46 ετών 65 κιλών τραυματίας παρουσίασε σημαντική βελτίωση. Ο πέμπτος ασθενής (ομάδα Β) με πνευμονία εξ αναπνευστήρα οφειλόμενη σε *Acinetobacter* έλαβε ενδοφλέβια κολιστίνη 3.000.000 μονάδες κάθε 8 ώρες και την τρίτη ημέρα θεραπείας του χορηγήθηκε επικουρικά εισπνεόμενη κολιστίνη χρησιμοποιώντας νεφελοποιητή παλαιότερης τεχνολογίας. Ο ασθενής παρουσίασε βελτίωση και ανταποκρίθηκε στη θεραπεία. Ο έκτος ασθενής (ομάδα Β) με πνευμονία από *Acinetobacter* έλαβε ενδοφλέβια κολιστίνη 3.000.000 μονάδες κάθε 8 ώρες και την τέταρτη ημέρα θεραπείας του χορηγήθηκε επικουρικά εισπνεόμενη κολιστίνη χρησιμοποιώντας νεφελοποιητή παλαιότερης τεχνολογίας. Ο ασθενής παρουσίασε βελτίωση αλλά πέθανε μετά από 10 ημέρες από άλλες επιπλοκές. Ο έβδομος ασθενής (ομάδα Γ) παρουσίασε τραχειοβρογχίτιδα του χορηγήθηκε εισπνεόμενη κολιστίνη σε δόση 1.000.000 κάθε 8 ώρες με νεφελοποίηση χρησιμοποιώντας παλαιότερης τεχνολογίας νεφελοποιητές. Ο ασθενής δεν ανταποκρίθηκε γι' αυτό του χορηγήθηκε ενδοφλέβια κολιστίνη στη συνήθη δόση το δεύτερο 24ωρο. Όλοι οι ασθενείς είχαν νεφρική λειτουργία εντός των φυσιολογικών ορίων και παρουσίασαν σταθερότητα όσον αφορά αυτήν. Στην ομάδα Δ συμπεριλήφθηκαν πέντε ασθενείς, αφού έγινε αλλαγή του αναπνευστήρα και χρησιμοποιήθηκε νεότερης τεχνολογίας (Aeroneb Pro, Aerogen, Galway, Ireland), που έπασχαν από τραχειοβρογχίτιδα, οφειλόμενη σε *Acinetobacter baumannii* ευαίσθητο μόνο στις πολυμυξίνες. Οι ασθενείς αυτοί ήταν δύο άντρες και τρεις γυναίκες με μέση ηλικία 60,6 έτη και με φυσιολογική νεφρική λειτουργία. Η MIC της κολιστίνης για αυτούς τους ασθενείς ήταν 0,5 μg/ml. Όλοι οι ασθενείς της ομάδας Δ έδειξαν κλινική βελτίωση στο τέλος της θεραπείας. Οι

ασθενείς είχαν (μέση τιμή \pm SD) APACHE II (σκορ διαδοχικής αξιολόγησης ανεπάρκειας οργάνων) και SOFA (σύστημα ταξινόμησης ασθενών με κριτήριο την σοβαρότητα) $15,9 \pm 6,5$ και $6,9 \pm 2$. αντίστοιχα.

8.4.2 ΡΥΘΜΙΣΕΙΣ ΝΕΦΕΛΟΠΟΙΗΤΗ-ΝΕΦΕΛΟΠΟΙΗΣΗ

Η θέση των νεφελοποιητών ήταν στο εισπνευστικό σκέλος, 10 (μικρο-αντλίας) – 40 (υπερήχων) cm πριν το Υ-τμήμα. Οι ρυθμίσεις αναπνευστήρα – ασθενούς ήταν:

- Ο όγκος ήταν ελεγχόμενος. Αποφυγή προσπαθειών ασθενούς – συγχρονισμός
- Σταθερές - χαμηλές εισπνευστικές ροές: 40 L/min
- Κατά λεπτό αερισμός: 7-9 L/min
- Αναπνευστικός ρυθμός: 12/min
- I/E (η σχέση εισπνοής προς εκπνοή): 50%
- Παύση στο τέλος της εισπνοής: 20%
- Επιστράτευση κυψελίδων – σταθερή PEEP (η εφαρμογή θετικής τελοεκπνευστικής πίεσης που εφαρμόζεται από τον αναπνευστήρα)
- Ρύθμιση ορίων πίεσης και όγκου

Για τη νεφελοποίηση διαλύθηκαν 1.000.000 IU (75 mg) μεθανοσουλφονικής κολιστίνης σε 4 ml ισοτονικού ορού (N/S 0.9%). Η νεφελοποίηση πραγματοποιήθηκε αμέσως μετά την παρασκευή του διαλύματος. Σε ασθενείς με ιστορικό βρογχικής υπεραντιδραστικότητας προηγήθηκε προθεραπεία με βρογχοδιασταλτικά. Για 30 λεπτά νεφελοποίησης ο υγραντήρας και ο θερμαντήρας απομακρύνθηκαν (απομάκρυνση HME - heat-moisture exchanger)

Για νεφελοποίηση μεγαλύτερη των 30 λεπτών ήταν απαραίτητη η προσθήκη συμβατικού υγραντήρα στο εισπνευστικό σκέλος ώστε να μη βλάπτεται η τραχεία από τον ξηρό και κρύο αέρα της παροχής O₂.

8.4.3 ΧΡΟΝΟΙ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΟΡΟΥ

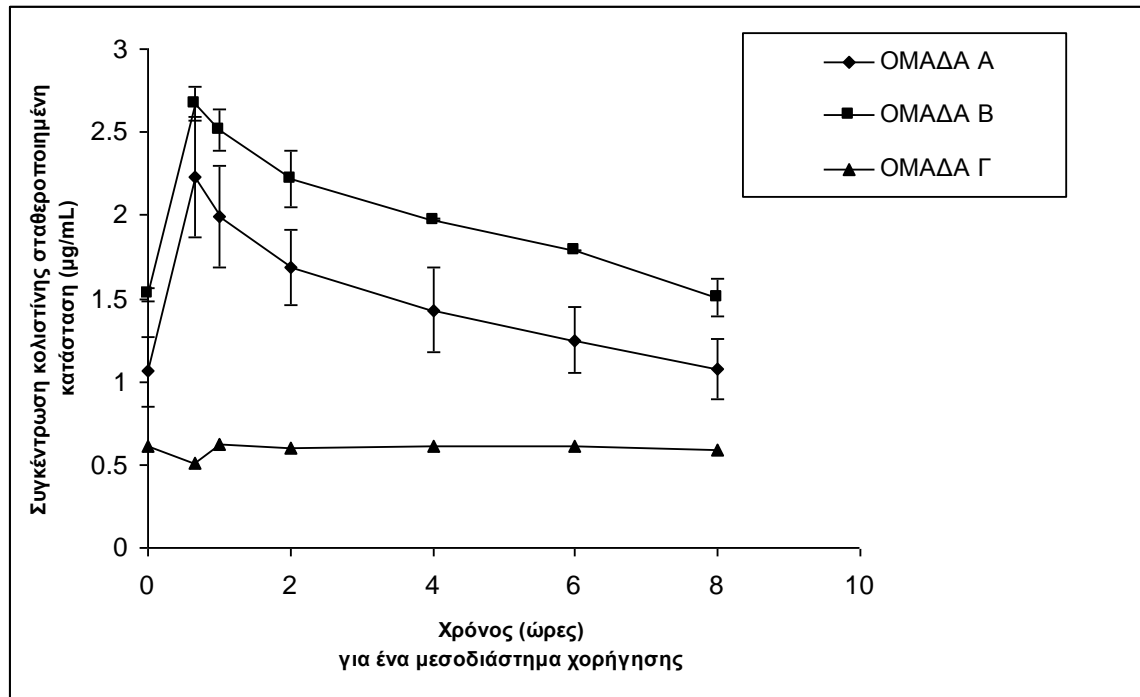
Η λήψη επιπέδων κολιστίνης για τις ομάδες Α, Β και Γ έγινε αφού επιτεύχθηκε σταθεροποιημένη κατάσταση (steady state) δηλαδή την μεταξύ της 48^{ης} και της 72^{ης} ώρας έναρξης χορήγησης του φαρμάκου ενώ για την ομάδα Δ οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν μετά από τη χορήγηση μιας αρχικής δόσης κολιστίνης. Συνολικά πραγματοποιήθηκαν επτά λήψεις αίματος : t-1 (πριν την χορήγηση του φαρμάκου), t-2 (10 λεπτά μετά την ολοκλήρωση της χορήγησης, διάρκεια χορήγησης 20-30 λεπτά, δηλαδή 30-40 λεπτά μετά την έναρξη χορήγησης), t-3 (1 ώρα), t-4 (2 ώρες), t-5 (4

ώρες), t-6 (6 ώρες) και t-7 (πριν την επόμενη χορήγηση, 8 ώρες). Για τη δειγματοληψία ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία: Αρχικά αφαιρούνταν 2 ml αίματος και στη συνέχεια γινόταν λήψη 4 ml αίματος σε περιέκτη τύπου Vacutainer/Vacurette που περιείχε ηπαρίνη από κεντρική φλεβική γραμμή. Ακολουθήθηκε η επαναχορήγηση των αρχικών 2 ml που αφαιρέθηκαν, ενώ η φλεβική γραμμή από τη οποία έγινε η αιμοληψία δεν ήταν εκείνη από την οποία έγινε η έγχυση του φαρμάκου και δεν βρισκόταν στο ίδιο μέλος του σώματος. Το λαμβανόμενο δείγμα αίματος τοποθετήθηκε σε πάγο και μεταφέρθηκε άμεσα στο εργαστήριο όπου γινόταν ψυχόμενη φυγοκέντρηση (3500g για 10 λεπτά) για λήψη πλάσματος και φύλαξη αυτού στους - 70 °C.

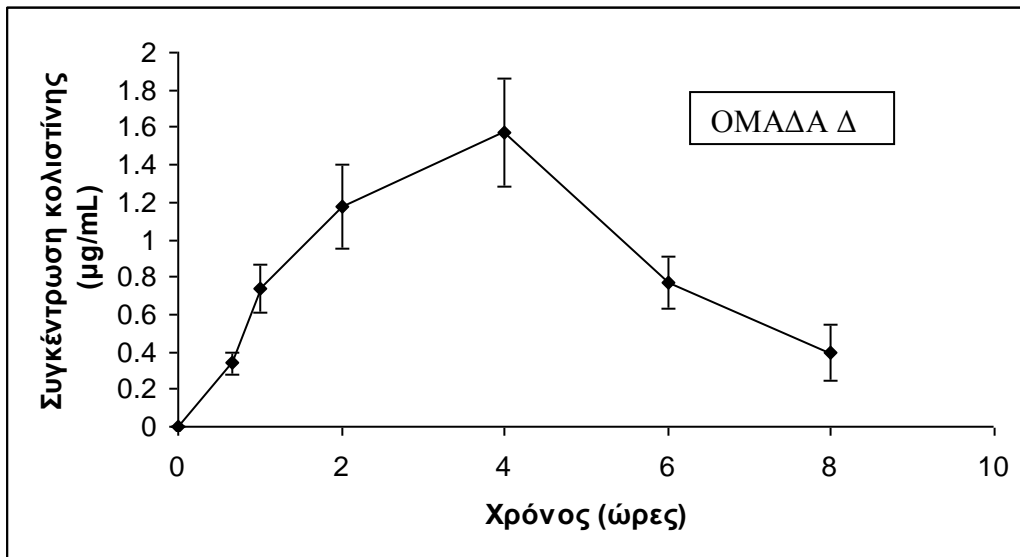
8.5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Οι μετρήσεις των επιπέδων κολιστίνης στους ασθενείς των ομάδων Α, Β και Γ φαίνονται στο γράφημα 8.1. Παρατηρήσαμε ότι μετά από τη συνήθη ενδοφλέβια χορήγηση (ομάδα Α) προέκυψαν οι αναμενόμενες συγκεντρώσεις όπως και στις προηγούμενες μελέτες μας δηλαδή μέγιστα επίπεδα συγκέντρωσης κολιστίνης στον ορό $2,23 \pm 0,36$ $\mu\text{g/ml}$ και ελάχιστα $1,08 \pm 0,18$ $\mu\text{g/ml}$. Το CV των επιπέδων κατά τη διάρκεια του οκταώρου ήταν μεταξύ 14-20%. Σε συνδυαστική χορήγηση ενδοφλέβιας και εισπνεόμενης κολιστίνης (ομάδα Β) οι δύο ασθενείς παρουσίασαν αυξημένα επίπεδα σε σύγκριση με μόνο ενδοφλέβια χορήγηση, δηλαδή μέγιστα επίπεδα συγκέντρωσης κολιστίνης στον ορό $2,67 \pm 0,1$ $\mu\text{g/ml}$ και ελάχιστα $1,51 \pm 0,11$ $\mu\text{g/ml}$, πράγμα που δείχνει την εμφάνιση κολιστίνης στον ορό μετά από εισπνεόμενη χρήση. Τα επίπεδα του ασθενούς με μόνο εισπνεόμενη χορήγηση (ομάδα Γ) ήταν πολύ χαμηλά και σταθερά καθ' όλη τη διάρκεια του οκταώρου με εύρος τιμών συγκεντρώσεων 0,51-0,63 $\mu\text{g/ml}$. Στο συγκεκριμένο ασθενή αποφασίστηκε και η έναρξη ενδοφλέβιας χορήγησης αφού δεν υπήρχε ίχνος κλινικής βελτίωσης του συγκεκριμένου ασθενούς. Ο ασθενής αυτός έπασχε από τραγχειοβρογχίτιδα και υπήρχε ένδειξη χορήγησης εισπνεόμενης κολιστίνης. Η χορήγηση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας παλαιότερης τεχνολογίας νεφελοποιητές. Τα χαμηλά επίπεδα εισπνεόμενης κολιστίνης πιθανόν να οφείλονται στον παλαιού τύπου αναπνευστήρα ο οποίος δεν μετέφερε επαρκώς τα σωματίδια του φαρμάκου στους πνεύμονες. Επομένως δεν ξαναχρησιμοποιήθηκε ο παλαιού τύπου αναπνευστήρας αλλά στους επόμενους πέντε ασθενείς χρησιμοποιήθηκε ένας νεφελοποιητής δόνησης με πλέγμα

(Aeroneb Pro, Aerogen, Galway, Ireland). Η μέση μέγιστη συγκέντρωση κολιστίνης ήταν $1,57 \pm 0,29$ $\mu\text{g/ml}$ με εύρος 1,19-2 $\mu\text{g/ml}$ (CV 18,4%) και μέση ελάχιστη συγκέντρωση $0,40 \pm 0,15$ $\mu\text{g/ml}$ με εύρος 0,27-0,65 (CV 38,2%). Η σύγκριση των επιπέδων κολιστίνης που επιτυγχάθηκε με την χρήση των δύο διαφορετικών τύπων αναπνευστήρα φαίνεται στο γράφημα 8.2.



Γράφημα 8.1: Μέσες συγκεντρώσεις κολιστίνης στον ορό για τους ασθενείς των ομάδων A, B και Γ.



Γράφημα 8.2. Μέσες συγκεντρώσεις κολιστίνης στον ορό της ομάδας Δ.

8.6 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Παρόλο που η εισπνεόμενη κολιστίνη χρησιμοποιείται συχνά σε συνδυασμό με συστηματικά αντιμικροβιακά σε ασθενείς με πνευμονία του αναπνευστήρα εξαιτίας πολυανθεκτικών Gram αρνητικών βακτηρίων, περιορισμένες μελέτες υπάρχουν σχετικά με τη χρήση της και την φαρμακοκινητική της. Οι συγκεντρώσεις κολιστίνης στον ορό μετά από εισπνεόμενη χορήγηση στη παρούσα μελέτη ήταν σχετικά χαμηλές πράγμα που δηλώνει ότι η κολιστίνη μπορεί να είναι ασφαλής όταν χορηγείται δια εισπνοής σε μηχανικά υποστηριζόμενους ασθενείς. Παλαιότερη μελέτη¹⁹⁴ εισπνεόμενης κολιστίνης σε ασθενείς με κυστική ίνωση και σε δύο μελέτες^{79,80} σε ζώα έδειξαν υψηλές τοπικές συγκεντρώσεις φαρμάκου, με ταυτόχρονη σχετικά χαμηλή συγκέντρωση κολιστίνης στον ορό. Αυτό συμφωνεί με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης όσον αφορά τον ορό, αλλά στους ασθενείς με κυστική ίνωση οι συγκεντρώσεις κολιστίνης στον ορό ήταν πολύ χαμηλότερες σε σύγκριση με τη δική μας μελέτη. Μία πιθανή εξήγηση για αυτό είναι ότι στους ασθενείς με κυστική ίνωση η συστηματική απορρόφηση του φαρμάκου μπορεί να εμποδιστεί εξαιτίας του ότι τα εισπνεόμενα αντιβιοτικά παγιδεύονται στα βύσματα βλέννας που βρίσκονται στους βρόγχους. Σημαντικό είναι να τονιστεί ότι όλοι οι ασθενείς μας ήταν διασωληνωμένοι και μηχανικά υποστηριζόμενοι. Έτσι ίσως υπήρχε μία μικρή κατακράτηση του φαρμάκου στο νεφελοποιητή ή στο αναπνευστικό κύκλωμα ή στον ενδοτραχειακό σωλήνα με αποτέλεσμα η ποσότητα του φαρμάκου που μεταφερόταν στους πνεύμονες και από εκεί στη συστηματική κυκλοφορία να ήταν μικρότερη. Σε αυτή τη μελέτη η νεφελοποίηση της εισπνεόμενης κολιστίνης πραγματοποιήθηκε μέσω ενός δονούμενου-βρόχου νεφελοποιητή. Αυτός ο νεφελοποιητής χρησιμοποιεί ηλεκτρισμό για να δονήσει ένα διάφραγμα-πλάκα και να παράγει αερόλυμα, με άλλα λόγια έχει τη δράση μιας μικρο-αντλίας. Έχει πρόσφατα αποδειχθεί ότι σε μηχανικά υποστηριζόμενους ασθενείς η εναπόθεση των εισπνεόμενων φαρμάκων στους πνεύμονες είναι μικρότερη σε σύγκριση με τους μη διασωληνωμένους¹⁹⁵. Επίσης σε δύο μελέτες αποδείχθηκε ότι η νεφελοποίηση με δονούμενους νεφελοποιητές οδήγησαν σε αύξηση της εναπόθεσης της θειϊκής αλβουτερόλης σε σύγκριση με αεριοθούμενους ή υπερηχητικούς νεφελοποιητές^{196,197}. Λαμβάνοντας όλα αυτά υπόψη, αποφασίσαμε να επιλέξουμε αυτό τον τύπο νεφελοποιητή σε μία προσπάθεια να αυξήσουμε τη μεταφορά του φαρμάκου στους πνεύμονες. Επίσης όλοι οι ασθενείς είχαν κανονική νεφρική

λειτουργία και δεν μπορούν να γενικευτούν σε ασθενείς με επηρεασμένη νεφρική λειτουργία επειδή η μειωμένη κάθαρση κρεατινίνης οδηγεί σε μείωση της κάθαρσης της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης, πράγμα που οδηγεί σε αύξηση της συγκέντρωσης της κολιστίνης.

8.7 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μας, μία μονή δόση 1.000.000 μονάδων μεθανοσουλφονικής κολιστίνης χορηγούμενης με νεφελοποίηση σε βαρέως πάσχοντες βρέθηκε να δίνει σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις πράγμα που δηλώνει ότι η κολιστίνη μπορεί να είναι ασφαλής όταν χορηγείται διά εισπνοής. Επίσης επειδή παρατηρήθηκε ότι όλοι οι ασθενείς έδειξαν κλινική βελτίωση στο τέλος της θεραπείας μπορεί να είναι αποτελεσματική για τη θεραπεία της πνευμονίας οφειλόμενης σε αναπνευστήρα εξαιτίας πολυανθεκτικών Gram αρνητικών βακτηρίων. Είναι απαραίτητο να πραγματοποιηθούν μελέτες που να περιλαμβάνουν μετρήσεις συγκέντρωσης κολιστίνης στο πνευμονικό κυψελιδικό υγρό (ALF).

9. ΚΑΤΑΛΛΗΛΟΤΗΤΑ ΔΟΣΗΣ ΜΕΘΑΝΟΣΟΥΛΦΟΝΙΚΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΣΕ ΚΡΙΣΙΜΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΜΕ ΜΕΙΩΜΕΝΗ ΑΛΛΑ ΣΤΑΘΕΡΗ ΝΕΦΡΙΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

9.1 ΥΠΑΡΧΟΥΣΑ ΓΝΩΣΗ

Αξιόπιστα δεδομένα για επίπεδα κολιστίνης στον ορό σε ασθενείς με επηρεασμένη νεφρική λειτουργία είναι σπάνια. Για τους ασθενείς με μειωμένη νεφρική λειτουργία συνίσταται είτε μείωση της δόσης είτε και μείωση του μεσοδιαστήματος των δόσεων σύμφωνα με τους Michalopoulos et al¹²⁹ και Evans et al¹³⁰. Στη μελέτη των Michalopoulos et al¹²⁸ προτάθηκαν οι προσαρμογές δόσεων των ασθενών με μειωμένη νεφρική λειτουργία ως εξής: για συγκεντρώσεις κρεατινίνης στον ορό πάνω από 1,2 mg/100ml, για 1,3-1,5 mg/100ml, για 1,6-2,5 mg/100ml και μεγαλύτερη των 2,6 mg/100ml χορήγηση της ίδιας δόσης αλλά κάθε 8, 12, 24 και 36 ώρες αντίστοιχα. Ενώ για ασθενείς που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης η χορήγηση μιας επιπλέον δόσης 1.000.000 μονάδων μετά από κάθε συνεδρία διάλυσης. Πρόσφατα ερευνητές έχουν προτείνει αλγόριθμους για την τροποποίηση της δόσης σ' αυτούς τους ασθενείς. Οι Garonzik et al¹⁹⁸ χρησιμοποιώντας τα ευρήματα των Dudhani et al¹⁹¹ πρότειναν, για να επιτευχθούν θεραπευτικά επίπεδα κολιστίνης έναντι στους πιο συνηθισμένους παθογόνους μικροοργανισμούς, ένα φαρμακοδυναμικό στόχο, AUC₂₄ προς MIC τουλάχιστον μεγαλύτερο από 60 mg.h/L. Στη μελέτη του Garonzik et al¹⁹⁸ η προτεινόμενη δόση συντήρησης, για ασθενείς με επηρεασμένη νεφρική λειτουργία αλλά σταθερή, εκφρασμένη σαν κολιστίνη βάση προκύπτει από τον αλγόριθμο:

$$\text{Ημερήσια δόση Κολιστίνης Βάσης (mg): } C_{\text{ssavg}} * (1,5 * Cl_{\text{cr}} + 30)$$

όπου C_{ssavg} η μέση συγκέντρωση κολιστίνης στη σταθεροποιημένη κατάσταση για κάθε ασθενή, Cl_{cr} : η κάθαρση κρεατινίνης κάθε ασθενούς. Επίσης τα μεσοδιαστήματα που προτείνονται είναι τα εξής: για ασθενείς με $Cl_{\text{cr}} < 10$ ml/min κάθε 12 ώρες, 10-70 ml/min κάθε 12 ή 8 ώρες και > 70 ml/min κάθε 12 ή 8 ώρες. Η δόση του CMS εκφράζεται σαν κολιστίνη βάση με την εξής σχέση: 150 mg κολιστίνης βάσης είναι ισοδύναμα με περίπου 5.000.000 μονάδες CMS ή 400mg CMS. Η μέση συγκέντρωση-στόχος της κολιστίνης στη σταθεροποιημένη κατάσταση (C_{ssavg}) εκφρασμένη σε mg/L στους ασθενείς με ποικίλη νεφρική λειτουργία και σε αιμοδιάλυση εκτιμήθηκε ότι πρέπει να είναι 2,5 mg/ L ώστε να δώσει ένα AUC₀₋₂₄ προς MIC τουλάχιστον 60 mg.h/L όπου αυτός είναι και ο φαρμακοδυναμικός στόχος.

Για ασθενείς με μειωμένη αλλά σταθερή νεφρική λειτουργία δεν έχει αποδειχθεί ότι οι τροποποιήσεις των δοσολογικών σχημάτων πετυχαίνουν αποδεκτές τιμές AUC_{24} προς MIC.

9.2 ΣΤΟΧΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ο στόχος της μελέτης μας ήταν να προσδιορίσουμε τα επίπεδα κολιστίνης στον ορό ασθενών σε κρίσιμη κατάσταση με επηρεασμένη αλλά σταθερή νεφρική λειτουργία ώστε να υπολογιστούν τις μέσες συγκεντρώσεις της κολιστίνης στη σταθεροποιημένη κατάσταση (C_{ssavg}) σε αυτούς τους ασθενείς και συνεπώς της πιθανής αποτελεσματικότητας του αντιβιοτικού.

9.3 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

9.3.1 ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε από Μάρτη 2009 έως Δεκέμβρη 2009 στο νοσοκομείο ΚΑΤ. Στη μελέτη συμπεριλήφθηκαν πέντε ασθενείς σε κρίσιμη κατάσταση με επηρεασμένη αλλά σταθερή νεφρική λειτουργία οι οποίοι αντιμετωπίστηκαν με μεθανοσουλφονική κολιστίνη ενδοφλεβίως (έγχυση 30 λεπτών) για σοβαρές λοιμώξεις από πολυανθεκτικούς Gram (-) βάκιλλους. Οι ασθενείς αυτοί επιλέχθηκαν έτσι ώστε να έχουν κάθαρση κρεατινίνης μικρότερη από 60 ml/min και από την αρχή της θεραπείας μέχρι την ημέρα της δειγματοληψίας δεν παρατηρήθηκε αλλαγή στα επίπεδα κρεατινίνης μεγαλύτερη από 0,3 mg/dl και αλλαγή στο RIFLE score (score αξιολόγησης της νεφρικής δυσλειτουργίας). Τα χαρακτηριστικά των ασθενών, τα δεδομένα νεφρικής λειτουργίας και το δοσολογικό σχήμα για τον καθένα φαίνονται στον πίνακα 9.1.

Πίνακας 9.1. Χαρακτηριστικά ασθενών και δοσολογικό σχήμα.

Ασθ.	Φύλο	Ηλικία	Αίτια ΜΕΘ	Λοίμωξη	Cl_{cr} (ml/min)	Ημερ. Δόση CMS (mg)	Προτ/νη Δόση* CMS (mg)
1	A	74	εγκεφ.αιμορρ.	BSI	55,6	225x3	225 x 2
2	A	81	εγκεφ.αιμορρ.	BSI	54,8	225x3	225 x 2
3	A	53	τετραπληγία	VAP	48,9	225x2	225 x 2
4	A	42	εγκεφ.αιμορρ.	BSI	26,6	75x3	225 x 1
5	A	54	ισχαιμικό	BSI	41,7	225x3	225 x 2

* (Michalopoulos AS, Clin Microbiol Infect 2005 ; 11:115-21), BSI: βακτηριαμία, VAP: πνευμονία προκαλούμενη από αναπνευστήρα.

9.3.2 ΧΡΟΝΟΙ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΟΡΟΥ

Οι μετρήσεις κολιστίνης έγιναν με τη χρήση της HPLC χρησιμοποιώντας τη μέθοδο που περιγράφηκε πιο πριν. Τα δείγματα πάρθηκαν μεταξύ της τρίτης και πέμπτης ημέρας θεραπείας ώστε να βρισκόμαστε σε σταθεροποιημένη κατάσταση. Οι χρόνοι δειγματοληψίας ήταν 10, 60, 120, 240, 360 λεπτά μετά τη χορήγηση της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης καθώς και πριν την επόμενη δόση. Για τη λήψη δειγμάτων αίματος λαμβάνονταν 2 ml αίματος. Το λαμβανόμενο δείγμα αίματος τοποθετήθηκε σε πάγο και μεταφέρθηκε άμεσα στο εργαστήριο όπου γινόταν ψυχόμενη φυγοκέντρηση (3500g για 10 λεπτά) για λήψη υπερκείμενου και φύλαξη αυτού στους - 70 °C μέχρι την ανάλυση.

9.3.3 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

Ο υπολογισμός των φαρμακοκινητικών παραμέτρων κολιστίνης από τα μετρηθέντα επίπεδα έγινε με τη χρήση του προγράμματος WinNonlin (Pharsight Corporation, Mountain View, Calif.).

9.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Οι φαρμακοκινητικές παράμετροι των πέντε ασθενών παρουσιάζονται στον πίνακα 9.2. Μόνο ο τρίτος ασθενής είχε επιδείνωση της νεφρικής του λειτουργίας κατά τη διάρκεια της παραμονής του στη μονάδα εντατικής θεραπείας.

Πίνακας 9.2: Φαρμακοκινητικές παράμετροι κολιστίνης εκτιμώμενοι μετά από ενδοφλέβια χορήγηση μεθανοσουλφονικής κολιστίνης σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς

Ασθενής	C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	$T_{1/2}$ (h)	Vd_{ss} (L)	AUC ($\text{h}\cdot\mu\text{g/mL}$)	C_{ssavg} ($\mu\text{g/mL}$)	Cl_{ss} (L/h)
1	3.37	9.14	106.5	18.4	2.3	8.2
2	4.62	5.18	65.8	15.6	2.0	9.6
3	4.46	8.69	80.2	21.6	1.8	6.9
4	2.21	9.73	65.6	9.7	1.2	5.2
5	2.13	7.93	204.3	7.8	1.0	19.2

C_{max} = μέγιστη συγκέντρωση που μετρήθηκε 10 λεπτά μετά το τέλος της έγχυσης, $T_{1/2}$ = χρόνος ημισείας ζωής, Cl_{ss} = συνολική σωματική κάθαρση σε σταθεροποιημένη κατάσταση υπολογισμένη από τη σχέση Δόση/AUC, Vd_{ss} = όγκος κατανομής υπολογισμένη από τη σχέση μέσος χρόνος παραμονής επί την κάθαρση, AUC = περιοχή κάτω από τη καμπύλη από τη στιγμή της χορήγησης μέχρι τη στιγμή της τελευταίας παρατήρησης, C_{ssavg} = μέση συγκέντρωση στη σταθεροποιημένη κατάσταση υπολογισμένη από τη σχέση AUC/ τ , όπου τ = το μεσοδιάστημα των δόσεων

9.5 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα ευρήματα ερευνητικών μελετών σε ασθενείς σε κρίσιμη κατάσταση υποστηρίζουν ότι η χορήγηση αντιβιοτικών βάση φαρμακοκινητικών, φαρμακοδυναμικών και τοξικοδυναμικών αρχών μπορεί να μεγιστοποιήσει την αποτελεσματικότητα και να ελαχιστοποιήσει τις ανεπιθύμητες ενέργειες και την ανθεκτικότητα. Για την κολιστίνη έχει αποδειχθεί ότι ο φαρμακοδυναμικός δείκτης AUC_{24}/MIC είναι ο καλύτερος για πρόβλεψη της επίτευξης βακτηριοκτόνων επιπέδων του αντιβιοτικού σε ασθενείς με σοβαρές λοιμώξεις. Στη παρούσα μελέτη παρόλο που δόθηκαν δόσεις μεγαλύτερες από αυτές που προτάθηκαν στη μελέτη των Michalopoulos et al¹²⁹ σε 3 από τους 5 ασθενείς επιτεύχθηκαν τιμές C_{ssavg} από 1,0mg/L έως 2,3mg/L (πίνακας 9.2) δηλ. συγκεντρώσεις κάτω από το στόχο C_{ssavg} των 2,5mg/L που αντιστοιχεί σε φαρμακοδυναμικό στόχο AUC_{0-24} προς $MIC > 60$ mg.h/L^{3,9,10} (Garonzik et al¹⁹⁸).

Σύμφωνα με τον αλγόριθμο του Garonzik¹⁹⁸ οι δόσεις CMS των ασθενών της παρούσας μελέτης πρέπει να είναι μεταξύ 466 και 756 mg και οι ανάλογες δόσεις κολιστίνης βάσης μεταξύ 175 και 284 mg (πίνακας 9.3). Επειδή ο αλγόριθμος αυτός δίνει τη δόση σε κολιστίνη βάση (mg), για να τις συγκρίνουμε με αυτές που χορηγήθηκαν στη παρούσα μελέτη, μετατρέψαμε τις δόσεις μεθανοσουλφονικής κολιστίνης (CMS).

Πίνακας 9.3: Δόσεις με βάση τον αλγόριθμο του Garonzik

Ασθενής	Cl_{cr} (ml/min)	CMS δόση(mg) παρούσας μελέτης	Ημερήσια δόση Κολιστίνης (mg) Garonzik	Ημερήσια δόση CMS (mg) κατά Garonzik
1	55,6	675	284	756
2	54,8	675	281	748
3	48,9	450	258	689
4	26,6	225	175	466
5	41,7	675	231	617

Παρατηρούμε ότι αυτές οι δόσεις είναι λίγο υψηλότερες από αυτές που χορηγήθηκαν στη παρούσα μελέτη για τους τέσσερις πρώτους ασθενείς ενώ για τον πέμπτο ήταν μικρότερη. Συμφωνεί σε ένα βαθμό με τη παρατήρηση μας ότι

χρειαζόμαστε υψηλότερα επίπεδα οπότε υψηλότερες δόσεις. Εάν είχαν χορηγηθεί οι προτεινόμενες δόσεις του Garonzik¹⁹⁸ θα είχαν επιτευχθεί υψηλότερα AUC₂₄ κολιστίνης αλλά τα επίπεδα κολιστίνης θα ήταν ικανοποιητικά μόνο έναντι μικροοργανισμών με MIC ≤ 1.

9.6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σε ασθενείς σε κρίσιμη κατάσταση με επηρεασμένη αλλά σταθερή νεφρική λειτουργία αντιμετωπιζόμενοι με μεθανοσουλφονική κολιστίνη επιτεύχθηκαν C_{ssavg} τα οποία δεν ήταν ικανοποιητικά σύμφωνα με τον φαρμακοδυναμικό στόχο 2,5 mg/L ώστε να δώσει ένα AUC₂₄ τουλάχιστον 60 mg.h/L. Ο στόχος αυτός δεν ήταν εφικτός παρά το γεγονός ότι η καθημερινά χορηγούμενη δόση μεθανοσουλφονικής κολιστίνης ήταν για τους τρεις στους πέντε ασθενείς μεγαλύτερη από την προτεινόμενη δόση από τους Michalopoulos et al¹³⁰. Εάν είχαν χορηγηθεί δόσεις σύμφωνα με τον αλγόριθμο του Garonzik²⁰⁰ οι τιμές AUC₂₄ που θα είχαν επιτευχθεί θα ήταν 61,8, 51,8, 66,1, 60,2, 21,3 για τους πέντε ασθενείς αντίστοιχα. Έτσι σε περίπτωση που ισχύει MIC ≤ 1 για τους τρεις ασθενείς θα είχε επιτευχθεί ο στόχος. Χρειάζεται περαιτέρω μελέτη για να διαλευκάνει την καταλληλότερη δόση μεθανοσουλφονικής κολιστίνης σε βαρέως πάσχοντες με επηρεασμένη αλλά σταθερή νεφρική λειτουργία.

10. ΕΙΝΑΙ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΝΑ ΠΡΟΣΑΡΜΟΖΟΝΤΑΙ ΟΙ ΔΟΣΕΙΣ ΜΕΘΑΝΟΣΟΥΛΦΟΝΙΚΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΜΕΤΡΙΑ ΝΕΦΡΙΚΗ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ;

10.1 ΥΠΑΡΧΟΥΣΑ ΓΝΩΣΗ

Η μεθανοσουλφονική κολιστίνη (προφάρμακο) θεωρείται ότι υφίσταται κάθαρση από τα νεφρά, ενώ η κάθαρση του δραστικού φαρμάκου, κολιστίνη, επηρεάζεται κυρίως από μη νεφρικούς μηχανισμούς. Σύμφωνα με τις τρέχουσες οδηγίες, η καθημερινή δόση κολιστίνης πρέπει να προσαρμόζεται προς τα κάτω σε ασθενείς με κάθαρση κρεατινίνης (CrCl)<80ml/min (Evans et al¹²⁸) ή με επίπεδα κρεατινίνης ορού (SCr)>1.2mg/dl (Michalopoulos et al¹²⁹). Συγκεκριμένα πάνω από 1,2 mg/100ml, 1,3-1,5 mg/100ml, 1,6-2,5 mg/100ml και μεγαλύτερη 2,6 mg/100ml προτείνεται η ίδια δόση αλλά κάθε 8, 12, 24 και 36 ώρες αντίστοιχα. Αυτές οι οδηγίες δεν αποτελούν αξιόπιστα δεδομένα αφού βασίζονται σε μικροβιολογικές μετρήσεις επιπέδων κολιστίνης στον ορό ασθενών με επηρεασμένη νεφρική λειτουργία.

10.2 ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ο σκοπός της μελέτης ήταν να διευκρινιστεί εάν είναι απαραίτητη η προσαρμογή δόσης σύμφωνα με τις προαναφερθείσες μελέτες των Evans et al¹²⁸ και των Michalopoulos et al¹²⁹ σε ασθενείς με ήπια- μέτρια νεφρική δυσλειτουργία.

10.3 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε από Νοέμβριο 2008 έως Μάρτιο 2010 στο νοσοκομείο ΚΑΤ. Οι ασθενείς (ή οι συγγενείς τους) έδωσαν συγκατάθεση όπου φυλάσσονται στα αρχεία του νοσοκομείου. Στη μελέτη συμπεριλήφθηκαν εξήντα βαρέως πάσχοντες ασθενείς που έπασχαν από σοβαρές λοιμώξεις με πολυανθεκτικούς gram αρνητικούς βάκιλλους. Οι ασθενείς αυτοί αντιμετωπίστηκαν με ενδοφλέβια χορήγηση μεθανοσουλφονικής κολιστίνης με δοσολογικό σχήμα 225 mg x 3. Η μεθανοσουλφονική κολιστίνη (CMS, Norma, Athens, Greece) χορηγείται ενδοφλέβια σε 100 ml N/S που εγχέονται με αντλία σε 30 λεπτά. Τα δείγματα λήφθηκαν μετά από τουλάχιστον δύο ημέρες θεραπεία με μεθανοσουλφονική κολιστίνη, ώστε οι συγκεντρώσεις κολιστίνης να φτάσουν σε σταθεροποιημένη κατάσταση. Από κάθε

ασθενή λαμβάνονταν δύο δείγματα αίματος των 5 ml, το ένα στη μέγιστη συγκέντρωση ($C_{max}/10$ λεπτά μετά την έγχυση) και το άλλο στην ελάχιστη συγκέντρωση ($C_{min}/$ πριν την έγχυση). Όλα τα δείγματα αφού συλλέχθηκαν μεταφέρθηκαν αμέσως στη ψυχόμενη φυγόκεντρο ($3500 \times g$, 10min) χωρίς καθυστέρηση. Στη συνέχεια αποθηκεύτηκαν στους $-70 \text{ }^\circ\text{C}$ μέχρι να αναλυθούν. Οι εξήντα ασθενείς χωρίστηκαν σε τέσσερις ομάδες ανάλογα με την κάθαρση κρεατινίνης (δύο ομάδες) ή την συγκέντρωση κρεατινίνης στον ορό (δύο ομάδες) σύμφωνα με τις οδηγίες που πρότειναν οι Evans et al¹²⁸ και των Michalopoulos et al¹²⁹. Έγινε σύγκριση των επιπέδων μέγιστης και ελάχιστης συγκέντρωσης κολιστίνης για όλους τους ασθενείς. Οι ασθενείς με $Cl_{cr} > 80 \text{ ml/min}$ αποτέλεσαν την πρώτη ομάδα (Α). Οι ασθενείς με $Cl_{cr} \leq 80 \text{ ml/min}$ αποτέλεσαν τη δεύτερη ομάδα (Β). Ασθενείς με $S_{Cr} \leq 1,2 \text{ mg/dl}$ αποτέλεσαν την τρίτη ομάδα (Γ). Ασθενείς με $S_{Cr} > 1,2 \text{ mg/dl}$ αποτέλεσαν την τέταρτη ομάδα (Δ) (πίνακας 10.1).

Πίνακας 10.1: Διαχωρισμός των ασθενών που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη σε τέσσερις ομάδες

ΟΜΑΔΑ	ΝΕΦΡ.ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ	ΕΥΡΟΣ	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ	ΑΡ.ΑΣΘΕΝΩΝ
Cl_{cr} (mL/min)				
A	Κανονική	80,4-173,4	119,3	18
B	Ανεπαρκής	41,3-79,7	61,7	12
S_{cr} (mg/dL)				
Γ	Κανονική	<1,2	-	24
Δ	Ανεπαρκής	1,2-1,8	-	6

10.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα δεδομένα που προέκυψαν για τις τέσσερις ομάδες ασθενών φαίνονται στους τέσσερις παρακάτω πίνακες (10.2, 10.3, 10.4, 10.5).

Πίνακας 10.2: Τα χαρακτηριστικά των ασθενών της ομάδας A φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (δόση 675 mg CMS).

C_{max} (ng/ml)	C_{min} (ng/ml)	Βάρος(Kg)	Cl_{cr}(mg/ml)	Αλβουμίνη (mg/dl)	Φύλο	Ηλικία(έτη)
1414	4155	105	121	4,6	A	57
873	3173	90	96,2	3,9	A	63
465	1298	40	85	3,1	Θ	32
1544	4266	90	173,4	2,9	A	29
1233	3832	85	106,6	4,1	Θ	55
996	3679	81	140	3,7	Θ	40
818	1550	80	144,4	3,5	A	36
637	1373	75	93,8	2,9	A	68
1239	2487	90	83,7	3,3	A	53
1551	3548	95	181,4	3,4	A	30
619	1908	75	147,1	2,9	A	27
854	2643	90	114,1	3,4	A	67
960	4238	80	155	4	A	21
1160	2660	80	112,5	3,3	A	59
520	2640	85	119,8	3,4	A	46
1500	5140	60	103,1	3,8	A	41
400	1150	80	80,4	3,7	A	65
1500	3340	60	89,3	3,4	A	65

Πίνακας 10.3: Τα χαρακτηριστικά των ασθενών της ομάδας B φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (δόση 675 mg CMS).

C_{max} (ng/ml)	C_{min} (ng/ml)	Βάρος(Kg)	Cl_{cr}(mg/ml)	Αλβουμίνη (mg/dl)	Φύλο	Ηλικία(έτη)
1700	3370	75	53,2	2,7	A	75
620	2130	70	46	2,8	A	80
-	4620	85	54,8	2,9	A	75
690	4690	80	45,9	-	A	75
1242	4010	74	59,4	-	A	36
-	3420	74	41,3	-	Θ	55
986	3563	75	78,1	3	Θ	80
1743	5137	80	63,7	3,6	Θ	80
750	3003	75	79,7	4,1	A	62
640	1320	84	68,7	3,2	A	84
950	2810	65	74,5	3,5	A	74
1400	4640	70	75,3	3,1	A	78

Πίνακας 10.4: Τα χαρακτηριστικά των ασθενών της ομάδας Γ φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (δόση 675 mg CMS).

C_{max} (ng/ml)	C_{min} (ng/ml)	Βάρος(Kg)	Cl_{cr}(mg/ml)	Αλβουμίνη (mg/dl)	Φύλο	Ηλικία(έτη)
1414	4155	105	121	4,6	A	57
873	3173	90	96,2	3,9	A	63
465	1298	40	85	3,1	Θ	32
1544	4266	90	173,4	2,9	A	29
1233	3832	85	106,6	4,1	Θ	55
996	3679	81	140	3,7	Θ	40
818	1550	80	144,4	3,5	A	36
637	1373	75	93,8	2,9	A	68
1239	2487	90	83,7	3,3	A	53
1551	3548	95	181,4	3,4	A	30
619	1908	75	147,1	2,9	A	27
854	2643	90	114,1	3,4	A	67
960	4238	80	155	4	A	21
1160	2660	80	112,5	3,3	A	59
520	2640	85	119,8	3,4	A	46
1500	5140	60	103,1	3,8	A	41
400	1150	80	80,4	3,7	A	65
1500	3340	60	89,3	3,4	A	65
986	3563	75	78,1	3	Θ	80
1743	5137	80	63,7	3,6	Θ	80
750	3003	75	79,7	4,1	A	62
640	1320	84	68,7	3,2	A	84
950	2810	65	74,5	3,5	A	74
1400	4640	70	75,3	3,1	A	78

Πίνακας 10.5: Τα χαρακτηριστικά των ασθενών της ομάδας Δ φαίνονται στον παρακάτω πίνακα. (δόση 675 mg CMS).

C_{max} (ng/ml)	C_{min} (ng/ml)	Βάρος(Kg)	Cl_{cr}(mg/ml)	Αλβουμίνη (mg/dl)	Φύλο	Ηλικία(έτη)
1700	3370	75	53,2	2,7	A	75
620	2130	70	46	2,8	A	80
-	4620	85	54,8	2,9	A	75
690	4690	80	45,9	-	A	75
1242	4010	74	59,4	-	A	36
-	3420	74	41,3	-	Θ	55

Τα παραπάνω δεδομένα επεξεργάστηκαν στατιστικά με τη χρήση του t-test για παραμετρικούς παράγοντες. Μετά την στατιστική ανάλυση τα αποτελέσματα που προέκυψαν για τις τέσσερις ομάδες βρίσκονται στον παρακάτω πίνακα 10.6.

Πίνακας 10.6 : Σύγκριση της ομάδας Α με ομάδα Β και ομάδα Γ με ομάδα Δ, έλεγχος σημαντικότητας.

ΟΜΑΔΑ		ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑ
ΟΜΑΔΑ Α	ΟΜΑΔΑ Β	
Μέση Τιμή C_{max} (ng/ml)		
2.949±1.18	3.559±1.14	0,1693
Μέση Τιμή C_{min} (ng/ml)		
1.015±0.39	1.072±0.43	0,7272
ΟΜΑΔΑ		ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑ
ΟΜΑΔΑ Γ	ΟΜΑΔΑ Δ	
Μέση Τιμή C_{max} (ng/ml)		
3.065±1.21	3.764±0.96	0,2401
Μέση Τιμή C_{min} (ng/ml)		
1.031±0.39	1.063±0.45	0,8863

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 10.6 δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά για τη μέγιστη και ελάχιστη συγκέντρωση κολιστίνης που επιτεύχθηκε, μεταξύ των ομάδων Α και Β. Επίσης δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της ομάδας Γ και της ομάδας Δ (πίνακας 10.6).

10.5 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σύμφωνα με τα μέχρι τώρα δεδομένα, στη μελέτη των Evans ME et al¹²⁸ προτείνεται τροποποίηση δόσης σε περιπτώσεις μέτριας νεφρικής ανεπάρκειας. Συγκεκριμένα, σε ασθενείς με κάθαρση κρεατινίνης μικρότερη των 80mL/min προτείνουν αύξηση του μεσοδιαστήματος χορήγησης. Στη μελέτη των Michalopoulos AS et al¹²⁹ προτείνεται δόση CMS 3.000.000 μονάδων κάθε 8 ώρες και εφαρμόζεται τροποποίηση της δόσης σύμφωνα με την κάθαρση κρεατινίνης. Στις δύο παραπάνω μελέτες πρέπει να σημειωθεί ότι οι μετρήσεις έγιναν με μικροβιολογικές μεθόδους μικρής ευαισθησίας, οπότε τα δεδομένα δεν έχουν μεγάλη αξιοπιστία. Σε μία άλλη αρκετά παλαιότερη μελέτη του Hoerich PD¹³⁷ σε ασθενείς με νεφρική δυσλειτουργία συστήνεται δόση 2.5mg/kg την πρώτη ημέρα θεραπείας και οι ακόλουθες δόσεις προσαρμόζονται ανάλογα με την κάθαρση κρεατινίνης. Για κάθαρση ανάμεσα σε 30 και 80 ml/min μπορεί να χορηγηθεί 1,0 με 1,5 mg/kg την ημέρα. Για κάθαρση μικρότερη των 30 mL/min, η δόση κυμαίνεται από 1,0 έως 1,5 mg/kg κάθε 2 με 3 ημέρες. Σε ανουρικούς ασθενείς η χορήγηση δόσης 1,0 mg/kg μπορεί να γίνει κάθε 5 έως 7 ημέρες. Η μεθανοσουλφονική κολιστίνη στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής (colymycin M) χορηγείται σε δόση 5,0 mg/kg την ημέρα σε ασθενείς με κανονικά επίπεδα κολιστίνης ($Cr < 1.2\text{mg/dl}$) σε τρεις διηρημένες

δόσεις. Για επίπεδα κρεατινίνης ανάμεσα σε 2,6 και 2,5 mg/dl η συνιστώμενη δόση είναι 2,5mg/kg την ημέρα ενώ για κρεατινίνη ανάμεσα σε 2,6 και 4,0 mg/dl η δόση είναι 1,5 mg/kg την ημέρα. Το συμπέρασμα που προέκυψε από αυτή τη μελέτη, ότι δηλαδή η μη τροποποίηση της δόσης του χορηγούμενου CMS δεν επηρεάζει τις μέγιστες και ελάχιστες συγκεντρώσεις κολιστίνης δικαιολογείται από το γεγονός ότι η σχηματιζόμενη κολιστίνη θεωρείται ότι απομακρύνεται με μη νεφρικούς μηχανισμούς, σε αντίθεση με τη μεθανοσουλφονική κολιστίνη η οποία υφίσταται μέτριου βαθμού σωληναριακή έκκριση μαζί με πειραματική διήθηση.

10.6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σε ασθενείς σε κρίσιμη κατάσταση με μέτρια νεφρική ανεπάρκεια η έλλειψη τροποποίησης και ρύθμισης της δόσης της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης δεν φαίνεται να έχει σημαντική επίδραση στις μέγιστες και ελάχιστες συγκεντρώσεις της κολιστίνης στον ορό. Παρατηρώντας τα αποτελέσματα της μελέτης δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ Α και Β ομάδας καθώς και Γ και Δ ομάδας.

11. ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΕ ΒΑΡΕΩΣ ΠΑΣΧΟΝΤΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΠΟΥ ΥΠΟΚΕΙΝΤΑΙ ΣΕ ΣΥΝΕΧΗ ΦΛΕΒΟ-ΦΛΕΒΙΚΗ ΑΙΜΟΔΙΑΔΙΗΘΗΣΗ (CVVHDF, CONTINUOUS VENO VENOUS HEMODIAFILTRATION).

11.1 ΥΠΑΡΧΟΥΣΑ ΓΝΩΣΗ

Παρά την αυξημένη χρήση της κολιστίνης τα τελευταία χρόνια, εξακολουθούν να υπάρχουν σημαντικά κενά όσον αφορά τη βέλτιστη δόση του φαρμάκου και τα επιθυμητά επίπεδα της κολιστίνης στον ορό. Σε ασθενείς στη ΜΕΘ με νεφρική ανεπάρκεια που αντιμετωπίζονται με συνεχή αιμοδιήθηση ή αιμοδιαδιήθηση, τα δεδομένα για τα επίπεδα κολιστίνης είναι πρακτικά ανύπαρκτα. Σε παλαιά μελέτη του Goodwin¹³² σημειώθηκαν οι επιπτώσεις της νεφρικής ανεπάρκειας, της περιτοναϊκής διάλυσης και της αιμοδιάλυσης στις συγκεντρώσεις της CMS στον ορό. Δυστυχώς όμως οι μικροβιολογικές μέθοδοι που χρησιμοποίησαν απέτυχαν να μετρήσουν την κολιστίνη και τη μεθανοσουλφονική κολιστίνη ξεχωριστά. Επιπλέον τα συστήματα αιμοδιάλυσης το 1968 ήταν διαφορετικά από τα σημερινά συστήματα. Σε πρόσφατη αναφορά περιστατικού των Li et al¹⁴¹ σε ασθενή υπό CVVHDF στον οποίο χορηγήθηκε αρχικά ενδοφλεβίως 150 mg (2.46 mg/kg) CMS κάθε 24 ώρες και σε 12 μέρες η δόση τροποποιήθηκε και χορηγήθηκε 150 mg κάθε 48 ώρες διαπιστώθηκαν πολύ χαμηλά επίπεδα σε σχέση με τις ελάχιστες ανασταλτικές συγκεντρώσεις και η θεραπεία απέτυχε. Οι Li et al¹⁴¹ με βάση αυτό το περιστατικό πρότειναν χορήγηση 2-3 mg/kg μεθανοσουλφονικής κολιστίνης ανά 12 ώρες σε ασθενείς που υποβάλλονται σε CVVHDF. Σε μελέτη¹³³ ασθενών που υποβάλλονταν σε αιμοδιάλυση ή περιτοναϊκή κάθαρση προτάθηκε χορήγηση ενδοφλέβιας κολιστίνης 2-3mg/kg μετά από κάθε συνεδρία. Σε άλλη μελέτη¹³⁸ ασθενών που υποβάλλονταν σε περιτοναϊκή κάθαρση προτάθηκε 2mg/kg ημερησίως κατά τη διάρκεια της συνεδρίας. Τα δεδομένα για ασθενείς σε CVVHDF είναι ελάχιστα.

Στο νοσοκομείο ΚΑΤ όπου πραγματοποιήθηκε η μελέτη τα τελευταία χρόνια η κολιστίνη σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια που υποβάλλονται σε αγωγή με συνεχή αιμοδιαδιήθηση χορηγείται σε μικρότερα μεσοδιαστήματα (ανά 8 – 12 ώρες), αλλά μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν δεδομένα για τα επιτυγχανόμενα επίπεδα.

11.2 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της μελέτης ήταν η μέτρηση των επιπέδων κολιστίνης μετά από ενδοφλέβια χορήγηση της CMS σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια που υποβλήθηκαν σε συνεχή αιμοδιαδιήθηση (ή αιμοδιήθηση) με στόχο τον υπολογισμό των επιπέδων του φαρμάκου στον ορό, του sieving coefficient (η μαθηματική σχέση που εκφράζει την ικανότητα της διαλυμένης ουσίας να μεταφέρεται/κυκλοφορεί μέσω του φίλτρου) και την κάθαρση του φαρμάκου από το φίλτρο ώστε να γίνεται δυνατή η εξατομίκευση της δόσης της κολιστίνης.

11.3 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

11.3.1 ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΜΕΘΑΝΟΣΟΥΛΦΟΝΙΚΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΚΑΙ ΣΥΛΛΟΓΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΥΓΡΩΝ

Η μεθανοσουλφονική κολιστίνη (CMS, Norma, Athens, Greece) χορηγήθηκε ενδοφλέβια σε 100 ml N/S που εγχέονται με αντλία σε 30 λεπτά. Το δοσολογικό σχήμα διέφερε, κατά την κρίση του θεράποντος ιατρού και κυμαινόταν από 1- 3MU. Τα δείγματα συλλέχθηκαν μετά από τουλάχιστον δύο ημερών χορήγηση μεθανοσουλφονικής κολιστίνης, ώστε οι συγκεντρώσεις κολιστίνης να φτάσουν σε σταθεροποιημένη κατάσταση. Οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν στους εξής χρόνους : t-0 (αμέσως προ της έγχυσης), t-max (10 λεπτά μετά την έγχυση), t-1 (60 λεπτά) t-2 (120 λεπτά), t-3 (240 λεπτά), t-4 (360 λεπτά), t-5 (480 λεπτά), t-6 (600 λεπτά), t-fin (αμέσως πριν την επόμενη δόση). Κάθε σετ δειγματοληψιών περιελάμβανε: 3 ml αίμα σε ηπαρινισμένη σύριγγα από το αρτηριακό και 3 ml από το φλεβικό σκέλος. Ταυτόχρονα λαμβανόταν και 20 ml υπερδιηθήματος. Τα λαμβανόμενα δείγματα αίματος τοποθετήθηκαν σε πάγο και μεταφέρθηκαν άμεσα στο εργαστήριο για φυγοκέντρηση σε ψυχόμενη φυγόκεντρο (3500 x g, 10min) χωρίς καθυστέρηση. Στην συνέχεια αποθηκεύτηκαν στους -70 °C μέχρι να αναλυθούν. Τα διηθήματα φυλάσσονταν σε ψύξη χωρίς περαιτέρω χειρισμούς.

11.3.2 ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε στο ΚΑΤ από Σεπτέμβριο 2009 έως Οκτώβριο 2010. Οι ασθενείς (ή οι συγγενείς τους) έδωσαν έγγραφη συγκατάθεση. Τα σχετικά έγγραφα φυλάσσονται στα αρχεία του ΚΑΤ. Στη μελέτη συμμετείχαν επτά βαρέως πάσχοντες

ασθενείς ΜΕΘ που εμφάνισαν νεφρική ανεπάρκεια αντιμετωπιζόμενη με συνεχή αιμοδιαδιήθηση (CVVHDF) και που θα ελάμβαναν αγωγή με κολιστίνη ενδοφλεβίως για σήψη από πολυανθεκτικά gram (-) μικρόβια. Σε όλους τους ασθενείς πραγματοποιήθηκαν όλες οι μετρήσεις κολιστίνης στον ορό (προ και μετά φίλτρου) και στο διήθημα αλλά λόγω έλλειψης καταγραφής στοιχείων και δεδομένων (αιματοκρίτης, ροή διηθήματος) δεν κατέσται δυνατό να υπολογιστούν τιμές κάθαρσης για την εξαγωγή συμπερασμάτων για όλους τους ασθενείς. Δυστυχώς μόνο για 3 ασθενείς (ασθενής 1, 2 και 3) υπήρχαν πλήρη στοιχεία και μόνο για αυτούς έγινε πλήρης ανάλυση των δεδομένων.

Ο πρώτος ασθενής ήταν ένας άντρας 45 ετών πολυτραυματίας ο οποίος ανέπτυξε οξεία νεφρική ανεπάρκεια λίγο μετά την εισαγωγή του εξαιτίας μυογλοβινουρίας. Την τέταρτη μέρα της παραμονής του στη μονάδα εντατικής θεραπείας άρχισε να υποβάλλεται σε CVVHDF ενώ την πέμπτη ημέρα του χορηγήθηκε μεθανοσουλφονική κολιστίνη για πνευμονία του αναπνευστήρα οφειλόμενη σε *A. Baumannii*. Δείγματα αίματος και διηθήματος λήφθηκαν την τρίτη ημέρα θεραπείας του με μεθανοσουλφονική κολιστίνη. Ο ασθενής δεν παρουσίασε ούτε κλινική ούτε βακτηριολογική ανταπόκριση και πέθανε λίγες μέρες αργότερα. Ο δεύτερος ασθενής ήταν ένας άντρας 62 ετών διαβητικός με σηπτική αρθρίτιδα. Ανέπτυξε οξεία νεφρική ανεπάρκεια και έπρεπε να αντιμετωπιστεί με CVVHDF. Ενώ ο ασθενής υποβαλλόταν σε συνεχή αιμοδιαδιήθηση ανέπτυξε σηπτικό σοκ εξαιτίας βακτηριαμίας από *A.baumannii* οπότε του χορηγήθηκε μεροπενέμη και μεθανοσουλφονική κολιστίνη. Δείγματα κολιστίνης λήφθηκαν τη δέκατη ημέρα θεραπείας. Η λοίμωξη με *A.baumannii* αντιμετωπίστηκε επιτυχώς. Ο ασθενής πέθανε στη μονάδα εντατικής θεραπείας τρεις μήνες αργότερα από άλλες επιπλοκές. Ο τρίτος ασθενής ήταν ένας άντρας 58 ετών πολυτραυματίας ο οποίος ανέπτυξε οξεία νεφρική ανεπάρκεια εξαιτίας μυογλοβινουρίας και έχρηζε ανάγκης CVVHDF. Την τρίτη ημέρα ανέπτυξε βακτηριαμία οφειλόμενη σε *A.baumannii* και έτσι άρχισε να του χορηγείται μεθανοσουλφονική κολιστίνη. Την τέταρτη μέρα ο ασθενής έγινε ανουρικός. Δείγματα κολιστίνης πάρθηκαν την έκτη ημέρα. Υπήρχε κλινική και βακτηριολογική απάντηση στη θεραπεία αλλά ο ασθενής απεβίωσε από άλλες επιπλοκές στη μονάδα εντατικής θεραπείας 20 ημέρες αργότερα.

Για τους τρεις ασθενείς το δοσολογικό σχήμα της κολιστίνης καθορίστηκε από τους θεράποντες ιατρούς πριν και κατά τη διάρκεια του CVVHDF το οποίο εφαρμόστηκε χρησιμοποιώντας ένα Renaflo II Hemofilter HF 700 (0,71 m²) φίλτρο.

11.3.3 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

Η εξωσωματική κάθαρση (Cl_{EC}) υπολογίστηκε με βάση τον τύπο $Cl_{EC} = Q_b (1-Ht) (C_{in} - C_{out}) / C_{in}$, όπου το Q_b αντιστοιχεί στην ροή του αίματος διαμέσου του φίλτρου διήθησης, το Ht στον αιματοκρίτη, το C_{in} και C_{out} στις συγκεντρώσεις πλάσματος προ και μετά του φίλτρου διήθησης αντιστοίχως. Υπολογίστηκε και το sieving coefficient (S_c) από τον τύπο $S_c = 2 (C_{UF}) / (C_{in} + C_{out})$, όπου το C_{UF} αντιστοιχεί στη συγκέντρωση κολλιστίνης των δειγμάτων διηθήματος τα οποία συλλέχθηκαν κατά την διάρκεια κάθε διαστήματος δειγματοληψίας, το C_{in} και C_{out} στις συγκεντρώσεις ορού προ και μετά του φίλτρου διήθησης για το ίδιο διάστημα δειγματοληψίας.

Η κάθαρση από το φίλτρο (Cl_{CVVHDF}) υπολογίστηκε από τον S_c και το ρυθμό ροής του διηθήματος (Q): $Cl_{CVVHDF} = S_c \times Q$. Το ποσοστό της κάθαρσης από το φίλτρο που αντιστοιχεί στην εξωσωματική κάθαρση υπολογίστηκε σαν Cl_{CVVHDF} / Cl_{EC} και το ποσοστό της εξωσωματικής κάθαρσης που αντιστοιχεί στη συνολική κάθαρση υπολογίστηκε σαν Cl_{EC} / Cl_{app} (Cl_{app} = συνολική κάθαρση).

Προσεγγιστικές εκτιμήσεις για την συνολική κάθαρση υπολογίστηκαν ως εξής: $Cl_{app} = Dose/AUC_{0-8h}$ ή AUC_{0-18h} . Οι τιμές της AUC_{0-24h} στον πίνακα 1 υπολογίστηκαν με παρέκταση από τις εκτιμήσεις των AUC_{0-8h} και AUC_{0-18h} .

11.3.4 ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Οι φαρμακοκινητικές παράμετροι της κολλιστίνης στον ορό εκτιμήθηκαν από τα δεδομένα συγκέντρωσης χρόνου κάθε ασθενούς με μη διαμερισματική ανάλυση χρησιμοποιώντας το λογισμικό WinNonlin (Pharsight Corporation, Mountain View, Calif.).

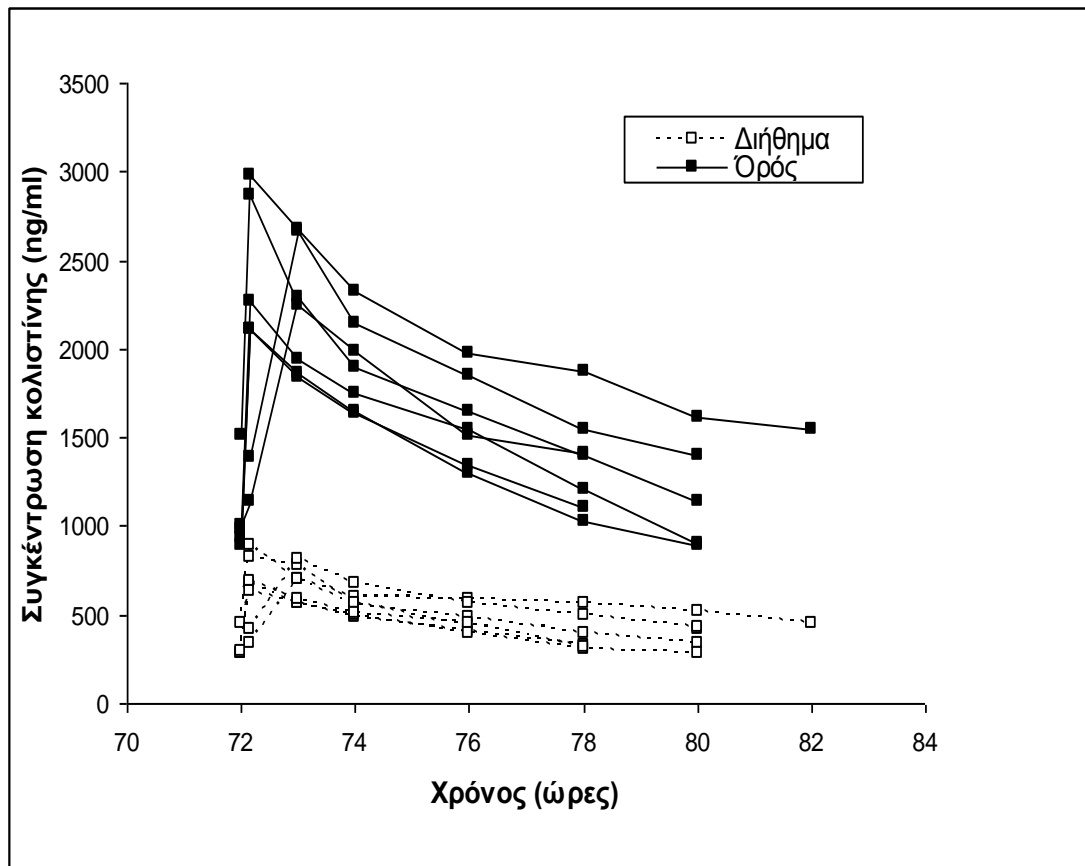
11.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Σχετικά με την κάθαρση της κολλιστίνης από το αιμοφίλτρο, υπολογίσαμε και τη συνολική εξωσωματική κάθαρση (Cl_{EC}) και την κάθαρση του φίλτρου. Η διαφορά μεταξύ των δύο τιμών, αν υπάρχει, θεωρείται γενικά ότι αναπαριστά την απορρόφηση του φαρμάκου από το φίλτρο διήθησης. Σε παλαιότερες μελέτες είχε εκτιμηθεί μόνο η κάθαρση από το φίλτρο και όχι η συνολική κάθαρση.

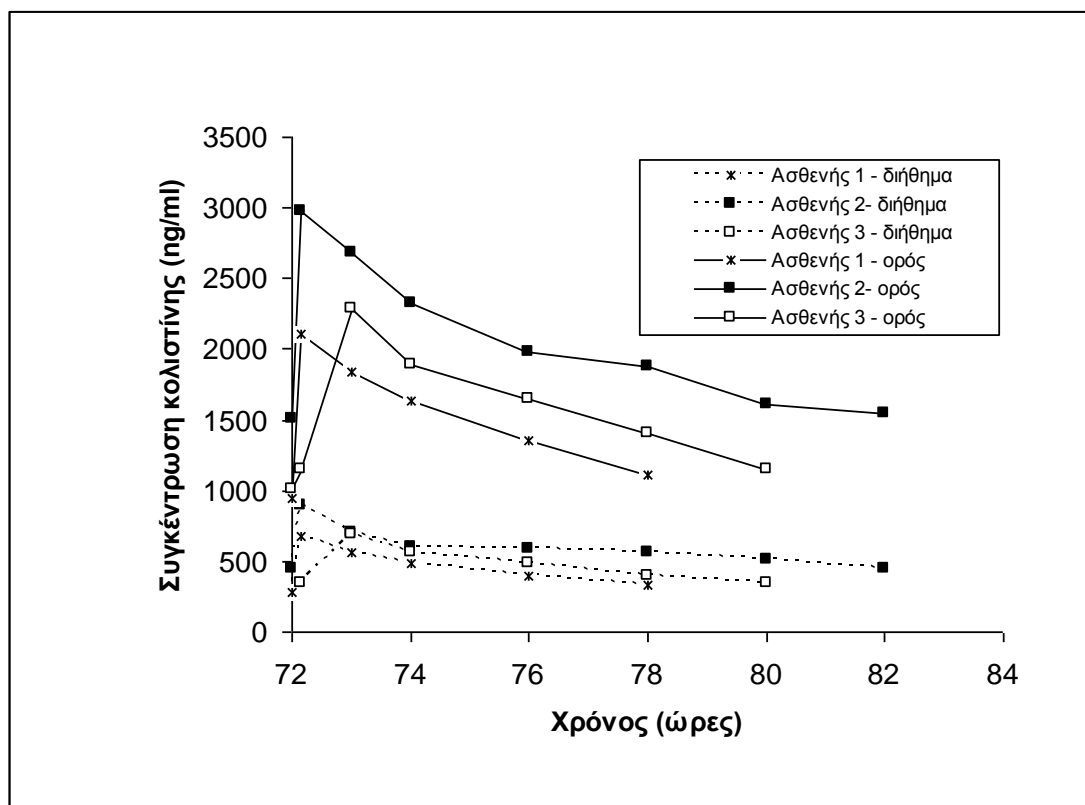
Οι τιμές κολιστίνης στο αρτηριακό αίμα καθώς και του διηθήματος και για τους επτά ασθενείς παρουσιάζονται στο γράφημα 11.1. Οι τιμές κολιστίνης στο αρτηριακό αίμα καθώς και του διηθήματος και για τους τρεις ασθενείς με πλήρη στοιχεία παρουσιάζονται στο γράφημα 11.2.

Τα δεδομένα της δόσης της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης, της ροής του διηθήματος και της απομάκρυνσης της κολιστίνης για τους τρεις ασθενείς με πλήρη στοιχεία φαίνονται στον πίνακα 11.1.

Το S_c που υπολογίστηκε για τους ασθενείς (4, 5, 6 και 7) για τους οποίους δεν έγινε πλήρης ανάλυση δεδομένων ήταν 0,35 για τους δύο και 0,36 για τους άλλους δύο. Από τον πίνακα 11.1 παρατηρούμε ότι ο S_c για τους ασθενείς 1,2 ήταν 0,35 και 0,36 για τον ασθενή 3. Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι η εξωσωματική κάθαρση κολιστίνης στους ασθενείς (1,2 και 3) αντιπροσώπευε το 43-59% της συνολικής κάθαρσης του φαρμάκου.



Γράφημα 11.1. Συγκεντρώσεις κολιστίνης στον ορό και στο διήθημα των επτά ασθενών.



Γράφημα 11.2 Συγκεντρώσεις κολιστίνης στον ορό και στο διήθημα των τριών ασθενών

Πίνακας 11.1: Φαρμακοκινητικοί παράγοντες και κάθαρση κολιστίνης μέσω CVVHDF

Ασθενής	CMS Δόση	Ροή Διηθήματος (ml/h)	C _{max} (mg/L)	AUC _{0-24h} (hr*mg/L)	C _{ssavg} (mg/L)	T _{1/2} (h)	S _C	Cl _{CVVHDF} (L/h)	Cl _{EC} (L/hr)	Total Cl _{app} (L/hr)	Cl _{EC} / Cl _{app} (%)	Cl _{CVVHDF} / Cl _{EC} (%)
1	150mg /18h	1900	2,98	40,6	1,7	15,7	0,35	0,67	1,93	3,3	59	35
2	75mg /8h	2300	2,29	34,6	1,4	8,0	0,35	0,81	1,83	4,3	43	45
3	75mg /8h	1950	2,11	33,4	1,4	7,7	0,36	0,71	1,99	4,5	45	36

CMS = μεθανοσουλφονική κολιστίνη, C_{max}: συγκέντρωση κολιστίνης ορού 10 λεπτά μετά το τέλος της ενδοφλέβιας έγχυσης (T_{max}), C_{ssavg} = μέση συγκέντρωση σε σταθεροποιημένη κατάσταση υπολογισμένη σαν AUC/τ, όπου AUC = η περιοχή κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης ορού-χρόνου υπολογισμένη με τη μεθοδο των τραπεζίων από την αρχή της χορήγησης μέχρι την τελευταία παρατήρηση και τ = μεσοδιάστημα χορήγησης, T_{1/2} = ο χρόνος ημιζωής υπολογίστηκε σαν ln2/λ_Z, όπου το λ_Z εκτιμήθηκε από ανάλυση παλινδρόμησης στο τελικό τμήμα της της καμπύλης συγκέντρωσης χρόνου (με βάση τα τελευταία τρία σημεία δεδομένων), Cl_{app} = συνολική (φαινομενη) κάθαρση, Cl_{CVVHDF} / Cl_{EC} = το κλάσμα της εξωσωματικής κάθαρσης που αντιστοιχεί στη κάθαρση από το φίλτρο, Cl_{EC}/Cl_{app} = το κλάσμα της εξωσωματικής κάθαρσης που αντιστοιχεί στη συνολική κάθαρση.

11.5 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στους ασθενείς της παρούσας μελέτης η εξωσωματική κάθαρση της κολιστίνης (43-59% της συνολικής κάθαρσης) είχε ως αποτέλεσμα την ουσιαστική απομάκρυνση της κολιστίνης.

Αξιοσημείωτο είναι ότι μόνο ένα κλάσμα της εξωσωματικής κάθαρσης της κολιστίνης μπορεί να αποδοθεί στη κάθαρση από το φίλτρο. Η διαφορά ανάμεσα στη κάθαρση από το φίλτρο και στη συνολική κάθαρση CVVHDF προφανώς αναπαριστά το βαθμό της απορρόφησης της κολιστίνης από τη μεμβράνη η οποία εμφανίζεται να είναι πιο σημαντική από την απομάκρυνση με διάχυση και αναγωγή στο φίλτρο.

Ο βαθμός της κάθαρσης με φίλτρο στους ασθενείς της παρούσας μελέτης (11,2 ml/min, 13,5 ml/min και 11,8 ml/min για τους ασθενείς 1,2 και 3 αντίστοιχα) ήταν όμοιος με αυτόν που σημειώθηκε στη μελέτη των Li et al¹⁴¹ (11,9 ml/min). Σε δύο άλλες μελέτες (Karvanen et al¹⁹⁹, Garonzik et al¹⁹⁸) έχουν σημειωθεί μεγαλύτερες τιμές καθάρσεων από το φίλτρο από ότι η συνολική εξωσωματική κάθαρση κολιστίνης που βρέθηκε στους ασθενείς της παρούσας μελέτης. Η πιθανή παρουσία υπολειπόμενης νεφρικής λειτουργίας ή η υψηλότερη CRRT (συνεχής θεραπεία υποκατάστασης νεφρικής λειτουργίας) χορηγηθείσα δόση στις δύο αυτές μελέτες, ίσως δίνει μία εξήγηση για τις αποκλίσεις της κάθαρσης του φίλτρου, παρόλο που οι Karvanen et al¹⁹⁹ επίσης παρουσίασαν έναν S_c διπλάσιο ($0,68 \pm 0,08$) από ότι βρέθηκε στους ασθενείς μας (δηλ. μέσος όρος 7 ασθενών 0,35). Τα διαφορετικά φίλτρα που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε μελέτη ίσως είναι υπεύθυνα για αυτές τις αποκλίσεις. Οι Li et al¹⁴¹ και οι Garonzik et al¹⁹⁸ χρησιμοποίησαν ένα 0,9 m² πολυακρυλονιτριλίου (AN 69 HF, Multiflow 100, Hospal, France) το οποίο τυπικά έχει pH 7.4 και αρνητικό φορτίο ενώ το φίλτρο της παρούσας μελέτης είχε ελαφρώς μικρότερη επιφάνεια και ουδέτερο φορτίο. Οι Karvanen et al¹⁹⁹ δεν παρείχαν δεδομένα για τη συνολική κάθαρση κολιστίνης (Cl_{app}), αλλά με μία καθημερινή δόση μεθανοσουλφονικής κολιστίνης τουλάχιστον διπλάσια από ότι χορηγήθηκε στους ασθενείς μας, σημείωσαν χαμηλότερες τιμές C_{max} κολιστίνης.

Οι Garonzik et al¹⁹⁸ επίσης σημείωσαν μία πολύ υψηλή τιμή κάθαρσης φίλτρου σε τέσσερις ασθενείς οι οποίοι βρισκότουσαν υπό CVVHD ή CVVH (2,06 L/h). Λεπτομερή φαρμακοκινητικά δεδομένα αυτών των ασθενών δεν παρουσιάστηκαν, αλλά με βάση το φαρμακοκινητικό μοντέλο του πληθυσμού αυτού, οι συγγραφείς πρότειναν πολύ υψηλές καθημερινές δόσεις μεθανοσουλφονικής κολιστίνης για να

επιτευχθεί ο φαρμακοδυναμικός στόχος AUC_{0-24}/MIC των 60 mg.h/L για την κολιστίνη, βασιζόμενοι στο φαρμακοδυναμικό μοντέλο των Dudhani et al¹⁹⁸.

Στη παρούσα μελέτη, οι δόσεις που χορηγήθηκαν οδήγησαν πιθανώς σε συγκεντρώσεις μικρότερες από τις επιθυμητές αφού το C_{ssavg} κυμαίνονταν από 1,4mg/L έως 1,7mg/L (πίνακας 11.1), μικρότερο από τον προτεινόμενο στόχο C_{ssavg} 2.5mg/L που οδηγεί σε φαρμακοδυναμικό στόχο $AUC_{0-24}/MIC > 60$ mg.h/L για τα πολύ ευαίσθητα βακτήρια με $MIC \leq 0.5$ mg/L (το MIC πολλές φορές είναι $> 0,5$)¹⁸⁵. Στον πρώτο ασθενή η δειγματοληψία έγινε νωρίς, είχε επίσης και τον πιο παρατεταμένο $T_{1/2}$ οπότε μπορούν οριακά να δικαιολογηθούν οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις κολιστίνης.

Παρά τη σημαντική συμβολή της εξωσωματικής κάθαρσης, οι ασθενείς μας είχαν σημαντικά μειωμένη συνολική κάθαρση κολιστίνης (ποικίλει ανάμεσα σε 3,3 έως 4,5 L/h), συγκρινόμενη με ασθενείς με κανονική νεφρική λειτουργία¹⁸⁴. Παρόλο που στη παρούσα μελέτη υψηλότερες δόσεις μεθανοσουλφονικής κολιστίνης θα μπορούσαν να είχαν χορηγηθεί, υπάρχει ακόμα ανάγκη για μείωση δόσης στους βαρέως πάσχοντες αντιμετωπιζόμενους με CVVHDF.

11.6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Στους ασθενείς της παρούσας μελέτης που υποβλήθηκαν σε συνεχή αιμοδιαδιήθηση παρατηρήθηκε σημαντική εξωσωματική κάθαρση αλλά αρκετά μειωμένη ολική κάθαρση σε σχέση με ασθενείς με φυσιολογική νεφρική λειτουργία.

Δεδομένης της έλλειψης πληροφοριών για την κάθαρση της κολιστίνης με τους διάφορους τύπους CRRT και τις αποκλίσεις στα υπάρχοντα δεδομένα, είναι απαραίτητη περαιτέρω έρευνα στη φαρμακοκινητική τη κολιστίνης στις διάφορες υποομάδες ασθενών. Μελλοντικές έρευνες πρέπει να εκτιμήσουν τη συνολική εξωσωματική κάθαρση, την κάθαρση από το φίλτρο ενώ πρέπει να ληφθεί υπόψη τυχόν υπολειπόμενη νεφρική λειτουργία που μπορεί να υπάρχει.

12. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Μελετήσαμε τη φαρμακοκινητική της κολιστίνης χορηγούμενης με τη μορφή της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης (CMS) για gram αρνητικές λοιμώξεις σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς. Η διείσδυση της κολιστίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY) μελετήθηκε σε πέντε βαρέως πάσχοντες ενήλικες ασθενείς λαμβάνοντες μεθανοσουλφονική κολιστίνη για λοιμώξεις από ανθεκτικούς gram-αρνητικούς βάκιλλους. Τα κλάσματα των συγκεντρώσεων κολιστίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό/συγκεντρώσεων κολιστίνης στον ορό των ασθενών της μελέτης κυμάνθηκαν από 0,051 έως 0,057. Το χαμηλό αυτό ποσοστό διείσδυσης της κολιστίνης (5%) υποδηλώνει ανεπαρκείς βακτηριδιακές συγκεντρώσεις του φαρμάκου στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Στη συνέχεια, η διείσδυση της κολιστίνης στο ENY μελετήθηκε σε δώδεκα ασθενείς μετά από ενδοφλέβια (ομάδες 1 και 2) ή ενδοφλέβια σε συνδυασμό με ενδοκοιλιακή χορήγηση CMS (ομάδα 3) και βρέθηκε ότι τα μέσα κλάσματα εγκεφαλονωτιαίου υγρού προς ορό ήταν αυξημένα μετά από ενδοφλέβια χορήγηση στους ασθενείς με κοιλίτιδα (ομάδα 1) σε σχέση με τους ασθενείς χωρίς κοιλίτιδα (ομάδα ελέγχου), 0,1 και 0,06, αντίστοιχα, και ιδιαίτερα αυξημένα στους ασθενείς που έλαβαν ενδοφλέβια σε συνδυασμό με ενδοκοιλιακή χορήγηση CMS (ομάδα 3), εύρος 0,35-0,40.

Η διείσδυση της κολιστίνης στο πνευμονικό κυψελιδικό υγρό μελετήθηκε σε δύο βαρέως πάσχοντες ασθενείς υπό μηχανικό αερισμό που έλαβαν CMS για τη σήψη. Οι συγκεντρώσεις κολιστίνης στο πνευμονικό κυψελιδικό υγρό υπερέβησαν πολλές φορές τις συγκεντρώσεις στον ορό, γεγονός που υποδηλώνει συσσώρευση του φαρμάκου. Τα κλάσματα (συγκέντρωση κολιστίνης στο πνευμονικό κυψελιδικό υγρό/συγκέντρωση κολιστίνης στον ορό) των δύο ασθενών της μελέτης ήταν 1,70 και 7,42. Η μεγαλύτερη διείσδυση του φαρμάκου στον δεύτερο ασθενή αποδόθηκε με επιφύλαξη στην ύπαρξη ενεργής βακτηριακής λοίμωξης (πνευμονία).

Σε άλλη μελέτη σε ασθενείς με πνευμονία εξ' αναπνευστήρα η χορήγηση εισπνεόμενης CMS σε συνδυασμό με ενδοφλέβια χορήγηση (δύο ασθενείς), προκάλεσε αύξηση των μέσων μέγιστων και ελάχιστων συγκεντρώσεων κολιστίνης στον ορό από $2,23 \pm 0,35$ και $1,08 \pm 0,18 \mu\text{g/ml}$ σε $2,67 \pm 0,1$ $\mu\text{g/ml}$ και $1,51 \pm 0,11$ $\mu\text{g/ml}$ μετά από μόνο ενδοφλέβια χορήγηση (τέσσερις ασθενείς). Σε ασθενή με εισπνεόμενη μόνο χορήγηση με παλαιού τύπου αναπνευστήρα τα επίπεδα που βρέθηκαν ήταν χαμηλά (0,51 - 0,63 $\mu\text{g/ml}$). Σε ασθενείς με τραχειοβρογχίτιδα στους οποίους χορηγήθηκε μόνο εισπνεόμενη CMS (πέντε ασθενείς) με τη χρήση νέου τύπου

αναπνευστήρα επιτεύχθηκαν πιο υψηλές μέσες μέγιστες και ελάχιστες συγκεντρώσεις στον ορό, δηλ. $1,57 \pm 0,29$ $\mu\text{g/ml}$ και $0,40 \pm 0,15$ $\mu\text{g/ml}$, αντίστοιχα και όλοι οι ασθενείς έδειξαν κλινική βελτίωση. Οι συγκεντρώσεις κολιστίνης ήταν χαμηλές μετά από την εισπνεόμενη χορήγηση CMS πράγμα που υποδηλώνει ότι η κολιστίνη μπορεί να είναι ασφαλής με λιγότερη συστηματική τοξικότητα.

Μελετήθηκαν εξήντα ασθενείς σε κρίσιμη κατάσταση, εκ των οποίων οι δεκαοκτώ είχαν μέτρια νεφρική δυσλειτουργία, στους οποίους χορηγήθηκε ενδοφλεβίως CMS κατά την κρίση του θεράποντος ιατρού. Η έλλειψη τροποποίησης δόσης της CMS σύμφωνα με σύγχρονες συστάσεις δεν είχε σημαντική επίδραση στις μέγιστες (μέση τιμή \pm SD) ($2,94 \pm 1,18$ vs $3,56 \pm 1,14$, $p=0,1$), ($3,07 \pm 1,21$ vs $3,71 \pm 0,96$, $p=0,2$) και ελάχιστες συγκεντρώσεις ($1,02 \pm 0,39$ vs $1,07 \pm 0,43$, $p=0,7$), ($1,03 \pm 0,39$ vs $1,09 \pm 0,45$, $p=0,7$) κολιστίνης στον ορό συγκριτικά με τις συγκεντρώσεις που επιτεύχθηκαν στους ασθενείς με φυσιολογική νεφρική λειτουργία.

Σε τρεις βαρέως πάσχοντες ασθενείς με επιβαρυσμένη αλλά σταθερή νεφρική λειτουργία, στους οποίους χορηγήθηκε ενδοφλεβίως CMS, δεν επιτεύχθηκαν μέσες συγκεντρώσεις στον ορό στη σταθεροποιημένη κατάσταση που να αντιστοιχούν με τιμές του εμβαδού κάτω από τη καμπύλη συγκέντρωσης-χρόνου σε σταθεροποιημένη κατάσταση $\text{AUC}_{24} > 60$ $\text{mg}\cdot\text{h/L}$ και φαρμακοδυναμικό στόχο AUC_{24} προς MIC > 60 $\text{mg}\cdot\text{h/L}$ παρά το γεγονός ότι η καθημερινά χορηγούμενη δόση CMS ήταν στους 3 από τους 5 ασθενείς μεγαλύτερη από την προτεινόμενη.

Μελετήσαμε τη φαρμακοκινητική της κολιστίνης σε τρεις ασθενείς σε κρίσιμη κατάσταση που αντιμετωπίστηκαν με ενδοφλέβια CMS για Gram αρνητική σήψη και βρίσκονταν σε συνεχή φλεβο-φλεβική αιμοδιαδιήθηση (CVVHDF) για οξεία νεφρική ανεπάρκεια. Η εξωσωματική κάθαρση (43 έως 59% της συνολικής κάθαρσης κολιστίνης) απέφερε την ουσιαστική απομάκρυνση της. Μόνο ένα κλάσμα της εξωσωματικής κάθαρσης της κολιστίνης μπορούσε να αποδοθεί στην κάθαρση από το φίλτρο. Παρά τη σημαντική εξωσωματική κάθαρση της κολιστίνης, οι τιμές της συνολικής κάθαρσης της κολιστίνης που βρέθηκαν στους τρεις ασθενείς ήταν σημαντικά μειωμένες σε σύγκριση με ασθενείς με φυσιολογική νεφρική λειτουργία. Φαίνεται λοιπόν ότι, αν και υψηλότερες δόσεις CMS μπορεί να ήταν κατάλληλες στη μελέτη μας, μπορεί να υπάρχει ακόμη ανάγκη για μείωση της δόσης της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς με οξεία νεφρική ανεπάρκεια και υπό CVVHDF.

13. SUMMARY

We studied the pharmacokinetics of colistin in critically ill patients treated with colistimethate sodium (CMS) for gram negative infections.

Colistin penetration into the cerebrospinal fluid (CSF) was studied in five critically ill adult patients receiving colistin methanesulfonate for infections by multiresistant gram-negative bacilli. CSF-to-serum ratios at all sampling times ranged between 0.051 and 0.057. The low level (5%) of penetration suggests inadequate bactericidal colistin concentrations in the CSF.

Thereafter, colistin penetration into the cerebrospinal fluid was studied in twelve patients separated into groups with or without CNS infection treated with intravenous (control group and group 1) or combined intravenous (i.v.) and intraventricular administration of CMS (group 2) and the mean CSF-to-serum colistin concentration ratios were found to be increased in patients with ventriculitis (group 1) compared with those without ventriculitis (control group), 0.1 and 0.06, respectively and particularly increased in patients treated with iv plus intraventricular CMS (0.35-0.40).

Colistin penetration into alveolar lining fluid (ALF) was studied in two mechanically ventilated multitrauma patients treated with CMS for sepsis. The ALF/ serum colistin concentration ratios of the patients were 1.70 and 7.42. The much higher drug penetration in patient 2 was considered to be probably due to the presence of an active bacterial infection (pneumonia).

In another study on two patients with pneumonia the administration of combined i.v. and nebulized CMS resulted in increased mean peak and trough concentrations, 2.23 ± 0.35 $\mu\text{g/ml}$ and 1.08 ± 0.18 $\mu\text{g/ml}$, respectively, compared to i.v. administration alone 2.67 ± 0.10 $\mu\text{g/ml}$ and 1.51 ± 0.11 $\mu\text{g/ml}$, respectively. In patients to whom CMS was administered only by nebulizer, using an older model of nebulizer, the concentrations were found to be very low (0.51-0.63 $\mu\text{g/ml}$). In a further 5 patients with tracheobronchitis the administration of inhaled CMS alone, using a new model nebulizer, achieved higher mean maximum (1.56 $\mu\text{g/ml}$) and minimum (0.39 $\mu\text{g/ml}$) concentrations, but these concentrations were much lower than i.v. concentrations, indicating that the administration of CMS by nebulizer the risk of systemic toxicity due to colistin. All patients showed clinical improvement.

Sixty critically ill patients with mild renal dysfunction were studied. Maximum and minimum serum concentrations achieved with i.v. CMS doses, administered at the

discretion of attending physicians, demonstrated that a lack of CMS dose adjustment according to current recommendations did not result in significantly different maximum (mean±SD) (2.94 ± 1.18 vs. 3.56 ± 1.14 , $p=0.1$), (3.07 ± 1.21 vs. 3.71 ± 0.96 , $p=0.2$) and minimum (1.02 ± 0.39 vs. 1.07 ± 0.43 , $p=0.7$), (1.03 ± 0.39 vs. 1.09 ± 0.45 , $p=0.7$) colistin concentrations in these patients compared with patients with normal renal function.

In three critically ill patients with impaired but stable renal function, mean steady state colistin concentrations, following i.v. CMS administration, did not reach target concentrations required to achieve a steady-state AUC_{0-24} of $60 \text{ hr} \cdot \text{mg/L}$ and pharmacodynamic target AUC_{0-24} to $MIC > 60$, in spite of the fact that the CMS daily dose was in 3 out of 5 patients higher than recommended.

We studied colistin pharmacokinetics in 3 critically ill patients treated with CMS for Gram negative sepsis and undergoing continuous venovenous hemodiafiltration for acute renal failure. Extracorporeal clearance (43 to 59% of total colistin clearance) resulted in substantial removal of colistin. Only a small fraction of colistin extracorporeal clearance could be attributed to diafiltration. Colistin adsorption by the hemofilter contributed to a large extent to the extracorporeal clearance of colistin. Total colistin clearance was considerably reduced (varying between 3.3 to 4.5 L/h), compared with patients with normal renal function. Although even higher doses of CMS are appropriate in our study, there is need for reduction of doses in critical ill patients with acute renal failure and undergoing CVVHDF.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Χαλεβελάκης ΓΕ, Λεγάκης ΝΙ, Περογάμβρος ΤΗ, Αντιβιοτικά και συνήθειες λοιμώξεις 1997; 247.
2. Falagas ME, Kasiakou SK, Colistin: The revival of Polymyxins for the Management of Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Infections. *Clinical Infectious Diseases* 2005; 40: 1333-41.
3. Goodwin N. Colistin and sodium colistimethate. *Med Clin North Am* 1970 ; 54:1267-76
4. Horton J, Pankey GA. Polymyxin B, colistin and sodium colistimethate. *Med Clin North Am* 1982 ; 66:135-42
5. Bosso JA, Liptak CA, Seilheimer DK, Harrison GM. Toxicity of colistin in cystic fibrosis patients. *Ann Pharmacother* 1991 ; 25:1168-70
6. Conway SP, Pond MN, Watson A, Etherington C, Robey HL, Goldman MH. Intravenous colistin sulphomethate in acute respiratory exacerbations in adult patients with cystic fibrosis. *Thorax* 1997 ; 52:987-93
7. Ledson MJ, Gallagher MJ, Cowperthwaite C, Convery PR, Walshaw MJ. Four years experience of intravenous colomycin in an adult cystic fibrosis unit. *Eur Respir J* 1998 ; 12: 592-4
8. Conway SP, Etherington C, Mundy J, Goldman MH, Strong JJ, Wooton M. Safety and tolerability of bolus intravenous colistin in acute respiratory exacerbations in patients with cystic fibrosis. *Ann Pharmacother* 2000 ; 34:1238-42
9. Berlana D, Llop JM, Fort E, Badia MB, Jodar R. Use of colistin in the treatment of multiple-drug-resistant gram-negative infections. *Am J Health Syst Pharm* 2005; 62:39-47
10. Li J, Nation RL, Milne RW, Turnidge JD, Coulthard K, Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram-negative bacteria. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2005; 25: 11-25.
11. Govaerts C, Orwa JA, Van Schepdael A, Roets E, Hoogmartens J, Liquid chromatography-ion trap tandem mass spectrometry for the characterization of polypeptide antibiotics of the colistin series in commercial samples. *Journal of Chromatography A* 2002; 976: 65-78.

12. Li J, Nation RL, Comments on: Pharmacokinetics of inhaled colistin in patients with cystic fibrosis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2006, doi: 10.1093/jac/dk/1169.
13. Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JD, Coulthard K, Johnson DW, A simple method for the assay of colistin in human plasma, using pre-column derivatization with 9-fluorenylmethyl chloroformate in solid-phase extraction cartridges and reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of chromatography B* 2001; 761: 167-165.
14. Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JD, Smeaton TC, Coulthard K, Pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and colistin in rats following an intravenous dose of colistin methanesulphonate. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2004; 53: 837-840.
15. Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JD, Coulthard K, Stability of Colistin and Colistin Methanesulphonate in Aqueous Media and Plasma as Determined by High-Performance Liquid Chromatography. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2003; 47: 1364-1370.
16. Dudhani RV, Nation RL, Li J Evaluating the stability of colistin and colistin methanesulphonate in human plasma under different conditions of storage. *J Antimicrob Chemother.* 2010 Jul;65(7):1412-5.
17. Orwa JA, Govaerts C, Gevers K, Roets E, Van Schepdael A, Hoogmartens J, Study of stability of Polymyxins B1, E1 and E2 in aqueous solution using liquid chromatography and mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2002; 29: 203-212.
18. Wallace SJ, Li J, Rayner CR, Coulthard K, Nation RL. Stability of colistin methanesulfonate in pharmaceutical products and solutions for administration to patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008 Sep;52(9):3047-51.
19. Bergen PJ, Li J, Rayner CR, Nation RL, Colistin Methanesulfonate is an Inactive Prodrug of colistin against *Pseudomonas Aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2006; 50: 1953-1958.
20. Reed MD, Stern RC, O' Riordan MA, Blumer JL, The pharmacokinetics of Colistin in Patients with Cystic Fibrosis. *Journal of Clinical Pharmacology* 2001; 41: 645-654.

21. Ratjen F, Rietschel E, Kasel D, Schwiertz R, Starke K, Beier H, Van Koningsbruggen S, Grasemann H, Pharmacokinetics of inhaled colistin in patients with cystic fibrosis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2006; 57: 306-311.
22. Li J, Nation RL, Milne RW, Turnidge JD, Coulthard K, Rayner CR, Paterson DL, Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *The Lancet Infectious Diseases* 2006; 6: 589-601.
23. Gilad J, Eskira S, Riesenberk K, Schlaeffer F, Hyam E, Borer A, Emergence of nosocomial colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*. 45th Interscience Conference on *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2005.
24. Pitt TL, Sparrow M, Warner M, Stefanidou M. Survey of resistance of *Pseudomonas aeruginosa* from UK patients with cystic fibrosis to six commonly prescribed antimicrobial agents. *Thorax*. 2003 Sep;58(9):794-6.
25. Koch-Weser J, Sidel VW, Federman EB, Kancirek P, Finer DC, Eaton AE, Adverse effects of sodium colistimethate. Manifestations and specific reaction rates during 317 courses of therapy. *Ann Intern Med*. 1970; 72: 857-868.
26. Fekety FR., Norman PS, Cluff LE, The treatment of gram-negative bacillary infections with colistin. The toxicity and efficacy of large doses in forty-eight patients. *Ann Intern Med*. 1962; 57: 214-229.
27. Duncan DA, Colistin toxicity. Neuromuscular and renal manifestations. Two cases treated by hemodialysis. *Minn Med*. 1973; 56: 31-35.
28. McQuillen MP, Cantor HA, O' Rourke JR, Myasthenic syndrome associated with antibiotics. *Trans Am Neurol Assoc*. 1967; 92: 163-167.
29. Markou N, Apostolakos H, Koumoudiou C, Athanasiou M, Koutsoukou A, Alamanos I, Gregorakos L, Intravenous colistin in the treatment of sepsis from multiresistant Gram-negative bacilli in critically ill patients. *Crit Care*. 2003; 7: R78-R83.
30. Michalopoulos AS, Tsiodras S, Relios K, Mentzelopoulos S, Falagas ME, Colistin treatment in patients with ICU-acquired infections caused by multiresistant Gram-negative bacteria: the renaissance of an old antibiotic. *Clin Microbiol Infect*. 2005; 11: 115-121.
- 31 Falagas ME, Rizos M, Bliziotis IA, Rellos K, Kasiakou SK, Michalopoulos A. Toxicity after prolonged (more than four weeks) administration of intravenous colistin. *BMC Infect Dis*. 2005; 5: 1.

32. Alothman GA, Ho B, Alsaadi MM, Ho SL, O' Drowsky L, Louca E, Coates AL, Bronchial constriction and inhaled colistin in cystic fibrosis. *Chest*. 2005; 127: 522-529.
33. Alothman GA, Ho B, Alsaadi MM, Ho SL, O' Drowsky L, Louca E, Coates AL, Bronchial constriction and inhaled colistin in cystic fibrosis. *Chest*. 2005; 127: 522-529.
34. Fekety FR, Norman PS, Cluff LE, The treatment of gram-negative bacillary infections with colistin. The toxicity and efficacy of large doses in forty-eight patients. *Ann Intern Med*. 1962; 57: 214-229.
35. Olesen S, Madsen PO, Intravenous administration of sodium colistimethate in urinary tract infections. *Curr Ther Res Clin Exp*. 1967; 9: 283-287.
36. Baines RD, Rifkind D, Intravenous administration of sodium colistimethate. *JAMA*. 1964; 190: 278-281.
37. Koch-Weser J, Sidel VW, Federman EB, Kanareck P, Finer DC, Eaton AE, Adverse effects of sodium colistimethate: manifestations and specific reaction rates during 317 courses of therapy. *Annals of internal Medicine* 1970; 72: 857-868.
38. Price DJ, Graham DI, Effects of large doses of colistin sulphomethate sodium on renal function. *British Medical Journal* 1970; 4: 525-527.
39. Randall RE, Bridi GS, Setter JG, Brackett NC, Recovery from colistimethate nephrotoxicity. *Annals of Internal Medicine* 1970; 73: 491-492.
40. Ryan KJ, Schainuck LI, Hickman RO, Striker GE, Colistimethate toxicity: report of fatal case in a previously healthy child. *The journal of the American Medical Association* 1969; 207: 2099-2101.
41. Southern KW, Cunliffle CHE, Mc Laughlin SM, Hasse EJ, Todd NJ, Littlewood JM, A review of the use of intravenous colistin in areagional cystic fibrosis unit. *European Cystic Fibrosis Conference*, Madrid 1993.
42. Levin AS, Barone AA, Penco J, Santos MV, Marinho IS, Arruda EAG, Manrique EI, Costa SF, Intravenous colistin as therapy for nosocomial infections caused by multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Clinical Infectious Diseases* 1999; 28: 1008-1011.
43. Hoeprich PD, The Polymyxins. *Med Clin North Am*. 1970; 54: 1257-1265.
44. Kasiakou S.K., Michalopoulos A., Soteriadis E., Samonis G., Sermaides G.J., Falagas M.E., Combination therapy with intravenous colistin for management of

infections due to multi drug-resistant Gram (-) bacteria in patients without cystic fibrosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2005; 49: 3136-3146.

45. Berg JR, Spilker CM., Lewis SA., Effects of polymyxin B on mammalian urinary bladder. *J Membr Biol.* 1996; 154: 119-130.

46. Berg JR, Spilker CM, Lewis SA. Modulation of polymyxin B effects on mammalian urinary bladder. *Am J Physiol.* 1998; 275: F204-F215.

47. Al-Aloul M, Miller H, Alapati S, Stockton PA, Ledson MJ, Walshaw MJ, Renal impairment in cystic fibrosis patients due to repeated intravenous aminoglycoside use. *Pediatric Pulmonology* 2005; 39: 15-20.

48. Etherington C, Conway SP, Peckham DG, Bosomworth M, Urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) in adults with CF – a marker of nephrotoxicity? *Journal of Cystic Fibrosis* 2004; 3 (suppl 1): S 49.

49. Ευαγγελοπούλου Π, Κατσαρός Α, Μυριανθεύς Π, Μολές Α, Καρατζάς Σ, Μπουτζούκα Ε, Ριλντίσης Γ, Μπαλτόπουλος Γ, Ερευνητικές Εργασίες - Φαρμακευτικός Οδηγός. 2005: Μέρος III.

50. Gold GN, Richardson AP, Myasthenic reaction to colistimethate. *JAMA* 1965; 194: 1151-1152.

51. Gales AC, Jones RN, Sader HS. Global assessment of the antimicrobial activity of polymyxin B against 54,731 clinical isolates of Gram-negative bacilli: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme (2001-2004). *Clin Microbiol Infect* 2006, 12: 315-321.

52. Li J, Rayner CR, Nation RL. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50:2946-2950.

53. Bergen J, Li J, Nation L R. Dosing of colistin-back to basic PK/PD. *Curr Opin Pharmacol.* 2011; 11(5): 464-9.

54. Mehrotra R, De Gaudio R, Palazzo M. Antibiotic pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations in critical illness. *Intensive Care Med.* 2004; 30: 2145-2156.

55. Westerman EM, Le Brun PPH, Touw DJ, Frijlink HW, Heijerman HGM, Effect of nebulised colistin sulphate and colistin sulphomethate on lung function in patients with cystic fibrosis: a pilot study. *Journal of cystic fibrosis* 2004; 3: 23-28.

56. Jimenez-Mejias ME, Pichardo-Guerrero C, Marquez-Rivas FJ, Martin-Lozano D, Prados T, Pachon J, Cerebrospinal fluid penetration and pharmacokinetics/pharmacodynamics parameters of intravenously administered

colistin in a case of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* meningitis. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2002; 21: 212-214.

57. Li J, Coulthard K, Milne RW, Nation RL, Conway S, Peckham D, Etherington C, Turnidge JD, Steady state pharmacokinetics of intravenous colistin methanesulphonate in patients with cystic fibrosis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2003; 52: 987-992.

58. Markou N, Markantonis SL, Dimitrakis E, Panidis D, Boutzouka E, Karatzas S, Rafailidis P, Apostolakis H, Baltopoulos G. Colistin serum concentrations after intravenous administration in critically ill patients with serious multidrug-resistant, gram-negative bacilli infections: a prospective, open-label, uncontrolled study. *Clin Ther.* 2008 Jan;30(1):143-51.

59. Li J, Rayner CR, Nation RL, Deans R, Boots R, Widdecombe N, Douglas A, Lipman J, Pharmacokinetics of colistin methanesulphonate and colistin in a critically ill patient receiving venovenous hemodiafiltration. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2005; 49: 4814-4815.

60. Marchard S, Lamarche I, Gobin P, Couet W. Dose-ranging pharmacokinetics of colistin methanesulphonate (CMS) and colistin in rats following single intravenous CMS doses. *J Antimicrob Chemother* 2010, 65: 1753-1758.

61. V. Balaji, SS Jeremiah, PR Baliga. Polymyxins: Antimicrobial susceptibility concerns and therapeutic options. *Indian Journal of Medical Microbiology.* 2011 Aug; 29(3)230-242.

62. Le Brun PPH, De Boer AH, Mannes GP et al, Dry powder inhalation of antibiotics in cystic fibrosis therapy, part 2 : inhalation of a novel colistin dry power formulation: a feasibility study in healthy volunteers and patients. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2002; 54: 25-32.

63. Kallel H, Bahloul M, Hergafi L, Akrouf M, Ketata W, Chelly H, Ben Hamida C, Rekik N, Hammani A, Bouaziz M, Colistin as a salvage therapy for nosocomial infections caused by multi-drug resistant bacteria in the ICU. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2006; 28: 366-369.

64. Linden PK, Kusne S, Coley K, Fontes P, Kramer D, Paterson D, Use of parentera; colistin for the treatment of serious infection due to antimicrobial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Infectious Diseases* 2003; 37: E154-60.

65. Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Jimenez FJ et al, Treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia (VAP) with intravenous colistin: a comparison with imipenem-susceptible VAP. *Clinical Infectious Diseases* 2003; 36: 1111-1118.
66. <http://www.emea.eu.int>
67. www.medicines.org.uk
68. Μπαλτόπουλος ΓΙ, Έντατική Θεραπεία-Λοιμώξεις ΙΙ. Αθήνα 2004 σελ. 1823.
69. COLISTIN/NORMA Summary of Product Characteristics. 2.9 Interactions.
70. Falagas ME, Vouloumanou EK, Rafailidis PI. Systemic colistin use in children without cystic fibrosis: a systematic review of the literature. *Int J Antimicrob Agents*. 2009 Jun;33(6):503.e1-503.e13.
71. Falagas ME, Sideri G, Vouloumanou EK, Papadatos JH, Kafetzis DA. Intravenous colistimethate (colistin) use in critically ill children without cystic fibrosis. *Pediatr Infect Dis J*. 2009 Feb;28(2):123-7.
72. Brochet MS, McDuff AC, Bussi eres JF, Caron E, Fortin G, Lebel D, Marcotte JE. Comparative efficacy of two doses of nebulized colistimethate in the eradication of *Pseudomonas aeruginosa* in children with cystic fibrosis. *Can Respir J*. 2007 Nov-Dec;14(8):473-9
73. Frederiksen B, Koch C, Hoiby N, Antibiotic treatment of initial colonization with *Pseudomonas aeruginosa* postpones chronic infection and prevents deterioration of pulmonary function in cystic fibrosis. *Pediatr. Pulmonol*. 1997; 23: 330-335
74. Conway SP, Pond MN, Watson A, Etherington C, Robey HL, Goldman MH, Intravenous colistin sulphomethate in acute respiratory exacerbations in adult patients with cystic fibrosis. *Thorax*. 1997; 52: 987-993.
75. Jensen T, Pedersen SS, Game S, Heilmann C, Hoiby N, Koch C, Colistin inhalation therapy in Cystic Fibrosis patients with chronic *Pseudomonas Aeruginosa* lung infection. *J. Antimicrob Chemother* 1987; 19: 831-838.
76. Micek S, Lloyd A, Ritchie D et al. *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infection: importance of appropriate initial antimicrobial treatment. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 2005; 49: 1306-11
77. Chamot E, Boffi El, Amari E, Rohner P et al. Effectiveness of combination antimicrobial therapy for *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 2003; 47: 2756-64

78. Limden PK, Kusne S, Coley K, Fontes P, Kramer DJ, Paterson D. Use of parenteral colistin for the treatment of serious infection due to antimicrobial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis*. 2003; 37: E154-E160.
79. Lu Q, Girardi C, Zhang M, Bouhemad B, Louchahi K, Petitjean O, Wallet F, Becquemin MH, Le Naour G, Marquette CH, Rouby JJ. Nebulized and intravenous colistin in experimental pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Intensive Care Med*. 2010 Jul;36(7):1147-55.
80. Rattanaumpawan P, Lorsutthitham J, Ungprasert P, Angkasekwinai N, Thamlikitkul V. Randomized controlled trial of nebulized colistimethate sodium as adjunctive therapy of ventilator-associated pneumonia caused by Gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother*. 2010 Dec;65(12):2645-9.
81. Hutchinson GR, Parker S, Pryor JA, Duncan-Skingle F, Hoffman PN, Hodson ME, Kaufmann ME, Pitt TL. Home-use nebulizers: a potential primary source of *Burkholderia cepacia* and other colistin-resistant, gram-negative bacteria in patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol*. 1996 Mar;34(3):584-7.
82. Sabuda DM, Laupland K, Pitout J, Dalton B, Rabin H, Louie T, Conly J. Utilization of colistin for treatment of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2008 Nov;19(6):413-8.
83. Kofteridis DP, Alexopoulou C, Valachis A, Maraki S, Dimopoulou D, Georgopoulos D, Samonis G. Aerosolized plus intravenous colistin versus intravenous colistin alone for the treatment of ventilator-associated pneumonia: a matched case-control study. *Clin Infect Dis*. 2010 Dec 1;51(11):1238-44.
84. Kwa AL, Loh C, Low JG, Kurup A, Tam VH. Nebulized colistin in the treatment of pneumonia due to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis*. 2005 Sep 1;41(5):754-7.
85. Trottier V, Namias N, Pust DG, Nuwayhid Z, Manning R, Marttos AC Jr, Dunham MB, Schulman CI, McKenney MG. Outcomes of *Acinetobacter baumannii* infection in critically ill surgical patients. *Surg Infect (Larchmt)*. 2007 Aug;8(4):437-43.
86. Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM, Bruining HA, White J, Nicolas-Chanoin MH, Wolff M, Spencer RC, Hemmer M. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisory Committee. *JAMA*. 1995 Aug 23-30;274(8):639-44.

87. Weber DJ, Raasch R, Rutala WA, Nosocomial infections in the ICU: the growing importance of antibiotic-resistant pathogens. *Chest* 1999 Mar; 115 (3 Suppl): 34S-41S.
88. Hanberger H, Garcia-Rodriguez JA, Gobernado M, Goossens H, Nilsson LE, Struelens MJ. Antibiotic susceptibility among aerobic gram-negative bacilli in intensive care units in 5 European countries. French and Portuguese ICU Study Groups. *JAMA*. 1999 Jan 6;281(1):67-71.
89. Martin SI, Kaye KM, Beta-lactam antibiotics: never formulations and never agents. *Clinical Infectious Diseases* 2004; 18: 603-619
90. Lloyd A, Micek S, Ritchie D et al. Pseudomonas aeruginosa infection: importance of appropriate initial antimicrobial treatment. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 1312-16.
91. Boffi EL, Chamot E, Amari E, Rohner P et al. Effectiveness of combination therapy for Pseudomonas aeruginosa bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 2766-74.
92. American Thoracic Society. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005; 171: 338-416.
93. S Antinori, T Bini, L Galimberti, L Meroni, R Esposito Cutaneous miliary tuberculosis in a patient infected with human immunodeficiency virus. *Clinical Infectious Diseases*. 1998; 26: 1484-6.
94. Mical P, Ishay BS, Karla SW, Leonard L, *British Medical Journal (BMJ)* 2004; 328:668
95. *Clinical Infectious Diseases* 2005; 41: 49-158
96. Giamarellos-Bourboulis EJ, Karnesis L, Giamarellou H, Synergy of colistin with rifampin and trimethoprim/sulfamethoxazole on multidrug-resistant *Stenotrophomonas maltophilia*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2002; 44: 259-63.
97. Livermore DM, Tigecycline: what is it and where should it be used? *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 611-4.
98. Kasiakou SK, Michalopoulos A, Soteriades ES, Samonis G, Sermaides GJ, Falagas ME, Combination therapy with intravenous colistin for management of infections due to multidrug-resistant Gram-negative bacteria in patients without cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 3136-46.

99. Falagas ME, Kasiakou SK, Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. *Critical Care* 2006; 10: R27
100. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 44: 259-53
101. Bates JH, McGraw DW, Templeton G, *Pulmonary critical care*. In: Cecil Essentials of medicine 4th ed. Philadelphia: W.B Saunders company; 1997.
102. Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynew RP, Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System. *Crit Care Med* 1999; 27: 887-892.
103. Fagon JY, Chastre J, Hance AJ et al, Nosocomial pneumonia in ventilated patients: a cohort study evaluating attributable mortality and hospital stay. *Am J Med* 1993; 94: 281-288.
104. Fridkin SK, Welbel SF, Weinstein RA, Magnitude and prevention of nosocomial infections in the intensive care unit. *Infect Dis Clin North Am* 1997; 11: 479-496.
105. Chastre J, Fagon JY. Ventilator associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*; 2002; 165: 867-903.
106. Torres A, Aznar R, Gatell JM., et al. Incidence, risk and prognosis factors of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 523-528.
107. Ibrahim EH, Ward S, Sherman G, Kollef MH, A comparative analysis of patients with early-onset vs, late-onset nosocomial pneumonia in the ICU setting. *Chest* 2000; 117: 1434-1442.
108. Atherton ST, White DJ, Stomach as course of bacteria colonising respiratory tract during artificial ventilation. *Lancet* 1978; 2: 968-969.
109. Donowitz LG, Page MC, Mileur BL, Guenther SH. Alteration of normal gastric flora in critical care patients receiving antacid and cimetidine therapy. *Infect Control* 1986; 7: 23-26.
110. Dreyfuss D, Djedaini K, Gros I, Mier L, Le Bourdelles G, Cohen Y, Estagnasie P, Coste F, Boussougant Y, Mechanical ventilation with heated humidifiers or heat and moisture exchangers: effect on patient colonization and incidence of nosocomial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995; 151: 986-992.
111. Torres A, Serra-Battles J, Ros E, et al. Pulmonary aspiration of gastric contents in patients receiving mechanical ventilation: the effect of body position. *Ann Intern Med* 1992; 116: 540-543.

112. Cook DJ, Meade MO, Hand LE, McMullin JP, Toward understanding evidence uptake: semirecumbency for pneumonia prevention. *Crit Care Med* 2002; 30: 1472-1477.
113. Drakulovic MB, Torres A, Bauer TT, Nicolas JM, Nogue S, Ferrer M, Supine body position as a risk factor for nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients: a randomized trial. *Lancet* 1999; 354: 1851-1858.
114. Ibrahim EH, Kollef MH., Using protocols to improve the outcomes of mechanically ventilated patients: focus on weaning and sedation. *Crit Care Clin* 2001; 17: 989-1001.
115. Ely EW, Meade MO, Haponik FF et al. Mechanical ventilator weaning protocols driven by nonphysician health-care professionals: evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2001; 120(Suppl): 454S-463S.
116. Kollef MH. Inadequate antimicrobial treatment: An important determinant of outcome for hospitalized patients. *Clin Infect Dis* 2000; 31 (Suppl. 4): S131-138.
117. Alvarez Lerma F. Modification of empiric antibiotic treatment in patients with pneumonia acquired in the intensive care unit. *Intensive Care Med* 1996; 22: 387-394.
118. Luca CM, Vujacich P, Niederman MS et al. Impact of BAL data on the therapy and outcome of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1997; 111:676-685.
119. American Thoracic Society. Hospital-acquired pneumonia in adults: diagnosis, assessment of severity, initial antimicrobial therapy and preventative strategies. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 153: 1711-1725.
120. Torres A, el-Ebiary M, Padro J, Gonzales J, De la Bellacasa JP, Ramirez J et al. Validation of different techniques for the diagnosis of ventilator associated pneumonia. Comparison with immediate post-mortem pulmonary biopsy. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994; 149: 324-331.
121. Marquette CH, Copin MC, Wallet F, Nevriere R, Saulnier F, Mathieu D et al. Diagnostic tests for pneumonia in ventilated patients: prospective evaluation of diagnostic accuracy using histology as a diagnostic gold standard. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995; 151: 1878-1888.
122. Chastre J, Fagon JY, Bornet-Lesco M, Calvat S, Dombret MC, Al Khani R et al, Evaluation of bronchoscopic techniques for the diagnosis of nosocomial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995; 152: 231-240.

123. Fagon JU, Chastre J, Wolff M et al. Invasive and noninvasive strategies for management of suspected ventilator-associated pneumonia. *Ann Intern Med.* 2000; 132: 621-630.
124. Imberti R, Cusato M, Villani P et al. Steady-state pharmacokinetics and BAL concentration of colistin in critically ill patients after IV colistin methanesulfonate administration. *Chest.* 2010 ; 138 (6): 1333 - 1339 .
125. Lu Q, Girardi C, Zhang M et al. Nebulized and intravenous colistin in experimental pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Intensive Care Med.* 2010 ; 36 (7): 1147 - 1155 .
126. Aoki N, Tateda K, Kikuchi Y et al . Efficacy of colistin combination therapy in a mouse model of pneumonia caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* . *J Antimicrob Chemother.* 2009 ; 63 (3): 534 - 542 .
127. Reed MD, Stern RC, O’Riordan MA, Blumer JL. The pharmacokinetics of colistin in patients with cystic fibrosis . *J Clin Pharmacol.* 2001 ; 41 (6): 645 - 654.
128. Βασίλης Μ. Ζηνιαδάκης, Νεφρική ανεπάρκεια και ο βαριά άρρωστος στη ΜΕΘ.
129. Πετράς Δημήτρης, Θεραπεία Υποκατάστασης της ΟΝΑ. Οι νεφρολόγοι στις ΜΕΘ. Διαφορές στις ΜΕΘ. Διαφορές στις Μεθόδους. Τεχνικές-Μεμβράνες-Δόση κάθαρσης. 2009
128. Evans ME, Feola DJ, Rapp RP. Polymyxin B sulfate and colistin: old antibiotics for emerging multiresistant gram-negative bacteria. *Ann Pharmacother.* 1999 Sep;33(9):960-7.
129. Michalopoulos AS, Tsiodras S, Rellos K, Mentzelopoulos S, Falagas ME Colistin treatment in patients with ICU-acquired infections caused by multiresistant Gram-negative bacteria: the renaissance of an old antibiotic. *Clin Microbiol Infect.* 2005 Feb;11(2):115-21.
130. Pfizer. 2003. Coly-Mycin M Parenteral. Package insert. Pfizer Australia Pty. Ltd., West Ryde, NSW, Australia.
131. Monarch Pharmaceuticals. 2000. Coly-Mycin M Parenteral. Package insert. Monarch Pharmaceuticals, bristol, Tenn.
132. Goodwin NJ, Friedman EA, The effects of renal impairment, peritoneal dialysis, and hemodialysis on serum sodium colistimethate levels. *Ann. Intern. Med.* 1968; 68: 984-994.

133. Curtis JR, Eastwood JB, Colistin sulphomethate sodium administration in the presence of severe renal failure and during haemodialysis and peritoneal dialysis. *Br Med J I*. 1968; 484-485.
134. Duncan DA, Colistin toxicity. Neuromuscular and renal manifestations. Two cases treated by hemodialysis. *Minn Med*. 1973; 56: 31-35.
135. MacKay DN, Kaye D, Serum concentrations of colistin in patients with normal and impaired renal function. *N Engl J Med*. 1964; 270: 394-397.
136. Swick HM, Maxwell E, Charache P, Levin S Peritoneal dialysis in colistin intoxication: report of a case. *J Pediatr*. 1969; 74: 976-980.
137. Hoeprich PD. The polymyxins. *Med Clin North Am*. 1970; 54: 1257-1265.
138. Greenberg PA, Sanford JP. Removal and absorption of antibiotics in patients with renal failure undergoing peritoneal dialysis. Tetracycline, chloramphenicol, kanamycin, and colistimethate. *Ann Intern Med*. 1967 Mar; 66(3):465-70.
139. Amsden GW. Tables of antimicrobial agent pharmacology. In: Mandell GL., Bennett JE, Dolin R (eds) Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. *Ann Intern Med*. 2000; 32: 578-579.
140. Sarria JC, Angulo-Pernett F, Kimbrough RC, McVay CS, Vidal AM. Use of intravenous polymyxin B during continuous venovenous hemodialysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2004 Apr; 23(4):340-1.
141. Li J, Rayner CR, Nation RL, Deans R, Boots R, Widdecombe N, Douglas A, Lipman J. Pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and colistin in a critically ill patient receiving continuous venovenous hemodiafiltration. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005 Nov; 49(11):4814-5.
142. Neary D, Crossman A.R. *Εγχειρίδιο Νευροανατομίας*. 1995; 1: 1-13
143. Neary D, Crossman A.R. *Εγχειρίδιο Νευροανατομίας*. 1995; 16: 159-166
144. Neary D, Crossman A.R. *Εγχειρίδιο Νευροανατομίας*. 1995; 15: 153-157
145. Abbott NJ, Romero IA. Transporting therapeutics across the blood-brain barrier. *Mol. Med* 1996; 2:106-113
146. De Boer AG, Breimer DD. The blood-brain barrier: clinical implications for drug delivery to the brain. *Physicians*.. 1994; 28: 502-506.
147. Shah GN, Mooradian AD. Disease-related changes in the blood-brain barrier. *Exp. Gerontol*. 1997; 32:501-519

148. R Nau, F Sorgel, H Eiffert. Penetration of drugs through the Blood-Cerebrospinal Fluid/Blood-Brain Barrier for Treatment of Central Nervous System Infections. *Clin. Microbiol.* 2010; 23(4):858.
149. Marin P, The ICU book. *Current Opinion Crit Care* 2002; 8: 441.
150. Wood AJJ, *NEJM* 1997; 336: 708.
151. Bashir E, Laundry M, Booy R, Diagnosis and treatment of bacterial meningitis. *Arch Dis Child*, 2003; 88: 615-620.
152. Marino P, *The ICU book Current Opinion Crit Care* 1999; 99: 968-975.
153. Logigan C, Mihalache D, Dorneanu O, Turcu T. Study of nosocomial bacillary meningitis admitted in the Clinic of Infectious Diseases Iași on a 20 years period *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi.* 2009; 113(3):721-6.
154. Kim BN, Peleg AY, Lodise TP, Lipman J, Li J, Nation R, et al. Management of meningitis due to antibiotic-resistant *Acinetobacter* species. *Lancet Infect Dis* 2009; 9:245–55.
155. Nau R, Sörgel F, Eiffert H. Penetration of drugs through the blood-cerebrospinal fluid/blood-brain barrier for treatment of central nervous system infections. *Clin Microbiol Rev.* 2010 Oct; 23(4):858-83.
156. Greenberg Benjamin. *Seminars in Neurology.* 2009 Feb, 28: 5
157. Katragkou A, Roilides E, Successful treatment of multi drug-resistant *Acinetobacter baumannii* central nervous system infections with colistin. *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43: 4916-4917,.
158. www.drugs.com/pro/amikacin.html
159. De Pascale G, Pompucci A, Maviglia R, Spanu T, Bello G, Mangiola A, Scoppettuolo G. Successful treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventriculitis with intrathecal and intravenous colistin. *Minerva Anesthesiol.* 2010 Nov;76(11):957-60.
160. Malacarne P, Viaggi B, DI Paolo A, Danesi R, Del Tacca M. Linezolid cerebrospinal fluid concentration in central nervous system infection. *J Chemother.* 2007 Feb; 19(1):90-3.
161. Elvy J, Porter D, Brown E. Treatment of external ventricular drain-associated ventriculitis caused by *Enterococcus faecalis* with intraventricular daptomycin. *J Antimicrob Chemother.* 2008 Feb; 61(2): 461-2.

162. Burgess DS. Use of pharmacokinetics and pharmacodynamics to optimize antimicrobial treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Clin Infect Dis*. 2005 Feb 15;40 Suppl 2:S99-104.
163. Harris AD, Smith D, Johnson JA, Bradham DD, Roghmann MC. Risk factors for imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* among hospitalized patients. *Clin Infect Dis*. 2002 Feb 1;34(3):340-5.
164. D Berlana, JM Liop, E Fort, MB Badia, R Jodar, Use of colistin in the treatment of multiple-drug-resistant gram-negative infections, *Am J Health Syst Pharm*. 2005; 62: 39-47.
165. AS Levin, AA Barone, J Penco et al, Intravenous Colistin as therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*, *Clin Infect Dis*. 1999; 28: 1008-1011.
166. R Reina, E Estensoro, G Saeuz et al, Safety and efficacy of colistin in *Acinetobacter* and *Pseudomonas* infections: a prospective cohort study, *Intensive Care Med*. 2005; 31: 1058-1065.
167. Cascio A, Conti A, Sinardi L, Iaria C, Angileri FF, Stassi G, David T, Versaci A, Iaria M, David A. Post-neurosurgical multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* meningitis successfully treated with intrathecal colistin. A new case and a systematic review of the literature. *Int J Infect Dis*. 2010 Jul; 14(7):572-9.
168. Sueke H, Marsh H, Dhital A. Using intrathecal colistin for multidrug resistant shunt infection. *Br J Neurosurg* 2005;19:51–2.
169. Vasen W, Desinery P, Ilutovich S et al. Intrathecal use of colistin. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 3523.
170. Quinn AL, Parada JP, Belmares J, O'Keefe JP. Intrathecal colistin and sterilization of resistant *Pseudomonas aeruginosa* shunt infection. *Ann Pharmacother*. 2005 May;39(5):949-52.
171. Yagmur R, Esen F. Intrathecal colistin for treatment of *Pseudomonas aeruginosa* ventriculitis: report of a case with successful outcome. *Crit Care*. 2006;10(6):428.
172. Suarez Fernandez C, Fernandez-Viladrich P, Tuban F, Corral L, Maten A, Intrathecal colistin treatment of central nervous system infections due to multi-resistant *Acinetobacter baumannii*. In Program and Abstracts of 15th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases Copenhagen, Denmark April 2-5 2005.

173. Gump WC, Walsh JW. Intrathecal colistin for treatment of highly resistant *Pseudomonas ventriculitis*. Case report and review of the literature. *J Neurosurg.* 2005 May;102(5):915-7.
174. Enfantó CM, Shin S, Treatment with Intrathecal colistin of a Resistant Extended-Spectrum (beta)-Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* in the Cerebrospinal Fluid. *Infect. Dis. Clin. Pract* 2007; 15: 274-277.
175. Ng J, Gosbell IB, Kelly JA, Boyle MJ, Ferguson JK. Cure of multiresistant *Acinetobacter baumannii* central nervous system infections with intraventricular or intrathecal colistin: case series and literature review. *J Antimicrob Chemother.* 2006 Nov;58(5):1078-81.
176. Ho YH, Wang LS, Chao HJ, Chang KC, Su CF. Successful treatment of meningitis caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* with intravenous and intrathecal colistin. *J Microbiol Immunol Infect.* 2007 Dec;40(6):537-40.
177. Bukhary Z, Mahmood W, Al-Khani A, Al-Abdely HM. Treatment of nosocomial meningitis due to a multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* with intraventricular colistin. *Saudi Med J.* 2005 Apr;26(4):656-8.
178. Dalgic N, Ceylan Y, Sancar M, Telhan L, Kafadar I, Cavusoglu H, Ceylan O, Hasim O. Successful treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventriculitis with intravenous and intraventricular colistin. *Ann Trop Paediatr.* 2009 Jun;29(2):141-7.
179. Everett ED, Strausbaugh LJ. Antimicrobial agents and the central nervous system. *Neurosurgery.* 1980, 6:691-714.
180. Jiménez-Mejías ME, Pichardo-Guerrero C, Márquez-Rivas FJ, Martín-Lozano D, Prados T, Pachón J. Cerebrospinal fluid penetration and pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters of intravenously administered colistin in a case of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* meningitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2002 Mar;21(3):212-4.
181. Jiménez-Mejías ME, Becerril B, Márquez-Rivas J, Pichardo L, Cuberos L, Pachon J. Successful treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter Baumannii* meningitiw with intravenous colistin sulfomethate sodium. *J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 18: 970-971.
182. Antachopoulos C, Karvanen M, Iosifidis E, Jansson B, Plachouras D, Cars O, Roilides E. Serum and Cerebrospinal Fluid levels of Colistin in Pediatric Patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2010 Sept, 3985-3987.

183. Nau R, Sorgel F, Prange HW. Pharmacokinetic optimization of the treatment of bacterial central nervous system infections. *Clin. Pharmacokinet.* 1998; 35:223-246.
184. Markantonis SL, Markou N, Fousteri M, Sakellaridis N, Karatzas S, Alamanos I, Dimopoulou E, Baltopoulos G., Penetration of colistin into cerebrospinal fluid., *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 ;53(11):4907-10
185. Khawcharoenporn T, Apisarnthanarak A, Mundy LM, Intrathecal colistin for drug-resistant *Acinetobacter baumannii* central nervous system infection: a case series and systematic review, *Clin Microbiol Infect.* 2010; 16(7):888-94
186. Imberti R, Cusato M, Accetta G, Marinò V, Procaccio F, Del Gaudio A, Iotti GA, Regazzi M. Pharmacokinetics of colistin in cerebrospinal fluid after intraventricular administration of colistin methanesulfonate. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012 Aug;56(8):4416-21.
187. Rennard SI, Basset G, Lecossier D, O' Donnell KM, Pinkston P, Martin PG. Estimation of volume of epithelial lining fluid recovered by lavage using urea as marker of dilution. *J Appl Physiol* 1986; 60: 532-538.
188. Kunin C, Bugg A. Binding of polymyxin antibiotics to tissues: The major determinant of distribution and persistence in the body. *J Infect Dis* 1971;124:394-400.
189. Kiem S, Schentag JJ. Interpretation of antibiotic concentration ratios measured in epithelial lining fluid. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52(1):24-36.
190. Falagas M, Agrafiotis M, Athanassa Z, Siempos I. Administration of antibiotics via the respiratory tract as monotherapy for pneumonia. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2008; 6: 447-452.
191. Korbila IP, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Nikita D, Samonis G, Falagas ME. Inhaled colistin as adjunctive therapy to intravenous colistin for the treatment of microbiologically documented ventilator-associated pneumonia: a comparative cohort study. *Clin Microbiol Infect.* 2010 Aug; 16(8): 1230-6.
192. Falagas M, Siempos I, Rafailidis P, korbila I, Ioannidou E, Michalopoulos A. Inhaled colistin as monotherapy for multidrug-resistant gram(-) nosocomial pneumonia: A case series. *Respiratory Medicine.* 2009 May; 103(5): 707-713.
193. Marchand S, Gobin P, Brillault J, Baptista S, Adier C, Olivier JC, Mimos O, Couet W. Aerosol therapy with Colistin Methanesulfonate: a Biopharmaceutical Issue Illustrated in Rats. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2010 Sept; 3702-3707.

194. Ratjen F, Rietschel E, Kasel D, Schwiertz R, Starke K, Beier H, Koningsbruggen S, Grasemann. Pharmacokinetics of inhaled colistin in patients with cystic fibrosis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2006; 57: 306-307.
195. Harvey CJ, O'Doherty MJ, Page CJ, Thomas SH, Numan TO, Treacher DF. Comparison of jet and ultrasonic nebulizer pulmonary aerosol deposition during mechanical ventilation. *Eur Respir J.* 10:905-909.
196. Ari A, Atalay OT, Harwood R, Sheard MM, Aljamhan EA, Fink JB. Influence of nebulizer type, position and bias flow on aerosol drug delivery in simulated pediatric and lung models during mechanical ventilation. *Respiratory Care.* 2010; 55(7): 845-851.
197. Ari A, Areabi H, Fink JB. Evaluation of aerosol generator devices at 3 locations in humidified and non-humidified circuits during adult mechanical ventilation. *Respiratory Care* 2010; 55(7): 837-844.
198. Garonzik S, Li J, Thamlikitkul V, Paterson D, Shoham S, Jacob J, Silveira P, Forrest A, Nation R. Population Pharmacokinetics of Colistin Methanesulfonate and formed Colistin in critically ill patients from a multicenter study provide dosing suggestions for various categories of patients. *Antimicrobial Agents Chemotherapy.* 2011 Jul; 55(7): 3284-3294
199. Karvanen M, Plachouras D, Friberg L.E, Papadomichelakis E, Jansson E, Paramythiotou E, Armaganidis A, Cars O, Giamarellou H. Pharmacokinetics of colistin after intravenous administration in critically ill patients receiving continuous venovenous haemodiafiltration . 19th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Helsinki, Finland 2011, Abstr. 16-19.
200. Dudhani R, Nation R, Li J. Elucidation of the pharmacokinetic/pharmacodynamic determinant of colistin activity against *Pseudomonas aeruginosa* in murine thigh and lung infection models. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010; 54: 1117-1124.