



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ –
ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ ΣΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Εκτίμηση φαρμακοκινητικών παραμέτρων της
εισπνεόμενης κολιστίνης, σε ασθενείς της ΜΕΘ με
λοίμωξη αναπνευστικού και έλεγχος της επίδρασης δυο
διαφορετικών νεφελοποιητών

Γεωργίου Ευσταθία

Φαρμακοποιός

ΑΘΗΝΑ

ΙΟΥΛΙΟΣ 2019

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να απευθύνω τις ευχαριστίες μου στους ανθρώπους, των οποίων η βοήθεια υπήρξε πολύτιμη καθ' όλη τη διάρκεια αυτής της εργασίας. Αρχικά, ευχαριστώ θερμά την κα. Βαλσαμή Γεωργία, Αναπληρώτρια καθηγήτρια του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του Τμήματος Φαρμακευτικής του ΕΚΠΑ, για την ανάθεση και την επίβλεψη της συγκεκριμένης μελέτης, καθώς και για τις χρήσιμες υποδείξεις της.

Καταλυτική υπήρξε και η συμβολή της μεταδιδακτορικής ερευνήτριας Ειρήνης Χριστοδούλου πάνω στο εργαστηριακό κομμάτι της εργασίας. Την ευχαριστώ για την προθυμία και την άμεση ανταπόκριση της, όποτε χρειάστηκα τη βοήθεια της.

Τέλος, ευχαριστώ την κα. Μαρκαντώνη – Κυρούδη Σοφία, Καθηγήτρια του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του Τμήματος Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ, καθώς και τον κ. Δοκουμετζίδα Αριστείδη, Επίκουρο Καθηγητή του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, για τη συμμετοχή τους στην τριμελή επιτροπή αξιολόγησης.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Την τελευταία δεκαετία, η χρήση της εισπνεόμενης κολιστίνης σε λοιμώξεις του αναπνευστικού που οφείλονται σε πολυανθεκτικά Gram (-) παθογόνα έχει αυξηθεί σημαντικά. Στη παρούσα διπλωματική εργασία, επιχειρήθηκε ο προσδιορισμός των επιπέδων της κολιστίνης στο αίμα και στο υπερκείμενο επιθηλιακό υγρό του πνεύμονα (Epithelial lining fluid, ELF) ασθενών με λοίμωξη, που βρίσκονταν υπό μηχανικό αερισμό και έλαβαν 2.000.000 IU εισπνεόμενης CMS με τη χρήση δύο νεφελοποιητών (Jetnebulizer και Aeroneb[®]). Η αναλυτική τεχνική που χρησιμοποιήθηκε ήταν η HPLC με χρήση ανιχνευτή φθορισμού. Πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των βασικών φαρμακοκινητικών παραμέτρων στο πλάσμα της εισπνεόμενης κολιστίνης με εφαρμογή μη διαμερισματικής φαρμακοκινητικής ανάλυσης με χρήση του λογισμικού Phoenix WinNonlin[®] 8.1. Στη πλειονότητα των ασθενών, οι συγκεντρώσεις που παρατηρήθηκαν στο ELF ήταν σημαντικά υψηλότερες από τις αντίστοιχες στο πλάσμα, αλλά και στις δύο περιπτώσεις ήταν χαμηλότερες από το όριο ευαισθησίας που ορίζει η EUCAST για τους μικροοργανισμούς που απομονώθηκαν στους ασθενείς που έλαβαν μέρος στη μελέτη, *Acinetobacter baumannii* και *Klebsiella pneumoniae*. Ο χρόνος επίτευξης μέγιστης συγκέντρωσης, T_{max} , ήταν κατά μέσο όρο 4-6 ώρες στο ELF και 1-2 ώρες στο πλάσμα. Στο πλάσμα, για τους ασθενείς που έλαβαν το φάρμακο με Jet νεφελοποιητή, υπολογίστηκαν κατά μέσο όρο $T_{max}=2.47\pm 0.79h$ και $C_{max}=1.55\pm 2.18 \mu g/ml$, ενώ για τους ασθενείς, στους οποίους η νεφελοποίηση έγινε με τον Aeroneb, οι αντίστοιχες τιμές ήταν $T_{max}=1.89\pm 0.86h$ και $C_{max}=3.14\pm 1.72 \mu g/ml$.

Επιπλέον μελέτες είναι απαραίτητες σε μεγαλύτερο δείγμα ασθενών και κατά προτίμηση με μετρήσεις στη σταθεροποιημένη κατάσταση ώστε να είναι εφικτή η εξαγωγή πιο ισχυρών συμπερασμάτων σχετικά με τη φαρμακοκινητική της εισπνεόμενης κολιστίνης.

ABSTRACT

Over the last decade, the use of inhaled colistin in respiratory tract infections due to MDR Gram (-) pathogens has gained wide acceptance. In this study, the concentrations of colistin were determined in plasma and Epithelial lining fluid (ELF) samples of thirty mechanically ventilated patients with pulmonary infection. The patients received 2,000,000 IU of inhaled colistimethate sodium (CMS), using two types of nebulisers (Jet and Aeroneb). The analytical technique used to measure plasma and BAL/ELF colistin levels, was HPLC with fluorescence detector (HPLC-RF). The basic pharmacokinetic parameters of inhaled colistin were, also, determined by non-compartmental analysis using Phoenix WinNonlin[®] 8.1 software. In the majority of patients, the concentrations observed in ELF samples were significantly higher than those in plasma, but in both cases, they were below the EUCAST clinical breakpoints for *Acinetobacter baumannii* και *Klebsiella pneumoniae*. The average T_{max} was 4-6 hours in ELF and 1-2 hours in plasma samples. Furthermore, the $T_{max,MEAN}$ and $C_{max,MEAN}$ in plasma were found 2.47 ± 0.79 h 1.55 ± 2.18 $\mu\text{g/ml}$ respectively for the patients who received the drug with Jet nebulizer, whereas for those patients in whom nebulization was performed with Aeroneb nebulizer, the corresponding values were $T_{max} = 1.89 \pm 0.86$ h και $C_{max} = 3.14 \pm 1.72$ $\mu\text{g/ml}$. Further studies are required in larger number of patients and preferably at steady state conditions, in order to end up with more solid conclusions regarding pharmacokinetics of inhaled colistin.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	7
1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ.....	8
1.2. ΧΗΜΙΚΗ ΔΟΜΗ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ.....	8
1.3. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ.....	10
1.4. ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟ ΦΑΣΜΑ.....	11
1.5. INVITRO ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΣΤΗ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗ.....	12
1.6. ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΗ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗ.....	13
1.7. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΧΡΗΣΕΙΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ.....	17
1.8. ΣΥΓΧΟΡΗΓΗΣΗ – ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ.....	19
1.9. ΔΟΣΟΛΟΓΙΑ.....	21
1. Ενδοφλέβια χορήγηση.....	22
2. Εισπνεόμενη χορήγηση.....	23
3. Ενδορραχιαία και ενδοκοιλιακή χορήγηση (ΚΝΣ).....	24
1.10. ΑΝΕΠΙΘΥΜΗΤΕΣ ΕΝΕΡΓΕΙΕΣ.....	24
1. Ενδοφλέβια χορήγηση κολιστίνης.....	24
2. Εισπνεόμενη χορήγηση κολιστίνης.....	28
1.11. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΣΤΟΝ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ.....	28
1.12. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΥΗΣΗ – ΘΗΛΑΣΜΟ.....	29
1.13. ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΚΑΙ CMS.....	29
1.14. ΦΑΡΜΑΚΟΔΥΝΑΜΙΚΗ.....	30
1.15. ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ.....	32
1. ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ.....	32
2. ΚΑΤΑΝΟΜΗ.....	32
3. ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ – ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗ.....	33
2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	35
2.1. ΜΟΝΑΔΑ ΕΝΤΑΤΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ.....	36
2.2. ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ - ΒΑΣΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΟΜΗΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ.....	36
2.3. ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΠΟΥ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΣΤΗ ΜΕΘ.....	38
2.4. ΧΡΗΣΗ ΕΙΣΠΝΕΟΜΕΝΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ.....	40
2.5. ΜΕΘΟΔΟΙ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΕΙΣΠΝΕΟΜΕΝΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ.....	41
2.6. ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ ΕΙΣΠΝΕΟΜΕΝΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΟΥΣ ΒΑΡΕΩΣ ΠΑΣΧΟΝΤΕΣ.....	43

3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	46
3.1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	47
3.2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ	47
3.3. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ.....	48
3.4. ΔΙΑΛΥΤΕΣ – ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ – ΠΡΟΤΥΠΕΣ ΟΥΣΙΕΣ – ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ.....	49
3.5. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ ΚΑΙ ΣΤΟ ΒΑΛ...	50
3.6. ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΟΥΡΙΑΣ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ ΚΑΙ ΤΟ ΒΑΛ...	50
3.7. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ	51
3.8. ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΚΑΜΠΥΛΗΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ	52
3.9. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΠΑΡΑΚΑΤΑΘΗΚΗΣ.....	52
3.10. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	53
3.11. ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ	54
3.12. ΣΤΑΔΙΑ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΚΑΜΠΥΛΗΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΓΙΑ ΤΟ ΒΑΛ	54
3.13. ΗPLC ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΑΓΝΩΣΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	55
3.14. ΗPLC ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΑΓΝΩΣΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΒΑΛ.....	55
3.15. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΟΥΡΙΑΣ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ ΚΑΙ ΣΤΟ ΒΑΛ.....	55
4. ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ –ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	56
4.1. ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ.....	57
4.1.1. Καμπύλη αναφοράς.....	57
4.1.2. Αποτελέσματα μετρήσεων κολίστινης στο πλάσμα μετά τη χορήγηση εισπνεόμενης CMS.....	58
4.1.3. Προσδιορισμός φαρμακοκινητικών παραμέτρων πλάσματος.....	59
4.2. ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΒΡΟΓΧΟΚΥΨΕΛΥΔΙΚΟΥ ΥΓΡΟΥ (ΒΑΛ).....	65
4.2.1. Καμπύλη αναφοράς.....	65
4.2.2. Αποτελέσματα μετρήσεων κολίστινης στο ΒΑΛ μετά τη χορήγηση εισπνεόμενης CMS.....	66
4.3. ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΤΟΥ ΥΠΕΡΚΕΙΜΕΝΟΥ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΟΥ ΥΓΡΟΥ ΤΩΝ ΠΝΕΥΜΟΝΩΝ	67
4.3.1. Προσδιορισμός συγκεντρώσεων κολίστινης στο ELF	67
4.3.2. Προσδιορισμός φαρμακοκινητικών παραμέτρων στο ELF.....	68
3.4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	72
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:.....	75
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	90

1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Οι πολυμυξίνες είναι μια ομάδα πολυπεπτιδικών κατιονικών αντιβιοτικών που απομονώθηκαν από τον *Bacillus polymyxa* τη δεκαετία του 1940. ^[1] Συγκεκριμένα, η ανακάλυψη τους δημοσιεύθηκε ανεξάρτητα από τρία διαφορετικά εργαστήρια το 1947. ^[2] Η κολιστίνη (πολυμυξίνη Ε) και η πολυμυξίνη Β είναι τα κύρια αντιβιοτικά αυτής της ομάδας και χορηγήθηκαν σε ασθενείς για πρώτη φορά το 1959 για τη θεραπεία Gram-αρνητικών βακτηριακών λοιμώξεων. ^[3-5,8,10]

Χρησιμοποιήθηκαν σε μεγάλο βαθμό κατά τη δεκαετία του 1960, αλλά η αναφερόμενη τοξικότητα (νεφρο- και νευροτοξικότητα) περιόρισε σημαντικά τη χρήση τους μετά τις αρχές της δεκαετίας του 1970, όταν άλλοι αντιβιοτικοί παράγοντες με καλή δραστηριότητα έναντι Gram-αρνητικών παθογόνων και μικρότερη τοξικότητα (όπως οι αμινογλυκοσίδες και οι καρβαπενέμες), τις αντικατέστησαν ως συστηματική θεραπεία πρώτης γραμμής. ^[7,9,10]

Ωστόσο, τις τελευταίες δύο δεκαετίες, η παγκόσμια εξάπλωση εξαιρετικά ανθεκτικών (στα υπάρχοντα φάρμακα) Gram-αρνητικών βακτηριακών στελεχών, καθώς και η έλλειψη νέων αντιβιοτικών που να αντιμετωπίζουν αυτές τις λοιμώξεις, οδήγησε στην επανεξέτασή των πολυμυξινών και ιδιαίτερα της κολιστίνης, ως θεραπευτική επιλογή τελευταίας γραμμής. ^[2,4,5]

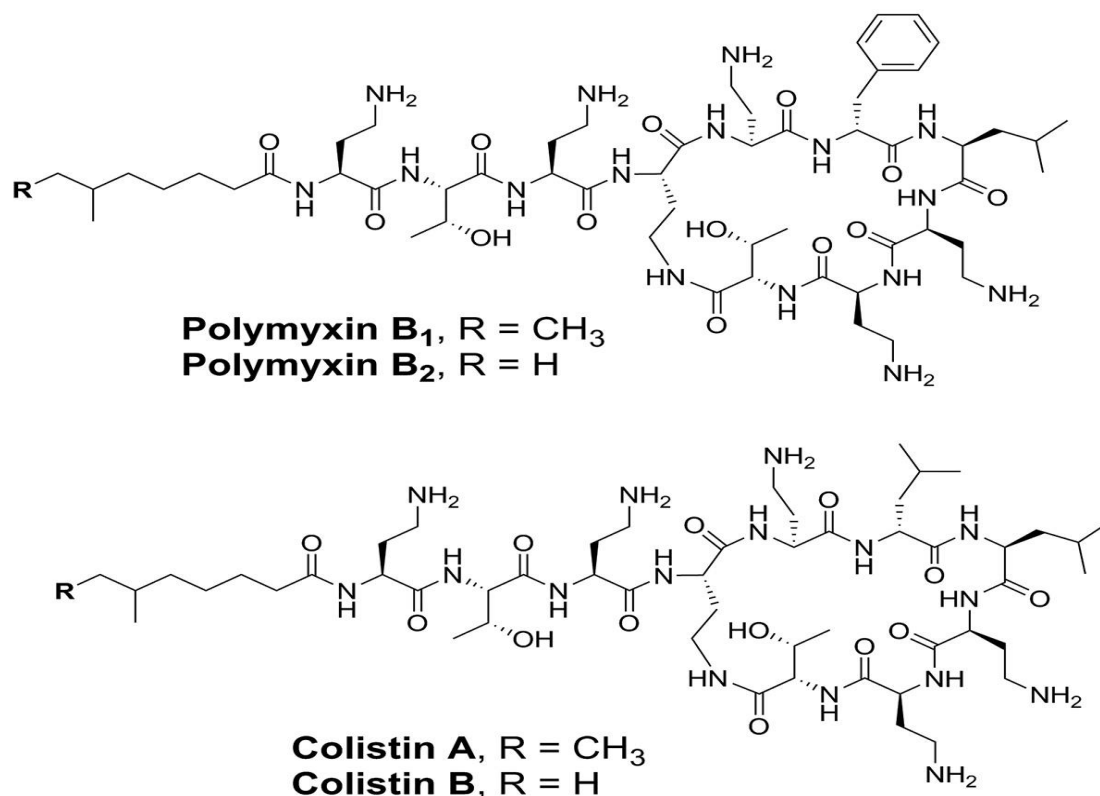
Δυο διαφορετικές μορφές της κολιστίνης είναι εμπορικά διαθέσιμες για κλινική χρήση: η θεϊκή κολιστίνη που χορηγείται κυρίως από το στόμα για λοιμώξεις του εντέρου ή τοπικά με τη μορφή πούδρας για την αντιμετώπιση βακτηριακών λοιμώξεων του δέρματος και η νατριούχος κολιστιμεθάτη (colistimethate sodium – CMS), που είναι ουσιαστικά προφάρμακο της κολιστίνης. ^[6] Δεδομένου ότι η CMS εμφανίζει λιγότερες παρενέργειες, επιλέγεται συνήθως ως η μορφή που χορηγείται συστηματικά με εισπνοή. Μετατρέπεται in vivo σε διάφορα παράγωγα, συμπεριλαμβανομένης της θετικά φορτισμένης βάσης κολιστίνης, η οποία είναι η ενεργός μορφή με αντιβακτηριακή δράση. ^[11]

1.2. ΧΗΜΙΚΗ ΔΟΜΗ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ

Οι πολυμυξίνες είναι κυκλικά λιποδεκαπεπτιδικά αντιβιοτικά. Εμφανίζουν πολύ βασικές ιδιότητες λόγω πέντε ελεύθερων αμινομάδων. Όλα τα μέλη της κατηγορίας περιέχουν έναν κυκλικό πυρήνα αποτελούμενο από επτά πεπτίδια, ο οποίος είναι συνδεδεμένος με μια τριπεπτιδική πλευρική αλυσίδα ακυλιωμένη στο άμινο-τελικό άκρο της από ένα λιπαρό οξύ. ^[2,11] Τα αμινοξέα στο μόριο της κολιστίνης είναι η D-λευκίνη, η L-θρεονίνη και το L-α-γ-διαμινοβουτυρικό οξύ. Η πολυμυξίνη Β έχει την ίδια δομή με την κολιστίνη αλλά περιέχει D-φαινυλαλανίνη αντί της D-λευκίνης. ^[11,12]

Η κολιστίνη αποτελείται από ένα μίγμα κολιστίνης Α και κολιστίνης Β, που διαφέρουν στην πλευρική αλυσίδα των λιπαρών οξέων τους. ^[8] Η κολιστίνη Α

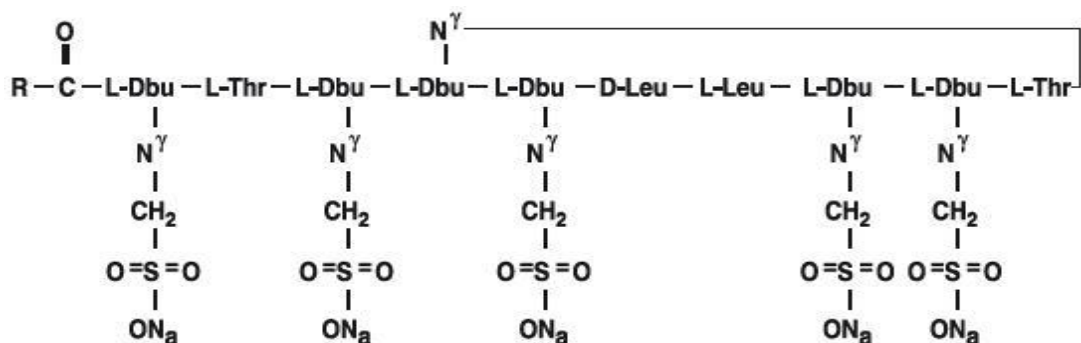
περιέχει το 6-μεθυλοκτανοϊκό οξύ, ενώ στη περίπτωση της κολιστίνης Β το λιπαρό οξύ είναι το 6-μεθυλεπτανοϊκό οξύ. ^[16]



Εικόνα 1.2.1: Χημική δομή πολυμυξίνης Β και κολιστίνης. ^[18]

Το πεπτιδικό τμήμα του μορίου διευκολύνει την πρόσδεση στην εξωτερική μεμβράνη των Gram-αρνητικών βακτηρίων. ^[13] Τροποποιήσεις σε αυτό το τμήμα δεν επηρεάζουν την τοξικότητα ή τη δραστηριότητα, εκτός εάν το θετικό φορτίο (που σχετίζεται με τα πέντε Ι-διαμινοβουτυρικά οξέα) μειωθεί. ^[14] Επιπλέον, ενζυματική διάσπαση έχει ως αποτέλεσμα μικρότερη τοξικότητα και αντιμικροβιακή δράση. ^[13,15]

Παρόλο που χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιβλιογραφία, οι όροι κολιστίνη και CMS δεν είναι ταυτόσημοι. Η κολιστίνη (που αναφέρεται κυρίως στο θειικό άλας) είναι ένα πολυκατιόν, ενώ το CMS (που χρησιμοποιείται ως άλας νατρίου) είναι ένα πολυανιόν στο φυσιολογικό pH. Το CMS προκύπτει από την κολιστίνη με αντίδραση των ελεύθερων γ-αμινομάδων των καταλοίπων των πέντε γ-διαμινοβουτυρικών οξέων με φορμαλδεύδη, ακολουθούμενη από όξινο θειώδες νάτριο. ^[17]

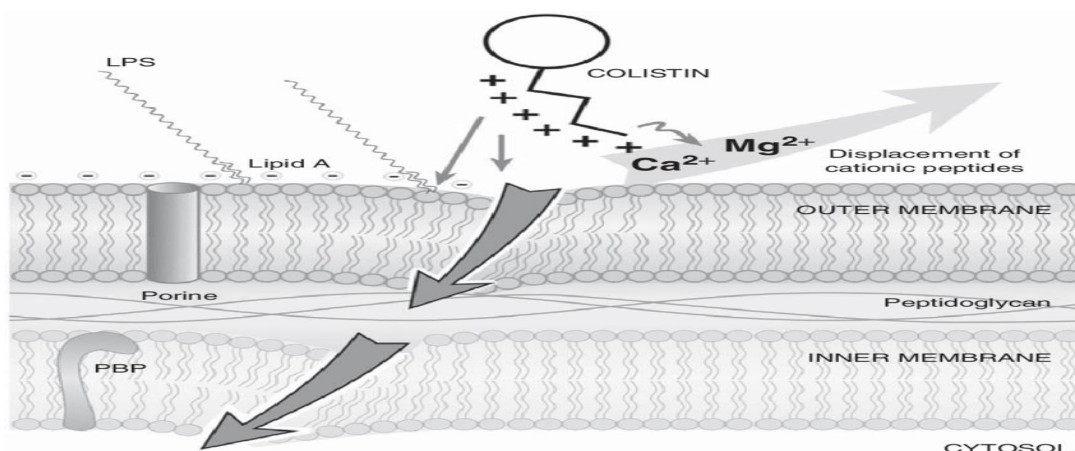


Εικόνα 1.2.2: Χημική δομή CMS.^[19]

1.3. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ

Οι πολυμυξίνες έχουν έναν μοναδικό μηχανισμό δράσης που περιλαμβάνει τη διάσπαση της ακεραιότητας της εξωτερικής μεμβράνης των Gram-αρνητικών βακτηρίων, με αποτέλεσμα την ταχεία βακτηριοκτόνο δράση, ενώ μπορεί να ενισχύσουν και τη δραστικότητα αντιβιοτικών από διαφορετικές κατηγορίες.^[20]

Συγκεκριμένα, η κολιστίνη αλληλεπιδρά με μόρια ανιονικών λιποπολυσακχαριτών (LPS), που εντοπίζονται στο εξωτερικό περίβλημα της μεμβράνης των Gram-αρνητικών βακτηρίων.^[2] Η αλληλεπίδραση είναι ηλεκτροστατικής φύσεως και έτσι η κολιστίνη εκτοπίζει ανταγωνιστικά δισθενή κατιόντα (Mg^{2+} , Ca^{2+}) που σταθεροποιούν το στρώμα των λιποπολυσακχαριτών, διαταράσσοντας έτσι την ακεραιότητα της μεμβράνης.^[5,12] Πιστεύεται ότι σχηματίζει ρωγμές στο εξωτερικό περίβλημα και έτσι προάγει την πρόσληψη της στο εσωτερικό του κυττάρου και επιτρέπει τη διέλευση διαφόρων μορίων.^[1] Το αποτέλεσμα αυτής της διαδικασίας είναι η αύξηση της διαπερατότητας του κυτταρικού περιβλήματος (μέσω σχηματισμού πόρων και παραμόρφωσης του περιγράμματος), διαρροή περιεχομένων του βακτηριακού κυττάρου, λύση του κυττάρου και, τελικώς, βακτηριακό θάνατο.^[1,5,21]

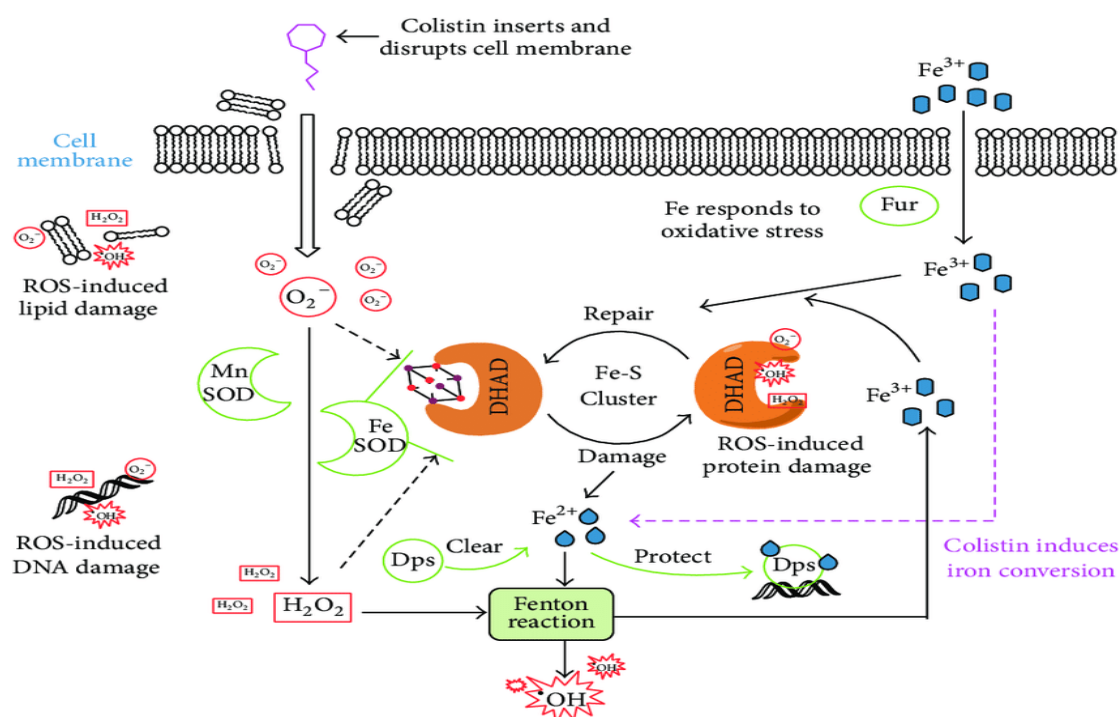


Εικόνα 1.3.1: Σχηματική απεικόνιση του μηχανισμού δράσης της κολιστίνης.^[22]

Επιπρόσθετα, η κολιστίνη συνδέεται με το τμήμα του λιπιδίου A (που δρα και ως ενδοτοξίνη) του LPS και, σε μελέτες σε ζώα, έχειδειχθεί ότι εμποδίζει πολλά από τα βιολογικά αποτελέσματα της ενδοτοξίνης αυτής των βακτηριακών κυττάρων. [5]

Πρέπει να σημειωθεί ότι η χημική σύνθεση των βακτηριακών μεμβρανών, που είναι πλούσια σε φωσφατιδυλαιθανολαμίνη και αρνητικά φορτισμένα λιπίδια, επιτρέπει τέτοιου είδους ηλεκτροστατική έλξη με κατιονικά πεπτίδια σε αντίθεση με τα ευκαρυωτικά κύτταρα, στα οποία η χοληστερόλη είναι το κυρίαρχο συστατικό. Έτσι εξηγείται η εκλεκτικότητα δράσης της κολιστίνης προς τα μικροβιακά κύτταρα έναντι των κυττάρων του ξενιστή. [1]

Ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο οι πολυμυξίνες προκαλούν βακτηριακό θάνατο είναι ακόμα άγνωστος και πολλαπλοί στόχοι των βακτηριακών κυττάρων μπορεί να εμπλέκονται (όπως σχηματισμός ριζών υδροξυλίου κ.α). [5]



Εικόνα 1.3.2: Πιθανός μηχανισμός δράσης μέσω παραγωγής ριζών OH. [23]

1.4. ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟ ΦΑΣΜΑ

Η κολιστίνη εμφανίζει ταχεία βακτηριοκτόνο δράση ενάντια σε Gram-αρνητικά παθογόνα. [6] Είναι γνωστό ότι έχει εξαιρετική δραστηριότητα εναντίον του *Pseudomonas aeruginosa*, αλλά το φάσμα δραστηριότητας περιλαμβάνει επίσης τα *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella spp.*, *Stenotrophomonas maltophilia* και *Acinetobacter baumannii*. [5,11] Έχει επίσης

αναφερθεί δυναμική δραστηριότητα εναντίον πολλών μυκοβακτηριακών στελεχών, συμπεριλαμβανομένου του *Mycobacterium tuberculosis*.^[5]

Τα στελέχη των ειδών *Neisseria*, *Proteus*, *Serratia*, *Providencia*, *Brucella* και *Edwardsiella*, *Pseudomonas mallei* και *Burkholderia cepacia* είναι εγγενώς ανθεκτικά στη δράση της κολιστίνης.^[2,5,11]

Τέλος, η κολιστίνη δεν εμφανίζει καμία δράση έναντι των Gram-θετικών βακτηρίων, Gram-θετικών και -αρνητικών κόκκων, των αναερόβιων στελεχών, των μυκήτων και των παρασίτων.^[2]

1.5. INVITRO ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΣΤΗ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗ

Η European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) και το Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) προτείνει την αραιώση σε ζωμό (BMD- standard broth microdilution ISO-74 2077610) ως τη μέθοδο αναφοράς για τη δοκιμασία εύρεσης της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) της κολιστίνης. Πιο συγκεκριμένα, επισημαίνει τη χρήση Mueller Hinton ζωμού (προσαρμοσμένος για κατιόντα), με θειικά άλατα κολιστίνης σε δίσκους από πολυστυρένιο χωρίς πρόσθετα όπως το πολυσορβικό-80 (λόγω πιθανής συνέργειας μεταξύ του P-80 και των πολυμυξινών).^[20,36] Η καλλιέργεια σε άγαρ και η μέθοδος διάχυσης σε δίσκο δε συνιστώνται σήμερα από τις CLSI-EUCAST, καθώς αυτές οι μέθοδοι εμφανίζουν υψηλά ποσοστά σφάλματος (κίνδυνος ψευδώς ευαίσθητων στελεχών) σε σύγκριση με τη μέθοδο αραιώσης σε ζωμό.

Πρέπει να χρησιμοποιείται το θειικό άλας της κολιστίνης, καθώς το μεθανοσουλφονικό παράγωγο της είναι ένα ανενεργό προφάρμακο που διασπάται αργά μέσα στο διάλυμα.^[20] Δεδομένου ότι η κολιστίνη είναι ένα μεγάλο, θετικά φορτισμένο μόριο, διαχέεται ελάχιστα στα διάφορα μέσα με βάση το άγαρ και προσροφάται σε αρνητικά φορτισμένα πλαστικά, όπως οι άκρες των πιπετών, οι δοκιμαστικοί σωλήνες και οι πλάκες από πολυστυρένιο, επομένως απαιτείται μεγάλη προσοχή κατά τη διαδικασία.^[34]

Τα κλινικά μικροβιολογικά εργαστήρια των νοσοκομείων σπάνια εκτελούν τη μέθοδο αναφοράς BMD, η οποία απαιτεί φρέσκο παρασκευασμένο ή κατεψυγμένο διάλυμα αντιβιοτικού και είναι εξαιρετικά χρονοβόρα. Ωστόσο, ορισμένες εμπορικές μέθοδοι BMD έχουν πρόσφατα κυκλοφορήσει στην αγορά και είναι πιο φιλικές προς το χρήστη από ό, τι η μέθοδος αναφοράς.^[33,35]

Στον ακόλουθο πίνακα παρουσιάζονται τα όρια ευαισθησίας της κολιστίνης για τα κυριότερα παθογόνα, όπως αυτά προσδιορίστηκαν στις πρόσφατες οδηγίες των CLSI-EUCAST:

Organism	Colistin MIC, mg/L		
	Susceptible	Intermediate	Resistant
CLSI^a			
<i>Acinetobacter</i> sp	≤ 2	–	≥ 4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	≤ 2	–	≥ 4
EUCAST			
<i>Acinetobacter</i> sp	≤ 2		> 2
<i>P. aeruginosa</i>	≤ 2		> 2
Enterobacteriaceae	≤ 2		> 2

CLSI = Clinical and Laboratory Standards Institute;
EUCAST = European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; MIC = minimum inhibitory concentration.

Εικόνα 1.5.1: Όρια ευαισθησίας σύμφωνα με τις CLSI-EUCAST. ^[20]

Έτσι, τα κλινικά όρια ευαισθησίας για την κολιστίνη που παρέχονται από το CLSI για τα *P. Aeruginosa* και *Acinetobacter* sp είναι MIC ≤ 2 mg/L για ευαίσθητα στελέχη και MIC ≥ 4 mg/L για ανθεκτικά στελέχη. Από την EUCAST, τα όρια για τα αντίστοιχα στελέχη είναι MIC ≤ 2 mg/L για προσδιορισμό ευαισθησίας και MIC ≥ 2 mg/L για τον προσδιορισμό αντοχής.

Λόγω ανεπαρκών δεδομένων, δεν καθορίστηκε κλινικό όριο ευαισθησίας για τα *Enterobacteriaceae*. Πιο συγκεκριμένα, η CLSI πρότεινε τη χρήση μιας επιδημιολογικής τιμής αποκοπής (epidemiological cut-off value) (ECV) και όχι κλινικό όριο ευαισθησίας για τα ακόλουθα είδη *Enterobacteriaceae*: *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* και *Raoultella ornithinolytica*. ^[20,33] Τα ECVs επιτρέπουν τη διαφοροποίηση μεταξύ των στελεχών που έχουν MICs πάνω από την κατανομή «wild-type» (δηλαδή, αυτά με επίκτητους ή/και μεταλλαξιογόνους μηχανισμούς αντοχής στην κολιστίνη) και σε εκείνους που έχουν MIC εντός της wild-type κατανομής. ^[34] Οι τιμές ECVs πρέπει να εφαρμόζεται μόνο σε αυτά τα είδη επειδή οι «wild-type» MIC κατανομές μπορεί να είναι διαφορετικές για άλλα γένη και είδη *Enterobacteriaceae*. ^[20]

1.6. ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΗ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗ

Οι αναφορές σχετικά με αντοχή στις πολυμυξίνες έχουν αυξηθεί τελευταία στα κλινικά απομονωμένα βακτηριακά στελέχη. Έχει παρατηρηθεί, επίσης, αύξηση στις λοιμώξεις που προκαλούνται από βακτήρια που είναι εγγενώς ανθεκτικά στην κολιστίνη, όπως τα *Proteus*, *Providencia*, *Morganella* και *Serratia*. ^[131] Αντοχή στην κολιστίνη συχνά συνεπάγεται πλήρη έλλειψη αντιβιοτικών για τη θεραπεία των απειλητικών για τη ζωή λοιμώξεων που προκαλούνται από αρνητικά κατά Gram παθογόνα. ^[130]

Στην πρόσφατη μελέτη SENTRY (τα στελέχη της οποίας συλλέχθηκαν παγκοσμίως το 2017), η συχνότητα της αντοχής στην κολιστίνη ήταν ακόμη πολύ χαμηλή (για τα στελέχη *K. pneumoniae* μόνο 0,4% και για τα *E. coli* μόνο 0,3%). Αντιθέτως, μεταξύ

των στελεχών (με παραγωγή καρβαπενεμασών) *K. pneumoniae* και *E. coli* που απομονώθηκαν κατά τη διάρκεια του προγράμματος SMART το 2015-2016, τα ποσοστά αντοχής στην κολιστίνη ήταν 21% και 14% αντίστοιχα. Το 2015, το European Antimicrobial Surveillance Network (EARS-Net) κατέγραψε 33.100 θανάτους εξαιτίας λοιμώξεων από ανθεκτικά μικρόβια. Από αυτά, το 6,8% προκλήθηκε από ανθεκτικά στην κολιστίνη *E. coli* ή *K. pneumoniae* και το 0,5% από ανθεκτικά στην κολιστίνη στελέχη *A. baumannii* ή *P. aeruginosa*.^[2]

Αντίστοιχα, οι Nowaketal. ανέφεραν ότι 31 από τα 65 (47,7%) στελέχη του *A. baumannii* που απομονώθηκαν από ασθενείς με πνευμονία που σχετίζεται με τον αναπνευστήρα (VAP) στη μελέτη Magic Bullet στην Ευρώπη, ήταν ανθεκτικά στην κολιστίνη. Στελέχη που απομονώθηκαν στην Ελλάδα παρουσίασαν το υψηλότερο ποσοστό αντίστασης στην κολιστίνη (56,8%), ακολουθούμενα από απομονωμένα στελέχη από την Ιταλία (42,9%) και την Ισπανία (28,6%).^[132]

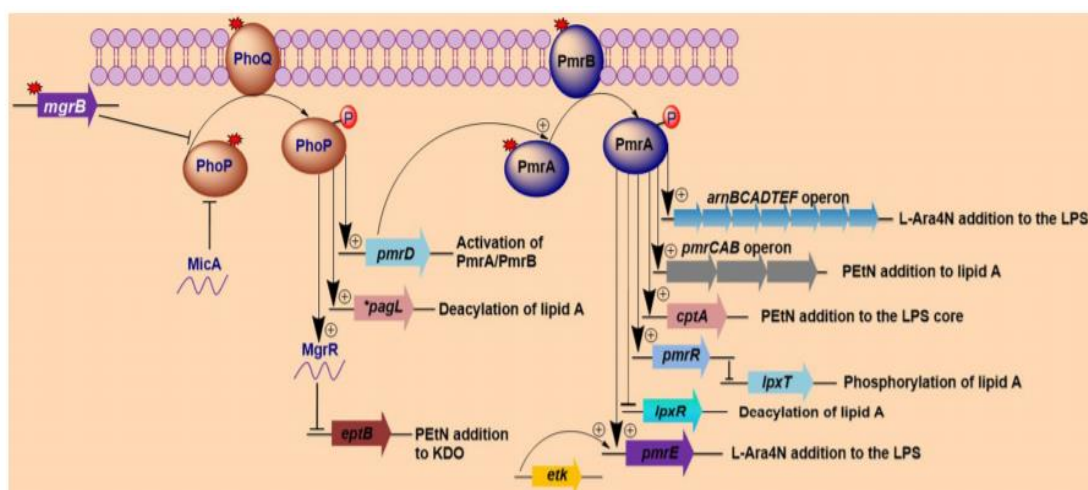
Εκτός από τις χρωμοσωμικές μεταλλάξεις, έχει προκύψει επίκτητη αντίσταση στην κολιστίνη λόγω γονιδίων που μεταφέρονται με πλασμίδια. Το Νοέμβριο του 2015, περιγράφηκε το πρώτο γονίδιο αντίστασης στην κολιστίνη με τη μεσολάβηση πλασμιδίου και ονομάστηκε *mcr-1*.^[134] Το μεταβιβάσιμο γονίδιο *mcr-1* έχει ανιχνευθεί σε δείγματα ανθρώπινης και ζωικής προέλευσης από όλο τον κόσμο. Το *mcr-1* παρέχει υψηλό βαθμό αντοχής στη βακτηριοκτόνο δράση της κολιστίνης στη λύση του κυττάρου, αλλά προσδίδει ελάχιστη προστασία στο στάδιο διαταραχής/αλλοίωσης της εξωτερικής μεμβράνης.^[136] Αυτή η ανακάλυψη ακολουθήθηκε από το περιγραφή άλλων γονιδίων *mcr*: *mcr-2* έως *mcr-8*.^[33] Η έκφραση τέτοιων γονιδίων παρέχει ένα μηχανισμό για ταχεία διάδοση αντίστασης στην κολιστίνη. Ιδιαίτερα ανησυχητικά είναι τα πολυανθεκτικά στελέχη που εκφράζουν το *mcr-1* μαζί με β-λακταμάση εκτεταμένου φάσματος και γονίδια ανθεκτικότητας σε καρβαπενεμάση.^[136] Η συνύπαρξη δύο γονιδίων αντοχής (από πλασμίδια) σε βακτηριακά στελέχη είναι ασυνήθιστο φαινόμενο, αλλά πρόσφατα αναφέρθηκε η συνύπαρξη των *mcr-1* και *mcr-3* συν το γονίδιο της καρβαπενεμάσης *blaNDM-5* σε ένα κλινικό στέλεχος *E. coli*.^[135]

Τα βακτήρια χρησιμοποιούν διάφορα μέσα για να προστατεύσουν τον εαυτό τους από επιβλαβή περιβαλλοντικά ερεθίσματα, συμπεριλαμβανομένης της έκθεσης σε κατιονικά αντιμικροβιακά πεπτίδια, όπως η κολιστίνη. Αυτές οι στρατηγικές περιλαμβάνουν τις μεταβολές των λιποπολυσακχαριτών τους (LPSs) και είναι οι αρχικοί στόχοι των πολυμυξινών. Τέτοιες αλλαγές μπορεί επιτυγχάνονται με τροποποιήσεις του τμήματος λιπιδίου A του LPS μέσω της προσθήκης φωσφοαιθανολαμίνης (PEtN) και 4-αμινο-4-δεοξυ-L-αραβινόζη (L-Ara4N), απακυλίωσης, υδροξυλίωσης από την *ragP*. Άλλες στρατηγικές περιλαμβάνουν τη χρήση αντλίας εκροής, τον σχηματισμό κάψουλας και την υπερέκφραση της πρωτεΐνης OprH της εξωτερικής μεμβράνης, τα οποία ρυθμίζονται αποτελεσματικά σε μοριακό επίπεδο.^[131]

Η πιο κοινή τροποποίηση του LPS είναι η κατιονική υποκατάσταση των φωσφορικών ομάδων από L-Ara4N, η οποία μειώνει το καθαρό αρνητικό φορτίο του λιπιδίου A στο 0, και το δεύτερο πιο συνηθισμένο είναι η τροποποίηση από PEtN, η οποία μειώνει το καθαρό φορτίο από -1,5 έως -1. Η τροποποίηση που επιτυγχάνεται με την

L-Ara4N είναι περισσότερο αποτελεσματική λόγω της φύσης της μεταβολής του φορτίου. Το προκύπτον καθαρό θετικό φορτίο του τροποποιημένου LPS μειώνει τη δέσμευσή του στις πολυμυξίνες, οδηγώντας σε αντοχή.

Η ενεργοποίηση δυαδικών συστημάτων, όπως τα PhoP/PhoQ και PmrA/PmrB, επάγεται από περιβαλλοντικά ερεθίσματα και συγκεκριμένες μεταλλάξεις εντός των συστημάτων αυτών οδηγούν σε υπερέκφραση των LPS τροποποιητικών γονιδίων. Η ενεργοποίηση του PmrA/PmrB δυαδικού συστήματος οδηγεί στην προς τα πάνω ρύθμιση των *pmrCAB* και *arnBCADTEF-pmrE* (επίσης αποκαλούμενα *pmrHFIJKLM-ugd*) οπερονίων που μεσολαβούν στη σύνθεση και μεταφορά των PEtN και L-Ara4N, αντίστοιχα, στο λιπίδιο A. Το PhoP/PhoQ είναι γνωστό ότι συμβάλλει στην αντοχή στην κολιστίνη με έμμεση ενεργοποίηση του PmrA/PmrB μέσω του PmrD, εκτός από ορισμένα βακτήρια, όπως το *E. coli*. Μόλις ενεργοποιηθεί, το φωσφορυλιωμένο PmrA δεσμεύεται στην περιοχή του προαγωγέα του *arnBCADTEF* οπερονίου, αυξάνοντας την αναγνώριση και δέσμευση της RNA πολυμεράσης και οδηγώντας στην προς τα πάνω ρύθμιση του οπερονίου. [131]



Εικόνα 1.6.1: Σχηματική απεικόνιση διαφόρων μηχανισμών αντοχής στις πολυμυξίνες. [131]

Αρκετές μεταλλάξεις που ενεργοποιούν το PmrA/PmrB δυαδικό ρυθμιστικό σύστημα παρατηρήθηκαν *in vitro* σε ανθεκτικά στην κολιστίνη στελέχη του *Salmonella enterica typhimurium*. Το γονίδιο της κινάσης ιστιδίνης *pmrB* φαίνεται να είναι το πιο συνηθισμένο σημείο για βακτηριακές μεταλλάξεις σε σύγκριση με το γονίδιο *pmrA* που εκφράζει την πρωτεΐνη-ρυθμιστή απόκρισης. Αυτές οι μεταλλάξεις έχουν ως τελικό αποτέλεσμα την προσθήκη L-Ara4N και/ή PEtN στο 4-φωσφορικό και 1-φωσφορικό άκρο του λιπιδίου A, αντίστοιχα. Ο συγκεκριμένος μηχανισμός συνήθως επάγεται από εξωτερικά ερεθίσματα όπως το μειωμένο Mg^{2+} .

Δύο βασικοί μηχανισμοί που παρέχουν αντίσταση στην κολιστίνη έχουν περιγραφεί μέχρι σήμερα στο *A. baumannii*. Ο πρώτος είναι η τροποποίηση του τμήματος λιπιδίου A του LPS με PEtN ως αποτέλεσμα των μεταλλάξεων στο *pmrA/pmrB* ρυθμιστικό σύστημα. Ο δεύτερος αφορά την πλήρη απώλεια των LPS που προκαλούνται από τις μεταλλάξεις ή την εισαγωγή γονιδίων απενεργοποίησης της

βιοσύνθεσης λιπιδίου A. ^[131] Ετεροαντίσταση στην κολιστίνη (δηλαδή στην παρουσία υπο-πληθυσμών ανθεκτικών στην κολιστίνη εντός ενός μικροβιακού πληθυσμού που είναι ευαίσθητος σύμφωνα με το MIC του) των MDR *A. baumannii* έχει αναφερθεί σε 23-100% των κλινικά απομονωμένων στελεχών σε λίγες μελέτες. Η ετεροαντίσταση στην κολιστίνη ανιχνεύθηκε επίσης πρόσφατα και σε άλλα είδη, συμπεριλαμβανομένου του *K. pneumoniae* και *P. Aeruginosa*. ^[133]

Η εμφάνιση αντοχής στην κολιστίνη των *K. Pneumoniae* έχει περιγραφεί μετά από εκτεταμένη χρήση κολιστίνης. Ένας μοριακός χαρακτηρισμός των δομικών μεταβολών των LPS στο *K. Pneumoniae* σε σχέση με την αντίσταση στην κολιστίνη, έχει δείξει τη συμμετοχή των rhoP/rhoQ και pmrA/pmrB. Παρατηρήθηκε ότι τα δυαδικά αυτά συστήματα ρυθμίζονται προς τα πάνω στα στελέχη του *K. pneumoniae* που εκτίθεται στις πολυμυξίνες. Η ιδιοσυστατική ενεργοποίηση του συστήματος pmrA/pmrB μπορεί επίσης να προκληθεί από μεταλλάξεις μεμονωμένων νουκλεοτιδίων στα γονίδια pmrA ή pmrB, με αποτέλεσμα την επακόλουθη ρύθμιση προς τα πάνω των pmrC και του οπερονίου arnBCADTEF, με αποτέλεσμα τη σύνθεση και προσθήκη των PEtN και L-Ara4N, αντιστοίχως, στο λιπίδιο A. Επιπλέον, έχει αναφερθεί η μετάλλαξη/απενεργοποίηση του mgrB γονιδίου, που κωδικοποιεί μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη που ασκεί αρνητική ανατροφοδότηση στο PhoP/PhoQ ρυθμιστικό σύστημα. Φαίνεται ότι αυτός ο μηχανισμός είναι ποδιαδεδομένος στα ανθεκτικά στην κολιστίνη στελέχη του *K. pneumoniae* σε σύγκριση με τις μεταλλάξεις των δυαδικών ρυθμιστικών συστημάτων. Έχει αναφερθεί, επίσης, ότι το *K. Pneumoniae* είναι ικανό να αποβάλλει πολυσακχαρίτες κάψας (CPSs) από την επιφάνεια του. Τα απελευθερωμένα CPS είναι σε θέση να παγιδεύσουν ή να δεσμεύσουν τις πολυμυξίνες, μειώνοντας έτσι την ποσότητα φαρμάκου που φτάνει στην βακτηριακή κυτταρική επιφάνεια, οδηγώντας σε αυξημένη αντοχή. ^[131]

Η αντίσταση του *P. aeruginosa* στην κολιστίνη είναι ένα αυξανόμενο πρόβλημα, και έχει περιγραφεί πιο συχνά σε ασθενείς με κυστική ίνωση (CF) οι οποίοι έλαβαν εισπνεόμενη θεραπεία με κολιστίνη. ^[5] Μέχρι σήμερα έχουν προσδιοριστεί πέντε δυαδικά ρυθμιστικά συστήματα που παίζουν ρόλο στην εμφάνιση αντοχής του *P. aeruginosa* ως εξής: PmrA / PmrB, PhoP / PhoQ, ParR / ParS, ColR / ColS και CprR / CprS. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι η υπερέκφραση της εξωτερικής μεμβρανικής πρωτεΐνης OprH, είτε σε περιβάλλον έλλειψης Mg²⁺ είτε σε μεταλλαγμένο γονιδιακό στέλεχος μπορεί να καταλήξει σε ανθεκτικότητα πολυμυξίνης. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η OprH είναι μια βασική πρωτεΐνη που συνδέεται με τις θέσεις δέσμευσης των δισθενών κατιόντων των LPS, καθιστώντας αυτές τις θέσεις μη διαθέσιμες για σύνδεση με τις πολυμυξίνες. Ωστόσο, έχει επίσης προταθεί ότι η υπερέκφραση της OprH μόνο, δεν επαρκεί για την εμφάνιση αντίστασης στην κολιστίνη του *P. aeruginosa*. ^[131]

Resistance mechanism	Genes involved	Bacteria	References
Modification of the lipid A or Kdo with aminoarabinose	<i>amBCADTEF operon and pmrE</i>	<i>Salmonella enterica</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Proteaceae</i> bacteria, <i>Serratia marcescens</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> and <i>Burkholderia cepacia</i> complex	Vaara et al., 1981; Boll et al., 1994; Nummila et al., 1995; Helander et al., 1996; Rozalski et al., 1997; Trent et al., 2001b; Moskowitz et al., 2004; Yan et al., 2007; Loutet and Valvano, 2011; Lin et al., 2014
Modification of the lipid A with phosphoethanolamine	<i>pmrC</i>	<i>S. enterica</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> and <i>Acinetobacter baumannii</i>	Zhou et al., 2001; Lee et al., 2004; Kim et al., 2006; Arroyo et al., 2011; Beceiro et al., 2011; Jayol et al., 2014
Activation of LPS-modifying operon by mutations in TCSs	<i>pmrA/pmrB</i> and or <i>phoP/phoQ</i>	<i>S. enterica</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> and <i>A. baumannii</i>	Roland et al., 1993; Sun et al., 2009; Arroyo et al., 2011; Owusu-Anim and Kwon, 2012; Cannatelli et al., 2014b; Jayol et al., 2014
Inactivation of <i>phoP/phoQ</i> negative feedback regulator	<i>mgrB</i>	<i>K. pneumoniae</i>	Cannatelli et al., 2013; López-Camacho et al., 2013; Gaibani et al., 2014; Olaitan et al., 2014b
Modification of the Kdo with phosphoethanolamine	<i>eptB</i> , <i>phoP/phoQ</i> and <i>mgrR</i>	<i>E. coli</i>	Reynolds et al., 2005; Moon and Gottesman, 2009
Increased acylation of lipid A enhancing its modification with aminoarabinose	<i>lpxM</i>	<i>S. enterica</i> , <i>K. pneumoniae</i> and <i>E. coli</i>	Tran et al., 2005; Clements et al., 2007; Murray et al., 2007; Velkov et al., 2013b
Trapping of polymyxins by capsule		<i>K. pneumoniae</i> and <i>P. aeruginosa</i>	Campos et al., 2004; Llobet et al., 2008
Efflux pump	<i>acrAB</i> and <i>kpnEF</i>	<i>K. pneumoniae</i>	Padilla et al., 2010; Srinivasan and Rajamohan, 2013
Loss of LPS	<i>lpxA</i> , <i>lpxC</i> and <i>lpxD</i>	<i>A. baumannii</i>	Moffatt et al., 2010, 2011
Glycosylation of lipid A with hexosamine		<i>A. baumannii</i>	Pelletier et al., 2013
Acquired/adaptive resistance to polymyxins through LPS modification with aminoarabinose	<i>colR/colS</i> , <i>cprR/cprS</i> and <i>parR/parS</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Fernández et al., 2010; Müller et al., 2011; Fernandez et al., 2012; Gutu et al., 2013
Overexpression of outer membrane protein OprH	<i>oprH</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Young et al., 1992

Εικόνα 1.6.2: Μηχανισμοί αντοχής στην κολιστίνη διαφόρων βακτηρίων. [131]

1.7. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΧΡΗΣΕΙΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ

Έχουν πλέον υπάρξει διάφορες μελέτες που δείχνουν ότι η ενδοφλέβια κολιστίνη, με τη μορφή CMS, είναι ένας αποτελεσματικός και ασφαλής αντιμικροβιακός παράγοντας για την αντιμετώπιση των περισσότερων λοιμώξεων από Gram-αρνητικά παθογόνα, συμπεριλαμβανομένων της νοσοκομειακής πνευμονίας, της VAP και της βακτηριαμίας (από MDR στελέχη). [6,8,59,86,87] Μπορεί επίσης να χορηγηθεί θεϊκή κολιστίνη από το στόμα για «απολύμανση» του εντέρου (χωρίς απορρόφηση) ή τοπικά για τη θεραπεία βακτηριακών δερματικών λοιμώξεων. [5]

Σύμφωνα με οδηγίες για τη χρήση των πολυμυξινών, που δημοσιεύθηκαν το 2019, η χορήγηση κολιστίνης συνιστάται σε επιθετικές λοιμώξεις οφειλόμενες σε CRE, CRAB και CRPA (Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter baumannii* και *Pseudomonas aeruginosa* αντίστοιχα), σε συνδυασμό με έναν ή περισσότερους πρόσθετους φαρμακευτικούς παράγοντες, στους οποίους, το παθογόνο που εμπλέκεται στη λοίμωξη, εμφανίζει ευαισθησία (χαμηλό MIC). Αν ένας δεύτερος δραστικός παράγοντας, στον οποίο τα παθογόνα CRE, CRPA ή CRAB είναι ευαίσθητα, δεν είναι διαθέσιμος, προτείνεται στις δύο πρώτες περιπτώσεις, η κολιστίνη (ή η πολυμυξίνη B) να χορηγείται σε συνδυασμό με ένα δεύτερο ή/και τρίτο αντιβιοτικό (π.χ., καρβαπενέμη) στο οποίο δεν παρατηρείται ευαισθησία, ενώ

στη περίπτωση του *A.baumannii* προτείνεται η χρήση μονοθεραπείας με κολιστίνη ή με πολυμυξίνη Β. Προτιμώνται φάρμακα με το χαμηλότερο δυνατό MIC σε σχέση με το αντίστοιχο όριο ευαισθησίας/αντοχής.^[20]

Σε ασθενείς που χρειάζονται θεραπεία με IV κολιστίνη λόγω νοσοκομειακής πνευμονίας ή VAP με ύποπτο ή τεκμηριωμένο XDR Gram-αρνητικό παθογόνο, συνιστάται να χορηγείται συμπληρωματική θεραπεία εισπνεόμενης κολιστίνης, αν και το κλινικό όφελος από αυτή τη παρέμβαση δεν έχει αποδειχθεί.^[5,20] Επισημαίνεται ότι η ESCMID δημοσίευσε πρόσφατα μια εργασία σχετικά με τη χρήση νεφελοποιημένων αντιβιοτικών σε επεμβατικά-μηχανικά αεριζόμενους ενήλικες και προτείνει την αποφυγή της προσθήκης νεφελοποιημένων αντιβιοτικών, όπως η κολιστίνη, σε IV αντιβιοτική θεραπεία που ήδη περιλαμβάνει IV κολιστίνη για τη θεραπεία της VAP που προκαλείται από ανθεκτικά παθογόνα.^[20] Επομένως, τα στοιχεία είναι αντικρουόμενα και η απόφαση χρήσης συνδυασμού IV και εισπνεόμενης κολιστίνης για την αντιμετώπιση της VAP εξαρτάται από την κλινική εμπειρία του θεράποντα ιατρού.

Η κολιστίνη χρησιμοποιείται, επίσης, συστηματικά και με εισπνοή στη θεραπεία λοιμώξεων που σχετίζονται με το *P. aeruginosa*, σε ασθενείς με κυστική ίνωση στην Ευρώπη εδώ και δεκαετίες.^[89] Πλέον, η CMS είναι μια θεραπευτική επιλογή για την ενδοφλέβια θεραπεία της λοίμωξης από *P. aeruginosa* για τη σταθεροποίηση της λειτουργίας των πνευμόνων ή για την αντιμετώπιση των παροξύνσεων σε ασθενείς που έχουν μολυνθεί με πολυανθεκτικό *P. aeruginosa* και μερικά άλλα Gram αρνητικά στελέχη.

Για την κατασταλτική θεραπεία του *P. aeruginosa*, το διάλυμα εισπνοής κολιστίνης έχει αποδεδειγμένη αποτελεσματικότητα, αλλά μπορεί να είναι κατώτερο σε σύγκριση με τη θεραπεία με τομπραμυκίνη σε αυτούς τους ασθενείς. Είναι σίγουρα μια επιλογή θεραπείας για ασθενείς με πολυανθεκτικούς οργανισμούς, αυτούς που δεν ανέχονται ή δεν επωφελούνται από τομπραμυκίνη και εκείνους που βιώνουν επιδείνωση κατά τη διάρκεια των off-κύκλων της τομπραμυκίνης ή της αζτρεονάμης.^[11]

Επιπρόσθετα, η κολιστίνη συνιστάται ως η προτιμώμενη πολυμυξίνη για τη θεραπεία λοιμώξεων κατώτερου ουροποιητικού συστήματος λόγω της νεφρικής έκκρισης του προφαρμάκου CMS, που στη συνέχεια μετατρέπεται στο ενεργό τμήμα κολιστίνης στο ουροποιητικό σύστημα.^[20] Οι Zhao et al. μελέτησαν τη φαρμακοκινητική του CMS και της κολιστίνης στο ουροποιητικό μετά από θεραπεία 7 ημερών σε ανθρώπους, και η πολύ υψηλή συγκέντρωση της σχηματιζόμενης κολιστίνης στα ούρα που βρέθηκε υποστηρίζει έντονα τη χρήση IV CMS για σοβαρές λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος.^[88]

Τέλος, η ενδονοσοκομειακή εγκεφαλίτιδα και η μηνιγγίτιδα παρατηρούνται όλο και πιο συχνά λόγω των αυξανόμενων νευροχειρουργικών επεμβάσεων. Τα πιο διαδεδομένα παθογόνα είναι σταφυλόκοκκοι και MDR, XDR Gram-αρνητικά (*A. baumannii*, *P. aeruginosa*, και *K. Pneumoniae*) ανάλογα με τα τοπικά επιδημιολογικά δεδομένα. Η κολιστίνη παρουσιάζει περιορισμένη διείσδυση στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (CSF), με μόνο το 5% των επιπέδων κολιστίνης στον ορό να ανιχνεύονται στο

CSF μετά από IV χορήγηση. Σε περίπτωση μηνιγγίτιδας, αυξάνονται τα επίπεδα κολλιστίνης στο CSF (34-67% των επιπέδων κολλιστινίνης στον ορό) μετά από IV χορήγηση, αλλά και πάλι οι συγκεντρώσεις κολλιστίνης που σχηματίζονται πιθανόν είναι υποθεραπευτικές, μετά από IV χορήγηση για την αντιμετώπιση της μηνιγγίτιδας. Ωστόσο, χορήγηση της CMS απευθείας στο CSF επιτυγχάνει συγκεντρώσεις κολλιστίνης που δεν θα μπορούσαν να ληφθούν με ασφάλεια με IV χορήγηση μόνο. Η υπεροχή της συνδυασμένης θεραπείας με IV και IVT κολλιστίνη λόγω μεγαλύτερης πιθανότητας εκρίζωσης των αρνητικών κατά Gram βακίλλων από το CSF έχει τεκμηριωθεί χωρίς καμία ένδειξη συσσώρευσης του φαρμάκου με την πάροδο του χρόνου.^[20]

1.8. ΣΥΓΧΟΡΗΓΗΣΗ – ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ

Η συνδυαστική θεραπεία με κολλιστίνη είναι έντονο και αμφιλεγόμενο θέμα συζήτησης τα τελευταία χρόνια. Για πολλούς λόγους, αυτός ο συνδυασμός μπορεί να είναι επωφελής, διότι:

1. Είναι πλέον πολύ σαφές ότι οι συγκεντρώσεις κολλιστίνης στο πλάσμα δεν είναι οι βέλτιστες σε σημαντικό ποσοστό των ασθενών, ακόμη και όταν οι ημερήσιες δόσεις CMS βρίσκονται στο ανώτατο εγκεκριμένο όριο της ετικέτας του προϊόντος.
2. Δεν είναι δυνατή η αύξηση των ημερήσιων δόσεων του CMS πέραν των δόσεων που συνιστώνται λόγω της πιθανότητας εμφάνισης νεφροτοξικότητας.
3. Το σύνολο των στοιχείων από προκλινικά μοντέλα λοίμωξης των πνευμόνων υποδηλώνει ανεπαρκή ανταπόκριση in vivo στις πολυμυξίνες, όταν αυτές χορηγούνται παρεντερικά.
4. Τέλος, η αντίσταση στις πολυμυξίνες αυξάνεται παγκοσμίως με αρκετές πρόσφατες αναφορές κλινικής αποτυχίας και εμφάνιση αντίστασης κατά τη διάρκεια της μονοθεραπείας. Με την πρόσφατη εμφάνιση «κινητών» γονιδίων αντοχής στην κολλιστίνη, την παρουσία ετεροαντίστασης και τη συσχέτιση της ανθεκτικότητας στην κολλιστίνη με αυξημένο κίνδυνο νοσοκομειακής θνησιμότητας, υπάρχει αυξανόμενη στήριξη για στρατηγικές βελτιστοποίησης της χρήσης των πολυμυξινών θεραπευτικά, συμπεριλαμβανομένης της θεραπείας συνδυασμού.^[2,20]

Για να ξεπεραστεί η αυξημένη αντίσταση ενάντια στα αντιβιοτικά που δρουν περιπλασματικά ή ενδοκυτταρικά, υψηλότερες συγκεντρώσεις αυτών των αντιβιοτικών πρέπει να επιτευχθούν στο αντίστοιχο κυτταρικό διαμέρισμα.^[149] Υπάρχει ένας μηχανισμός που υποστηρίζει τη λογική για τη χρήση πολυμυξινών σε συνδυασμό με άλλα αντιμικροβιακά και σχετίζεται με συνέργεια λόγω αύξησης της διαπερατότητας της βακτηριακής μεμβράνης (από τις πολυμυξίνες), με αποτέλεσμα να επιτρέπεται η επίτευξη αυξημένων συγκεντρώσεων του συγχορηγούμενου αντιμικροβιακού παράγοντα που έχει ενδοκυττάριο στόχο δράσης.^[2,20]

Λοιμώξεις με παθογόνα που παράγουν KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) συνδέονται με υψηλή θνησιμότητα λόγω των περιορισμένων επιλογών θεραπείας. Πρόσφατες κλινικές μελέτες σχετικά με λοιμώξεις του αίματος από KPC αποκάλυψαν, ότι συνδυαστική θεραπεία κολιστίνης με καρβαπενέμη ή τιγκεκυκλίνη συσχετίστηκε με σημαντικά μειωμένα ποσοστά θνησιμότητας σε σύγκριση με την κολιστίνη ως μονοθεραπεία. Η προσθήκη ενός τρίτου αντιβιοτικού δεν οδήγησε σε περαιτέρω αυξημένη συνεργιστική επίδραση σε αυτά τα στελέχη. Ανταγωνισμός δεν παρατηρήθηκε. Αυτά τα αποτελέσματα υποστηρίζουν την ιδέα ότι οι διπλοί συνδυασμοί με βάση την κολιστίνη μπορεί να είναι επαρκής και θα πρέπει να επιλεγεί ο πιο αποτελεσματικός συνδυασμός, σύμφωνα με το MIC. Ωστόσο, παραμένει ασαφές εάν αυτές οι παρατηρήσεις μπορούν να επεκταθούν και για στελέχη *Klebsiella pneumoniae*, που διαθέτουν άλλους μηχανισμούς αντοχής στην καρβαπενέμη. ^[149]

Αντίστοιχα, για στελέχη που παρουσιάζουν σχετικά χαμηλό MIC για τη μεροπενέμη (MIC > 32 mg / L), θεραπεία συνδυασμού με κολιστίνη και μεροπενέμη προκάλεσε συνεργιστική αναστολή τόσο στις 24 ώρες όσο και στις 48 ώρες μετά τη θεραπεία. Ωστόσο, όταν το MIC για τη μεροπενέμη ήταν >64 mg / L, η μεροπενέμη δεν μετέβαλε σημαντικά την αποτελεσματικότητα της κολιστίνης. Η προσθήκη ριφαμπικίνης και φουσιδικού οξέος βελτίωσε σημαντικά την αποτελεσματικότητα της κολιστίνης, παρουσιάζοντας συνεργιστική δράση στο 100% και 58,3% των στελεχών μετά από 24 ώρες της θεραπείας, αντίστοιχα, ενώ η προσθήκη της τιγκεκυκλίνης, της φωσφομυκίνης ή της σουλβακτάμης δεν παρουσίασε συνεργιστική δράση. ^[146]

Σε μία πολυκεντρική, ανοιχτή, τυχαιοποιημένη μελέτη που διεξήχθη με εγγεγραμμένους ασθενείς με λοιμώξεις XDR-AB απειλητικές για τη ζωή, συνδυαστική θεραπεία ριφαμπικίνης με κολιστίνη, αύξησε σημαντικά το ποσοστό μικροβιακής εκρίζωσης, αλλά δε μείωσε τη θνησιμότητα των 30 ημερών. ^[146]

Σχετικά με τη δραστηριότητα υπό τις αναερόβιες συνθήκες του biofilm, ο Hill et al. διαπίστωσε ότι οι συνδυασμοί της κολιστίνης με σιπροφλοξασίνη, κο-τριμοξαζόλη, κεφταζιδίμη ή αζιθρομικίνη εμφάνισαν ενισχυμένη βακτηριοκτόνο δράση έναντι 16 στελεχών MDR *P. aeruginosa* (όλα ευαίσθητα μόνο στην κολιστίνη). ^[148]

Όσον αφορά τα αναδυόμενα ανθεκτικά στελέχη στην πολυμυξίνη (PMR), οι Tascini et al. έδειξαν το 2013 ότι υπάρχει αξιοσημείωτη συνέργεια μεταξύ της κολιστίνης και της ριφαμπικίνης έναντι των στελεχών PMR του *Klebsiella pneumoniae* που παράγουν καρβαπενεμάσες. Πολύ πρόσφατα (2018), δύο δημοσιεύσεις έχουν επισημάνει την πιθανή αποτελεσματικότητα των συνδυασμών με βάση την πολυμυξίνη σε σχέση με τα στελέχη PMR με λεπτομερή τρόπο. Οι MacNair et al. ανέφεραν ότι η κολιστίνη δρα σε σημαντικό βαθμό συνεργιστικά in vitro με τη ριφαμπικίνη, το μακρολιδικό αντιβιοτικό κλαριθρομυκίνη και τη μινοκυκλίνη έναντι στελεχών mcr. Οι Brennan-Krohn et al. περιγράφουν συνέργεια της κολιστίνης με τη ριφαμπικίνη, το μακρολιδικό αντιβιοτικό αζιθρομυκίνη, τη μινοκυκλίνη, το φουσιδικό οξύ, τη λινεζολίδη και πολλά άλλα φάρμακα έναντι του mcr και άλλων στελεχών PMR. ^[2]

Πρέπει να σημειωθεί ότι, η συνεργιστική δραστηριότητα που παρατηρείται σε δοκιμές *in vitro* μπορεί να μην συσχετίζεται καλά με τα *in vivo* αποτελέσματα.^[147] Από την άλλη, μια θεραπεία συνδυασμού, ακόμη και αν δεν εμφανίζει σαφή συνέργεια σε δοκιμασία *in vitro*, μπορεί να είναι πιο αποτελεσματική από μια μονοθεραπεία και να αποτρέψει την εμφάνιση ανθεκτικών μεταλλάξεων.^[149]

Σχετικά με τις αλληλεπιδράσεις που παρουσιάζει η κολιστίνη, έχει παρατηρηθεί αυξημένη νεφροτοξικότητα με συγχορήγηση άλλων νεφροτοξικών φαρμάκων όπως η βανκομυκίνη ή οι αμινογλυκοσίδες. Η κολιστίνη επιδρά στην απευλευθέρωση της ακετυλοχολίνης, γι' αυτό απαιτείται προσοχή κατά τη συγχορήγηση της με αναισθητικά ή φάρμακα νευρομυϊκού αποκλεισμού. Τέλος, η χορήγηση της κολιστίνης αντενδείκνυται σε άτομα με μυσσθένεια Gravis, καθώς μπορεί να προκαλέσει αναπνευστική καταστολή.^[150]

1.9. ΔΟΣΟΛΟΓΙΑ

Η κολιστίνη χορηγείται παρεντερικά με τη μορφή του αδρανούς προφαρμάκου, CMS. Δυστυχώς, δύο διαφορετικές συμβάσεις χρησιμοποιούνται σε διάφορα μέρη του κόσμου για την επισήμανση των προϊόντων παρεντερικής CMS και την έκφραση των δόσεων για τους ασθενείς. Και οι δύο συμβάσεις βασίζονται σε μικροβιολογικές εκτιμήσεις. Τα παρεντερικά προϊόντα CMS που διατίθενται στην Ευρώπη και στην Ινδία χρησιμοποιούν διεθνείς μονάδες, IU. Αντιθέτως, τα παρεντερικά CMS φιαλίδια διαθέσιμα στη Βόρεια και Νότια Αμερική, στη Νοτιοανατολική Ασία και στην Ωκεανία χαρακτηρίζονται με τις μονάδες CBA (Colistin Base Activity), έναν άλλο τρόπο έκφρασης της μικροβιολογικής δραστηριότητας. Συγκεκριμένα, 1 εκατομμύριο IU αντιστοιχεί σε ~ 33 mg CBA και 1 εκατομμύριο IU αντιστοιχούν επίσης σε ~ 80 mg του χημικού CMS.^[20,36]

Ένας πίνακας μετατροπής από δόση CMS εκφρασμένη σε I.U. σε δόση εκφρασμένη σε mg CMS, καθώς και σε mg δραστηριότητας βάσης κολιστίνης (CBA), παρατίθεται παρακάτω:

Ισχύς		≈ μάζα CMS (mg)*
IU	≈ mg CBA	
12.500	0,4	1
150.000	5	12
1.000.000	34	80
4.500.000	150	360
9.000.000	300	720

* Ονομαστική ισχύς της φαρμακευτικής ουσίας = 12.500 IU/mg

Εικόνα 1.9.1: Πίνακας μετατροπής CMS.^[84]

1. Ενδοφλέβια χορήγηση

Το περιεχόμενο του φιαλιδίου ανασύσταται με όχι περισσότερο από 10ml διαλύματος ενέσιμου ύδατος (WFI) ή 0.9% χλωριούχου νατρίου (NaCl). Για την έγχυση, το περιεχόμενο του ανασυσταμένου φιαλιδίου μπορεί να αραιωθεί, συνήθως με 50ml 0.9% NaCl.

Σε ασθενείς σε κρίσιμη κατάσταση, συνιστάται η χορήγηση IV δόσης εφόδου 300 mg CBA (~ 9 εκατομμύρια IU) σε διάστημα 30-60' και η χορήγηση της πρώτης δόσης συντήρησης να πραγματοποιείται 12-24 ώρες αργότερα. ^[20] Η μοντελοποίηση υποδεικνύει ότι σε ασθενείς με καλή νεφρική λειτουργία ενδέχεται, σε μερικές περιπτώσεις, να απαιτούνται δόσεις φόρτισης και συντήρησης έως και 12 εκατομμύρια IU. ^[84] Ο λόγος που απαιτείται δόση εφόδου είναι η αργή επίτευξη (έως και 48 ώρες) των επιθυμητών συγκεντρώσεων κολιστίνης που έχει παρατηρηθεί στους βαρέως πάσχοντες. Τέτοιες διακυμάνσεις πιθανότατα σχετίζονται με τις διαφορές στην περίπλοκη χημική σύνθεση (βαθμός μεθανοσουλφονίωσης) του CMS από μάρκα σε μάρκα ή από παρτίδα σε παρτίδα. ^[20,48,73-75]

Δεδομένα από φαρμακοκινητικές μελέτες δείχνουν ότι τα παραδοσιακά δοσολογικά σχήματα CMS (π.χ. 6 εκατομμύρια IU, tid) οδηγούν σε υπο-βέλτιστες συγκεντρώσεις πλάσματος και αντίστοιχα στο όργανο-στόχο. ^[37,48,80]

Έτσι, για έναν ασθενή με φυσιολογική νεφρική λειτουργία, χορηγείται μια ημερήσια δόση 300-360 mg CBA (~ 9-10,9 εκατομμύρια IU). Η συνολική αυτή δόση διαιρείται σε δύο μέρη που χορηγούνται σε απόσταση 12 ωρών και η IV έγχυση για κάθε δόση διαρκεί πάνω από 30-60'. Τα δεδομένα PK δεν υποστηρίζουν την ανάγκη για δοσολογία με βάση το βάρος. ^[20]

Η κάθαρση της κολιστίνης και συνεπώς η $C_{ss,avg}$ που επιτυγχάνεται από μια δεδομένη ημερήσια δόση CMS επηρεάζεται από τη λειτουργία των νεφρών. Απαιτείται παρακολούθηση της νεφρικής λειτουργίας και ρύθμιση της ημερήσιας δόσης σύμφωνα με τις συστάσεις του παρακάτω πίνακα: ^[20,46]

Creatinine clearance, mL/ minute ^b	Daily dose of CMS for plasma colistin $C_{ss,avg}$ of 2 mg/L ^c	
	mg CBA/ day	Million IU/ day
0	130	3.95
5 to < 10	145	4.40
10 to < 20	160	4.85
20 to < 30	175	5.30
30 to < 40	195	5.90
40 to < 50	220	6.65
50 to < 60	245	7.40
60 to < 70	275	8.35
70 to < 80	300	9.00
80 to < 90	340	10.3
≥ 90	360	10.9

CBA = colistin base activity; CMS = colistin methanesulfonate; $C_{ss,avg}$ = average steady-state plasma concentration;

Εικόνα 1.9.2: Τροποποίηση της δοσολογίας με βάση τη νεφρική λειτουργία. ^[20]

Εάν ο ασθενής αναπτύξει νεφρική βλάβη ενώ λαμβάνει κολιστίνη, η καθημερινή δόση πρέπει να μειωθεί κατάλληλα ανάλογα με την κάθαρση κρεατινίνης, όπως φαίνεται στην Εικόνα 1.9.2. Οι δόσεις δεν πρέπει να μειώνονται περαιτέρω (εκτός των συγκεκριμένων συστάσεων) όταν η κολιστίνη χορηγείται για λοιμώξεις που είναι εκτεταμένες ή απειλητικές για τη ζωή ή όταν η λοίμωξη οφείλεται σε παθογόνο με MIC υψηλότερο από 1 mg/L. Αν το MIC του απομονωμένου παθογόνου ή/και η φύση της λοίμωξης υποδηλώνει ότι η στόχευση για χαμηλότερη συγκέντρωση στο πλάσμα μπορεί να είναι επαρκής, θα πρέπει να εξετάζεται η μείωση της δόσης για να στοχευτεί μια διαφορετική μέση τιμή C_{ss}.^[20] Η χρήση χαμηλότερης δοσολογίας από την ενδεδειγμένη, διατρέχει τον κίνδυνο αποτυχίας της θεραπείας, κακής έκβασης και ενδεχομένως της ανάπτυξης και εξάπλωσης αντοχής στις πολυμυξίνες.^[72] Συνιστάται η διακοπή της θεραπείας σε ασθενείς που αναπτύσσουν νεφρική βλάβη, εάν η διάγνωση της λοίμωξης είναι αβέβαιη ή όταν υπάρχει εναλλακτικό λιγότερο νεφροτοξικό αποτελεσματικό φάρμακο.^[20]

Συνιστάται να χρησιμοποιείται το ακόλουθο δοσολογικό σχήμα για την επίτευξη C_{ss,avg} ίση με 2 mg/L για ασθενή σε διαλείπουσα αιμοκάθαρση (IHD): σε μια ημέρα – ελεύθερη αιμοκάθαρσης, γίνεται χορήγηση μια δόσης CMS 130 mg CBA /ημέρα (~ 3,95 εκατομμύρια IU/ημέρα). Σε μια ημέρα αιμοκάθαρσης, χορήγηση συμπληρωματικής δόσης CMS, 40 mg CBA (~ 1,2 εκατομμύρια IU) ή 50 mg CBA (~ 1,6 εκατομμύρια IU) για μια περίοδο θεραπείας IHD 3 ή 4 ωρών, αντίστοιχα. Εάν είναι δυνατόν, η χορήγηση της συμπληρωματικής δόσης να πραγματοποιείται με την επόμενη κανονική δόση, μετά το τέλος της συνεδρίας. Οι συνεδρίες IHD πρέπει να διεξάγονται όσο πιο αργά γίνεται εντός ενός μεσοδιαστήματος δοσολογίας CMS για να ελαχιστοποιηθεί η ποσότητα του CMS και της σχηματισμένης κολιστίνης που χάνεται στο εξωσωματικό σύστημα. Για ασθενείς σε sustained low-efficiency dialysis (SLED), το 10% της δόσης CMS πρέπει να προστίθεται στη βασική ημερήσια δόση ανά 1 ώρα SLED. Για τους ασθενείς σε συνεχή νεφρική θεραπεία αποκατάστασης (CRRT), συνιστάται η χορήγηση CBA 220 mg CBA κάθε 12 ώρες (~ 6,65 εκατομμύρια IU κάθε 12 ώρες).^[20,36]

Υπάρχει συζήτηση σχετικά με τα βέλτιστα μεσοδιαστήματα χορήγησης CMS και τις επιπτώσεις τους στην αντοχή, την τοξικότητα και την κλινική αποτελεσματικότητα. Η βακτηριοκτόνος δράση της κολιστίνης εξαρτάται από τη συγκέντρωση, αλλά η in vivo φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική του CMS είναι πολύπλοκη λόγω του πλήθους των in vivo ενώσεων. Μια παρόμοια έλλειψη οδηγώνισχύει για τη βέλτιστη δοσολογία εισπνεόμενου CMS, η οποία περιπλέκεται περαιτέρω από την επίδραση του χρησιμοποιούμενου συστήματος χορήγησης του εισπνεόμενου φαρμάκου.^[77-79]

2. Εισπνεόμενη χορήγηση

Όταν το CMS χορηγείται με εισπνοή πρέπει τα άλλα εισπνεόμενα φάρμακα να χορηγούνται πρώτα.^[81] Η δοσολογία μπορεί να προσαρμοστεί ανάλογα με τη σοβαρότητα της κατάστασης και την κλινική ανταπόκριση. Για τη χρήση αερολύματος, γενικά σε ενήλικες συνιστάται η χορήγηση 1 – 2 MIU δύο φορές την

ημέρα. Μπορεί να γίνει αύξηση σε 2 εκατομμύρια μονάδες τρεις φορές την ημέρα για επακόλουθες αναπνευστικές απομονώσεις στελεχών του *Pseudomonas aeruginosa*, με μέγιστη επιτρεπτή δοσολογία τα 6 MIU/ημέρα. Με την εισπνοή σκόνης προτείνεται η χορήγηση 1.66 MIU δύο φορές την ημέρα ως συμπληρωματική θεραπεία σε ασθενείς με κυστική ίνωση. ^[81,84]

Η ανασύσταση του περιεχομένου του φιαλιδίου πραγματοποιείται είτε με WFI για να παραχθεί υποτονικό διάλυμα ή με μίγμα 50:50 WFI και 0.9% NaCl για να παραχθεί ισοτονικό διάλυμα ή με 0.9% NaCl για να παραχθεί υπέρτονο διάλυμα. Ο όγκος ανασύστασης πρέπει να είναι σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης του εκνεφωτή και συνήθως δεν είναι περισσότερο από 4 ml. ^[84]

Θα πρέπει να εκτιμάται συχνά η λειτουργία των πνευμόνων πριν και μετά την αρχική δόση του CMS και να παρακολουθείται ο ασθενής για εμφάνιση βρογχόσπασμου. Σε περίπτωση εκδήλωσης βρογχόσπασμου, χορηγείται ένα βρογχοδιασταλτικό πριν από τη δόση του CMS. ^[81]

3. Ενδορραχιαία και ενδοκοιλιακή χορήγηση (ΚΝΣ)

Με βάση περιορισμένα δεδομένα συστήνεται σε ενήλικες η χορήγηση 125.000 IU/ημέρα μέσω της ενδοκοιλιακής οδού. Οι ενδορραχιαίες χορηγούμενες δόσεις δεν θα πρέπει να υπερβαίνουν τις συνιστώμενες για ενδοκοιλιακή χρήση. Όταν χρησιμοποιούνται αυτοί οι οδοί χορήγησης, ο χορηγούμενος όγκος δεν θα πρέπει να ξεπερνά το 1 ml (συγκέντρωση διαλύματος μετά την ανασύσταση 125.000 IU/ml). ^[84]

1.10. ΑΝΕΠΙΘΥΜΗΤΕΣ ΕΝΕΡΓΕΙΕΣ

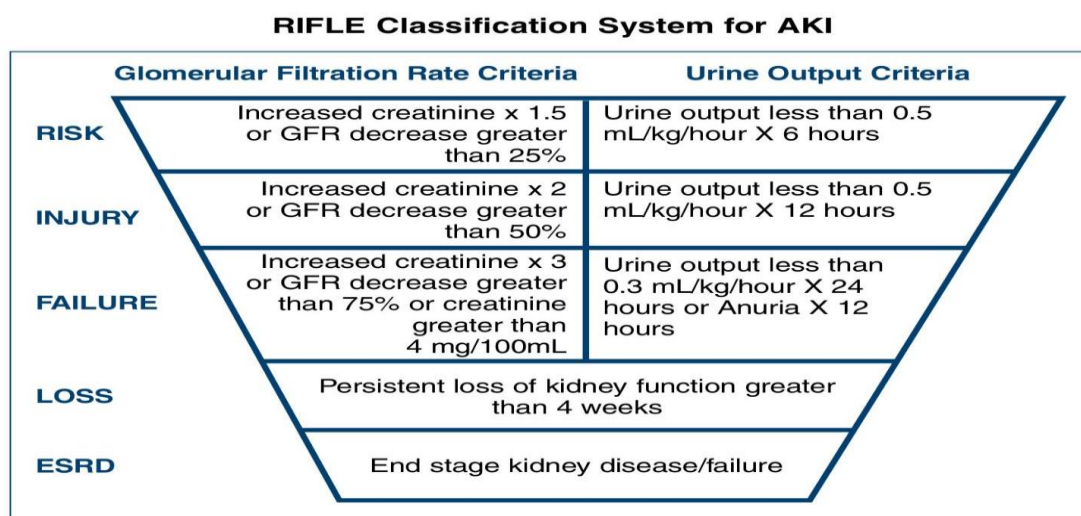
Αν και πρόσφατες μελέτες κάνουν λόγο για χαμηλότερα ποσοστά τοξικότητας συγκριτικά με παλαιότερες έρευνες (πιθανόν λόγω λιγότερων χημικών προσμίξεων, πιο σύγχρονων μονάδων εντατικής θεραπείας κ.α ^[5,61]), εξακολουθεί να αποτελεί μείζον πρόβλημα και είναι ένας λόγος που περιορίζει τη χρήση της κολιστίνης. ^[7]

1. Ενδοφλέβια χορήγηση κολιστίνης

A. Νεφροτοξικότητα

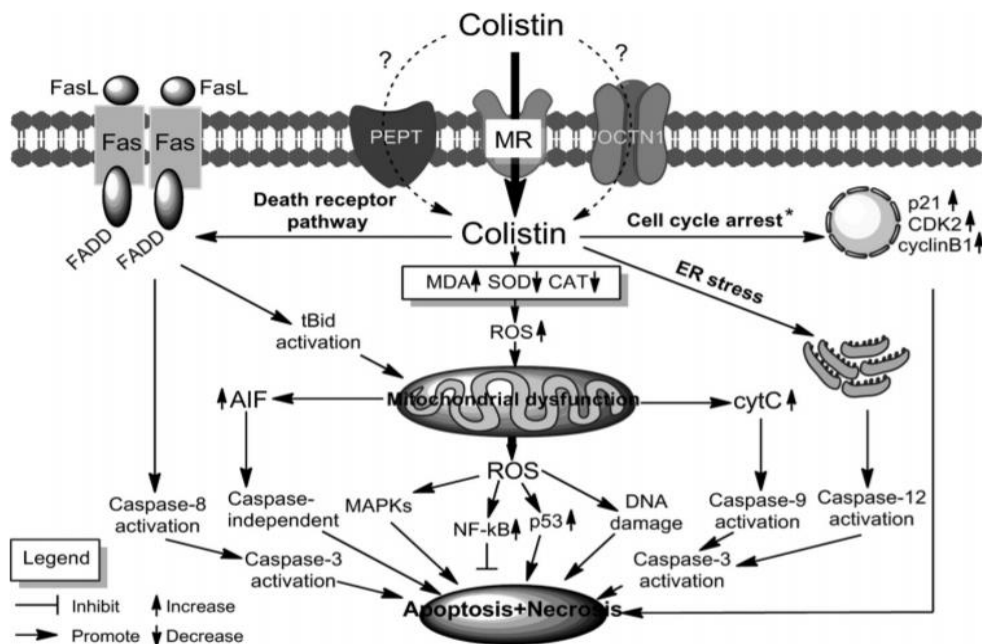
Η νεφροτοξικότητα αποτελεί τη πιο συχνή ανεπιθύμητη ενέργεια της κολιστίνης στη κλινική πράξη. Η επίπτωση της ποικίλλει ευρέως στη βιβλιογραφία. Σύγχρονες μελέτες αναφέρουν ότι η επίπτωση της νεφρικής βλάβης είναι λιγότερο συχνή, λιγότερο σοβαρή και αναστρέψιμη, επηρεάζοντας περίπου το 14-50% των ασθενών που βρίσκονται σε μια ΜΕΘ. ^[5,11,50-52,55,64] Το εύρος αυτό προκύπτει σε μεγάλο βαθμό λόγω της ετερογένειας των πληθυσμών των ασθενών, διαφορών στον ορισμό της νεφροτοξικότητας (κριτήρια RIFLE), μεγάλων διακυμάνσεων στις χορηγούμενες

δόσεις κολιστίνης και διαφορών τόσο στη σοβαρότητα της ασθένειας όσο και στην παρουσία ή μη άλλων παραγόντων κινδύνου για τους ασθενείς που μελετήθηκαν. [5,20,69]



Εικόνα 1.10.1: Κριτήρια RIFLE για την οξεία νεφρική βλάβη. [82]

Στο φάσμα της νεφροτοξικότητας που προκαλεί η κολιστίνη, περιλαμβάνονται οξεία σωληναριακή νέκρωση, παρατεταμένη αύξηση των επιπέδων αζώτου ουρίας στο αίμα, μείωση της κάθαρσης κρεατινίνης ή άλλα σημάδια εξασθένησης της νεφρικής λειτουργίας. [11, 50-52] Όσον αφορά τον μηχανισμό της προκαλούμενης από την κολιστίνη νεφροτοξικότητας, καλλιέργειες κυττάρων και μελέτες σε ζώα έχουν δείξει ότι η κολιστίνη συσσωρεύεται στα νεφρικά σωληναριακά κύτταρα πιθανώς μέσω ενεργών μηχανισμών πρόσληψης που μεσολαβούνται από LRP2 και PEPT2 μεταφορείς. Η εξαιρετικά υψηλή σχηματιζόμενη συγκέντρωση της ενδοκυτταρικά στα νεφρικά σωληναριακά κύτταρα, προκαλεί δραματικές μεταβολές στη μορφολογία των μιτοχονδρίων, απώλεια κυτοπλασματικού δυναμικού της μεμβράνης, απόπτωση και διακοπή του κυτταρικού κύκλου. Η κολιστίνη Α παρουσίασε υψηλότερη in vitro αποπτωτική επίδραση στα ανθρώπινα κύτταρα HK-2 του εγγύς νεφρικού σωληναρίου από την κολιστίνη Β, παρά την παρόμοια in vivo νεφροτοξικότητα. [60] Οι ακριβείς μηχανισμοί πρόσληψης της κολιστίνης από τα σωληνοειδή νεφρικά κύτταρα και ο επακόλουθος κυτταρικός θάνατος παραμένουν αναπάντητα. [36]



Εικόνα 1.10.2: Σχηματική απεικόνιση προτεινόμενου μηχανισμού εκδήλωσης νεφροτοξικότητας από την κολιστίνη.^[83]

Οι παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση νεφροτοξικότητας ποικίλλουν μεταξύ των ερευνών, αλλά ορισμένοι είναι κοινοί σε ολόκληρη τη βιβλιογραφία. Η προχωρημένη ηλικία αναγνωρίστηκε ως ένας παράγοντας κινδύνου σε πολλαπλές αναλύσεις. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι οι ηλικιωμένοι ασθενείς είναι πιο πιθανό να έχουν συννοσηρότητα και η νεφρική λειτουργία τείνει να μειώνεται με την αύξηση της ηλικίας.^[20,68] Το βάρος, ανεξάρτητα από τη δόση που δόθηκε, αποδείχθηκε επίσης ότι αποτελεί παράγοντα κινδύνου για τη νεφροτοξικότητα που σχετίζεται με την κολιστίνη. Χρόνιες συνυπάρχουσες καταστάσεις, η σοβαρότητα της νόσου (υψηλότερη βαθμολογία APACHE II), καθώς και η παρουσία υποαλβουμιναιμίας φαίνεται να αυξάνουν περαιτέρω τον κίνδυνο.^[20,63,70,71]

Ωστόσο, ο σημαντικότερος παράγοντας κινδύνου φαίνεται να είναι το μέγεθος της έκθεσης στην κολιστίνη. Υψηλότερες δόσεις CMS αναγνωρίζονται σταθερά ως παράγοντας κινδύνου, με δόσεις CBA υψηλότερες από 5 mg/kg/ημέρα (ισοδύναμο σε ~ 152.000 IU/kg/ημέρα) να σχετίζονται με μεγαλύτερο κίνδυνο. Επιπλέον, για μέσες C_{ss} 1,9-2,3 mg/L παρατηρήθηκε υψηλότερος βαθμός τοξικότητας από αντίστοιχες χαμηλότερες συγκεντρώσεις.^[11,20] Πρόσφατες αναλύσεις TD της κολιστίνης έδειξαν ότι οι ασθενείς με C_{ss} , avg > 2,5 mg/L και οι ασθενείς με $CLCr > 80$ mL / λεπτό είναι πιθανότερο να αναπτύξουν νεφροτοξικότητα.^[36] Σχετικά με τη χρήση της δόσης εφόδου, έχουν γίνει ελάχιστες αναφορές για τοξικότητα λόγω αυτής της στρατηγικής, αλλά και πάλι τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα.^[8,68]

Αν και αυτοί οι παράγοντες μπορούν βοηθήσουν τους κλινικούς γιατρούς να εντοπίσουν τους ασθενείς με αυξημένο κίνδυνο για νεφρική βλάβη κατά τη διάρκεια της θεραπείας με κολιστίνη, συνήθως δεν είναι τροποποιήσιμοι. Αντιθέτως, η ταυτόχρονη λήψη άλλων νεφροτοξικών παραγόντων είναι ένας τροποποιήσιμος παράγοντας κινδύνου. Ωστόσο, σε περιπτώσεις όπως η λήψη αναστολέων καλσινευρίνης, η οξεία χορήγηση διουρητικών αγκύλης και τα αγγειοσυσπαστικά

/ινότροπα φάρμακα έχουν συσχετιστεί όλα με πιθανή νεφροτοξικότητα σε συγχορήγηση με κολιστίνη, αλλά η έκθεση σε αυτά συχνά δεν μπορεί να αποφευχθεί. Η χρήση, όμως, IV σκιαγραφικών μέσων για διαγνωστικούς σκοπούς, η χορήγηση μη στεροειδών αντιφλεγμονώδους φαρμάκων (ΜΣΑΦ) ή αναστολέων του μετατρεπτικού ενζύμου αγγειοτενσίνης ή/και η λήψη άλλων νεφροτοξικών αντιβιοτικών, όπως της βανκομυκίνης, ριφαμπικίνης και αμινογλυκοσίδων (παρά την πιθανή συνεργιστική δράση *in vitro*), θα πρέπει να αξιολογείται από τους κλινικούς ιατρούς και να αποφεύγεται όταν είναι δυνατόν. ^[5,20]

Στη θεραπεία ασθενών με κυστική ίνωση, τα ζητήματα τοξικότητας περιπλέκονται από το γεγονός ότι πολλοί ασθενείς εμφανίζουν ιστορικό δια βίου θεραπείας με νεφροτοξικούς παράγοντες και ενδέχεται να εμφανίσουν βλάβες πολλαπλών οργάνων σε προχωρημένες ασθένειες, γεγονός που τους θέτει σε αυξημένο κίνδυνο ανεπιθύμητων ενεργειών. ^[11,62]

Πρέπει να σημειωθεί ότι, αν και έχουν δημοσιευθεί άρθρα με αντικρουόμενα ευρήματα, γενικά, υψηλότερες δόσεις της κολιστίνης έχουν συσχετιστεί με χαμηλότερη θνησιμότητα, αντισταθμίζοντας τον υψηλότερο κίνδυνο νεφροτοξικότητας. ^[49,58,59]

Γενικά, η νεφρική λειτουργία και η κλινική κατάσταση θα πρέπει να παρακολουθούνται προσεκτικά κατά τη διάρκεια της θεραπείας και να αποφεύγονται οι παρατεταμένες θεραπευτικές αγωγές, όποτε είναι εφικτό. ^[11,54] Για να ελαχιστοποιηθούν οι παρενέργειες της κολιστίνης, οι Dewan και Shoukat (2014) πρότειναν την εφαρμογή υψηλών δόσεων της σε παρατεταμένα μεσοδιαστήματα. ^[67] Επιπλέον, ορισμένες μελέτες παρατήρησης πρότειναν ασφαλέστερο προφίλ της PMB σχετικά με τη νεφρική λειτουργία. ^[56-58] Μια πολλά υποσχόμενη θεραπεία αποτελεί η λήψη ασκορβικού οξέος ή άλλου αντιοξειδωτικού για την πρόληψη της σχετιζόμενης με τη CMS νεφρικής βλάβης, αλλά τα τρέχοντα δεδομένα είναι ανεπαρκή για να δικαιολογήσουν μια σύσταση υπέρ της χορήγησης τους. ^[20]

B. Νευροτοξικότητα

Η νευροτοξικότητα είναι λιγότερο συχνή από τη νεφροτοξικότητα. Είναι δυνητικά σοβαρή και εκδηλώνεται ως ζάλη, μυϊκή αδυναμία, παραισθησίες, οπτικές διαταραχές, ίλιγγος, σύγχυση, ψευδαισθήσεις, κρίσεις, αταξία ή νευρομυϊκός αποκλεισμός. Σύγχρονα ερευνητικά δεδομένα έκαναν λόγο για ηπιότερα συμπτώματα, όπως οι πιο συχνά αναφερθείσες παραισθησίες σε ποσοστό μέχρι 27% των ασθενών, που επιλύονται μετά από διακοπή της θεραπείας. Όσον αφορά τα σοβαρά νευροτοξικά συμπτώματα, τουλάχιστον οκτώ περιπτώσεις δημοσιεύθηκαν μεταξύ 1964 και 1973, συσχετίζοντας την ενδομυϊκή χορήγηση κολιστίνης με την ανάπτυξη επεισοδίων αναπνευστικής άπνοιας. Δεν έχουν αναφερθεί αντίστοιχες επιπλοκές με ενδοφλέβια χορήγηση CMS στη πρόσφατη βιβλιογραφία, αλλά μια περίπτωση έχει περιγραφεί όταν ενδοφλέβια χορήγηση συνδυάστηκε με εισπνεόμενη CMS. ^[5,11,53]

Η συσσώρευση κολιστίνης, τα αυξημένα επίπεδα αμινοξέων - νευροδιαβιβαστών που παρατηρήθηκαν στον εγκέφαλο ποντικού και η επίδραση της κολιστίνης στις μιτοχondριακές δραστηριότητες θα μπορούσαν να παίζουν κάποιο ρόλο στην εκδήλωση της νευροτοξικότητας.^[65,66]

2. Εισπνεόμενη χορήγηση κολιστίνης

Πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες που σχετίζονται με τη χορήγηση της εισπνεόμενης CMS περιλαμβάνουν βρογχόσπασμο και πνευμονίτιδα υπερευαισθησίας, αλλά πρόσφατες μελέτες σε βαρέως πάσχοντες χωρίς κυστική ίνωση δεν κατέδειξαν αυτές τις παθολογικές εκδηλώσεις.^[5] Μπορεί συχνά να παρατηρηθούν αρθραλγία, διαταραχές ισορροπίας, δυσφορία στο στήθος, βήχας, δυσφωνία, δύσπνοια, πυρετός, αιμόπτυση, κεφαλαλγία, ναυτία, έμετος, αλλοίωση γεύσης, εμβοές. Τέλος, πιο σπάνια μπορεί να εκδηλωθούν άγχος, μείωση όρεξης, διάρροια, υπνηλία, μετεωρισμός, πρωτεϊνουρία, πυώδη πτύελα. δίψα, αλλαγές βάρους.^[81]

1.11. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΣΤΟΝ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ

Λίγες μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί σε σχέση με τη χρήση της κολιστίνης στα παιδιά. Ωστόσο, τα δεδομένα δείχνουν μια αποτελεσματικότητα του φαρμάκου, το οποίο έχει λάβει τις εξής ενδείξεις στον παιδιατρικό πληθυσμό:

Χορηγείται για Gram-αρνητικές λοιμώξεις ανθεκτικές σε άλλα αντιβακτηριακά φάρμακα, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που προκαλούνται από τα *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* και *Klebsiella pneumoniae*. Σε παιδιά με βάρος σώματος μέχρι 60 kg προτείνεται η χορήγηση 50.000-75.000 IU/kg ημερησίως σε τρεις διαιρεμένες δόσεις, ενώ για παιδιά με σωματικό βάρος 60 kg και άνω, η προτεινόμενη δοσολογία είναι 1-2 MIU τρεις φορές την ημέρα (μέγιστο 6 MIU ανά ημέρα).

Επιπλέον, χορηγείται σε συνδυασμό με την τυπική αντιβακτηριακή θεραπεία για λοίμωξη *Pseudomonas aeruginosa* σε κυστική ίνωση με εισπνοή αερολύματος. Συγκεκριμένα:

- Για παιδιά ηλικίας 1 μήνα-1 έτος: 0,5-1 MIU δύο φορές την ημέρα, προσαρμοσμένη σύμφωνα με την κλινική ανταπόκριση, αυξανόμενη μέχρι 1 MIU τρεις φορές την ημέρα για επακόλουθες αναπνευστικές απομονώσεις στελεχών του *Pseudomonas aeruginosa*.
- Για παιδιά 2-17 ετών: 1-2 MIU δύο φορές την ημέρα, προσαρμοσμένες σύμφωνα με την απάντηση, με αύξηση σε 2 MIU τρεις φορές την ημέρα για επακόλουθες αναπνευστικές απομονώσεις στελεχών του *Pseudomonas aeruginosa*.^[85]

Ωστόσο, στις οδηγίες των κατασκευαστικών φαρμακευτικών εταιρειών, για τον παιδιατρικό πληθυσμό αναφέρεται πως η δόση θα πρέπει να βασίζεται στο βάρος

σώματος χωρίς λίπος και συγκεκριμένα, για παιδιά $\leq 40\text{kg}$ συνιστάται 75.000 – 150.000 IU/kg/ημέρα διαιρεμένες σε τρεις δόσεις, ενώ για παιδιά άνω των 40kg θα πρέπει να θεωρείται το ενδεχόμενο χρήσης της δοσολογικής σύστασης για ενήλικες. Σε παιδιά με κυστική ίνωση έχει αναφερθεί χρήση δόσεων > 150.000 IU/kg/ημέρα.
[84]

1.12. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΥΗΣΗ – ΘΗΛΑΣΜΟ

Η κολιστίνη και η πολυμυξίνη Β εντάσσονται στη κατηγορία C όσον αφορά την τοξικότητα στην εγκυμοσύνη. Οι μελέτες αναπαραγωγής σε ζώα έδειξαν αρνητική επίδραση στο έμβρυο και δεν υπάρχουν επαρκείς και καλά ελεγχόμενες μελέτες στον άνθρωπο, αλλά τα ενδεχόμενα οφέλη μπορεί να δικαιολογήσουν τη χρήση του φαρμάκου στις έγκυες γυναίκες παρά τους πιθανούς κινδύνους. Πρέπει να χορηγείται μόνο εάν είναι σαφώς απαραίτητο.^[27,28]

Η ενδοφλέβια χορήγηση καλό είναι να αποφεύγεται. Η εισπνεόμενη κολιστίνη θεωρείται πιο ασφαλής στις έγκυες γυναίκες. Δεν έχει αναφερθεί κάποιο πρόβλημα /κίνδυνος κατά τον τοκετό.^[31] Στα λίγα δημοσιευμένα περιστατικά, δε φαίνεται να υπάρχει αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης φυματίωσης του πνεύμονα (PTB), ή συσχέτιση με χαμηλό βάρος κατά τη γέννηση ή συγγενείς ανωμαλίες, αν και τα δεδομένα είναι αρκετά περιορισμένα.^[29,30]

1.13. ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΚΑΙ CMS

Η μεθανοσουλφονική κολιστίνη (CMS) είναι προφάρμακο, που υδρολύεται μετά από ενδοφλέβια χορήγηση, σχηματίζοντας αρκετά παράγωγα, μεταξύ των οποίων και το ενεργό φάρμακο κολιστίνη. Η υδρόλυση της κολιστιμεθάτης αυξάνεται σημαντικά όταν ανασύσταται και αραιώνεται κάτω από την κρίσιμη μικκυλιακή συγκέντρωση των 80.000 IU ανά ml (περίπου). Τα διαλύματα κάτω από αυτή την συγκέντρωση θα πρέπει να χρησιμοποιούνται αμέσως. Για τα διαλύματα για (bolus) ένεση ή εισπνοή, η χημική και φυσική εν χρήσει σταθερότητα του ανασυσταμένου διαλύματος στο αρχικό φιαλίδιο, σε συγκέντρωση ≥ 80.000 IU/ml, έχει αποδειχθεί για 24 ώρες στο 2-8°C. Τα διαλύματα προς έγχυση, τα οποία έχουν αραιωθεί περισσότερο από τον αρχικό όγκο του φιαλιδίου και/ή σε συγκέντρωση μικρότερη των 80.000 IU/ml, θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν αμέσως, όπως επίσης τα διαλύματα για ενδορραχιαία και ενδοκοιλιακή χορήγηση.^[84]

Γενικά, τα αποτελέσματα μελετών δείχνουν ότι η υδρόλυση του CMS σε κολιστίνη εξαρτάται τόσο από τη θερμοκρασία όσο και από τη συγκέντρωση.

Στη μελέτη των Wallace et al., δύο εμπορικά σκευάσματα CMS διερευνήθηκαν για τη σταθερότητα σε σχέση με την περιεκτικότητα κολιστίνης, η οποία μετρήθηκε με HPLC. Το Coly-Mycin M Parenteral (λυοφιλοποιημένη σκόνη colistimethate) ήταν

σταθερό (<0,1% CMS ως κολιστίνη) για τουλάχιστον 20 εβδομάδες στους 4°C και 25°C σε σχετική υγρασία 60%. Όταν αραιώθηκε στα 4 mg/ml σε δεξτρόζη (5%) ή φυσιολογικό ορό (0,9%) σύμφωνα με τις οδηγίες, το CMS υδρολύθηκε ταχύτερα στους 25°C (<4% κολιστίνη σχηματίστηκε μετά από 48 ώρες) από ότι στους 4°C (σχηματίστηκε 0,3% κολιστίνη). Η δεύτερη μορφή χορήγησης, το διάλυμα CMS για εισπνοή (77,5 mg / ml), ήταν σταθερή στους 4°C και 25°C για τουλάχιστον 12 μήνες, όπως καθορίστηκε με βάση την περιεκτικότητα κολιστίνης (<0,1%).

Σε αραιά ρυθμιστικά διαλύματα (20 g/ml έως 100 g/ml) και στο πλάσμα, το CMS έχει δείξει ότι υδρολύεται ταχέως σε κολιστίνη στους 37°C. Η έκταση της μετατροπής του CMS σε κολιστίνη στα φαρμακευτικά σκευάσματα κάτω από σχετικές συνθήκες αποθήκευσης και χρήσης δεν έχουν αναφερθεί. Σε αυτή τη μελέτη, η Coly-Mycin M παρεντερική λυοφιλοποιημένη σκόνη αποδείχθηκε ότι είναι σταθερή κάτω από τις εξεταζόμενες συνθήκες για 20 εβδομάδες.

Ανασύσταση του Coly-Mycin M παρεντερικά με 2 ml WFI παρήγαγε διάλυμα με συγκέντρωση CMS 200 mg / ml. Είναι ενδιαφέρον ότι αυτό το διάλυμα ήταν σταθερό (~ 0,1% κολιστίνη) για 7 ημέρες στους 4°C και στους 25°C. Τα παρόμοια ποσοστά κολιστίνης στη λυοφιλοποιημένη σκόνη και στο ανασυσταθέν διάλυμα υποδηλώνουν ότι δεν υπήρξε σχηματισμός κολιστίνης σε διάστημα 7 ημερών στο διάλυμα ή μόνο ελάχιστος σχηματισμός. ^[151] Ενώ αυτό το εύρημα δείχνει ότι αυτά τα διαλύματα μπορούν να αποθηκεύονται έως και 7 ημέρες πριν από τη χρήση, στο SPC του προϊόντος αναφέρεται ότι το ανασυσταθέν διάλυμα CMS μπορεί να διατηρηθεί έως και 8 ώρες όταν δεν φυλάσσεται πάνω από 25°C ή για μέχρι 24 ώρες αποθηκευμένο σε ψυγείο. ^[84] Επομένως, η καλή κλινική πρακτική υπαγορεύει πως πρέπει να χρησιμοποιούνται το συντομότερο δυνατόν. Εάν είναι απαραίτητο να αποθηκευτεί το διάλυμα, συνιστάται η αποθήκευση στους 4°C για να ελαχιστοποιηθεί η βακτηριακή επιμόλυνση. ^[151]

Δεν πρέπει να φυλάσσεται σε θερμοκρασία μεγαλύτερη των 25°C, ούτε να τοποθετείται στην κατάψυξη. Το φιαλίδιο πρέπει να διατηρείται μέσα στο χάρτινο κουτί για προστασία από το φως.

Από μικροβιολογική άποψη, εκτός αν η μέθοδος ανοίγματος, ανασύστασης και αραιώσης αποκλείει το κίνδυνο μικροβιακής επιμόλυνσης, το προϊόν πρέπει να χρησιμοποιηθεί αμέσως. ^[84]

1.14. ΦΑΡΜΑΚΟΔΥΝΑΜΙΚΗ

Η αντιβακτηριακή δράση της κολιστίνης εξαρτάται από τη συγκέντρωση: είναι βακτηριοστατικό αντιβιοτικό σε χαμηλές συγκεντρώσεις και ταχέως βακτηριοκτόνο σε υψηλές συγκεντρώσεις. Σε υψηλότερες συγκεντρώσεις μπορεί, επίσης, να παρατηρηθεί μέτρια μετα-αντιβιοτική δράση (PAE). ^[20,38,39]

Σε in vitro μελέτες που πραγματοποιήθηκαν, η κολιστίνη εμφάνισε σημαντική δράση έναντι των στελεχών *A. baumannii*, *K. pneumoniae* και *P. aeruginosa*, αλλά με

περιορισμένο ΡΑΕ στις εφικτές συγκεντρώσεις στη κλινική πράξη.^[36] Συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από το MIC έχουν ως αποτέλεσμα εξαιρετικά γρήγορο βακτηριακό θάνατο, δράση που εμφανίζεται ήδη στα πρώτα 5 λεπτά μετά από την έκθεση στο φάρμακο.^[20] Ωστόσο, συχνά παρατηρείται άμεση εκ νέου ανάπτυξη των βακτηριακών στελεχών (ήδη εντός 2 ωρών από την αρχική έκθεση).^[36]

Σύμφωνα με οδηγίες του 2019, συνιστάται η περιοχή κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης - χρόνου (για 24 ώρες σε σταθεροποιημένη κατάσταση – $AUC_{ss,24h}$) να είναι ~ 50 mg/L που ισοδυναμεί με μέση συγκέντρωση σταθεροποιημένης κατάστασης - στόχο ($C_{ss, avg}$) ~ 2 mg/L μετά από συστηματική χορήγηση CMS. Αυτός ο στόχος τέθηκε με βάση τις ακόλουθες εκτιμήσεις:

1. Αυτή η τιμή λαμβάνει υπόψιν τη διαφορά στην έκταση της πρωτεϊνικής σύνδεσης μεταξύ του πλάσματος των ποντικών και αυτής των ασθενών σε κρίσιμη κατάσταση (η δέσμευση με τις πρωτεΐνες στο ανθρώπινο πλάσμα είναι $\sim 50\%$).
2. Με βάση το το μοντέλο μόλυνσης του μηρού, αυτή η έκθεση θεωρητικά αναμένεται να επιτύχει βακτηριοκτόνο δράση έναντι σε ένα παθογόνο στέλεχος με MIC ίσο με 2 mg/L. Επισημαίνεται ότι εκτός εάν το MIC του μολυσματικού στελέχους είναι πολύ κάτω από το όριο αντοχής, αυτός ο στόχος είναι πολύ πιθανόν να μην είναι ο βέλτιστος για τη συστηματική θεραπεία μιας λοίμωξης των πνευμόνων.
3. Φαρμακοκινητική/τοξικοδυναμική ανάλυση (PK/ TD) σε ασθενείς έδειξε ότι συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 2 mg/L, αυξάνουν τόσο τη συχνότητα εμφάνισης όσο και τη σοβαρότητα της νεφροτοξικότητας.

Επομένως, αυτή η συγκέντρωση-στόχος της κολιστίνης θα πρέπει να θεωρείται η μέγιστη ανεκτή. Τέλος, ακόμα και αν μια $C_{ss,avg} \leq 2$ mg/L μπορεί να είναι επαρκής για ένα στέλεχος με χαμηλό MIC, η ευαισθησία του οργανισμού συχνά δεν είναι γνωστή κατά την έναρξη της θεραπείας και συνεπώς, ο στόχος 2 mg/L είναι κατάλληλος όταν αρχίζει θεραπεία με CMS. Επιπλέον, λόγω ανακρίβειας της δοκιμασίας ευαισθησίας για τις πολυμυξίνες, η ολοκληρωτική στήριξη της θεραπείας στο αναφερόμενο MIC μπορεί να οδηγήσει σε μη ικανοποιητική έκθεση.^[20,47,48] Είναι σημαντικό να σημειωθεί, ότι οι συνιστώμενοι στόχοι έκθεσης PK/ PD προέρχονται από μελέτες που αφορούν τη μονοθεραπεία με κολιστίνη.^[20]

In vitro και ζωικές μελέτες δείχνουν ότι ο λόγος της περιοχής κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης ελεύθερου φαρμάκου-χρόνου προς το MIC ($fAUC:MIC$) είναι ο δείκτης PK / PD που συσχετίζεται καλύτερα με την αποτελεσματικότητα της κολιστίνης (βακτηριακό θάνατος in vivo).^[20,37,40-42]

Με άλλα λόγια, όσο υψηλότερη είναι η $fAUC/MIC$, τόσο ισχυρότερη η βακτηριοκτόνος δράση. Επίσης, ως επακόλουθο, όσο υψηλότερο είναι το MIC των βακτηρίων της λοίμωξης, τόσο υψηλότερη είναι η $fAUC$ που απαιτείται για να επιτευχθεί η βέλτιστη δράση. Αν και η τιμή της παραμέτρου $fAUC/MIC$ που συνδέεται με τα καλύτερα κλινικά και μικροβιολογικά αποτελέσματα δεν έχει οριστεί, φαίνεται ότι, με βάση τα ζωικά και in vitro μοντέλα μόλυνσης, απαιτείται ένα

fAUC/MIC τουλάχιστον ίσο με 20 ώστε να επιτυγχάνεται βακτηριοκτόνος δράση από την κολιστίνη.^[40-42]

Δεν υπάρχει άλλος τρόπος αύξησης της AUC (μέση έκθεση κατά τη διάρκεια του χρόνου) εκτός από την αύξηση των ημερήσιων δόσεων που χορηγούνται στους ασθενείς. Ωστόσο, αυτό είναι μια περίπλοκη απόφαση, δεδομένου ότι η υψηλή δόση ήταν ο κύριος παράγοντας κινδύνου για την σχετιζόμενη με τις πολυμυξίνες οξεία νεφρική βλάβη.^[43-46] Έχει παρατηρηθεί ότι οι υψηλότερες δόσεις μπορεί να είναι εξαιρετικά σημαντικές σε σοβαρές λοιμώξεις ή ανοσοκατασταλμένους ασθενείς, ακόμη και παρουσία οξείας νεφρικής βλάβης. Από την άλλη πλευρά, χαμηλότερες δόσεις μπορεί να είναι κατάλληλες για μόλυνση από GNB με MIC <1,0 mg/L ή για λιγότερο σοβαρές λοιμώξεις όταν αναμένεται καλή κλινική έκβαση, ακόμη και χωρίς να επιτευχθεί ο βέλτιστος στόχος PK / PD του φαρμάκου.^[46,49]

1.15. ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ

Τόσο το CMS όσο και η κολιστίνη επιδεικνύουν γραμμική φαρμακοκινητική σε σχετικό εύρος κλινικών δόσεων.^[84]

1. ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ

Τα ακόλουθα δεδομένα βασίζονται σε μελέτες που χρησιμοποίησαν HPLC για να προσδιορίσουν τις συγκεντρώσεις CMS/κολιστίνης στο πλάσμα.^[84]

Έχει παρατηρηθεί ότι η απορρόφηση από το γαστρεντερικό σύστημα είναι αμελητέα. Οι συγκεντρώσεις στο πλάσμα μετά από του στόματος χορήγηση ήταν μη ανιχνεύσιμες. Ωστόσο, κάποια μικρή απορρόφηση έχει παρατηρηθεί σε παιδιά ηλικίας 6 ετών και κάτω. Η θειϊκή κολιστίνη απορροφάται λιγότερο από το CMS.^[142]

Όταν χορηγείται με εκνεφωτή, έχει αναφερθεί μεταβλητή απορρόφηση που μπορεί να εξαρτάται από το μέγεθος των σωματιδίων του αερολύματος, το σύστημα του εκνεφωτή και την κατάσταση των πνευμόνων.^[84]

2. ΚΑΤΑΝΟΜΗ

Η σύνδεση με πρωτεΐνες είναι μέτρια (~ 50%) και μειώνεται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις. Είναι μεγαλύτερη για την θειϊκή κολιστίνη συγκριτικά με το CMS.^[142] Το CMS συνδέεται ισχυρά με τα λιπίδια της μεμβράνης των κυττάρων σε πολλούς ιστούς του σώματος, συμπεριλαμβανομένου του ήπατος, των πνευμόνων, των νεφρών, του εγκεφάλου, της καρδιάς και των μυών.

Η διείσδυση στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (CSF) είναι ελάχιστη, αλλά αυξάνει παρουσία μηνιγγικής φλεγμονής. Αντίστοιχα, η κατανομή της στο πνευμονικό παρέγχυμα, στο χολικό σύστημα, στο αρθρικό υγρό, στο πλευριτικό και στο περικαρδιακό υγρό είναι φτωχή. ^[143,144]

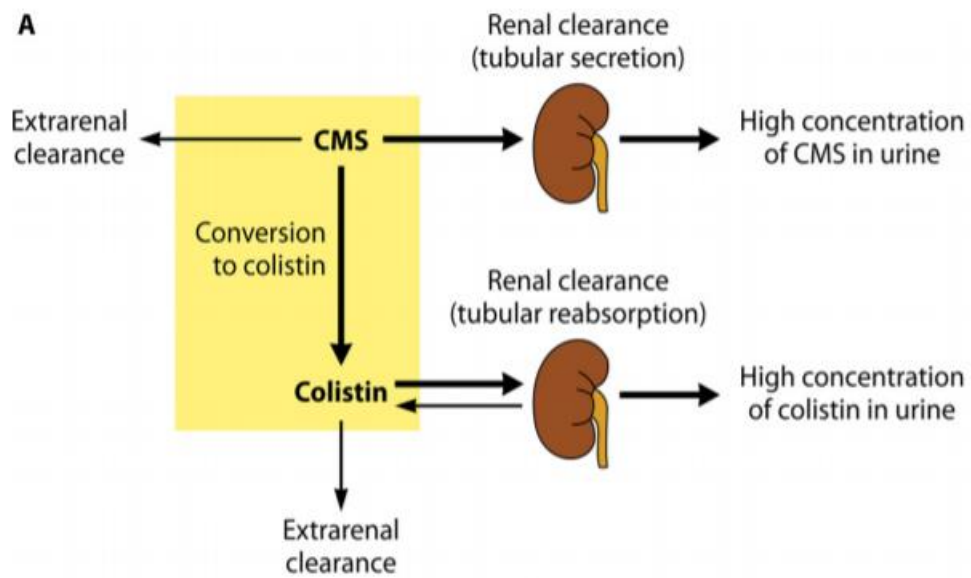
Ο όγκος κατανομής της κολίστινης σε υγιή άτομα είναι μικρός και αντιστοιχεί προσεγγιστικά στο εξωκυττάριο υγρό (ECF). Ο όγκος κατανομής σε ασθενείς σε κρίσιμη κατάσταση είναι σχετικά αυξημένος. ^[84]

3. ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ – ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗ

Το CMS είναι ένα προφάρμακο που υδρολύεται μετά από IV χορήγηση με αποτέλεσμα την παραγωγή διαφόρων σουλφομεθυλιωμένων παραγώγων, συμπεριλαμβανομένου του δραστικού φαρμάκου κολίστινης. Εκτιμάται κατά προσέγγιση ότι το 30% του CMS μετατρέπεται σε κολίστινη σε υγιή άτομα. Η κάθαρσή της εξαρτάται από την κάθαρση κρεατινίνης και με μειωμένη νεφρική λειτουργία, μετατρέπεται σε κολίστινη μεγαλύτερο ποσοστό CMS. Σε ασθενείς με κάθαρση κρεατινίνης <30 ml/min, η έκταση της μετατροπής μπορεί να φτάσει το 60 έως 70%. Το CMS αποβάλλεται κατά κύριο λόγο από τους νεφρούς μέσω σπειραματικής διήθησης. Σε υγιή άτομα, το 60% έως 70% του CMS απεκκρίνεται αμετάβλητο στα ούρα εντός 24 ωρών. ^[84] Δεν έχει αναφερθεί απέκκριση στη χολή στους ανθρώπους. ^[143]

Η αποβολή της δραστικής βάσης της κολίστινης είναι ατελώς χαρακτηρισμένη. Η κολίστινη υφίσταται εκτενή νεφρική σωληναριακή επαναπορρόφηση και μπορεί είτε να καθαρθεί μη νεφρικά είτε να υποστεί νεφρικό μεταβολισμό με δυνατότητα νεφρικής συσσώρευσης. Η κάθαρση της κολίστινης μειώνεται σε περίπτωση νεφρικής δυσλειτουργίας, πιθανώς λόγω αυξημένης μετατροπής του CMS.

Ο χρόνος ημιζωής του CMS σε υγιή άτομα και σε άτομα με κυστική ίνωση αναφέρεται ότι είναι 3 ώρες και 4 ώρες αντίστοιχα, με συνολική κάθαρση περίπου 3L/h. Σε ασθενείς σε κρίσιμη κατάσταση, ο χρόνος ημιζωής αναφέρθηκε ότι είναι παρατεταμένος σε περίπου 9-18 ώρες. ^[84] Αντίστοιχα, σε ασθενείς με ανουρία έχει καταγραφεί $t_{1/2}$ ίσος με 2-3 ημέρες, ενώ για τη δραστική βάση της κολίστινης $t_{1/2}=250$ λεπτά. ^[143]



Εικόνα 1.15.1: Επισκόπηση του μεταβολισμού και της απέκκρισης της κολιστίνης και του CMS. ^[145]

2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1. ΜΟΝΑΔΑ ΕΝΤΑΤΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Η Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ) αποτελεί μια ειδική εγκατάσταση σε ένα νοσοκομείο που είναι αφιερωμένη στη θεραπεία ασθενών που βρίσκονται σε κρίσιμη κατάσταση. Το προσωπικό είναι ειδικά εκπαιδευμένο για να εξασφαλιστεί ότι οι ασθενείς λαμβάνουν τη φροντίδα που χρειάζονται.

Η εντατική θεραπεία εστιάζει στα κύρια συστήματα του σώματος, συμπεριλαμβανομένου του καρδιαγγειακού συστήματος, του γαστρεντερικού, του κεντρικού νευρικού συστήματος και της αναπνευστικής οδού. Οι πάροχοι φροντίδας προσπαθούν να διατηρήσουν μια ομαλή λειτουργία αυτών των συστημάτων, έτσι ώστε ο ασθενής να παραμένει κλινικά σταθερός. Καθώς αντιμετωπίζεται η υποκείμενη νόσος του ασθενούς, η ομαλή λειτουργία των συστημάτων αυτών θα βελτιώσει σημαντικά την πρόγνωση του.

Οι ασθενείς που μεταφέρονται στη ΜΕΘ είναι άτομα που απαιτούν συνεχή και προσεκτική παρακολούθηση, όπως αυτοί με πολυοργανική ανεπάρκεια, αναστολή της αναπνοής και αιμοδυναμική αστάθεια. Εντατική φροντίδα μπορεί επίσης να προσφερθεί σε μερικούς ασθενείς μετά από χειρουργική επέμβαση, ειδικά αν αυτή είναι εκτενής ή ο ασθενής διατρέχει αυξημένο κίνδυνο για επιπλοκές.

Πρέπει να σημειωθεί ότι λόγω της σοβαρότητας της νόσου των περισσότερων ασθενών στη ΜΕΘ, το ποσοστό θνησιμότητας μπορεί να είναι αρκετά υψηλό.^[90]



Εικόνα 2.1.1: Περιβάλλον Μονάδας Εντατικής Θεραπείας.^[91,92]

2.2. ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ - ΒΑΣΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΟΜΗΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

Το αναπνευστικό σύστημα διαιρείται σε δύο μέρη: (1) το ανώτερο αναπνευστικό σύστημα το οποίο περιλαμβάνει τη μύτη/ρινική κοιλότητα, τον φάρυγγα και τον

λάρυγγα και (2) το κατώτερο αναπνευστικό σύστημα, το οποίο περιλαμβάνει το τραχειοβρογχικό δένδρο και τους πνεύμονες.^[93] Οι πνεύμονες είναι το κατ' εξοχήν όργανο της ανταλλαγής των αερίων, ενώ τα υπόλοιπα όργανα απαρτίζουν τους αεραγωγούς.^[96]

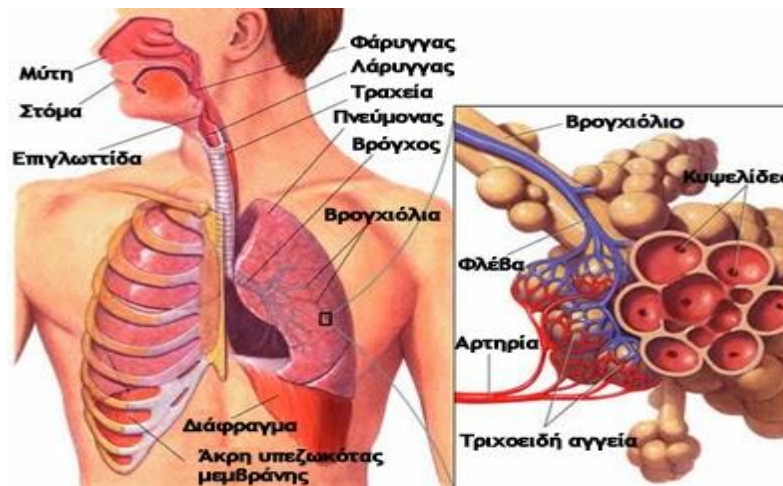
Οι αεραγωγοί ξεκινούν από την τραχεία όπου διακλαδίζονται διχοτομούμενοι, για να αυξήσουν σε μεγάλο βαθμό την επιφάνεια του ιστού στον πνεύμονα. Αυτοί οι κλάδοι αποτελούνται από τους βρόγχους, τα βρογχιόλια και τα τελικά βρογχιόλια.^[94] Οι κυψελίδες αρχίζουν να εμφανίζονται στα αναπνευστικά βρογχιόλια, προσκολλημένες στα τοιχώματα τους. Ο αριθμός των κυψελίδων αυξάνεται στους κυψελιδικούς πόρους και οι αεραγωγοί καταλήγουν τελικά σε συναθροίσεις που αποτελούνται αποκλειστικά από κυψελίδες.^[95]

Η υπεζωκοτική κοιλότητα και οι αναδιπλώσεις της χρησιμεύουν ως λιπαντικό υγρό στην περιοχή, το οποίο επιτρέπει την κίνηση του πνεύμονα στο εσωτερικό της θωρακικής κοιλότητας. Υπάρχουν δύο πέταλα που συγκρατούν την υπεζωκοτική κοιλότητα: ο τοιχωματικός και ο σπλαχνικός υπεζωκότας. Ο τοιχωματικός υπεζωκότας είναι μια μεμβράνη που καλύπτει εσωτερικά τη θωρακική κοιλότητα που περιέχει τους πνεύμονες. Ο σπλαχνικός υπεζωκότας είναι μια μεμβράνη που καλύπτει την επιφάνεια του πνεύμονα. Το υγρό του υπεζωκότα (15-20ml) σχηματίζει ένα λεπτό στρώμα μεταξύ των δύο μεμβρανών και αποτρέπει την τριβή μεταξύ των επιφανειών κατά τη διάρκεια του αναπνευστικού κύκλου.^[94]

Η κύρια λειτουργία του αναπνευστικού συστήματος είναι η επιτέλεση της αναπνοής, ώστε να πραγματοποιείται ανταλλαγή αερίων μεταξύ αίματος και εισπνεόμενου αέρα. Η αναπνοή είναι αυτόματη λειτουργία και βρίσκεται υπό τον έλεγχο του αναπνευστικού κέντρου του στελέχους και πραγματοποιείται με τη βοήθεια των αναπνευστικών μυών (κυριότερος των οποίων είναι το διάφραγμα). Ο συνήθης αριθμός αναπνευστικών κινήσεων σε κατάσταση ηρεμίας είναι περίπου 24 κινήσεις ανά λεπτό.^[93,96]

Η λειτουργία της διακρίνεται σε δύο φάσεις, την εισπνοή και την εκπνοή. Κατά την εισπνοή ο αέρας περνά από τη μύτη στο ρινοφάρυγγα, θερμαίνεται και καθαρίζεται, στη συνέχεια περνά από τη σχισμή του λάρυγγα στην τραχεία και από εκεί στους βρόγχους, που διακλαδίζονται καταλήγουν στις αναπνευστικές κυψελίδες. Οι κυψελίδες αποτελούνται από ένα λεπτό τοίχωμα, που σχηματίζει την αναπνευστική μεμβράνη και γύρω από αυτές υπάρχει ένα δίκτυο μικρών αγγείων, των πνευμονικών τριχοειδών, στα οποία κυκλοφορεί αίμα που επιστρέφει από τους ιστούς, μεταφερόμενο με την κυκλοφορία.

Στις κυψελίδες το οξυγόνο έχει την ιδιότητα να προσκολλάται στα ερυθρά αιμοσφαίρια, ενώ το διοξείδιο του άνθρακα αποβάλλεται από αυτά και περνά στον αέρα των κυψελίδων. Έτσι, ο πλούσιος σε διοξείδιο του άνθρακα αέρας οδηγείται μέσω της αεροφόρου οδού στη μύτη και αποβάλλεται με την εκπνοή.^[96]



Εικόνα 2.2.1: Ανατομία αναπνευστικού συστήματος. ^[97]

2.3. ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΠΟΥ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΣΤΗ ΜΕΘ

Οι ασθενείς της ΜΕΘ είναι ιδιαίτερα ευαίσθητοι στον αποικισμό και τη μόλυνση από παθογόνους παράγοντες. Αυτό συμβαίνει γιατί η ανταπόκριση του ξενιστή σε πιθανή λοίμωξη μπορεί να επηρεαστεί σημαντικά από οξεία νόσο, διαταραγμένη ανοσολογική κατάσταση ή υποκειμένες συννοσηρότητες, κατάστασεις που είναι συχνές στο περιβάλλον της μονάδας. ^[98] Ανεπαρκής θεραπεία των λοιμώξεων που παρατηρούνται στη ΜΕΘ, σχετίζεται με αυξημένη θνησιμότητα, αλλά και η συχνή χρήση των ευρέως φάσματος αντιβιοτικών σημαίνει ότι η ΜΕΘ είναι ένα περιβάλλον που ευνοεί την επιλογή πολυανθεκτικών μικροοργανισμών, ιδιαίτερα μεταξύ των στελεχών των *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* και *Acinetobacter baumannii*. ^[99,103-105] Αυτές οι λοιμώξεις περιλαμβάνουν την πνευμονία, λοιμώξεις από πληγές, λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος, σηψαιμία, και λοιμώξεις σε σημεία που έχουν χειρουργηθεί. ^[4,112,113]

Οι αναπνευστικές λοιμώξεις που σχετίζονται με τις εγκαταστάσεις υγειονομικής περίθαλψης διακρίνονται σε:

1. *Νοσοκομειακή πνευμονία (HAP)*: Πνευμονία που εμφανίζεται 48 ώρες ή περισσότερο μετά την εισαγωγή στο νοσοκομείο, χωρίς να υπάρχει επώαση κατά την είσοδο του ασθενούς στο νοσοκομείο. Συχνά κατηγοριοποιείται σε HAP πρόωμης έναρξης (εντός 4-5 ημερών νοσηλείας) και καθυστερημένης έναρξης. Σε ασθενείς που διαγιγνώσκονται με HAP, τα *P. aeruginosa*, *Acinetobacter spp*, *S.aureus* και *Enterobacteriaceae* (όπως *Klebsiella*, *E.coli* και *Enterobacter spp*) είναι κοινά παθογόνα που απομονώνονται από τις πνευμονικές εκκρίσεις.

2. *Πνευμονία που σχετίζεται με την υγειονομική περίθαλψη (HCAP)*: Πνευμονία που εμφανίζεται σε οποιαδήποτε ασθενή που έχει εισαχθεί σε νοσοκομείο για δύο ή περισσότερες ημέρες εντός των τελευταίων 90 ημερών από την εμφάνιση της λοίμωξης ή διαμένει σε κέντρα αυξημένης νοσηλευτικής φροντίδας ή έχει κάνει

αιμοκάθαρση ή έχει λάβει πρόσφατα ενδοφλέβια αντιβιοτική θεραπεία, χημειοθεραπεία εντός των τελευταίων 30 ημερών από την τρέχουσα λοίμωξη.

3. *Πνευμονία από εισρόφηση*: Περιλαμβάνει τη χημική ή βακτηριακή πνευμονία που προκύπτει από την εισρόφηση είτε των στοματοφαρυγγικών είτε των γαστρικών περιεχομένων στους πνεύμονες. Οι παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνουν μειωμένο επίπεδο συνείδησης, νευρολογικές διαταραχές και δυσφαγία.

4. *Πνευμονία που σχετίζεται με τον αναπνευστήρα (VAP)*: Η πνευμονία αναπτύσσεται ≥ 48 ώρες μετά την εφαρμογή ενδοτραχειακής διασωλήνωσης ή μηχανικού αερισμού, ή και τα δύο, και δεν υπήρχε πριν από τη διασωλήνωση. Πρόωρη έναρξη VAP (που εμφανίζεται μέσα στις πρώτες τέσσερις ημέρες της μηχανικής διασωλήνωσης) είναι συχνά προκαλούμενη από τυπικά παθογόνα της κοινότητας (πχ. *Streptococcus pneumoniae*), ενώ η καθυστερημένη εμφάνιση VAP συνήθως προκαλείται από ανθεκτικά στα αντιβιοτικά νοσοκομειακά περιστασιακά παθογόνα.^[115]

Η VAP είναι επί του παρόντος η πιο συχνή λοίμωξη σε μονάδες εντατικής θεραπείας και αποτελεί σημαντική αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας (κυμαίνεται από 24% έως 50% και μπορεί να υπερβεί το 70% εάν η πνευμονία προκαλείται από παθογόνα υψηλού κινδύνου).^[114] Ασθενείς της μονάδας που αναπτύσσουν VAP βρίσκονται, συνήθως, σε μεγαλύτερο κίνδυνο μόλυνσης από πολυανθεκτικό Gram(-) βακτηριακό παθογόνο, όπως η *Pseudomonas aeruginosa*, στελέχη *Klebsiella pneumoniae* που παράγουν β-λακταμάσες ευρέου φάσματος και *Acinetobacter baumannii*.^[6]

Τα πολυανθεκτικά στελέχη του *A. baumannii* (XDRAB) είναι από τα πιο συχνά και επικίνδυνα παθογόνα στα ιδρύματα υγειονομικής περίθαλψης παγκοσμίως. Το ποσοστό των λοιμώξεων που προκαλούνται από αυτά τα στελέχη αυξήθηκε από < 4% το 2000 σε 60-70% το 2010.^[107-111] Οι οργανισμοί αυτοί έχουν την ικανότητα να επιβιώνουν και να παραμένουν για μεγάλο χρονικό διάστημα κάτω από διάφορες περιβαλλοντικές συνθήκες, δημιουργώντας μεγάλες προκλήσεις στον έλεγχο των νοσοκομειακών λοιμώξεων.^[100,101,106] Ασθενείς που αποικίζονται ή μολύνονται με XDRAB μπορεί να γίνουν πηγή μόλυνσης για άλλα άτομα.^[102]

Παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση τους, ειδικά σε ηλικιωμένα άτομα, περιλαμβάνουν υποκείμενες ασθένειες (π.χ. διαβήτη), ανοσοκαταστολή, εγκαύματα, τραύμα, επεμβατικές ιατρικές διαδικασίες, μηχανικό αερισμό, καθετήρες, προηγούμενη θεραπεία με αντιβιοτικά και παρατεταμένη παραμονή στο νοσοκομείο.^[111] Άτομα με αυξημένο κίνδυνο για εμφάνιση πνευμονίας είναι οι καπνιστές, εκείνοι που είναι ανοσοκατασταλμένοι λόγω ανοσοανεπάρκειας ή από ναρκωτικά και τα άτομα με διαβήτη ή ιστορικό κατάχρησης αλκοόλ. Φάρμακα, εκτός από τα ανοσοκατασταλτικά, που έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο για εκδήλωση πνευμονίας, περιλαμβάνουν τους αναστολείς της αντλίας πρωτονίων, και τα εισπνεόμενα κορτικοστεροειδή, όταν χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία χρόνιων αποφρακτικών πνευμονικών νόσων.^[115]

Οι βαρέως πάσχοντες με λοιμώξεις στη ΜΕΘ θα ωφεληθούν σίγουρα από την έγκαιρη ταυτοποίηση των εμπλεκόμενων παθογόνων και την αποτελεσματική αντιμικροβιακή αγωγή. Οι διαγνωστικές τεχνικές έχουν βελτιωθεί σαφώς τα

τελευταία χρόνια και επιτρέπουν την ταχύτερη αναγνώριση των βακτηριακών στελεχών σε ορισμένες περιπτώσεις, αλλά αυτές οι τεχνικές εξακολουθούν να είναι αρκετά ακριβές και δεν είναι άμεσα διαθέσιμες σε όλα τα ιδρύματα. Επιπλέον, τα συνεχώς αυξανόμενα ποσοστά αντοχής σε αντιμικροβιακούς παράγοντες, ειδικά με τα Gram-αρνητικά παθογόνα, απειλούν την κλινική έκβαση αυτών των ασθενών λόγω της έλλειψης αποτελεσματικής θεραπευτικής προσέγγισης. Ως εκ τούτου, οι γιατροί της ΜΕΘ καταφεύγουν σε θεραπείες συνδυασμού για να ξεπεράσουν την αντίσταση, με άμεση συνέπεια την προώθηση περαιτέρω αντοχής.^[98]

Λόγω των υψηλών ποσοστών νοσηρότητας και θνησιμότητας που σχετίζονται με τις λοιμώξεις σε ασθενείς με σηπτικό σοκ, η άμεση αντιμικροβιακή θεραπεία μαζί με τον έλεγχο της πηγής μόλυνσης και την υποστηρικτική φροντίδα είναι καθοριστικοί παράγοντες της κλινικής έκβασης.^[98] Η αποτελεσματική αντιμικροβιακή αγωγή εντός της πρώτης ώρας από επιβεβαιωμένη υπόταση, σχετίζεται με αυξημένη επιβίωση σε ασθενείς με σηπτικό σοκ, ενώ η ακατάλληλη εμπειρική αντιμικροβιακή θεραπεία έχει συσχετιστεί με πενταπλάσια μείωση της επιβίωσης.^[116,117]

2.4. ΧΡΗΣΗ ΕΙΣΠΝΕΟΜΕΝΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ

Η χρήση της εισπνεόμενης κολιστίνης γίνεται όλο και πιο δημοφιλής. Έχει χρησιμοποιηθεί κυρίως σε ασθενείς με κυστική ίνωση. Η αντιβιοτική θεραπεία μέσω της αναπνευστικής οδού είναι ιδιαίτερα χρήσιμη σε αναπνευστικές λοιμώξεις όπου συνυπάρχει κυστική ίνωση, επειδή οι μολυσμένοι κατώτεροι αεραγωγοί είναι εύκολα προσβάσιμοι από εισπνεόμενα παρασκευάσματα με τη μορφή αερολύματος ή σκόνης, με αποτέλεσμα υψηλές συγκεντρώσεις φαρμάκων στον βλεννογόνο και τα πτύελα και τις σχετικές θέσεις μόλυνσης. Περαιτέρω, η θεραπεία μέσω εισπνοής είναι κατάλληλη για θεραπεία στο σπίτι, επιτρέποντας τη μακροχρόνια, συνεχή θεραπεία της χρόνιας πνευμονικής λοίμωξης.^[11]

Υπάρχουν πολλές αναφορές στη βιβλιογραφία σχετικά με την αποτελεσματικότητα της εισπνεόμενης κολιστίνης, όταν χορηγείται με τη μορφή αερολύματος, στο να προλαμβάνει υποτροπές λοιμώξεων των πνευμόνων, στην εκκρίζωση του *P. aeruginosa* από τον αναπνευστικό σωλήνα και στη θεραπεία των λοιμώξεων του αναπνευστικού συστήματος από στελέχη του *P. aeruginosa* στους ασθενείς με κυστική ίνωση. Επιπλέον, το αερόλυμα CMS έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για προφύλαξη και θεραπεία πνευμονίας από ψευδομονάδα σε ασθενείς με HIV λοίμωξη.^[6,114]

Αν και τα αποτελέσματα διαφόρων μελετών είναι αντικρουόμενα, υπάρχουν ορισμένες έρευνες, που δείχνουν ότι η εισπνεόμενη κολιστίνη μπορεί να είναι αποτελεσματική και ασφαλής, ως συμπληρωματική θεραπεία (με IV κολιστίνη ή άλλον αντιμικροβιακό παράγοντα), στην αντιμετώπιση της πνευμονίας από αναπνευστήρα (VAP).^[6] Πρόσφατες συστηματικές μελέτες έδειξαν ότι η κλινική κατάσταση των ασθενών βελτιώθηκε, όταν προστέθηκε στο υπάρχον θεραπευτικό σχήμα ενδοφλέβιας κολιστίνης και η εισπνεόμενη κολιστίνη.^[118]

Η εισπνεόμενη CMS έχει χρησιμοποιηθεί, επίσης, στην αντιμετώπιση της πνευμονίας από πολυανθεκτικό *Acinetobacter baumannii* (XDRAB) και στην εξάλειψη του αποικισμού από XDRAB στην αναπνευστική οδό (καθώς ο βακτηριακός αποικισμός των αεραγωγών είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη νοσοκομειακής πνευμονίας). Το φάρμακο είχε αποδεκτή αποτελεσματικότητα για την πνευμονία από XDRAB, αλλά όχι αποδεδειγμένη αποτελεσματικότητα για την εξάλειψη του αποικισμού των αεραγωγών.^[127] Ορισμένα νοσοκομεία στην Ταϊβάν έχουν επίσης χρησιμοποιήσει την εισπνεόμενη CMS για την εξάλειψη του XDRAB, ως μέρος των μέτρων ελέγχου για περιορισμό των λοιμώξεων στο νοσοκομειακό περιβάλλον.^[128]

Έχει προταθεί ότι μπορεί να οδηγήσει σε χαμηλότερη συστηματική τοξικότητα ενώ ταυτόχρονα επιτυγχάνονται υψηλότερες συγκεντρώσεις του φαρμάκου στον πνευμονικό ιστό νωρίς κατά τη διάρκεια αντιμετώπισης της λοίμωξης σε σύγκριση με την IV κολιστίνη.^[11] Ιδιαίτερα για εκείνους με VAP, αυτό το πλεονέκτημα είναι σημαντικό, καθώς καθυστερημένη έναρξη κατάλληλης θεραπείας οδηγεί σε αυξημένη θνησιμότητα.^[6,118]

Σύμφωνα με τις πιο πρόσφατες οδηγίες των Infectious Diseases Society of America και American Thoracic Society, συνιστάται η επικουρική χορήγηση εισπνεόμενης κολιστίνης σε ασθενείς με νοσοκομειακή πνευμονία HAP/VAP που προκαλείται από παθογόνο ευαίσθητο μόνο στην κολιστίνη μαζί με την IV πολυμυξίνη (κολιστίνη ή πολυμυξίνη Β).^[119]

Παρά τους περιορισμούς, τα κλινικά και μικροβιολογικά αποτελέσματα ασθενών που έλαβαν θεραπεία με νεφελοποιημένη κολιστίνη ως μονοθεραπεία φαίνεται να είναι ενθαρρυντικά.^[118] Παρόμοια αποτελεσματικότητα μεταξύ της εισπνεόμενης και της IV κολιστίνης παρατηρήθηκε επίσης στη μοναδική RCT που υπάρχει για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των δύο μεθόδων.^[120]

2.5. ΜΕΘΟΔΟΙ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΕΙΣΠΝΕΟΜΕΝΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

Η χορήγηση με εισπνοή είναι ελκυστική λόγω της γρήγορης απορρόφησης από την τεράστια κυψελιδική επιφάνεια και της αποφυγής του φαινομένου πρώτης διόδου. Έχει χρησιμοποιηθεί για χιλιάδες χρόνια, αν και με διαφορετικές μορφές και για διαφορετικούς σκοπούς.

Η αποτελεσματικότητα μιας θεραπείας με αερόλυμα εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το πόσο η φαρμακευτική αγωγή θα φτάσει στον προβλεπόμενο σημείο εναπόθεσης. Η σωστή εναπόθεση του χορηγούμενου αερολύματος εξαρτάται κυρίως από τη σύνθεση του και την συσκευή εισπνοής. Στην εικόνα 2.5.1 παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της εισπνεόμενης θεραπείας.

Properties	Parameters
Aerosol properties	Mass median aerodynamic diameter Geometric standard deviation Fine particle fraction Air/particle velocity
Particle properties	Volume diameter Bulk density Tap density Shape Charge
Physicochemical properties	Solubility Hygroscopicity
Lung properties	Geometry of respiratory tree (airway structure and diameter of airways) Influence of disease state on airway structure Breathing pattern – mouth or nasal breathing

Εικόνα 2.5.1: Παράγοντες που επηρεάζουν τη σωστή εναπόθεση του φαρμάκου στους πνεύμονες.

Οι κύριες συσκευές που χρησιμοποιούνται για την χορήγηση αερολυμάτων είναι: νεφελοποιητές, δοσομετρικές συσκευές υπό πίεση (pMDI-διασπορά υγρών σωματιδίων) και εισπνευστικές συσκευές κόνεως (DPI-διασπορά στερεών σωματιδίων). Οι νεφελοποιητές χρησιμοποιούνται συχνά εντός των μονάδων εντατικής θεραπείας. Είναι θετικό ότι δεν απαιτούν τον συντονισμό μεταξύ της εισπνοής και της ενεργοποίησής τους, και επομένως είναι χρήσιμοι για παιδιατρικούς, ηλικιωμένους, μηχανικά αεριζόμενους και ασθενείς σε καταστολή. Οι νεφελοποιητές έχουν την ικανότητα να παραδίδουν μεγαλύτερες ποσότητες δόσης σε σύγκριση με τις άλλες συσκευές αερολυμάτων, παρόλο που αυτό σημαίνει ότι θα χρειαστούν μεγαλύτερους χρόνους χορήγησης.^[129]

Οι κύριοι τύποι νεφελοποιητών είναι οι: συμβατικοί νεφελοποιητές (jet), με υπερήχους και οι νεφελοποιητές δονούμενου πλέγματος.^[118] Σημαντικές παράμετροι που σχετίζονται με το νεφελοποιητή είναι η παραγωγή κατάλληλου μεγέθους σταγονιδίων του αερολύματος, η έκταση της εναπόθεσής τους και ο υπολειπόμενος όγκος.^[121] Ανάλογα με το μοντέλο και τον κατασκευαστή, οι νεφελοποιητές δημιουργούν σταγονίδια 1-5 μm. Συγκριτικά στοιχεία σε μελέτες έδειξαν ότι οι εκνεφωτές δονούμενου πλέγματος είναι πιθανώς πιο αποδοτικοί από τους άλλους δύο τύπους. Οι νεφελοποιητές πλέγματος συνδυάζουν υψηλότερη και πιο συνεκτική χορήγηση αερολύματος φαρμάκου με αμελητέα κατακράτηση, και παραγωγή λεπτών σωματιδίων που μπορεί να φτάσει στους κατώτερους αεραγωγούς.^[118]

Η αποτελεσματικότητα της εισπνεόμενης χορήγησης εξαρτάται επίσης από την κλινική εικόνα και το μοτίβο αναπνοής του ασθενούς. Η γρήγορη εισπνοή δεν συνιστάται όταν χρησιμοποιούνται οι νεφελοποιητές, δεδομένου ότι δημιουργείται μια στροβιλώδης ροή αέρα και γρήγορη ταχύτητα που αυξάνει την εναπόθεση στους ανώτερους αεραγωγούς (μέσω πρόσκρουσης).^[129]

Ασθενείς με λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος, που αναπνέουν αυθόρμητα, παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές ως προς την ικανότητά τους να λαμβάνουν εισπνεόμενη θεραπεία σε σύγκριση με ασθενείς που είναι σε μηχανικό αερισμό.^[122] Οι ασθενείς που αναπνέουν εκούσια λαμβάνουν εισπνεόμενα φάρμακα με ρινική

κάνουλα ή μάσκα προσώπου συνήθως σε καθιστή θέση, διατηρώντας το δικό τους πρότυπο αναπνοής (ρυθμός και όγκος). Αντίθετα, οι μηχανικά αεριζόμενοι ασθενείς συνδέονται με έναν αναπνευστήρα σε μια συσκευή τεχνητών αεραγωγών (ενδοτραχειακός σωλήνας και εισπνευστικό μέλος), το οποίο ρυθμίζει τις παραμέτρους της αναπνοής (πίεση αέρα, όγκος και ροή).^[122,123] Μια ποικιλία παραγόντων, συμπεριλαμβανομένου του επιπέδου συνείδησης του ασθενούς και των τεχνικών εισπνοής, μπορεί να επηρεάσουν την έκταση της παράδοσης του φαρμάκου στους πνεύμονες και κατά συνέπεια την επιτυχία της εισπνεόμενης θεραπείας.^[122]

Η θεραπεία με αντιβιοτικά με τη μορφή αερολύματος έχει το πλεονέκτημα ότι μειώνει ή αποτρέπει την εμφάνιση συστηματικών παρενεργειών λόγω αμελητέας συστηματικής βιοδιαθεσιμότητας. Ωστόσο, οι παρενέργειες που σχετίζονται με την αντιδραστικότητα των αεραγωγών είναι συχνό πρόβλημα στη θεραπεία με αερόλυμα και έχουν αναφερθεί μετά από την εισπνοή διαλύματος κολιστίνης.^[124-126] Με τις πρόσφατες θεραπείες εισπνοής ξηρής σκόνης, οι αναπνευστικές παρενέργειες που σχετίζονται άμεσα με τη διαδικασία εισπνοής, όπως ο βήχας, ο ερεθισμός του λαιμού και η ανώμαλη γέυση, έγιναν ακόμη πιο σημαντικές. Ωστόσο, η βελτιστοποίηση της τεχνικής εισπνοής (εισπνοή με σταθερή ροή που δεν είναι πολύ υψηλή) μπορεί να μειώσει σημαντικά αυτές τις παρενέργειες.^[11]

2.6. ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ ΕΙΣΠΝΕΟΜΕΝΗΣ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΟΥΣ ΒΑΡΕΩΣ ΠΑΣΧΟΝΤΕΣ

Τα τελευταία χρόνια, όλες οι προσπάθειες για τη βελτιστοποίηση της θεραπείας με κολιστίνη επιδίωξαν την ενίσχυση της φαρμακοκινητικής της, με στόχο την επίτευξη υψηλότερων επιπέδων, αν και η ασφάλεια παραμένει ανασταλτικός παράγοντας.^[137,138] Ωστόσο, τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της κολιστίνης υποδεικνύουν χαμηλή διείσδυση στον πνευμονικό ιστό μετά από ενδοφλέβια χορήγηση, γεγονός που μπορεί να παρεμποδίσει την αποτελεσματικότητά του φαρμάκου στην αντιμετώπιση αναπνευστικών λοιμώξεων, όπως η VAP στους ασθενείς που νοσηλεύονται σε κρίσιμη κατάσταση στη ΜΕΘ.^[118] Υπάρχουν ενδείξεις ότι η φαρμακοκινητική σε ασθενείς σε κρίσιμη κατάσταση διαφέρει από αυτή σε ασθενείς με λιγότερο βαριά φυσιολογική διαταραχή.^[84]

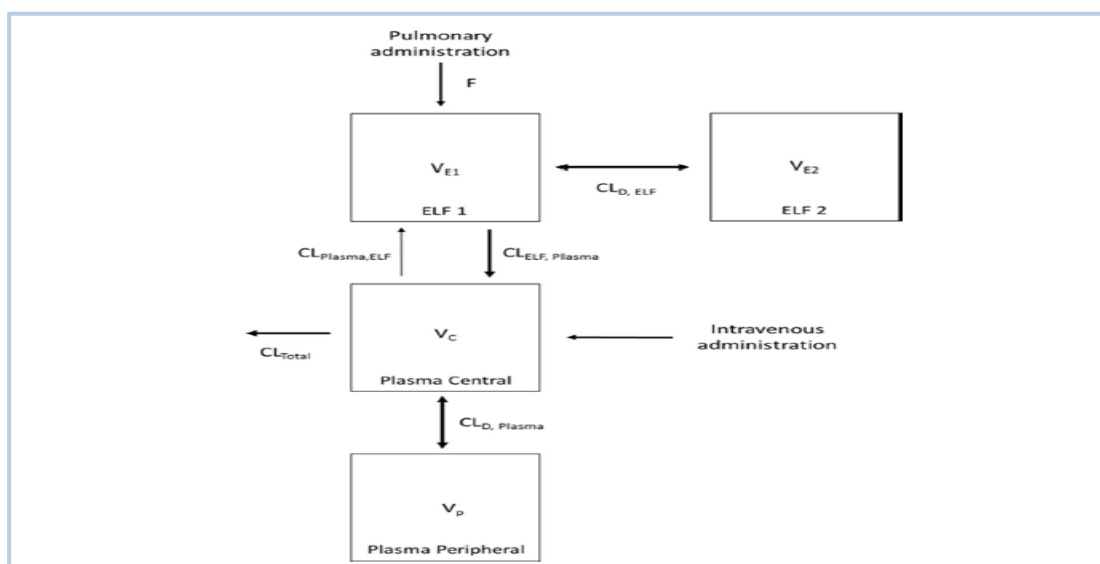
Έχει αναφερθεί ότι η εισπνεόμενη χορήγηση κολιστίνης μπορεί να επιτύχει υψηλή έκθεση του φαρμάκου στους πνεύμονες, ενώ ελαχιστοποιείται η συστηματική έκθεση και η νεφροτοξικότητα. Το πλεονέκτημα αυτής της οδού χορήγησης έχει παρουσιαστεί σε αρκετές προκλινικές και κλινικές μελέτες PK. Οι Yara et al. ανέφεραν σε μια κλινική μελέτη ότι με νεφελοποίηση της μεθανοσουλφονικής κολιστίνης (CMS) (2 MIU και 4 MIU μία φορά ημερησίως, ισοδύναμη με 60 και 120 mg CBA, αντίστοιχα), παρατηρήθηκε υψηλότερη έκθεση στο CMS και τη σχηματισμένη κολιστίνη στα πτύελα (C_{max}, πτύελα: 2 έως 21 mg/L) από εκείνο που περιγράφηκε μετά από ενδοφλέβια χορήγηση (C_{max}, πτύελα: 0,12 έως 0,72 mg/L).

Αντίστοιχα, σε άλλη μελέτη βρέθηκε ότι οι συγκεντρώσεις κολιστίνης στο ELF ήταν πολύ υψηλότερες μετά τη θεραπεία με DPI από ότι μετά από IV χορήγηση, με τις συγκεντρώσεις να υπερβαίνουν δραστικά το MIC90 του *P.aeruginosa* για τουλάχιστον 12 ώρες. ^[139]

Parameter	Description	Unit	Estimated value	SE (%)
V_{E1}	Vol of distribution in ELF1 (ELF compartment)	liter/kg	2.90×10^{-5}	35.7
V_{E2}	Vol of distribution in ELF2 (peripheral lung compartment)	liter/kg	9.67×10^{-4}	18.8
V_c	Volume of distribution in central plasma compartment	liter/kg	0.572	17.9
V_p	Volume of distribution in peripheral plasma compartment	liter/kg	1.47	35.3
$CL_{D, ELF}$	ELF intercompartmental clearance	liter/h/kg	4.26×10^{-4}	37.8
$CL_{D, plasma}$	Plasma intercompartmental clearance	liter/h/kg	0.172	24.3
CL_{total}	Total systemic body clearance	liter/h/kg	0.271	2.51
$CL_{ELF, plasma}$	Intercompartmental clearance from ELF to plasma	liter/h/kg	4.03×10^{-4}	15.0
$CL_{plasma, ELF}$	Intercompartmental clearance from plasma to ELF	liter/h/kg	9.93×10^{-7}	46.0
f_u	Unbound fraction		0.44 (fixed)	NA ^a
F_{DPI}	Bioavailability	%	46.5	8.43

^aNA, not applicable.

Εικόνα 2.6.1: Εκτιμώμενες τιμές των φαρμακοκινητικών παραμέτρων της εισπνεόμενης κολιστίνης. ^[139]



Εικόνα 2.6.2: Πληθυσμιακό φαρμακοκινητικό μοντέλο που περιγράφει τη κατανομή της κολιστίνης στο ELF και το πλάσμα μετά από χορήγηση με DPI ή IV. ^[139]

Δεδομένα από ασθενείς σε κρίσιμη κατάσταση με VAP, στους οποίους χορηγήθηκαν με νεφελοποίηση 2 MIUCMS, έδειξαν πάλι ότι οι συγκεντρώσεις κολιστίνης στο ELF ήταν πολύ υψηλές (>100 mg/L στις περισσότερες περιπτώσεις - 100 έως 1000 φορές

από αυτές στο πλάσμα). Παρ'όλα αυτά, οι συγκεντρώσεις CMS και κολιστίνης στο ELF ήταν πολύ χαμηλότερες από τις συγκεντρώσεις που αναμένονταν από προηγούμενα αποτελέσματα με δόση 2 MIU. ^[140]

Τέλος στη μελέτη των Boisson et al., μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις CMS και κολιστίνης του πλάσματος και του ELF, ασθενών με κρίσιμη νόσο οι οποίοι είχαν λάβει 2 MIU CMS με τη μορφή αερολύματος και κατόπιν με ενδοφλέβια χορήγηση. Η φαρμακοκινητική ανάλυση διεξήχθη με πληθυσμιακή προσέγγιση και ολοκληρώθηκε με φαρμακοκινητική-φαρμακοδυναμική (PK-PD) μοντελοποίηση και προσομοιώσεις. Οι συγκεντρώσεις ELF κολιστίνης ποικίλουν (9.53 έως 1.137 mg/L), αλλά ήταν πολύ υψηλότερες από αυτές στο πλάσμα (0.15 έως 0.73 mg/L) μετά την παροχή αερολύματος αλλά όχι μετά από ενδοφλέβια χορήγηση CMS. Μετά την χορήγηση αερολύματος CMS, τυπικά, το 9% της δόσης CMS έφθασε στο ELF και μόνο το 1,4% μετατράπηκε σε κολιστίνη πριν την είσοδο στην κυκλοφορία. Η ανάλυση PK-PD κατέληξε στο συμπέρασμα ότι υπήρχε πολύ μεγαλύτερη αντιμικροβιακή αποτελεσματικότητα μετά από χορήγηση CMS αερολύματος παρά μετά από ενδοφλέβια χορήγηση. ^[141]

3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Την τελευταία δεκαετία, παρατηρείται μια συνεχώς αυξανόμενη τάση χορήγησης εισπνεόμενης κολιστίνης σε λοιμώξεις του αναπνευστικού που οφείλονται σε πολυανθεκτικά Gram (-) παθογόνα. Θεωρείται ότι αυτός ο τρόπος χορήγησης, επιτυγχάνει υψηλότερες συγκεντρώσεις στο σημείο της λοίμωξης (δηλαδή τους πνεύμονες) και ελαχιστοποιεί την εκδήλωση συστηματικών ανεπιθύμητων ενεργειών. Ωστόσο, τα φαρμακοκινητικά δεδομένα για το συγκεκριμένο φάρμακο χορηγούμενο από την αναπνευστική οδό είναι αρκετά περιορισμένα.

Στη παρούσα εργασία, επιχειρήθηκε ο προσδιορισμός των επιπέδων της κολιστίνης στο αίμα και στο βρογχοκυψελιδικό υγρό ασθενών με λοίμωξη, ενώ ταυτόχρονα έγινε προσπάθεια εκτίμησης των φαρμακοκινητικών χαρακτηριστικών του φαρμάκου, καθώς και ο εντοπισμός πιθανών διαφορών όταν χρησιμοποιούνται διαφορετικοί νεφελοποιητές.

3.2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Η παρούσα μελέτη αποτελεί μέρος μεγαλύτερης κλινικής μελέτης σε συνεργασία με το Νοσοκομείο Νοσημάτων Θώρακος «Σωτηρία» και τη Φαρμακευτική εταιρεία NORMA HELLAS με συμφωνητικό εργασίας μέσω ΕΛΚΕ (Κ.Α. 12483) και την έγκριση της Επιστημονικής Επιτροπής του Νοσοκομείου «Σωτηρία». Η κλινική μελέτη διενεργήθηκε στο διάστημα 06/2014 - 12/2018 και συμμετείχαν συνολικά 30 ασθενείς νοσηλευόμενοι στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας του Νοσοκομείου «Σωτηρία», είχαν ένδειξη για τη χορήγηση εισπνεόμενης κολιστίνης και βρίσκονταν υπό μηχανικό αερισμό. Στο διάστημα που διενεργήθηκε η παρούσα μελέτη συλλέχθηκαν και αναλύθηκαν δείγματα αίματος και BAL από εννέα (9) από τους συνολικά 30 ασθενείς..

Η χορήγηση του φαρμάκου έγινε με τη χρήση νεφελοποιητή με πλέγμα δόνησης και πιο συγκεκριμένα του Aeroneb[®] Professional Nebulizer System. Πριν τη χορήγηση, η δόση 2.000.000 IU εισπνεόμενης CMS διαλύθηκε σε 4ml φυσιολογικού ορού. Το μεσοδιάστημα μεταξύ των δόσεων ήταν δώδεκα (12) ώρες και τα δείγματα που συλλέχθηκαν αφορούν τη πρώτη δόση της εισπνεόμενης κολιστίνης.

Παρακάτω παρατίθενται τα στοιχεία των ασθενών, των οποίων τα δείγματα αναλύθηκαν στην παρούσα εργασία. Η διάρκεια εισπνόης του φαρμάκου για τους ασθενείς Νο 22, 24, 26, 27 ήταν σαράντα λεπτά, για τον ασθενή Νο 25 σαραντατρία λεπτά, για τους ασθενείς Νο 23, 28, 29 μισή ώρα και για τον ασθενή Νο 30 ήταν τριανταπέντε λεπτά.

Πίνακας 3.2.1: Στοιχεία των ασθενών της ΜΕΘ από τους οποίους ελήφθησαν τα δείγματα. Η διάγνωση αντιστοιχεί στη διάγνωση (ή αιτία) εισαγωγής στη ΜΕΘ. Το είδος της λοίμωξης αναφέρεται στη λοίμωξη αναπνευστικού που είχε ο ασθενής την ημέρα λήψης των δειγμάτων και αποτελεί το λόγο χορήγησης εισπνεόμενης κολιστίνης και εισαγωγής στη μελέτη. Οι παύλες στη στήλη «κ/α BAL» σημαίνουν ότι δεν αναπτύχθηκε παθογόνος μικροοργανισμός.

No	Φύλο	Ηλικία	Διάγνωση	Ουρία (mg/dl)	κ/α BAL	Είδος λοίμωξης
22	Άρρεν	57	Κρανιοεγκεφαλική κάκωση – Πνευμονία από εισρόφηση	86	Acinetobacter baumannii	Πνευμονία
23	Άρρεν	81	Πνευμονία από εισρόφηση	37	-	Πνευμονία
24	Άρρεν	67	-	-	-	Πνευμονία
25	Θήλυ	75	Αποφρακτικός ειλεός	80	-	
26	Θήλυ	70	Πανκολίτιδα από Clostridium difficile	60	-	Πνευμονία
27	Άρρεν	82	Οξεία αναπνευστική ανεπάρκεια – Λοίμωξη αναπνευστικού	123	Acinetobacter baumannii	Πνευμονία
28	Θήλυ	78	Status epilepticus	60	-	Πνευμονία
29	Άρρεν	86	Οξύ πνευμονικό οίδημα	71	-	Πνευμονία
30	Άρρεν	57	Ισχαιμία εντέρου	149	Acinetobacter baumannii	Πνευμονία

3.3. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Σχετικά με τα δείγματα του πλάσματος, η λήψη τους έγινε στους εξής χρόνους: πριν τη χορήγηση της εισπνεόμενης CMS (T=0), στη μισή ώρα (T=1/2), στη μία ώρα (T=1), στις δύο ώρες (T=2), στις τέσσερις ώρες (T=4), στις έξι ώρες (T=6) και στις οχτώ ώρες (T=8) από τη χορήγηση του φαρμάκου.

Αντίστοιχα, οι χρόνοι λήψης των δειγμάτων BAL ήταν: πριν τη χορήγηση της εισπνεόμενης CMS (T=0), στη μία ώρα (T=1), στις τέσσερις ώρες (T=4), στις έξι ώρες (T=6) και στις οχτώ ώρες (T=8) από τη λήψη του φαρμάκου. Για τη λήψη τους χρησιμοποιήθηκε ειδικά αποστειρωμένος καθετήρας, κατάλληλος για mini-BAL.

Όλα τα δείγματα, αφού μεταφέρθηκαν με πάγο στο εργαστήριο της κλινικής, φυγοκεντρήθηκαν σε ψυχόμενη φυγόκεντρο και τα υπερδιηθήματα αποθηκεύτηκαν στους -70°C. Στη συνέχεια, μεταφέρθηκαν με παγοκύστες στο εργαστήριο Βιοφαρμακευτικής του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, στο Τμήμα Φαρμακευτικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Εκεί αποθηκεύτηκαν ξανά στους -70°C μέχρι την ημέρα της ανάλυσης τους.

3.4. ΔΙΑΛΥΤΕΣ – ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ – ΠΡΟΤΥΠΕΣ ΟΥΣΙΕΣ – ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ

ΔΙΑΛΥΤΕΣ-ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

1. Νερό βαθμού καθαρότητας HPLC, Macron fine chemicals
2. Μεθανόλη βαθμού καθαρότητας HPLC, Fischer chemicals
3. Ακετονιτρίλιο βαθμού καθαρότητας HPLC, Fischer chemicals
4. Τετραϋδροφουράνιο βαθμού καθαρότητας HPLC, Macron fine chemicals
5. NaOH αναλυτικής καθαρότητας, Merck
6. NaHCO₃ αναλυτικής καθαρότητας, Pancreac Quimica
7. H₃BO₃ αναλυτικής καθαρότητας, PENTA
8. 9-Fluorenylmethyl chloroformate 98%, Acros organics, New Jersey, USA
9. DMSO, Dasit Group
10. Ακετόνη βαθμού καθαρότητας HPLC, Lab Scan
11. Τριφθοροξικό οξύ (TFA), Merck
12. Ουρία
13. Kit αντιδραστήριου ουρίας ABX Pentra Urea CP, HORIBA ABX SAS, Montpellier, France

ΠΡΟΤΥΠΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

1. Colistin sulfate, Alfa Aesar
2. Netilmicin sulfate, Schering Plough
3. Μεθανοσουλφονική κολιστίνη (CMS), Norma Hellas

ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ

1. Eppendolfs
2. Πιπέτες paster
3. Στήλες στερεάς εκχύλισης των 100mg και όγκου 3ml, ISOLUTE

ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ

1. Ογκομετρικοί κύλινδροι
2. Πεχάμετρο, SCHOTT
3. Αντλία παραγωγής κενού, Millipore
4. Αναλυτικός ζυγός, KERN
5. Στήλη LC, Phenomenex Luna C 18, 100 A, 3μm, 50*3mm
6. Συσκευή HPLC, SIL-HTC, auto sampler, SHIMADZU (περιέχει αντλία και ανιχνευτή φθορισμού)

7. Συσκευή εξάτμισης TECNE Dri-Block DB3
8. Vortex, IKA MS, 3 basic
9. Φυγόκεντρος, ERMILE
10. Ογκομετρικές φιάλες
11. Γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες
12. Vials HPLC

3.5. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ ΚΑΙ ΣΤΟ BAL

Στη συγκεκριμένη μελέτη προσδιορίστηκε μόνο η κολιστίνη Α στα δείγματα του πλάσματος και BAL των ασθενών, καθώς τα μεθανοσουλφοποιημένα παράγωγα που προκύπτουν από την υδρόλυση του CMS δεν εμφανίζουν αντιμικροβιακή δράση. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε βασίζεται στην αντίστοιχη τεχνική που παρουσιάζεται στο άρθρο των Cheryala et al.^[152] με ορισμένες παραλλαγές από τα άρθρα των Markou et al.^[80] και Ratjen et al.^[153]

Η κολιστίνη δε φθορίζει ως μόριο γι' αυτό πρέπει να γίνει παραγωγοποίηση, δηλαδή να πραγματοποιηθεί σύζευξη με μια ειδική ουσία, έτσι ώστε το σύμπλοκο που θα σχηματιστεί να μπορεί να ανιχνευθεί με φθορισμό. Στο πείραμα που περιγράφεται, η ουσία που χρησιμοποιήθηκε ήταν το 9-Fluorenylmethyl chloroformate (F-moc), το οποίο συνδέεται με την κολιστίνη μέσω των ελευθέρων αμινομάδων της.

Στην κινητή φάση της HPLC χρησιμοποιήθηκαν ακετονιτρίλιο-νερό-THF σε αναλογία όγκων 82% - 16% - 2%. Χρησιμοποιήθηκε εσωτερικό πρότυπο τόσο για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς, όσο και για το κάθε δείγμα προς ανάλυση.

Έγινε προσθήκη TFA (ισχυρό οξύ) ώστε να πραγματοποιηθεί μετουσίωση και κατακρημνισμός των πρωτεϊνών που υπάρχουν στο πλάσμα και στο BAL και ακολούθησε φυγοκέντρηση με στόχο την καταβύθιση τους. Το υπερκείμενο υγρό που συλλέχθηκε, τοποθετήθηκε σε στήλες στερεάς εκχύλισης (SPE) ώστε να γίνει η παραγωγοποίηση. Μετά το τέλος της διαδικασίας, το έκλουσμα μεταφέρθηκε σε συσκευή εξάτμισης με αέριο άζωτο στον απαγωγό, για την αφαίρεση του διαλύτη και τέλος έγινε ανασύσταση της κολιστίνης για να πραγματοποιηθεί η χρωματογραφία υψηλής απόδοσης, HPLC.

3.6. ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΟΥΡΙΑΣ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ ΚΑΙ ΤΟ BAL

Η δειγματοληψία του υπερκείμενου πνευμονικού επιθηλιακού υγρού (Epithelial lining fluid, ELF) από το βρογχοκυψελιδικό υγρό (BAL), περιλαμβάνει πρώτα την αραιώση του με φυσιολογικό ορό (έτσι ώστε να μπορέσουν να ληφθούν τα δείγματα

BAL) . Επομένως, πρέπει να υπολογιστεί ο όγκος που αντιστοιχεί στο ELF σε αυτά τα δείγματα BAL και γι' αυτόν τον σκοπό χρησιμοποιείται η ουρία, ως δείκτης αραιώσης. Η ουρία διαχέεται ομοιόμορφα σε όλα τα διαμερίσματα του σώματος και άρα η τιμή της θα πρέπει να είναι ίδια τόσο στο πλάσμα όσο και στο ELF. Έτσι, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ενδογενής παράγοντας για τον προσδιορισμό της αραιώσης που γίνεται από την προσθήκη του φυσιολογικού ορού.

Δύο κύριες ενζυματικές αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα κατά τη διαδικασία προσδιορισμού της ουρίας. Πρώτα η ουρία υδρολύεται από το ένζυμο ουρεάση και στη συνέχεια αντιδρά με το ένζυμο γλουταμική διωδρογονάση για να ποσοτικοποιηθούν τα ιόντα αμμωνίου που παράγονται κατά την πρώτη αντίδραση. Η μέτρηση της ουρίας βασίζεται σε αυτή την ποσοτικοποίηση. Συγκεκριμένα, μετράται η μείωση της απορρόφησης στα 340nm σε φασματοφωτόμετρο UV, η οποία οφείλεται στην κατανάλωση του NADH κατά τη δεύτερη αντίδραση.

Το kit ουρίας ABX Pentra Urea CP που χρησιμοποιήθηκε στη συγκεκριμένη διαδικασία περιλαμβάνει:

- Αντιδραστήριο 1:
 - ✓ TRIS (2-Amino-2-hydroxymethyl-propane-1,3-diol, 150 mmol/L) – Ρυθμιστικό διάλυμα pH 7.8
 - ✓ 2-Οξυγλουταρικό (8.75 mmol/L)
 - ✓ ADP (0.75 mmol/L)
 - ✓ Ουρεάση (≥ 7.5 Ku/L)
 - ✓ GLDH (Γλουταμινική αφυδρογονάση, ≥ 1.25 Ku/L)
 - ✓ Αζίδιο του νατρίου (≤ 1 g/L)
- Αντιδραστήριο 2:
 - ✓ NADH (1.32 mmol/L)
 - ✓ Αζίδιο του νατρίου (≤ 1 g/L)

Το αντιδραστήριο ουρίας που προκύπτει, παραμένει σταθερό για 70 ημέρες όταν αποθηκεύεται σε θερμοκρασία 2-8°C και μακριά από φωτεινές πηγές.

3.7. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

1. Διάλυμα NaOH 10%

10 gr άνυδρου NaOH σε μορφή pellet μεταφέρονται σε ογκομετρική φιάλη των 100ml και γίνεται σταδιακή αραιώση με προσθήκη νερού μέχρι την χαραγή, ώστε ο τελικός όγκος του διαλύματος να είναι 100ml.

2. Ρυθμιστικό διάλυμα NaHCO₃ 1% (pH=10)

Ζυγίζεται 1 gr NaHCO₃ και προστίθεται σε ογκομετρική φιάλη των 100ml. Γίνεται προσθήκη νερού μέχρι την μέση της φιάλης. Έπειτα προστίθεται στάγδην NaOH 10%

μέχρι ρύθμισης του pH στο 10. Μόλις επιτευχθεί αυτό, γίνεται αραιώση μέχρι την χαραγή.

3. Διάλυμα H₃BO₃ 0.1M

1.24 gr H₃BO₃ μεταφέρονται σε ογκομετρική φιάλη των 100ml, όπου προστίθεται νερό μέχρι την χαραγή. Η διάλυση του στερεού διευκολύνεται με τη χρήση λουτρού υπερήχων.

4. Διάλυμα αντιδραστηρίου παραγωγοποίησης Fmoc-CL 100Mm

Ζυγίζονται 260 mg Fmoc-CL και μεταφέρονται σε ογκομετρική φιάλη των 10ml, όπου αραιώνονται μέχρι την χαραγή με την προσθήκη ακετονιτριλίου.

3.8. ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΚΑΜΠΥΛΗΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ

Η δημιουργία καμπύλης αναφοράς βοηθά την ποσοτικοποίηση της κολιστίνης στα άγνωστα δείγματα που εξετάζονται στο συγκεκριμένο πείραμα. Η κατασκευή της γίνεται με τη χρήση πρότυπων διαλυμάτων γνωστών συγκεντρώσεων θειϊκής κολιστίνης και θειϊκής νετιλμυκίνης (εσωτερικό πρότυπο), Ως αναλυτικό σήμα χρησιμοποιείται ο λόγος του εμβადού της κολιστίνης προς το εμβαδόν του εσωτερικού προτύπου.

3.9. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΠΑΡΑΚΑΤΑΘΗΚΗΣ

1. Διάλυμα κολιστίνης συγκέντρωσης 1mg/ml

Ζυγίζονται 100mg θειϊκής κολιστίνης, μεταφέρονται σε ογκομετρική φιάλη των 100ml και προστίθεται νερό μέχρι τη χαραγή. Έτσι προκύπτει διάλυμα με συγκέντρωση 1mg/ml, το οποίο στη συνέχεια μεταφέρεται σε γυάλινο σκουρόχρωμο μπουκάλι με βιδωτό καπάκι και αποθηκεύεται σε υπερκαταψύκτη στους -70°C.

2. Διάλυμα νετιλμυκίνης συγκέντρωσης 0.5mg/ml

50mg νετιλμυκίνης μεταφέρονται σε ογκομετρική φιάλη των 100ml και αραιώνονται με προσθήκη νερού μέχρι τη χαραγή. Προκύπτει διάλυμα συγκέντρωσης 0.5mg/ml, το οποίο στη συνέχεια μεταφέρεται σε γυάλινο σκουρόχρωμο μπουκάλι με βιδωτό καπάκι και αποθηκεύεται σε υπερκαταψύκτη στους -70°C.

3.10. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σε κάθε εργαστηριακή μέρα, παρασκευάζονται τα διαλύματα εργασίας με αραιώση των διαλυμάτων παρακαταθήκης. Συγκεκριμένα:

1. Διάλυμα εργασίας νετιλμυκίνης

100 μl από το διάλυμα παρακαταθήκης της νετιλμυκίνης μεταφέρονται σε ογκομετρική φιάλη των 5ml. Προστίθεται νερό μέχρι την χαραγή και έτσι προκύπτει διάλυμα τελικής συγκέντρωσης 10μg/ml.

2. Διαλύματα εργασίας κολιστίνης

Αυτά τα διαλύματα παρασκευάζονται χρησιμοποιώντας κατάλληλους όγκους από το διάλυμα παρακαταθήκης της κολιστίνης, τοποθέτηση τους σε ογκομετρικές φιάλες των 5ml και αραιώση με νερό μέχρι την χαραγή. Από αυτά τα διαλύματα προκύπτουν τα πρότυπα διαλύματα εργασίας για την καμπύλη αναφοράς σε πλάσμα, τα οποία έχουν τις συγκεντρώσεις που αναφέρονται παρακάτω:

A/A	C _{αρχ} (μg/ml)	V (ml)	V _{τελ} (ml)	C _{τελ} (μg/ml)	C _{πλάσμα/BAL} (μg/ml)
1	12.5	62.5	10	2	0.16
2	25	125	20	4	0.32
3	50	250	60	12	0.96
4	75	375	130	26	2.08
5	100	500	200	40	3.2
6	125	625	300	60	4.8

Στάδια παρασκευής καμπύλης αναφοράς για το πλάσμα:

1. Τοποθετούνται 250μl πλάσματος σε ependorff με αυτόματη πιπέτα.
2. Προστίθενται 20μl διαλύματος εργασίας κολιστίνης για κάθε συγκέντρωση.
3. Προστίθενται 20μl διαλύματος εργασίας νετιλμυκίνης σε κάθε ependorff.
4. Προστίθενται 50μl 50% TFA σε κάθε ependorff και στη συνέχεια ακολουθεί vortex για 1 λεπτό.
5. Ακολουθεί φυγοκέντρηση για 10 λεπτά σε 5000rcf στους 4°C.
6. Γίνεται ενεργοποίηση της στήλης στερεάς εκχύλισης των 100mg αρχικά με 1ml μεθανόλης και στη συνέχεια γίνεται ρύθμιση του pH στο 10 με την προσθήκη 1ml ρυθμιστικού διαλύματος NaHCO₃ 1% (pH=10).
7. Με μια γυάλινη πιπέτα Pasteur λαμβάνεται το υπερκείμενο υγρό μετά τη φυγοκέντρηση και τοποθετείται προσεκτικά πάνω στο πληρωτικό υλικό της στήλης στερεάς εκχύλισης.

8. Στη συνέχεια, μέσω της αντλίας δημιουργίας κενού, το δείγμα περνάει αργά μέσα από τη στήλη.
9. Όταν στεγνώσει η στήλη, προστίθενται πάλι 1ml από το ρυθμιστικό διάλυμα NaHCO_3 1% (pH=10).
10. Όταν στεγνώσει εκ νέου η στήλη, κλείνει η αντλία δημιουργίας κενού και προστίθενται 60ml από το Fmoc-CL 100mM.
11. Πραγματοποιείται η διαδικασία παραγωγοποίησης, η οποία διαρκεί 15 λεπτά.
12. Μόλις περάσουν τα 15 λεπτά, ανοίγει ξανά η αντλία κενού, ώστε να απορριφθεί το διάλυμα παραγωγοποίησης.
13. Γίνεται ξέπλυμα της στήλης με διάλυμα ACN/ H_2O σε αναλογία 70/30.
14. Όταν έχουν στεγνώσει πλήρως οι διαλύτες, γίνεται αλλαγή των δοκιμαστικών σωλήνων και παραλαμβάνεται η ουσία με την προσθήκη 1ml ακετόνης.
15. Ακολουθεί εξάτμιση μέχρι ξηρού με τη χρήση αζώτου στους 30-40°C.
16. Στο ξηρό υπόλειμμα που προκύπτει, προστίθενται 300ml H_3BO_4 0.1M και 200ml DMSO για ανασύσταση της κολιστίνης.
17. Λαμβάνονται 100ml από το ανασυσταμένο διάλυμα και τοποθετούνται σε φιαλίδια της HPLC, τα οποία τοποθετούνται στο μηχάνημα για να ξεκινήσει η διαδικασία της ανάλυσης.

3.11. ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ

Χρόνος ανάλυσης κάθε δείγματος	35 λεπτά
Μήκη κύματος ανιχνευτή	$\lambda_{\text{διέγερσης}} = 260\text{nm}$ $\lambda_{\text{εκπομπής}} = 316\text{nm}$
Στήλη	Phenomenex Luna C18(2), 100A, 3 μm , 50*3mm
Κινητή φάση	ACN/ H_2O /THF (82/16/2%)
Ταχύτητα ροής κινητής φάσης	0.5 ml/min
Όγκος ένεσης δείγματος	20 μl

3.12. ΣΤΑΔΙΑ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΚΑΜΠΥΛΗΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΓΙΑ ΤΟ BAL

Ακολουθούνται ακριβώς τα ίδια στάδια που πραγματοποιήθηκαν και για την παρασκευή της καμπύλης αναφοράς στο πλάσμα. Η μόνη διαφορά είναι ότι κατά το πρώτο στάδιο προστίθενται 250ml καθαρού BAL αντί για πλάσμα.

3.13. HPLC ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΑΓΝΩΣΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Σε κατάλληλα επισημασμένα erpendorfs προστίθενται 250μl πλάσματος από κάθε δείγμα. Στη συνέχεια, προστίθενται 50μl από το διάλυμα εργασίας τους εσωτερικού προτύπου και 50% TFA. Έπειτα ακολουθούνται ακριβώς τα στάδια που περιγράφονται και για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς.

3.14. HPLC ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΑΓΝΩΣΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ BAL

Αντίστοιχα με παραπάνω, σε κατάλληλα επισημασμένα erpendorfs προστίθενται 250μl BAL από κάθε δείγμα. Έπειτα ακολουθούνται τα ίδια στάδια με αυτά της ανάλυσης των αγνώστων δειγμάτων του πλάσματος.

3.15. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΟΥΡΙΑΣ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ ΚΑΙ ΣΤΟ BAL

Σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης του kit, πρώτα γίνεται ανάμειξη τεσσάρων όγκων από το αντιδραστήριο 1 με έναν όγκο από το αντιδραστήριο 2, ώστε να παραχθεί το αντιδραστήριο της ουρίας και έπειτα γίνεται ομογενοποίηση.

Παρασκευάζεται, επίσης, πρότυπο διάλυμα ουρίας συγκέντρωσης 50mg/dl, με μεταφορά 50mg καθαρής ουρίας σε ογκομετρική φιάλη των 100ml και αραίωση με νερό μέχρι τη χαραγή (διάλυμα σταθερό για 3 ημέρες σε θερμοκρασία 3-8°C).

Τα στάδια της αναλυτικής μεθόδου προσδιορισμού της ουρίας περιλαμβάνουν τα εξής:

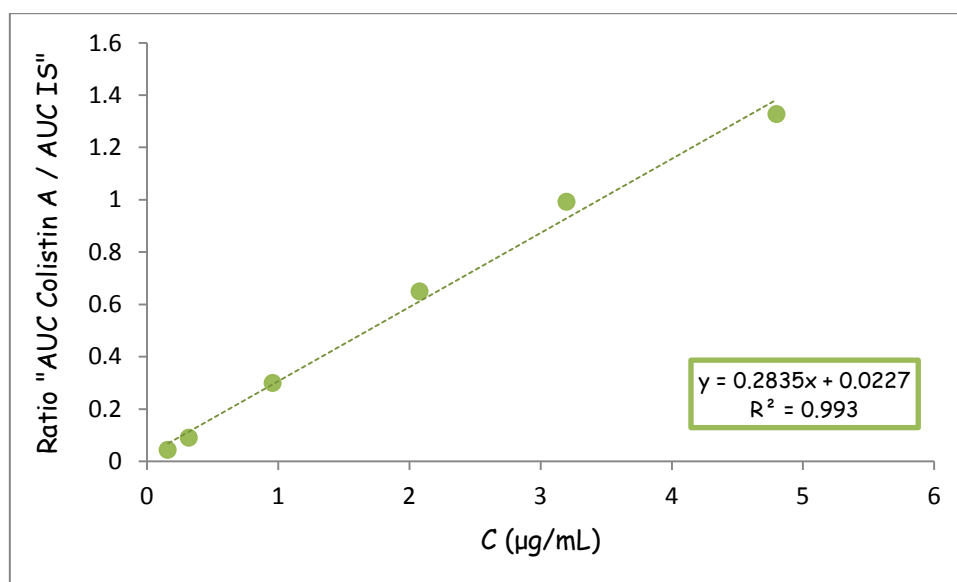
- Σε δοκιμαστικούς σωλήνες τοποθετούνται 2ml από το αντιδραστήριο ουρίας. Ένας δοκιμαστικός σωλήνας χρησιμοποιείται για το τυφλό, ένας για το πρότυπο και ένας για κάθε δείγμα πλάσματος και BAL.
- Γίνεται επώαση των δοκιμαστικών σωλήνων σε υδατόλουτρο στους 37°C για 5 λεπτά.
- Στο τυφλό δείγμα προστίθενται 20μl νερό, στο πρότυπο 20μl από το πρότυπο διάλυμα ουρίας και στους δοκιμαστικούς σωλήνες των δειγμάτων 20μl από κάθε δείγμα αντίστοιχα.
- Γίνεται vortex του κάθε δείγματος για 30 δευτερόλεπτα και επώαση σε υδατόλουτρο στους 37°C για 30 δευτερόλεπτα.
- Ακολουθεί μέτρηση της απορρόφησης στα 340nm με φασματοφωτόμετρο UV για κάθε δείγμα.
- Επανάληψη της μέτρησης απορρόφησης μετά από 60 δευτερόλεπτα και καταγραφή των τιμών.

4. ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ – **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ– ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

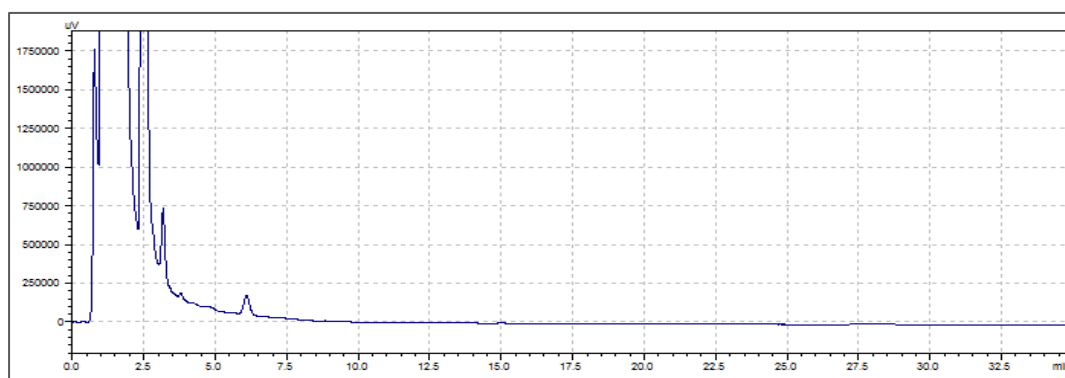
4.1. ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ

4.1.1. Καμπύλη αναφοράς

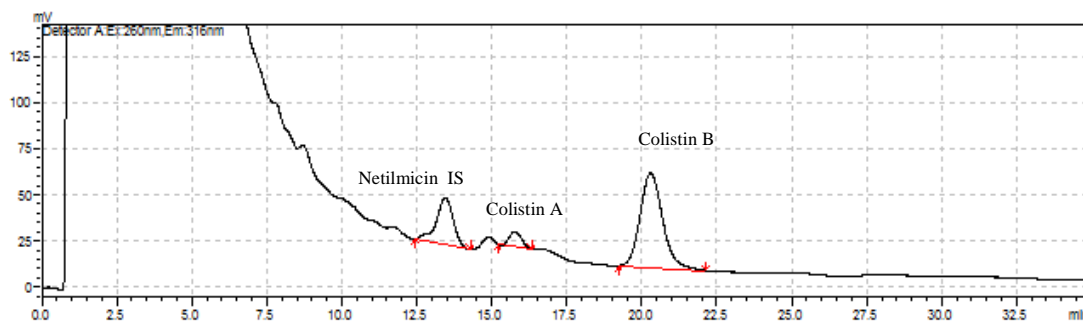
Στις ενότητες 3.8 – 3.11 περιγράφεται η μέθοδος κατασκευής της καμπύλης αναφοράς για τα δείγματα πλάσματος. Για κάθε εργαστηριακή μέρα που γινόταν η ανάλυση HPLC, χρειαζόταν η κατασκευή νέας καμπύλης αναφοράς. Ο λόγος του εμβαδού της κορυφής της κολιστίνης A και της νετιλμυκίνης (IS) χρησιμοποιήθηκε ως σήμα ανίχνευσης. Παρακάτω, παρουσιάζονται ενδεικτικά ένα γράφημα καμπύλης αναφοράς, καθώς και ορισμένα από τα χρωματογραφήματα που προέκυψαν. Η γραμμικότητα ήταν αποδεκτή όπως προκύπτει από την τιμή του συντελεστή προσδιορισμού R^2 που υπολογίστηκε (στη συγκεκριμένη καμπύλη αναφοράς) ίσος με 0.993.



Εικόνα 4.1.1.1: Ενδεικτικό γράφημα καμπύλης αναφοράς στο πλάσμα που χρησιμοποιήθηκε κατά την ανάλυση.

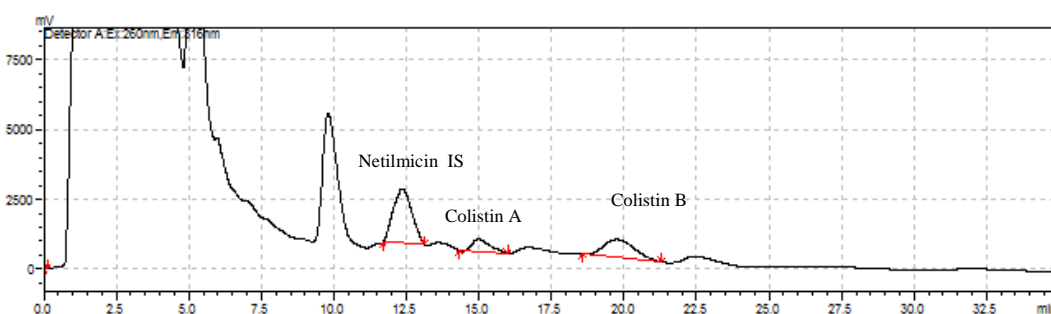


Εικόνα 4.1.1.2: Ενδεικτικό χρωματογράφημα τυφλού δείγματος – blank (στη συγκεκριμένη περίπτωση πλάσμα αίματος).



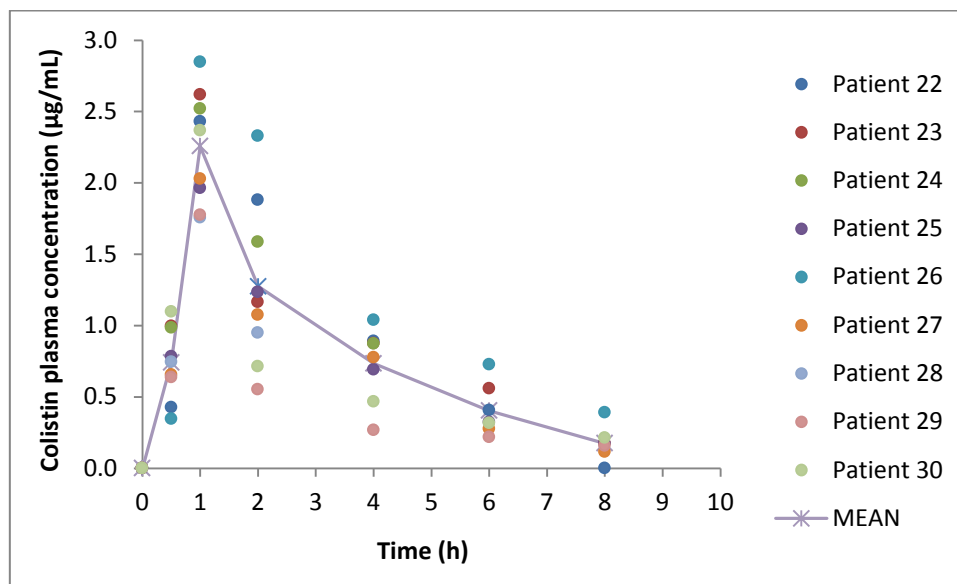
Εικόνα 4.1.1.3: Ενδεικτικό χρωματογράφημα τυχαίου σημείου καμπύλης αναφοράς στο πλάσμα.

4.1.2. Αποτελέσματα μετρήσεων κολιστίνης στο πλάσμα μετά τη χορήγηση εισπνεόμενης CMS.



Εικόνα 4.1.2.1: Ενδεικτικό χρωματογράφημα δείγματος πλάσματος από τον ασθενή 22, τη χρονική στιγμή $t_2=1h$.

Εφόσον έγινε ανάλυση HPLC των δειγμάτων πλάσματος των ασθενών, χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση παλινδρόμησης από την αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς και προσδιορίστηκαν τα επίπεδα κολιστίνης στα άγνωστα αυτά δείγματα. Για κάθε δείγμα, υπολογίστηκε μια τιμή που αντιστοιχεί στο λόγο του εμβαδού της κορυφής της κολιστίνης A προς το εμβαδό της κορυφής του εσωτερικού προτύπου, η οποία στη συνέχεια τοποθετήθηκε στη θέση της μεταβλητής Y της εξίσωσης παλινδρόμησης. Η συγκέντρωση της κολιστίνης στα άγνωστα δείγματα πλάσματος, προσδιορίστηκε από την επίλυση αυτής της εξίσωσης ως προς τη μεταβλητή X. Έπειτα, υπολογίστηκε η μέση τιμή και η τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης κολιστίνης για κάθε χρονική στιγμή δειγματοληψίας (Πίνακας 4.1.2.1).



Εικόνα 4.1.2.2: Συγκεντρώσεις κολιστίνης όλων των δειγμάτων των ασθενών για κάθε χρονική στιγμή. Η συνεχής γραμμή αντιστοιχεί στη μέση τιμή των συγκεντρώσεων αυτών.

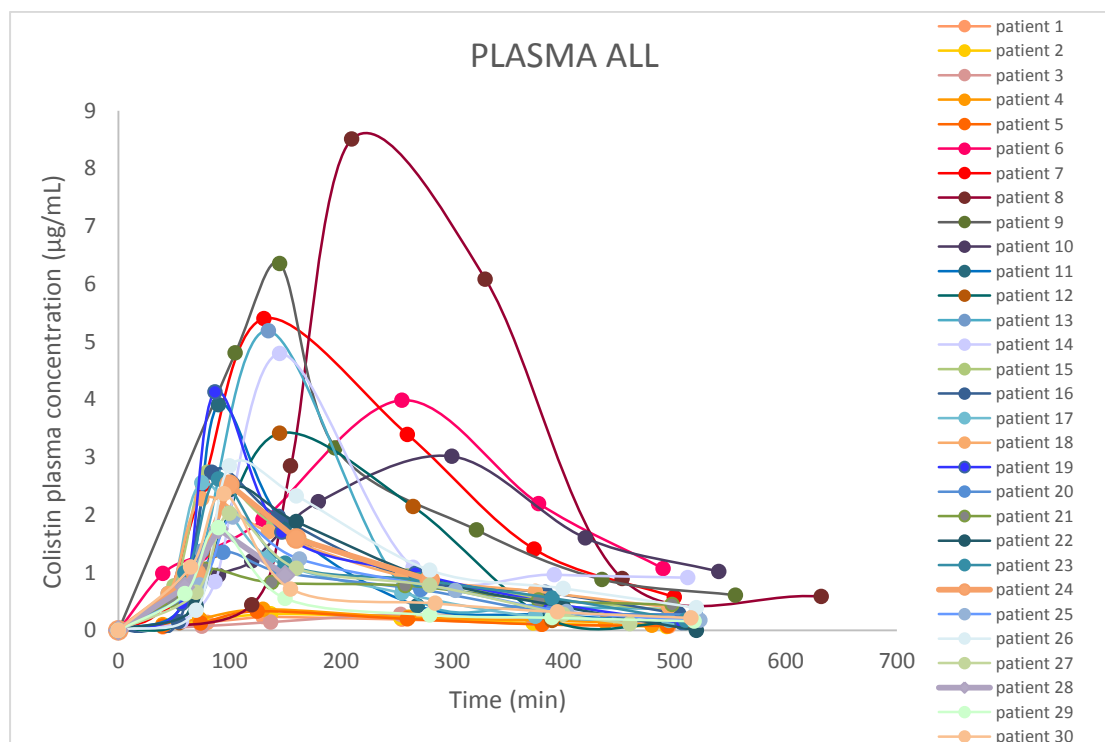
Πίνακας 4.1.2.1: Μέση τιμή και τυπική απόκλιση συγκεντρώσεων κολιστίνης στο πλάσμα.

Χρόνος δειγματοληψίας (h)	Μέση συγκέντρωση κολιστίνης στο πλάσμα (µg/mL) ± τυπική απόκλιση (SD)
0	0,0 ± 0,0
0,5	0,74 ± 0,26
1	2,26 ± 0,39
2	1,28 ± 0,57
4	0,73 ± 0,25
6	0,40 ± 0,18
8	0,17 ± 0,12

4.1.3. Προσδιορισμός φαρμακοκινητικών παραμέτρων πλάσματος.

Πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των βασικών φαρμακοκινητικών παραμέτρων στο πλάσμα της εισπνεόμενης κολιστίνης (όπως AUC, C_{max}, T_{max}, V_d, Cl) που έλαβαν οι ασθενείς, οι οποίοι πήραν μέρος στη συγκεκριμένη εργασία, με εφαρμογή μη διαμερισματικής ανάλυσης με το λογισμικό Phoenix WinNonlin® 8.1. Παράλληλα έγινε εκ νέου προσδιορισμός των βασικών φαρμακοκινητικών παραμέτρων στο πλάσμα της εισπνεόμενης κολιστίνης των υπόλοιπων 21 ασθενών που συμμετείχαν στην συνολική κλινική μελέτη (Πίνακας 4.1.3.1) και επιχειρήθηκε η σύγκριση και ερμηνεία των αποτελεσμάτων (συγκεντρωτικός πίνακας με τα δεδομένα όλων των ασθενών παρατίθεται στο τέλος της εργασίας στο ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α).

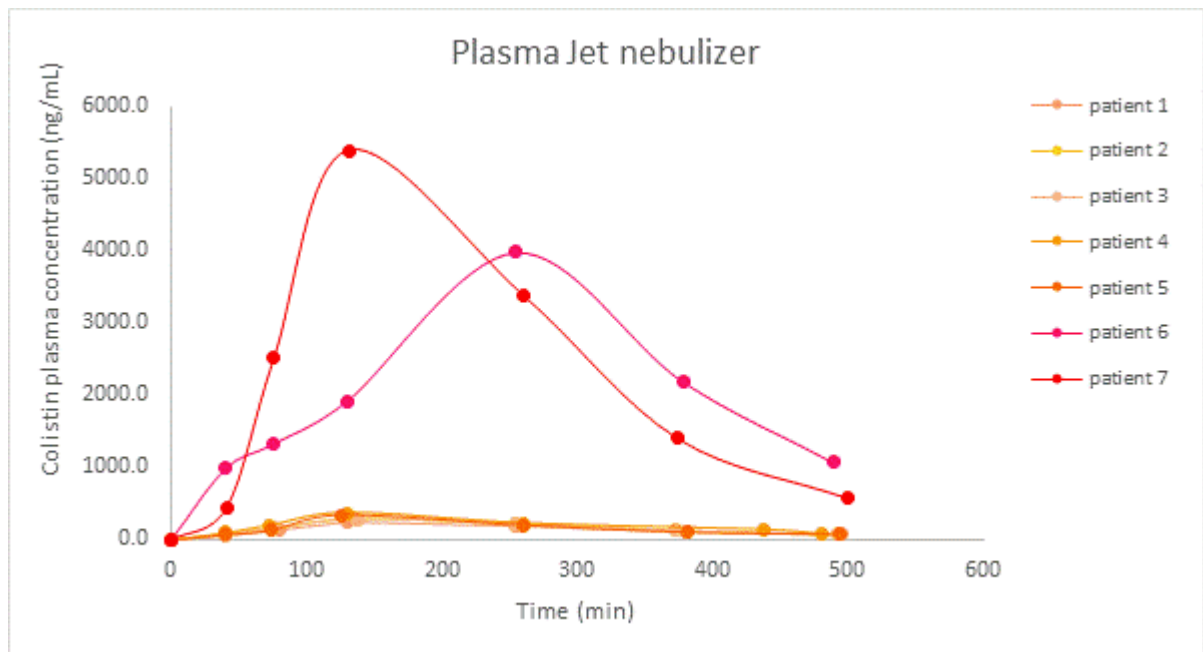
Στην Εικόνα 4.1.3.1. δίνονται συνολικά τα φαρμακοκινητικά προφίλ στο αίμα όλων των ασθενών.



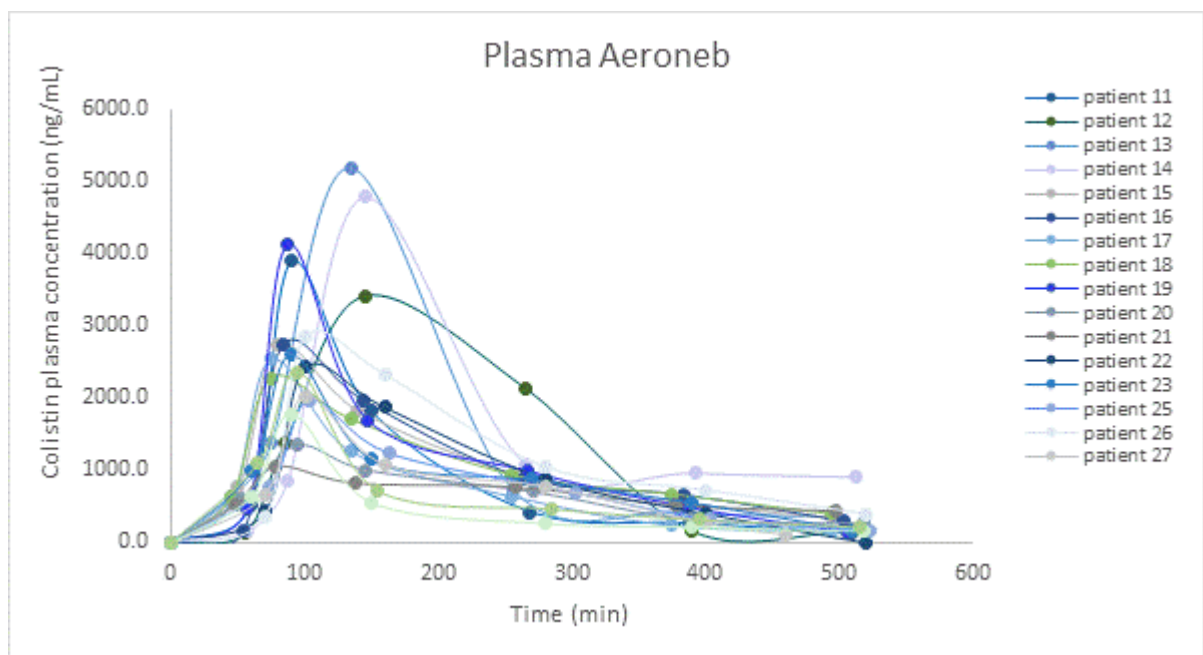
Εικόνα 4.1.3.1: Καμπύλες συγκέντρωσης κολιστίνης – χρόνου στο πλάσμα όλων των ασθενών.

Επισημαίνεται ότι για τους ασθενείς 24 και 28 η δειγματοληψία αίματος έγινε μέχρι τις 6 ώρες και 2 ώρες μετά την έναρξη της χορήγησης, αντίστοιχα. Για το λόγο αυτό τα αποτελέσματα της φαρμακοκινητικής ανάλυσης για τους ασθενείς αυτούς πρέπει να θεωρούνται με προσοχή.

Στη συνέχεια παρατίθενται τα φαρμακοκινητικά προφίλ της κολιστίνης στο αίμα για τους ασθενείς στους οποίους η νεφελοποίηση έγινε με χρήση του jet-nebulizer (Εικόνα 4.1.3.2) και για τους ασθενείς που έλαβαν την εισπνεόμενη κολιστίνη με χρήση του νεφελοποιητή Aeroneb (Εικόνα 4.1.3.3). Πιο συγκεκριμένα, από το σύνολο των ασθενών, 7 έλαβαν θεραπεία με χρήση του jet-nebulizer και οι υπόλοιποι 23 με τη χρήση του νεφελοποιητή Aeroneb.



Εικόνα 4.1.3.2: Καμπύλες συγκέντρωσης κολιστίνης – χρόνου στο πλάσμα των ασθενών, στους οποίους η νεφελοποίηση έγινε με τον Jet nebulizer.



Εικόνα 4.1.3.3: Καμπύλες συγκέντρωσης κολιστίνης – χρόνου στο πλάσμα των ασθενών, στους οποίους η νεφελοποίηση έγινε με τον Aeroneb nebulizer.

Προσδιορίστηκαν για κάθε ασθενή οι ακόλουθες φαρμακοκινητικές παράμετροι:

1. **C_{max}** : η μέγιστη συγκέντρωση κολιστίνης στο πλάσμα που επιτυγχάνεται μετά τη χορήγηση της εισπνεόμενης CMS
2. **T_{max}** : ο χρόνος στον οποίο επιτυγχάνεται η C_{max}

3. **kel**: η σταθερά του ρυθμού απομάκρυνσης για την εκτίμηση της απέκκρισης της κολίστινης. Υπολογίστηκε με τη χρήση των τελευταίων σημείων της καμπύλης συγκέντρωσης – χρόνου της κολίστινης (που αντιστοιχούν στη φάση απομάκρυνσης)
4. **t_{1/2}**: ο χρόνος ημιζωής που προέκυψε από την επίλυση της εξίσωσης $t_{1/2} = \ln 2 / kel$.
5. **AUC_{Ilast}** : το εμβαδόν της επιφάνειας κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης κολίστινης στο πλάσμα – χρόνου. Για τον προσδιορισμό αυτής της παραμέτρου, χρησιμοποιήθηκε η γραμμική μέθοδος των τραπεζίων.
6. **AUC_{INF}** : αντίστοιχα με παραπάνω μόνο που στη συγκεκριμένη περίπτωση το εμβαδόν υπολογίζεται από τη στιγμή που χορηγήθηκε η δόση με προέκταση μέχρι το άπειρο.
7. **V**: ο όγκος κατανομής
8. **CL**: η κάθαρση της κολίστινης. Προσδιορίστηκε με διαίρεση της δόσης με το AUC_{INF}, αφού πρώτα η δόση των 2.000.000 IUCMS μετατράπηκε σε mg (συγκεκριμένα, η αντιστοιχία ήταν 160 mg, καθώς 1MIU ≈ 80mg CMS).

Πίνακας 4.1.3.1: Παρουσίαση φαρμακοκινητικών παραμέτρων όλων των ασθενών που αναλύθηκαν, καθώς και μέση τιμή \pm SD για καθεμία από αυτές τις παραμέτρους.

Ασθενής	Αριθμός σημείων για υπολογισμό kel	kel (1/h)	t _{1/2} (h)	Tmax (h)	Cmax (μg/ml)	AUClast (h*μg/mL)	AUCINF (h*μg/mL)	Vz/F (L)	Cl/F (L/h)
1	3	0,258	2,69	2,17	0,24	1,16	1,43	162,9	41,9
2	3	0,308	2,25	2,28	0,28	1,34	1,55	125,7	38,7
3	3	0,293	2,37	2,18	0,28	1,30	1,53	133,8	39,2
4	3	0,240	2,89	2,17	0,37	1,65	2,00	125,4	30,0
5	3	0,246	2,82	2,08	0,33	1,34	1,64	148,3	36,5
6	3	0,336	2,07	4,25	3,99	18,03	21,21	8,4	2,8
7	3	0,444	1,56	2,18	5,40	20,73	22,03	6,1	2,7
8	3	0,442	1,57	3,50	8,51	30,55	31,87	4,3	1,9
9	4	0,282	2,45	2,42	6,35	21,02	23,18	9,2	2,6
10	3	0,272	2,55	5,00	3,01	15,43	19,17	11,5	3,1
11	4	0,416	1,67	1,50	3,90	7,55	7,87	18,3	7,6
12	3	0,641	1,08	2,42	3,41	11,12	11,37	8,2	5,3
13	4	0,424	1,64	2,25	5,19	11,99	12,86	11,0	4,7
14	4	0,248	2,79	2,42	4,79	12,98	16,65	14,5	3,6
15	4	0,278	2,49	1,33	2,74	8,64	9,89	21,8	6,1
16	4	0,304	2,28	1,40	2,74	8,48	9,43	21,0	6,4
17	4	0,352	1,97	1,25	2,55	6,09	6,57	25,9	9,1
18	4	0,234	2,96	1,25	2,28	8,30	10,01	25,6	6,0
19	4	0,421	1,65	1,45	4,13	9,04	9,35	15,2	6,4
20	4	0,227	3,06	1,57	1,35	5,42	6,62	39,9	9,1
21	4	0,113	6,14	1,30	1,06	5,42	9,36	56,8	6,4
22	3	0,383	1,81	1,67	2,43	7,19	8,25	19,0	7,3
23	4	0,307	2,26	1,50	2,62	7,50	8,07	24,2	7,4
24	3	0,346	2,00	1,67	2,52	5,96	8,49	20,4	7,1
25	4	0,336	2,07	1,72	1,96	6,35	6,87	26,0	8,7
26	4	0,286	2,42	1,67	2,85	9,84	11,21	18,7	5,4
27	4	0,442	1,57	1,67	2,03	5,71	5,96	22,8	10,1
28	0	-	-	1,50	1,76	2,35	-	-	-
29	4	0,198	3,51	1,50	1,78	3,82	4,61	65,9	13,0
30	4	0,202	3,44	1,58	2,37	5,53	6,59	45,1	9,1
MEAN	-	0,320	2,41	2,03	2,77	8,73	10,19	42,6	11,7
SD	-	0,104	0,93	0,86	1,92	6,80	7,36	47,4	12,3
MEDIAN	-	0,304	2,28	1,67	2,54	7,34	8,49	21,8	7,1

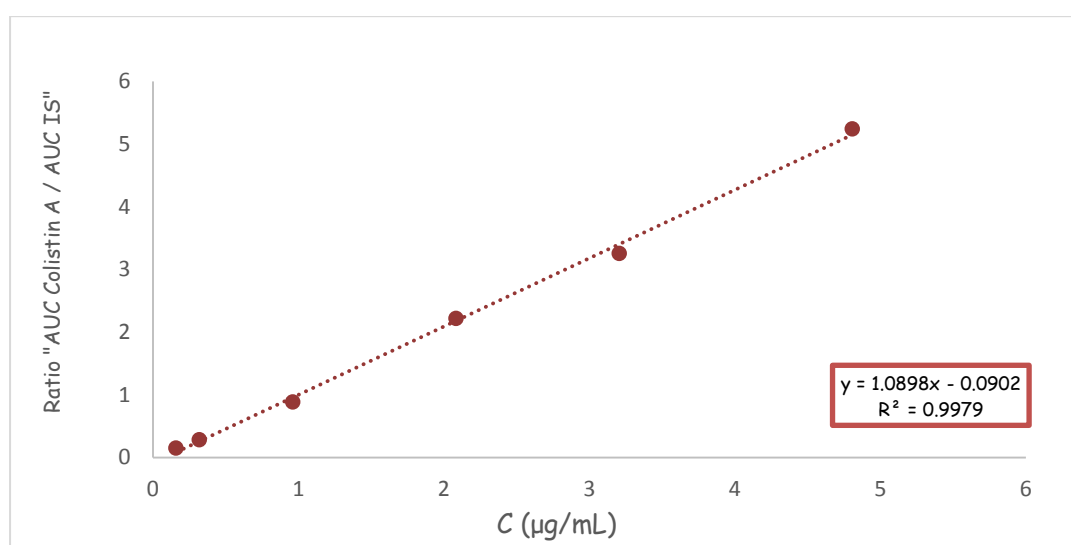
Πίνακας 4.1.3.2: Πίνακας τιμών AUC/MIC και $C_{ss,avg}$. Το $C_{ss,avg}$ αντιστοιχεί στη μέση συγκέντρωση σταθεροποιημένης κατάστασης που θα επιτευχθεί αν ο ασθενής συνεχίσει τη θεραπεία και υπολογίστηκε από το λόγο AUC/ τ , όπου $\tau = 12h$. Το MIC που χρησιμοποιήθηκε προέρχεται από τη βιβλιογραφία, ενώ το AUC αντιστοιχεί στο AUC_{inf} που υπολογίστηκε προηγουμένως.

Ασθενής	AUC/MIC	$C_{ss,avg}$ (μg/ml)
1	0,715	0,12
2	0,775	0,13
3	0,765	0,13
4	1,000	0,17
5	0,820	0,14
6	10,605	1,77
7	11,015	1,84
8	15,935	2,66
9	11,590	1,93
10	9,585	1,60
11	3,935	0,66
12	5,685	0,95
13	6,430	1,07
14	8,325	1,39
15	4,945	0,82
16	4,715	0,79
17	3,285	0,55
18	5,005	0,83
19	4,675	0,78
20	3,310	0,55
21	4,680	0,78
22	4,125	0,69
23	4,035	0,67
24	4,245	0,71
25	3,435	0,57
26	5,605	0,93
27	2,980	0,50
28	-	-
29	2,305	0,38
30	3,295	0,55

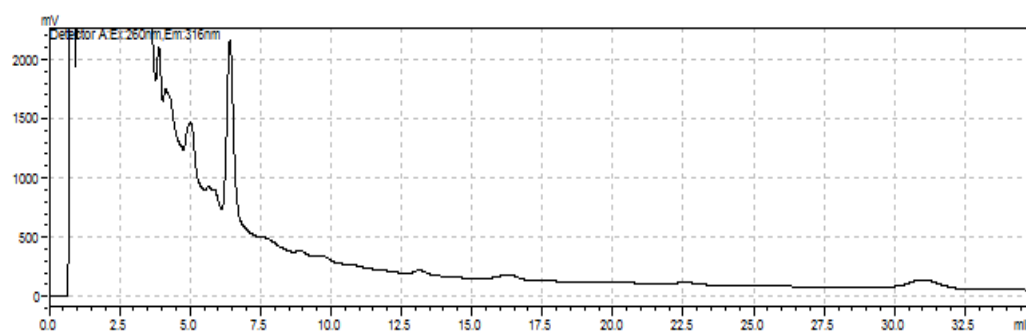
4.2. ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΒΡΟΓΧΟΚΥΨΕΛΥΔΙΚΟΥ ΥΓΡΟΥ (BAL)

4.2.1. Καμπύλη αναφοράς

Η μέθοδος κατασκευής της καμπύλης αναφοράς για τα δείγματα BAL ήταν αντίστοιχη με αυτή των δειγμάτων του πλάσματος. Για κάθε εργαστηριακή μέρα που γινόταν η ανάλυση HPLC, κατασκευαζόταν νέα καμπύλη. Χρειάστηκαν έξι σημεία που αντιστοιχούν στις εξής έξι συγκεντρώσεις κολιστίνης : 0,16 μg/ml, 0,32 μg/ml, 0,96 μg/ml, 2,08 μg/ml, 3,2 μg/ml και 4,8 μg/ml. Ακολουθούν ενδεικτικά ένα γράφημα καμπύλης αναφοράς και χρωματογράφημα. Η γραμμικότητα αντανακλάται στην τιμή του συντελεστή προσδιορισμού R^2 που προέκυψε ίση με 0,9979.

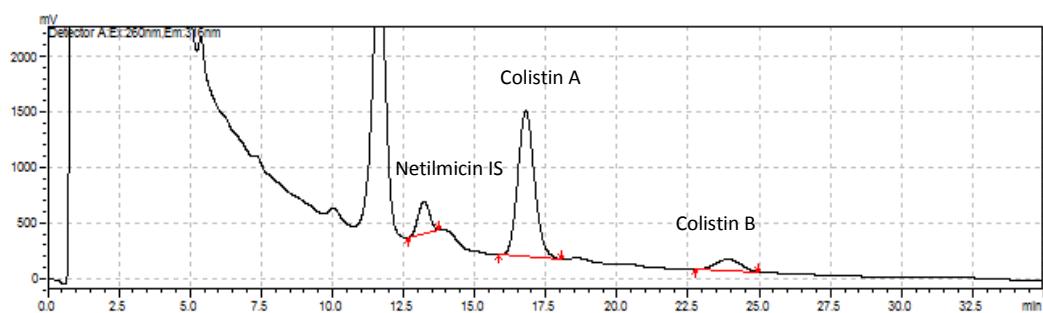


Εικόνα 4.2.1.1: Ενδεικτικό γράφημα καμπύλης αναφοράς στο BAL που χρησιμοποιήθηκε κατά την ανάλυση.



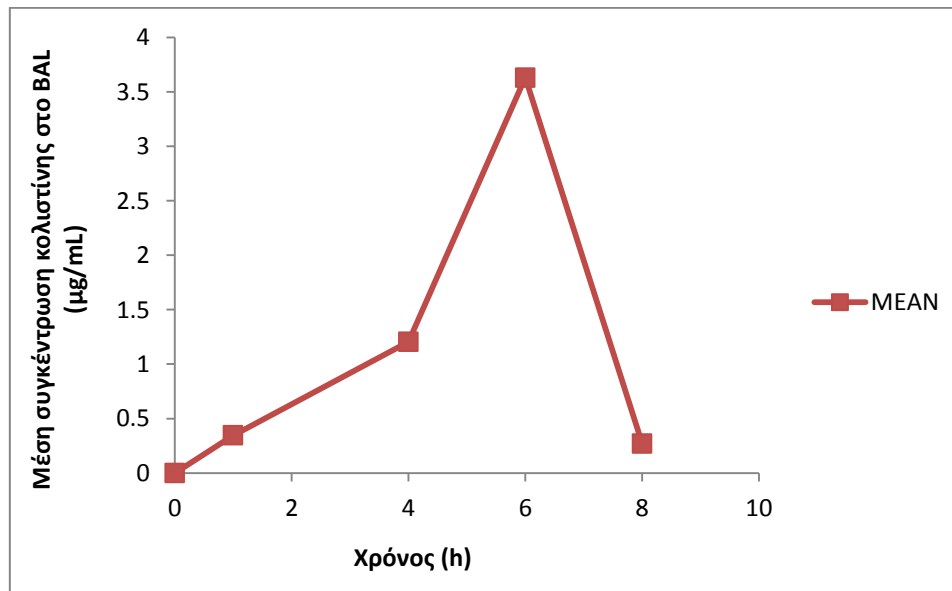
Εικόνα 4.2.1.2: Ενδεικτικό χρωματογράφημα τυφλού δείγματος – blank (στη συγκεκριμένη περίπτωση BAL).

4.2.2. Αποτελέσματα μετρήσεων κολιστίνης στο BAL μετά τη χορήγηση εισπνεόμενης CMS.



Εικόνα 4.2.2.1: Ενδεικτικό χρωματογράφημα δείγματος BAL από τον ασθενή 25 στις 8h.

Αντίστοιχα με το πλάσμα, από την εξίσωση παλινδρόμησης προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις κολιστίνης στα άγνωστα δείγματα. Στη συνέχεια, υπολογίστηκε η μέση τιμή και η τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης κολιστίνης στο BAL για κάθε χρονική στιγμή δειγματοληψίας (Εικόνα 4.2.2.2, Πίνακας 4.2.2.1).



Εικόνα 4.2.2.2: Γράφημα των μέσων συγκεντρώσεων κολιστίνης στο BAL για κάθε χρόνο δειγματοληψίας.

Πίνακας 4.2.2.1: Μέση τιμή και τυπική απόκλιση συγκεντρώσεων κολιστίνης στο BAL.

Χρόνος δειγματοληψίας (h)	Μέση συγκέντρωση κολιστίνης στο BAL (μg/mL) ± τυπική απόκλιση (SD)
0	0,0 ± 0,0
1	0,35±0,15
4	1,20±0,59
6	3,63±5,86
8	0,27±0,31

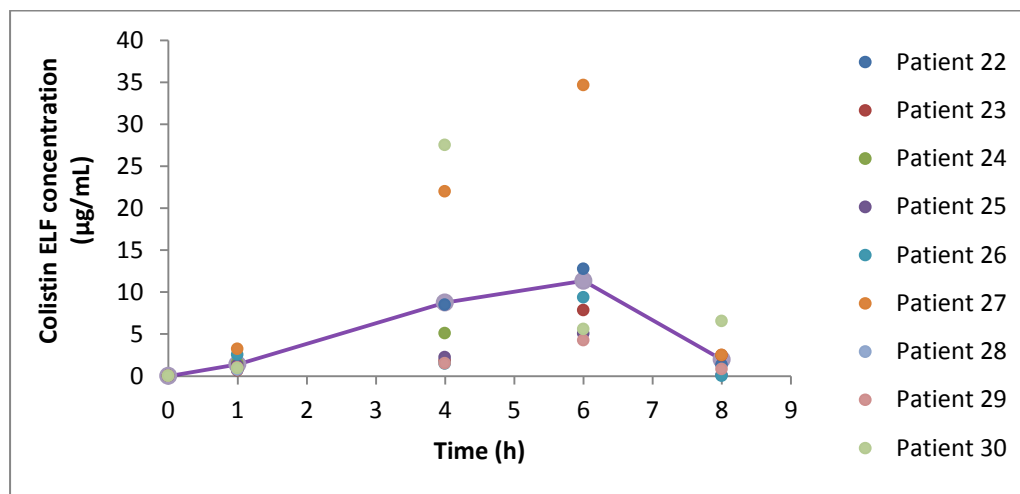
4.3. ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΤΟΥ ΥΠΕΡΚΕΙΜΕΝΟΥ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΟΥ ΥΓΡΟΥ ΤΩΝ ΠΝΕΥΜΟΝΩΝ

4.3.1. Προσδιορισμός συγκεντρώσεων κολιστίνης στο ELF

Με τη χρήση των τιμών που προέκυψαν από τις μετρήσεις της κολιστίνης στο BAL των ασθενών, καθώς και των τιμών της ουρίας που υπολογίστηκαν στο πλάσμα και το BAL με τη μέθοδο που περιγράφεται στην ενότητα 3.15, μπορεί να γίνει ο προσδιορισμός των συγκεντρώσεων κολιστίνης στο ELF σύμφωνα με την εξίσωση:

$$C_{Colistin\ ELF} = \frac{Urea\ plasma}{Urea\ BAL} * C_{Colistin}$$

Η αρχή της μεθόδου για αυτόν τον προσδιορισμό περιγράφεται στην ενότητα 3.6. Με βάση τις τιμές της εξίσωσης, προκύπτει το διάγραμμα συγκεντρώσεων κολιστίνης στο ELF και ο πίνακας μέσων συγκεντρώσεων που φαίνονται παρακάτω (Εικόνα 4.3.1.1, Πίνακας 4.3.1.1).



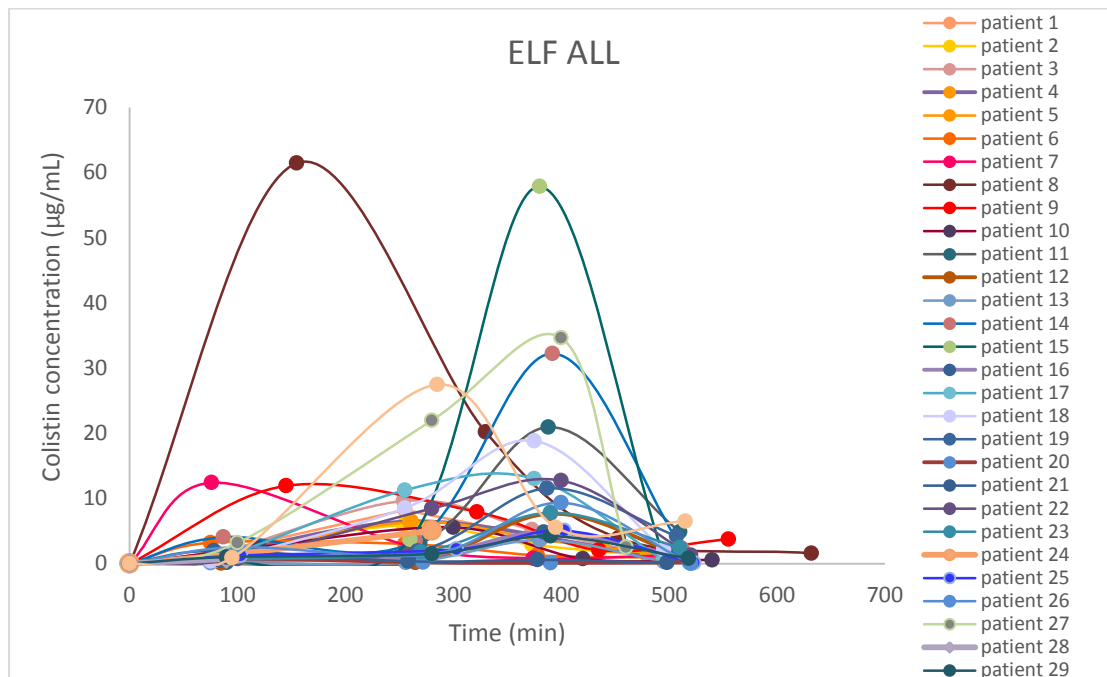
Εικόνα 4.3.1.1: Διάγραμμα συγκεντρώσεων κολιστίνης στο ELF. Με τη συνεχή γραμμή απεικονίζεται η μέση συγκέντρωση κάθε χρονική στιγμή.

Πίνακας 4.3.1.1: Μέση τιμή και τυπική απόκλιση συγκεντρώσεων κολιστίνης στο ELF.

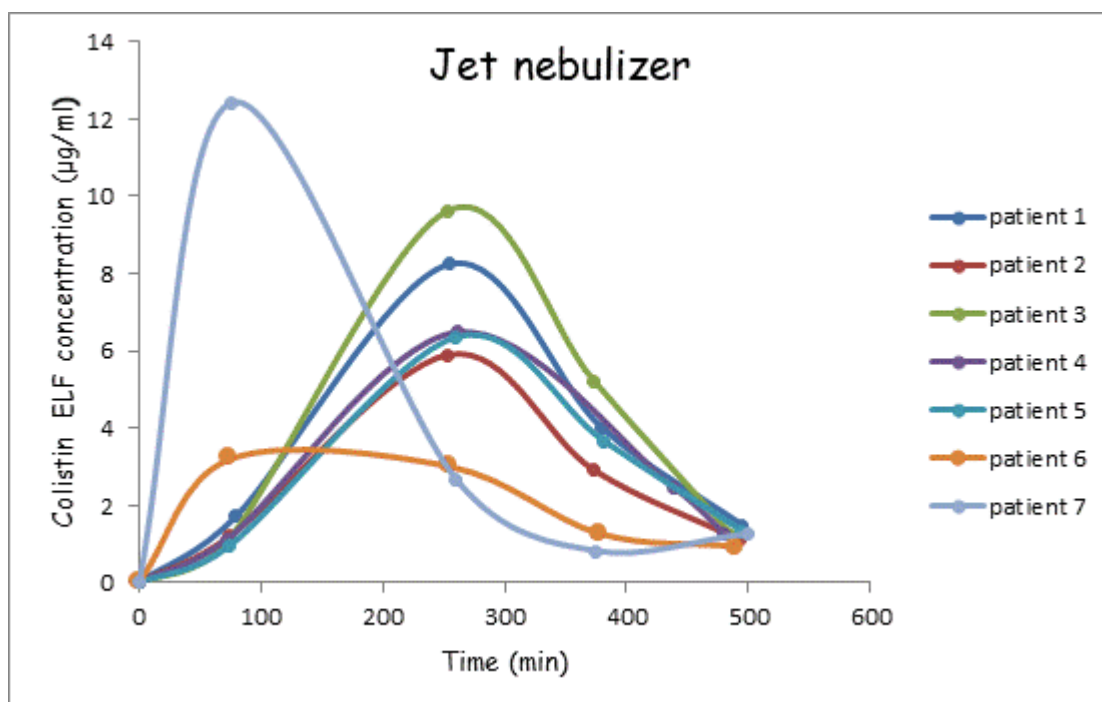
Χρόνος δειγματοληψίας (h)	Μέση συγκέντρωση κολιστίνης στο BAL (µg/mL) ± τυπική απόκλιση (SD)
0	0,0 ± 0,0
1	1,40±0,89
4	8,74±10,26
6	11,34±10,68
8	1,94±2,25

4.3.2. Προσδιορισμός φαρμακοκινητικών παραμέτρων στο ELF.

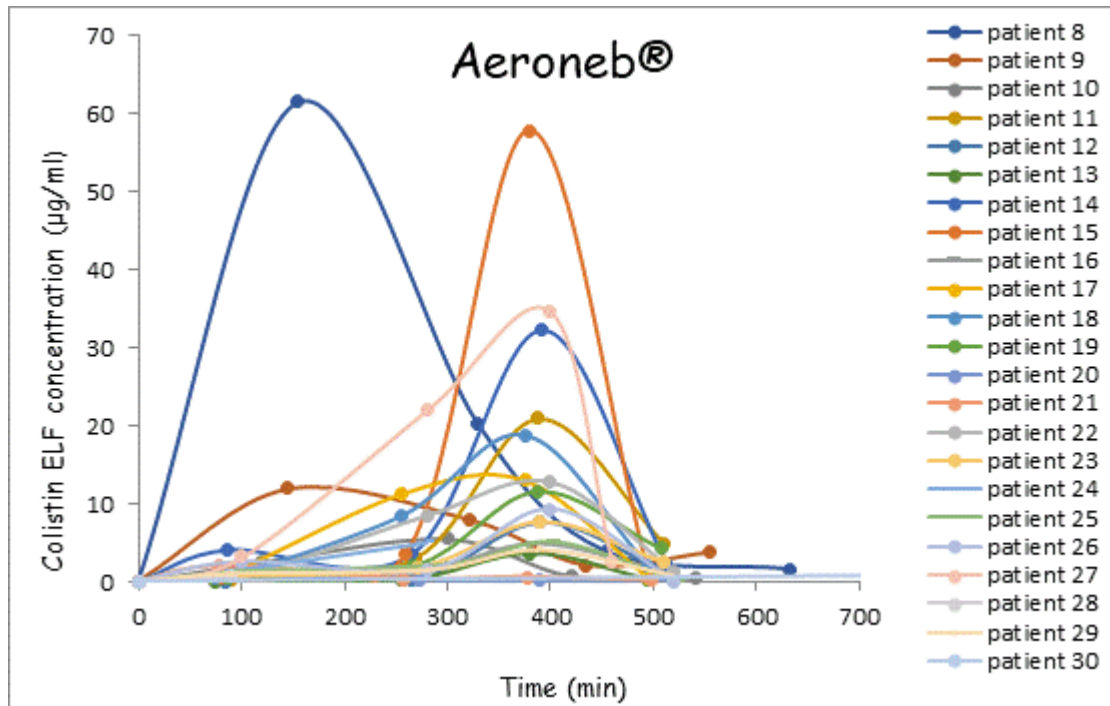
Όπως και προηγουμένως, πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των βασικών φαρμακοκινητικών παραμέτρων της εισπνεόμενης κολιστίνης στο ELF των ασθενών (αυτών που πήραν μέρος στη συγκεκριμένη εργασία και για το σύνολο των ασθενών της κλινικής μελέτης). Στην Εικόνα 4.3.2.1. δίνονται τα φαρμακοκινητικά προφίλ στο ELF για όλους τους ασθενείς, ενώ στις Εικόνες 4.3.2.2. και 4.3.2.3. δίνονται τα φαρμακοκινητικά προφίλ μετά από διαχωρισμό σε ασθενείς στους οποίους η νεφελοποίηση έγινε με χρήση του jet-nebulizer (Εικόνα 4.3.2.1) και σε ασθενείς που έλαβαν την εισπνεόμενη κολιστίνη με χρήση του νεφελοποιητή Aeroneb (Εικόνα 4.3.2.2)



Εικόνα 4.3.2.1: Καμπύλες συγκεντρώσεων κολιστίνης – χρόνου στο ELF για όλους τους ασθενείς.



Εικόνα 4.3.2.2: Καμπύλες συγκέντρωσης κολιστίνης – χρόνου στο ELF των ασθενών, στους οποίους η νεφελοποίηση έγινε με τον Jetnebulizer.



Εικόνα 4.3.2.3: Καμπύλες συγκέντρωσης κολιστίνης – χρόνου στο ELF των ασθενών, στους οποίους η νεφελοποίηση έγινε με τον Aeroneb.

Έγινε μη διαμερισματική φαρμακοκινητική ανάλυση των δεδομένων συγκέντρωσης – χρόνου για κάθε ασθενή και προσδιορίστηκαν οι τιμές των: **C_{max}** (μέγιστη συγκέντρωση κολιστίνης στο ELF που επιτυγχάνεται μετά τη χορήγηση της εισπνεόμενης CMS), **T_{max}** (χρόνος στον οποίο επιτυγχάνεται η C_{max}), **kel** (σταθερά του ρυθμού απομάκρυνσης), **t_{1/2}** (ο χρόνος ημιζωής), **AUC_{last}** (το εμβαδόν της επιφάνειας κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης κολιστίνης στο ELF – χρόνου), **AUC_{INF}** (το εμβαδόν από τη στιγμή που χορηγήθηκε η δόση με προέκταση μέχρι το άπειρο), **V** (όγκος κατανομής) και **CL** (κάθαρση της κολιστίνης). Τα αποτελέσματα δίνονται στον Πίνακα 4.3.2.1.

Πίνακας 4.3.2.1: Παρουσίαση φαρμακοκινητικών παραμέτρων όλων των ασθενών που αναλύθηκαν, καθώς και μέση τιμή \pm SD για καθεμία από αυτές τις παραμέτρους. Στα συγκεκριμένα δεδομένα δεν υπολογίστηκε το AUCinf καθώς τα σημεία στο τέλος της καμπύλης δεν ήταν επαρκή για τον κατάλληλο υπολογισμό. Αντίστοιχα με το πλάσμα, το MIC που χρησιμοποιήθηκε προέρχεται από τη βιβλιογραφία, ενώ το AUC αντιστοιχεί στο AUClast.

Ασθενής	Αριθμός σημείων για υπολογισμό kel	kel (1/h)	t1/2 (h)	Tmax (h)	Cmax (μg/mL)	AUClast (h*μg/mL)	Vz/F (L)	Cl/F (L/h)	AUC/MIC
1	3	0,427	1,62	4,25	8,27	33,80	3,8	1,6	16,90
2	3	0,423	1,64	4,23	5,90	24,09	5,3	2,2	12,05
3	3	0,528	1,31	4,23	9,62	37,59	2,8	1,5	18,79
4	3	0,410	1,69	4,35	6,49	27,16	4,8	2,0	13,58
5	3	0,399	1,74	4,33	6,36	26,70	5,0	2,0	13,35
6	3	0,303	2,29	1,25	3,22	17,82	9,5	2,9	8,91
7	4	0,359	1,93	1,27	12,42	36,50	4,2	1,5	18,25
8	3	0,491	1,41	2,58	61,48	231,40	0,5	0,3	115,70
9	3	0,187	3,70	2,42	11,94	58,95	4,1	0,8	29,48
10	3	0,573	1,21	5,00	5,57	22,41	4,5	2,6	11,20
11	2	0,719	0,96	6,47	20,94	55,01	1,4	1,0	27,50
12	2	0,842	0,82	6,50	7,66	17,65	3,7	3,1	8,83
13	2	1,258	0,55	6,33	3,63	8,15	5,7	7,1	4,08
14	2	1,315	0,53	6,53	32,24	86,58	0,5	0,7	43,29
15	2	2,152	0,32	6,33	57,88	124,50	0,2	0,5	62,25
16	2	0,606	1,14	6,40	4,81	14,47	5,9	3,6	7,23
17	2	1,667	0,42	6,25	13,04	55,54	0,6	1,1	27,77
18	2	1,085	0,64	6,25	18,84	61,96	0,9	0,9	30,98
19	2	0,503	1,38	6,45	11,55	33,50	2,8	1,4	16,75
20	4	0,231	3,01	1,57	0,82	2,78	73,5	16,9	1,39
21	4	0,323	2,14	1,30	1,98	6,46	26,8	8,7	3,23
22	2	1,145	0,61	6,67	12,74	49,68	1,0	1,2	24,84
23	2	0,581	1,19	6,50	7,81	23,99	3,7	2,1	12,00
24	0	-	-	4,67	5,06	11,13	-	-	5,56
25	2	1,972	0,35	6,72	5,05	18,02	1,7	3,3	9,01
26	0	-	-	6,67	9,35	18,88	-	-	9,44
27	2	2,629	0,26	6,67	34,64	115,60	0,2	0,5	57,80
28	0	-	-	1,50	0,74	0,56	-	-	0,28
29	2	0,782	0,89	6,50	4,22	15,34	4,7	3,7	7,67
30	3	0,369	1,88	4,75	27,49	88,08	1,5	0,6	44,04
MEAN	-	0,825	1,32	4,83	13,73	44,14	6,6	2,7	
SD	-	0,636	0,83	1,98	15,16	47,42	14,3	3,4	
MEDIAN	-	0,573	1,21	5,63	8,04	26,93	3,7	1,6	

3.4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Αντικείμενο της παρούσας εργασίας ήταν ο προσδιορισμός των επιπέδων κολιστίνης τόσο στο πλάσμα όσο και στο υπερκείμενο επιθηλιακό υγρό των πνευμόνων διασωληνωμένων ασθενών της ΜΕΘ, καθώς και μια προσπάθεια εκτίμησης των φαρμακοκινητικών παραμέτρων της εισπνεόμενης κολιστίνης, με στόχο την εξαγωγή ορισμένων γενικών συμπερασμάτων σχετικά με τη χρήση της. Οι ασθενείς που συμμετείχαν στη παρούσα μελέτη ήταν διασωληνωμένοι και έλαβαν 2.000.000 IU εισπνεόμενης CMS με τη χρήση νεφελοποιητή. Το εύρος των χρόνων χορήγησης του φαρμάκου ήταν 10-90 λεπτά και στους επτά από τους τριάντα ασθενείς χρησιμοποιήθηκε ο Jet νεφελοποιητής, ενώ στους υπόλοιπους ο Aeroneb[®].

Και με τα δύο είδη νεφελοποιητών, οι συγκεντρώσεις που παρατηρήθηκαν στο ELF ήταν σημαντικά υψηλότερες από αυτές στο πλάσμα των ασθενών, αν και υπήρχαν μεγάλες διακυμάνσεις. Η διαφορά στις συγκεντρώσεις μεταξύ των δύο βιολογικών υγρών, αντικατοπτρίζεται και στις τιμές των AUC, οι οποίες αντανακλούν την έκταση της διαθεσιμότητας του φαρμάκου σε κάθε περιοχή, και είναι σημαντικά υψηλότερες στο ELF. Αντίστοιχα μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στο ELF βρέθηκαν και στις φαρμακοκινητικές μελέτες των Boisson et al. (2014) και Athanassa et al. (2012).^[141,154] Οι διαφορές στις συγκεντρώσεις της κολιστίνης μεταξύ των ασθενών, πιθανόν να οφείλονται στους διαφορετικούς χρόνους νεφελοποίησης, καθώς και στις κλινικές διαφορές και τη βαρύτητα της νόσου στον εκάστοτε ασθενή, όπως επισημαίνεται και από την μελέτη των Lu et al, 2010.^[156]

Ο χρόνος, T_{max}, επίτευξης της μέγιστης συγκέντρωσης (C_{max}) στο ELF ήταν κατά μέσο όρο 4-6 ώρες, με εξαίρεση επτά ασθενείς, στους οποίους η C_{max} παρατηρήθηκε τη 1^η – 2^η ώρα μετά τη χορήγηση της εισπνεόμενης κολιστίνης. Αντιθέτως στο πλάσμα, η C_{max} εμφανίστηκε κατά μέσο όρο τη 1^η – 2^η ώρα μετά τη χορήγηση, στη πλειονότητα των ασθενών. Πιθανή εξήγηση για τη καθυστέρηση στην επίτευξη της C_{max} στο ELF, είναι η σταδιακή μετατροπή (επιβράδυνση της υδρόλυσης) της εισπνεόμενης CMS στη δραστική μορφή της κολιστίνης (της οποίας η συγκέντρωση μετρήθηκε), λόγω πιθανόν του υψηλού ιξώδους του συγκεκριμένου βιολογικού υγρού. Κάτι τέτοιο διατυπώνεται και από την μελέτη των Yara et al. (2014)^[155]. Επιπλέον, οι διακυμάνσεις στις τιμές των T_{max}, πάλι μπορεί να επηρεάζονται από τους διαφορετικούς χρόνους χρήσης του νεφελοποιητή.

Όσον αφορά στη σύγκριση των δυο διαφορετικών νεφελοποιητών που χρησιμοποιήθηκαν, ο μικρός αριθμός ασθενών, κυρίως στην ομάδα jet nebulizer, και η παρατηρούμενη υψηλή μεταβλητότητα και στις δύο ομάδες (jet nebulizer και Aeroneb) δεν επιτρέπουν την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων για την υπεροχή ενός νεφελοποιητή. Παραταύτα, μπορούν να αναφερθούν ορισμένες διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων. Πιο συγκεκριμένα, ιδιαίτερα σχετικά με τις τιμές των T_{max} και C_{max}, παρατηρείται ότι οι ασθενείς που έλαβαν το φάρμακο με Jet νεφελοποιητή, εμφάνισαν μέγιστες συγκεντρώσεις στο πλάσμα πιο αργά και με μικρότερη μεση τιμή

($T_{max}=2.47\pm 0.79h$ και $C_{max}=1.55\pm 2.18 \mu g/ml$) σε σύγκριση με τους ασθενείς, στους οποίους η νεφελοποίηση έγινε με τον Aeroneb ($T_{max}=1.89\pm 0.86h$ και $C_{max}=3.14\pm 1.72 \mu g/ml$). Στη περίπτωση του ELF, οι C_{max} των ασθενών στους οποίους έγινε χρήση του Jet νεφελοποιητή φαίνεται να είναι μικρότερες σε σχέση με αυτές των ασθενών που έλαβαν την εισπνεόμενη κολιστίνη με χρήση Aeroneb ($C_{max, jet}=7.47\pm 1.96h$ και $C_{max, aeroneb}=15.63\pm 16.86h$), αλλά η ιδιαίτερα μεγάλη μεταβλητότητα που παρατηρείται δεν επιτρέπει σαφές συμπέρασμα. Όμως, ο χρόνος επίτευξης αυτών των συγκεντρώσεων (T_{max}) ήταν μικρότερος στην πρώτη ομάδα ($T_{max, jet}=3.42\pm 1,48h$ και $T_{max, aeroneb}=5.26\pm 1.93h$). Οι παραπάνω διαφορές μπορεί να σχετίζονται με τους διαφορετικούς μηχανισμούς λειτουργίας και τα τεχνολογικά χαρακτηριστικά του κάθε νεφελοποιητή, δεν γίνεται όμως να ληφθούν ξεκάθαρα συμπεράσματα, καθώς όπως ήδη έχει τονιστεί το δείγμα των ασθενών που έλαβαν την εισπνεόμενη κολιστίνη με τον Jet νεφελοποιητή ήταν αρκετά μικρότερο από την αντίστοιχη ομάδα του Aeroneb νεφελοποιητή.

Στην ομάδα ασθενών που εξετάστηκαν στη συγκεκριμένη εργασία, απομονώθηκαν κυρίως δύο μικροοργανισμοί, τα *Acinetobacter baumannii* και *Klebsiella pneumonia*. Σύμφωνα με τις τελευταίες οδηγίες της EUCAST, τα όρια ευαισθησίας για αυτά τα δύο παθογόνα είναι $2 \mu g/ml$. Από τα υπάρχοντα δεδομένα, παρατηρήθηκε ότι οι μέσες συγκεντρώσεις της κολιστίνης στο πλάσμα και το ELF, ήταν αρκετά χαμηλότερες από αυτό το όριο σε όλες τις χρονικές στιγμές, στις οποίες έγινε λήψη των δειγμάτων, με εξαίρεση την 6^η ώρα στα δείγματα του BAL που η μέση συγκέντρωση ήταν μεγαλύτερη από $2 \mu g/ml$.

Επιπρόσθετα, οι θεωρητικές $C_{ss, avg}$ που υπολογίστηκαν με βάση τις AUC που προέκυψαν κατά την φαρμακοκινητική ανάλυση, ήταν αρκετά χαμηλές σε σχέση με τη μέση συγκέντρωση $C_{ss, avg}$ – στόχο ($2 \mu g/ml$) που έχει προταθεί από την EUCAST για την αντιμετώπιση των λοιμώξεων και τον περιορισμό εκδήλωσης ανεπιθύμητων ενεργειών από την κολιστίνη. Αντίστοιχα, ο λόγος AUC/MIC, ο οποίος σύμφωνα με τη βιβλιογραφία πρέπει να είναι >12 , ήταν αρκετά υψηλότερος στις μετρήσεις του ELF σε αντίθεση με τις μετρήσεις του πλάσματος, που ήταν σημαντικά χαμηλότερος από την προβλεπόμενη τιμή.

Η παθητική διάχυση της κολιστίνης διαμέσου του βρογχοκυψελιδικού φραγμού είναι πιθανώς αργή λόγω του μεγέθους του θετικά φορτισμένου μορίου της κολιστίνης. Το φυσικοχημικό αυτό χαρακτηριστικό, ίσως να επηρεάζει τη καταλληλότητα χορήγησης της ενδοφλέβιας κολιστίνης στις αναπνευστικές λοιμώξεις (Gontijo et al., 2014). Αντίθετα, τα υψηλά επίπεδα που παρατηρούνται με την χορήγηση της CMS μέσω της αναπνευστικής οδού, επιτυγχάνουν υψηλές και παρατεταμένες συγκεντρώσεις του φαρμάκου ακριβώς στο σημείο της λοίμωξης (ELF) και κατ' επέκταση αυξάνεται δυναμικά η αποτελεσματικότητα της στη θεραπεία των αναπνευστικών λοιμώξεων. Ταυτόχρονα, η χαμηλή συστηματική έκθεση σε κολιστίνη μετά από νεφελοποίηση σε σύγκριση με την IV χορήγηση της CMS προσφέρει ένα περαιτέρω πλεονέκτημα, καθώς μπορεί να σχετίζεται με χαμηλότερη τοξικότητα.

Τέλος, τα δεδομένα από τις λίγες φαρμακοκινητικές μελέτες που έχουν διεξαχθεί μέχρι στιγμής, ευνοούν τη χορήγηση νεφελοποιημένου έναντι IV CMS για τη

θεραπεία των αναπνευστικών λοιμώξεων. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας φαίνεται να συμφωνούν με τις παραπάνω μελέτες. Ωστόσο, επειδή ο αριθμός των ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη είναι περιορισμένος και τα επίπεδα της κολιστίνης μετρήθηκαν μετά τη χορήγηση της μιας μόνο δόσης, προτείνεται η διεξαγωγή μελετών με μεγαλύτερο αριθμό ασθενών και πλήθος δειγμάτων με στόχο την καλύτερη εκτίμηση της φαρμακοκινητικής της εισπνεόμενης κολιστίνης και την εξαγωγή περισσότερο τεκμηριωμένων συμπερασμάτων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:

- 1.** Yasmine Fathy Mohamed, Hamida Moustafa Abou-Shleib, Amal Mohamed Khalil, Nadia Mohamed El-Guink, Moustafa Ahmed El-Nakeeb. «Membrane permeabilization of colistin toward pan-drug resistant Gram-negative isolates.» *Brazilian Journal of Microbiology*, 2016: 381-388.
- 2.** Vaara, Martti. "Polymyxin Derivatives that Sensitize Gram-Negative Bacteria to Other Antibiotics." *Molecules*, 2019: 24(2),249.
- 3.** Nation RL, Li J. Colistin in the 21st century. *Curr Opin Infect Dis* 2009; 22: 535–543.
- 4.** Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS et al. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2009; 48: 1–12.
- 5.** D. Yahav, L. Farbman, L. Leibovici, M. Paul. «Colistin: new lessons on an old antibiotic.» *Clinical Microbiology and Infection*, 2012: 18-29.
- 6.** Argyris Michalopoulos, Dimitrios Fotakis, Simona Vartzili, Christodoulos Vletsas, Sylvia Raftopoulou, Zefi Mastora, Matthew E. Falagas. "Aerosolized colistin as adjunctive treatment of ventilator-associated pneumonia due to multidrug-resistant Gram-negative bacteria: A prospective study." *Respiratory Medicine*, 2008: 407–412.
- 7.** Marcelo M. Mostardeiro, Carlos A. P. Pereira, Alexandre R. Marra, Jose O. M. Pestana, Luis Fernando A. Camargo. «Nephrotoxicity and Efficacy Assessment of Polymyxin Use in 92 Transplant Patients.» *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2013: 1442–1446.
- 8.** Heiman Wertheim, Kinh Van Nguyen, Gabriel Levy Hara, Hellen Gelband, Ramanan Laxminarayan, Johan Mouton, Otto Cars. «Global survey of polymyxin use: A call for international guidelines.» *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 2013: 131-134.
- 9.** Lim LM, Ly N, Anderson D, Yang JC, Macander L, Jarkowski 3rd A, et al. Resurgence of colistin: a review of resistance, toxicity, pharmacodynamics, and dosing. *Pharmacotherapy* 2010;30:1279–91.
- 10.** Biswas S, Brunel JM, Dubus JC, Reynaud-Gaubert M, Rolain JM. Colistin: an update on the antibiotic of the 21st century. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2012;10(8):917–934.

11. Cordula Koerner-Rettberg, Manfred Ballmann. «Colistimethate sodium for the treatment of chronic pulmonary infection in cystic fibrosis: an evidence-based review of its place in therapy.» *Core Evidence*, 2014: 99-112.
12. Landman D, Georgescu C, Martin DA, Quale J. Polymyxins revisited. *Clin Microbiol Rev* 2008;21:449–65.
13. Sakura N, Itoh T, Uchida Y, Ohki K, Okimura K, et al. The contribution of the N-terminal structure of polymyxin B peptides to antimicrobial and lipopolysaccharide binding activity. *Bull Chem Soc Jpn* 2004;77:1915–24.
14. Vaara M, Sader HS, Rhomberg PR, Jones RN, Vaara T. Antimicrobial activity of the novel polymyxin derivative NAB739 tested against Gram-negative pathogens. *J Antimicrob Chemother* 2013;68:636–9.
15. Okimura K, Ohki K, Sato Y, Ohnishi K, Sakura N. Semi-synthesis of polymyxin B (2–10) and colistin (2–10) analogs employing the trichloroethoxycarbonyl (Troc) group for side chain protection of α,γ -diaminobutyric acid residues. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 2007;55:1724–30.
16. Phillip J. Bergen, Jian Li, Craig R. Rayner, Roger L. Nation. "Colistin Methanesulfonate Is an Inactive Prodrug of Colistin against *Pseudomonas aeruginosa*." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2006:1953-1958.
17. Jian Li, Roger L Nation, John D Turnidge, Robert W Milne, Kingsley Coulthard, Craig R Rayner, David L Paterson. «Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections.» *Lancet Infect Dis* , 2006: 589-601.
18. Roberts, Kade. *Chemistry in Australia*. July 2016. <http://chemaust.raci.org.au/article/july-2016/improving-safety-and-efficacy-%E2%80%98last-resort%E2%80%99-antibiotics.html> (accessed April 4, 2019).
19. *Drugs.com*. August 1, 2018. <https://www.drugs.com/pro/colistimethate.html> (accessed April 4, 2019).
20. Brian T. Tsuji, Jason M. Pogue, Alexandre P. Zavascki, Mical Paul, George L. Daikos. "International Consensus Guidelines for the Optimal Use of the Polymyxins: Endorsed by the American College of Clinical Pharmacy (ACCP), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), Infectious Diseases Society of America (IDS)." *Pharmacotherapy*, 2019: 10-39.

21. Rogers MJ, Cohen J. Comparison of the binding of gram-negative bacterial endotoxin by polymyxin B sulphate, colistin sulphate and colistin sulphomethate sodium. *Infection*. 1986;14(2):79–81.
22. https://www.researchgate.net/figure/Action-of-colistin-on-bacterial-membrane-The-cationic-cyclic-decapeptide-structure-of_fig3_271441729
23. https://www.researchgate.net/figure/Lethal-mechanism-in-Gram-positive-bacteria-caused-by-colistin-induced-ROS-23_fig1_314251001
24. Gales AC, Jones RN, Sader HS. Contemporary activity of colistin and polymyxin B against a worldwide collection of Gram-negative pathogens: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2006–09). *J Antimicrob Chemother* 2011;66:2070–4.
25. Tumbarello M, Viale P, Viscoli C, et al. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: importance of combination therapy. *Clin Infect Dis*. 2012;55(7):943–950.
26. Petrosillo N, Giannella M, Lewis R, Viale P. Treatment of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: the state of the art. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2013;11(2):159–177.
27. Briggs GGFR. *Drugs in pregnancy and lactation*. Baltimore, MD: Williams and Wilkins, 2014.
28. P. Brandon Bookstaver, Christopher M. Bland, Brooke Griffin, Kayla R. Stover, et al. «A Review of Antibiotic Use in Pregnancy.» *PHARMACOTHERAPY* , 2015.
29. Kazy Z, Puho E, Czeizel AE. Parenteral polymyxin B treatment during pregnancy. *Reprod Toxicol* 2005;2:181–2.
30. Jaiswal MK, Agrawal V, Jaiswal YK. Effect of polymyxin B on gram-negative bacterial infection during pregnancy. *J Turk Ger Gynecol Assoc* 2011;2:64–70.
31. M.A.G.M. Kroon, A.M. Akkerman-Nijland, B.L. Rottier, G.H. Koppelman, et al. "Drugs during pregnancy and breast feeding in women diagnosed with Cystic Fibrosis - An update." *Journal of Cystic Fibrosis* , 2018: 17–25.
32. Sader HS, Rhomberg PR, Farrell DJ, Jones RN. Differences in potency and categorical agreement between colistin and polymyxin B when testing 15,377 clinical strains collected worldwide. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2015;83:379–81.

- 33.** Lucie Bardet, Liliane Okdah, Stéphanie Le Page, Sophie Alexandra Baron, Jean-Marc Rolain. «Comparative evaluation of the UMIC Colistine kit to assess MIC of colistin of gram-negative rods.» *BMC Microbiology*, 2019: 19:60.
- 34.** Patricia J. Simner, Yehudit Bergman, Marisol Trejo, Ava A. Roberts, Remy Marayan, et al. "Two-Site Evaluation of the Colistin Broth Disk Elution Test To Determine Colistin In Vitro Activity against Gram-Negative Bacilli." *Journal of Clinical Microbiology*, 2019: e01163-18.
- 35.** Irene Galania, Panagiota Adamou, Ilias Karaiskos, Helen Giamarellou, Maria Souli. «Evaluation of ComASPTM Colistin (formerly SensiTest™ Colistin), a commercial broth microdilution-based method to evaluate the colistin minimum inhibitory concentration for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates.» *Journal of Global Antimicrobial Resistance* , 2018: 123–126.
- 36.** Thien B. Tran, Tony Velkov, Roger L. Nation, Alan Forrest. «Pharmacokinetics/pharmacodynamics of colistin and polymyxin B: are we there yet?» *International Journal of Antimicrobial Agents* 48, 2016: 592–597.
- 37.** Rocio Alvarez-Marin, Rafael Lopez-Rojas, Juan Antonio Marquez, Maria Jose Gomez, Jose Molina, Jose Miguel Cisneros, Carlos Ortiz-Leyba, Javier Aznar, Jose Garnacho-Montero, Jeronimo Pachon. «Colistin Dosage without Loading Dose Is Efficacious when Treating Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Ventilator-Associated Pneumonia Caused by Strains with High Susceptibility to Colistin.» *PLOS ONE*, 2016: 1-12.
- 38.** Bozkurt-Güzel C, Gerçeker AA. Post-antibiotic effect of colistin, alone and in combination with amikacin, on *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from cystic fibrosis patients. *J Antibiот (Tokyo)*. 2012; 65(2):83–86.
- 39.** Gaibani P, Lombardo D, Lewis RE, et al. In vitro activity and post-antibiotic effects of colistin in combination with other antimicrobials against colistin-resistant KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream isolates. *J Antimicrob Chemother*. Epub March 19, 2014.
- 40.** Bergen PJ, Bulitta JB, Forrest A, et al. pharmacokinetic /pharmacodynamics investigation of colistin against *Pseudomonas aeruginosa* using an in vitro model. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54(9):3783-9.
- 41.** Dudhani RV, Turnidge JD, Coulthard K, et al. Elucidation of the pharmacokinetic/pharmacodynamic determinant of colistin activity against *Pseudomonas aeruginosa* in murine thigh and lung infection models. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54(3): 1117-24.

42. Dudhani RV, Turnidge JD, Nation RL, Li J. fAUC/MIC is the most predictive pharmacokinetic/pharmacodynamic index of colistin against *Acinetobacter baumannii* in murine thigh and lung infection models. *J Antimicrob Chemother* 2010;65(9): 1984-90
43. Bergen PJ, Landersdorfer CB, Lee HJ, et al. 'Old' antibiotics for emerging multidrug-resistant bacteria. *Curr Opin Infect Dis* 2012;25(6):626-33
44. Bergen PJ, Landersdorfer CB, Zhang J, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of 'old' polymyxins: what is new? *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012;74(3):213-23
45. Tuon FF, Rigatto MH, Lopes CK, et al. Risk factors for acute kidney injury in patients treated with polymyxin B or colistin methanesulfonate sodium. *Int J Antimicrob Agents* 2013.
46. Alexandre P Zavascki (2014) Polymyxins for the treatment of extensively drug-resistant Gram-negative bacteria: from pharmacokinetics to bedside, *Expert Review of Antiinfective Therapy*, 12:5, 531-533
47. Sandri AM, Landersdorfer CB, Jacob J, et al. Population pharmacokinetics of intravenous polymyxin B in critically ill patients: implications for selection of dosage regimens. *Clin Infect Dis* 2013;57(4): 524-31.
48. Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, et al. Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and formed colistin in critically ill patients from a multicenter study provide dosing suggestions for various categories of patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55(7):3284-94.
49. Elias LS, Konzen D, Krebs JM, Zavascki AP. The impact of polymyxin B dosage on in-hospital mortality of patients treated with this antibiotic. *J Antimicrob Chemother* 2010;65(10):2231-7
50. Gounden R, Bamford C, van Zyl-Smit R, Cohen K, Maartens G. Safety and effectiveness of colistin compared with tobramycin for multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *BMC Infect Dis*. 2009;9:26.
51. Kallel H, Hergafi L, Bahloul M, et al. Safety and efficacy of colistin compared with imipenem in the treatment of ventilator-associated pneumonia: a matched case-control study. *Intensive Care Med*. 2007; 33(7):1162–1167.
52. Koomanachai P, Tiengrim S, Kiratisin P, Thamlikitkul V. Efficacy and safety of colistin (colistimethate sodium) for therapy of infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in Siriraj Hospital, Bangkok, Thailand. *Int J Infect Dis*. 2007;11(5):402–406.

- 53.**Falagas ME, Kasiakou SK. Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. *Crit Care* 2006; 10: R27.
- 54.**Pedersen MF, Pedersen JF, Adsen PO. A clinical and experimental comparative study of sodium colistimethate and polymyxin B sulfate. *InvestUrol* 1971;9:234–7.
- 55.**Kassamali Z, Danziger L. To B or not to B, that is the question: is it time to replace colistin with polymyxin B? *Pharmacotherapy*2015;35:17–21.
- 56.**Phe K, Lee Y, McDanel PM, Prasad N, Yin T, Figueroa DA, et al. In vitro assessment and multicenter cohort study of comparative nephrotoxicity rates associated with colistimethate versus polymyxin B therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:2740–6.
- 57.**Rigatto MH, Oliveira MS, Perdigao-Neto LV, Levin AS, Carrilho CM, Tanita MT, et al. Multicenter prospective cohort study of renal failure in patients treated with colistin versus polymyxin B. *Antimicrob Agents Chemother* 2016;60:2443–9.
- 58.**Konstantinos Z. Vardakas, Matthew E. Falagas. «Colistin versus polymyxin B for the treatment of patients with multidrug-resistant Gram-negative infections: a systematic review and meta-analysis.» *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2017: 233–238.
- 59.**Falagas ME, Rafailidis PI, Ioannidou E, Alexiou VG, Matthaïou DK, Karageorgopoulos DE, et al. Colistin therapy for microbiologically documented multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections: a retrospective cohort study of 258 patients. *Int J Antimicrob Agents* 2010;35:194–9.
- 60.**Roberts KD, Azad MAK, Wang J, Horne AS, Thompson PE, Nation RL, et al. Antimicrobial activity and toxicity of the major lipopeptide components of polymyxin B and colistin: last-line antibiotics against multidrug-resistant Gram-negative bacteria. *ACS Infect Dis* 2015;11:568–75.
- 61.**Spapen H, Jacobs R, Van Gorp V, Troubleyn J, Honore PM. Renal and neurological side effects of colistin in critically ill patients. *Ann Intensive Care*. 2011;1:14.
- 62.**Lu Q, Girardi C, Zhang M, Bouhemad B, Louchahi K, Petitjean O, et al. Nebulized and intravenous colistin in experimental pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Intensive Care Med* 2010;36:1147e55.

- 63.**Ali S Omrani, Wafa A Alfahad, Mohamed M Shoukri, Abeer M Baadani, et al. "High dose intravenous colistin methanesulfonate therapy is associated with high rates of nephrotoxicity; a prospective cohort study from Saudi Arabia." *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* , 2015: 14:3.
- 64.**Çigdem Yılmaz, Gülay Özcengiz. "Antibiotics: Pharmacokinetics, toxicity, resistance and multidrug efflux pumps." *Biochemical Pharmacology* 133, 2017: 43–62.
- 65.**C. Dai, J. Li, J. Li, New insight in colistin induced neurotoxicity with the mitochondrial dysfunction in mice central nervous tissues, *Exp. Toxicol. Pathol.* 65 (2013) 941–948.
- 66.**J. Wang, M. Yi, X. Chen, I. Muhammad, F. Liu, R. Li, et al., Effects of colistin on amino acid neurotransmitters and blood-brain barrier in the mouse brain, *Neurotoxicol. Teratol.* 55 (2016) 32–37.
- 67.**A. Dewan, M. Shoukat, Evaluation of risk of nephrotoxicity with high dose, extended-interval colistin administration, *Indian J. Crit. Care Med.* 18 (2014) 427–430.
- 68.**Moataz M. Hassan, Zied Gaifer, Ibrahim S. Al-Zakwani. «Incidence and risk factors of nephrotoxicity in patients on colistimethate sodium.» *International Journal of Clinical Pharmacy* , 2018: 40:444–449.
- 69.**Pike M, Saltiel E. Colistin- and polymyxin-induced nephrotoxicity: focus on literature utilizing the RIFLE classification scheme of acute kidney injury. *J Pharm Pract.* 2014;27:554–61.
- 70.**Ordooei Javan A, Shokouhi S, Sahraei Z. A review on colistin nephrotoxicity. *Eur J Clin Pharmacol.* 2015;71:801–10.
- 71.**Rattanaumpawan P, Ungprasert P, Thamlikitkul V. Risk factors for colistin-associated nephrotoxicity. *J Infect.* 2011;62:187–90.
- 72.**Bergen PJ, Li J, Nation RL. Dosing of colistin – back to basic PK/PD. *Current Opinion in Pharmacology* 2011;11:464–9.
- 73.**Plachouras D, Karvanen M, Friberg LE, Papadomichelakis E, Antoniadou A, Tsangaris I, et al. Population pharmacokinetic analysis of colistin methanesulfonate and colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by Gram-negative bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2009;53:3430–6.
- 74.**Nation RL, Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, Giamarellos-Bourboulis EJ, Paterson DL, et al. Updated US and European Dose Recommendations for Intravenous Colistin: How Do They Perform? *Clin Infect Dis.* 2016; 62(5):552±8

- 75.**Landersdorfer CB, Nation RL. Colistin: how should it be dosed for the critically ill? *SeminRespirCritCareMed*. 2015; 36(1):126±35
- 76.**Young DC, Zobell JT, Waters CD, et al. Optimization of anti-Pseudomonal antibiotics for cystic fibrosis pulmonary exacerbations: IV. Colistimethate sodium. *PediatrPulmonol*. 2013;48:1–7.
- 77.**Cystic Fibrosis Trust. *Antibiotic Treatment for Cystic Fibrosis: Report of the UK Cystic Fibrosis Trust Antibiotic Working Group*. 3rd ed. Bromley: Cystic Fibrosis Trust; 2009. Available from: http://www.cysticfibrosis.org.uk/media/82010/CD_Antibiotic_treatment_for_CF_May_09.pdf. Accessed May 9, 2014.
- 78.**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.
- 79.**Li J, Coulthard K, Milne R, et al. Steady-state pharmacokinetics of intravenous colistin methanesulphonate in patients with cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother*. 2003;52(6):987–992.
- 80.**Markou N, Markantonis SL, Dimitrakis E, Panidis D, Boutzouka E, Karatzas S, et al. 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;30:143–51.
- 81.** Joint Formulary Committee (2018) British National Formulary. Available at: <http://www.medicinescomplete.com> (Accessed: 8 April 2019)
- 82.**<https://gr.pinterest.com/pin/469992911094643436/?autologin=true>
- 83.**Chongshan Dai, Jichang Li, Shusheng Tang, Jian Li, Xilong Xiao. «Colistin-Induced Nephrotoxicity in Mice Involves the Mitochondrial, Death Receptor, and Endoplasmic Reticulum Pathways.» *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2014: 4075– 4085.
- 84.**<http://erx.gr/p/z/?type=spc&bcode=2801871703018>
- 85.**Joint Formulary Committee (2018-2019) British National Formulary For Children. Available at: <http://www.medicinescomplete.com> (Accessed: 8 April 2019)
- 86.**Tumbarello M, De Pascale G, Trecarichi EM, et al. Effect of aerosolized colistin as adjunctive treatment on the outcomes of microbiologically documented ventilator-associated pneumonia caused by colistin-only susceptible gram-negative bacteria. *Chest*. 2013;144(6):1768–1775.

- 87.**Schwaber MJ, Klarfeld-Lidji S, Navon-Venezia S, Schwartz D, Leavitt A, Carmeli Y. Predictors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* acquisition among hospitalized adults and effect of acquisition on mortality. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 1028–1033.
- 88.**Miao Zhao, Xiao-Jie Wu, Ya-Xin Fan, Ying-yuan Zhang, Bei-Ning Guo, et al. "Pharmacokinetics of colistin methanesulfonate (CMS) in healthy Chinese subjects after single and multiple intravenous doses." *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2018: 714-720.
- 89.**Littlewood JM, Koch C, Lambert PA, et al. A ten year review of colomycin. *Respir Med.* 2000;94(7):632–640.
- 90.**<https://www.wisegeek.com/what-is-an-icu.htm>
- 91.**<https://www.cardiac-alliance.org/wp-content/uploads/2015/05/The-ICU.jpg>
- 92.**<https://www.euromedica-rhodes.gr/monada-entatikis-therapias/?lang=el>
- 93.**Ivan Damjanov, Pathophysiology, 1st Edition – Respiratory system, 2019
- 94.**Ganong's Review of Medical Physiology, 24th Edition – Respiratory system, 2013
- 95.** Arthur Vander, James Sherman, Dorothy Luciano, Human Physiology – The Mechanisms of Body Function, 8th Edition, 2001
- 96.**https://el.wikipedia.org/wiki/Αναπνευστικό_σύστημα
- 97.**http://3.bp.blogspot.com/-ymI2woLaaS8/Ur8RqMLxFBI/AAAAAAAAADUo/_IK-EH8gVi0/s1600/anapneustiko.jpg
- 98.**Virginie Vitrat, Serge Hautefeuille, Cécile Janssen, David Bougon, Michel Sirodot, Leonardo Pagani. «Optimizing antimicrobial therapy in critically ill patients.» *Infection and Drug Resistance*, 2014: 261-271.
- 99.**Kollef MH, Sherman G, Ward S, Fraser VJ. Inadequate antimicrobial treatment of infections: a risk factor for hospital mortality among critically ill patients. *Chest* 1999;115: 432–474.
- 100.** Jawad A, Heritage J, Snelling AM, Gascoyne-Binzi DM, Hawkey PM. Influence of relative humidity and suspending menstrua on survival of *Acinetobacter* spp. on dry surfaces. *J Clin Microbiol* 1996;34:2881e7.
- 101.** Fournier PE, Richet H. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Clin Infect Dis* 2006;42:692e9.
- 102.** Marchaim D, Navon-Venezia S, Schwartz D, Tarabeia J, Fefer I, Schwaber MJ, et al. Surveillance cultures and duration of carriage of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol* 2007;45:1551e5.

- 103.** Hirsch EB, Tam VH. Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection on patient outcomes. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res.* 2010;10(4):441–451.
- 104.** Zarrilli R, Pournaras S, Giannouli M, Tsakris A. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. *Int J Antimicrob Agents.* 2013;41(1):11–19.
- 105.** Falagas ME, Maraki S, Karageorgopoulos DE, Kastoris AC, Mavromanolakis E, Samonis G. Antimicrobial susceptibility of multidrug-resistant (MDR) and extensively drug-resistant (XDR) Enterobacteriaceae isolates to fosfomycin. *Int J Antimicrob Agents.* 2010;35(3):240–243.
- 106.** Sherief El-Shazly, Ali Dashti, Leila Vali, Michael Bolaris, Ashraf S. Ibrahim. «Molecular epidemiology and characterization of multiple drug-resistant (MDR) clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*.» *International Journal of Infectious Diseases,* 2015: 42-49.
- 107.** Sunenshine RH, Wright MO, Maragakis LL, Harris AD, Song X, Hebden J, et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter* infection mortality rate and length of hospitalization. *Emerg Infect Dis* 2007;13:97–103.
- 108.** Doi Y, Husain S, Potoski BA, McCurry KR, Paterson DL. Extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Emerg Infect Dis* 2009;15:980–2.
- 109.** Lautenbach E, Synnestvedt M, Weiner MG, Bilker WB, Vo L, Schein J, et al. Epidemiology and impact of imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009;30:1186–92.
- 110.** Metan G, Sariguzel F, Sumerkan B. Factors influencing survival in patients with multi-drug-resistant *Acinetobacter* bacteraemia. *Eur J Intern Med* 2009;20: 540–4.
- 111.** Dizbay M, Tunccan OG, Sezer BE, Hizel K. Nosocomial imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections: epidemiology and risk factors. *Scand J Infect Dis* 2010;42:741–6.
- 112.** Talbot GH, Bradley J, Edwards Jr JE, Gilbert D, Scheld M, Bartlett JG. Bad bugs need drugs: an update on the development pipeline from the Antimicrobial Availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2006;42:657–68.
- 113.** Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *ClinMicrobiolRev* 2008;21:538–82. 11-13

- 114.** Norman Zinne, Marcus Krueger, Doris Hoeltig, Burkhard Tuemmler, et al. "Treatment of infected lungs by ex vivo perfusion with high dose antibiotics and autotransplantation: A pilot study in pigs." *PLOS ONE*, 2018: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193168>.
- 115.** <https://www.pharmaceutical-journal.com/download?ac=1066653>
- 116.** Kumar A, Roberts D, Wood KE, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med*. 2006;34(6): 1589–1596.
- 117.** Kumar A, Ellis P, Arabi Y, et al; Cooperative Antimicrobial Therapy of Septic Shock Database Research Group. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock. *Chest*. 2009;136(5):1237–1248.
- 118.** Konstantinos Z. Vardakas, Georgios L. Voulgaris, George Samonis, Matthew E. Falagas. «Inhaled colistin monotherapy for respiratory tract infections in adults without cystic fibrosis: a systematic review and meta-analysis.» *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2018: 1-9.
- 119.** Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, Muscedere J, Sweeney DA, Palmer LB, et al. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis* 2016;63:575–82.
- 120.** Abdellatif S, Trifi A, Daly F, Mahjoub K, Nasri R, Ben Lakhel S. Efficacy and toxicity of aerosolised colistin in ventilator-associated pneumonia: a prospective, randomised trial. *AnnIntensiveCare*2016;6:26.
- 121.** Ari A. Aerosol therapy in pulmonary critical care. *RespirCare* 2015;60:858–74.
- 122.** Dhand R, Guntur VP. How best to deliver aerosol medications to mechanically ventilated patients. *ClinChestMed*2008;29:277–96, vi.
- 123.** Ari A, Fink JB. Differential medical aerosol device and interface selection in patients during spontaneous, conventional mechanical and noninvasive ventilation. *JAerosolMedPulmDrugDeliv*2016;29:95–106.
- 124.** Maddison J, Dodd M, Webb AK. Nebulized colistin causes chest tightness in adults with cystic fibrosis. *Respir Med*. 1994;88(2):145–147.

- 125.** Dodd ME, Abbott J, Maddison J, Moorcroft AJ, Webb AK. Effect of tonicity of nebulised colistin on chest tightness and pulmonary function in adults with cystic fibrosis. *Thorax*. 1997;52(7):656–658.
- 126.** Cunningham S, Prasad A, Collyer L, Carr S, Lynn IB, Wallis C. Bronchoconstriction following nebulised colistin in cystic fibrosis. *Arch Dis Child*. 2001;84(5):432–433.
- 127.** Tai-Chin Hsieh, Fu-Lun Chen, Tsong-Yih Ou, Shio-Shin Jean, Wen-Sen Lee. «Role of aerosolized colistin methanesulfonate therapy for extensively-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* complex pneumonia and airway colonization.» *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 2016: 523-530.
- 128.** Kuo SC, Lee YT, Yang SP, Chen CP, Chen TL, Hsieh SL, et al. Eradication of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* from the respiratory tract with inhaled colistin methanesulfonate: a matched case-control study. *Clin Microbiol Infect* 2012;18:870e6.
- 129.** Mariam Ibrahim, Rahul Verma, Lucila Garcia-Contreras. «Inhalation drug delivery devices: technology update.» *Medical Devices: Evidence and Research* , 2015: 131–139.
- 130.** Tony Velkov, Kade D. Roberts, Roger L. Nation, Jiping Wang, Philip E. Thompson, Jian Li. «Teaching ‘Old’ Polymyxins New Tricks: New-Generation Lipopeptides Targeting Gram-Negative ‘Superbugs’.» *ACS Chem. Biol.* , 2014: 1172–1177.
- 131.** Abiola O. Olaitan, Serge Morand, Jean-Marc Rolain. "Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria." *Frontiers in Microbiology*, 2014: 5:643.
- 132.** Ana C. Gales, Harald Seifert, Deniz Gur, Mariana Castanheira, Ronald N. Jones, Helio S. Sader. "Antimicrobial Susceptibility of *Acinetobacter calcoaceticus*–*Acinetobacter baumannii* Complex and *Stenotrophomonas maltophilia* Clinical Isolates: Results From the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997–2016)." *Open Forum Infectious Diseases*, 2019: 34-46.
- 133.** Baron S, Hadjadj L, Rolain J-M, Olaitan AO. Molecular mechanisms of polymyxin resistance: knowns and unknowns. *Int J Antimicrob Agents*. 2016;48:583–91.

- 134.** Liu Y-Y, Wang Y, Walsh TR, Yi L-X, Zhang R, Spencer J, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis.* 2016;16:161–8.
- 135.** Haiyan Long, Yu Feng, Ke Ma, Lu Liu, Alan McNally, Zhiyong Zong. «The co-transfer of plasmid-borne colistin-resistant genes *mcr-1* and *mcr-3.5*, the carbapenemase gene *bla_{NDM-5}* and the 16S methylase gene *rmtB* from *Escherichia coli*.» *SCIENTIFIC REPORTS*, 2019: 9:696.
- 136.** Craig R. MacNair, Jonathan M. Stokes, Lindsey A. Carfrae et al. «Overcoming *mcr-1* mediated colistin resistance with colistin in combination with other antibiotics.» *NATURE COMMUNICATIONS*, 2018: 9:458.
- 137.** Forrest A, Silveira FP, Thamlikitkul V, et al. Toxicodynamics for colistin-associated changes in creatinine clearance. In: *Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2014*. Washington DC, 2014.
- 138.** Sorli L, Luque S, Grau S, Berenguer N, Segura C, Montero MM, et al. Trough colistin plasma level is an independent risk factor for nephrotoxicity: a prospective observational cohort study. *BMC Infect Dis* 2013; 13: 380
- 139.** Yu-Wei Lin, Qi Tony Zhou, Yang Hu, Nikolas J. Onufrak et al. "Pulmonary Pharmacokinetics of Colistin following Administration of Dry Powder Aerosols in Rats." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2017: 61:e00973-17.
- 140.** Matthieu Boisson, Nicolas Gregoire, Marielle Cormier et al. "Pharmacokinetics of nebulized colistin methanesulfonate in critically ill patients" *J Antimicrob Chemother* 2017; 72: 2607–2612
- 141.** Matthieu Boisson, Matthieu Jacobs, Nicolas Grégoire. Comparison of Intrapulmonary and Systemic Pharmacokinetics of Colistin Methanesulfonate (CMS) and Colistin after Aerosol Delivery and Intravenous Administration of CMS in Critically Ill Patients.» *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* , 2014: 7331–7339.
- 142.** file:///C:/Users/User/Desktop/colistin-summary-report-1-committee-veterinary-medicinal-products_en.pdf
- 143.** Argyris S Michalopoulos, Matthew E Falagas. "Colistin: recent data on pharmacodynamics properties and clinical efficacy in critically ill patients." *Annals of Intensive Care* , 2011: 1:30.

- 144.** Mandell G, Bennett J, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases, 7th edn. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone Elsevier, 2010.
- 145.** Poirel L, Jayol A, Nordmann P. 2017. Polymyxins: antibacterial activity, susceptibility testing, and resistance mechanisms encoded by plasmids or chromosomes. *Clin Microbiol Rev* 30:557–596
- 146.** Bing Fan, Jie Guan, Xiumei Wang, Yulong Cong. «Activity of Colistin in Combination with Meropenem, Tigecycline, Fosfomycin, Fusidic Acid, Rifampin or Sulbactam against Extensively Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii* in a Murine Thigh-Infection Model.» *PLOS ONE* , 2016: 10.1371.
- 147.** Paul M, Carmeli Y, Durante-Mangoni E, Mouton JW, Tacconelli E, Theuretzbacher U, et al. Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother.* 2014; 69:2305–2309.
- 148.** Hill D, Rose B, Pajkos A et al. Antibiotic susceptibilities of *Pseudomonas aeruginosa* isolates derived from patients with cystic fibrosis under aerobic, anaerobic, and biofilm conditions. *J Clin Microb* 2005; 43: 5085–5090.
- 149.** Claudia Stein, Oliwia Makarewicz, Jürgen A. Bohnert, Yvonne Pfeifer, Miriam Kesselmeier, Stefan Hagel, Mathias W. Pletz. « Three Dimensional Checkerboard Synergy Analysis of Colistin, Meropenem, Tigecycline against Multidrug-Resistant Clinical *Klebsiella pneumoniae* Isolates.» *PLOS ONE* , 2015: DOI:10.1371.
- 150.** <https://reference.medscape.com/drug/colistimethate-sodium-coly-mycin-m-colistin-342578#5>
- 151.** Stephanie J. Wallace, Jian Li, Craig. R. Rayner et al. «Stability of Colistin Methanesulfonate in Pharmaceutical Products and Solutions for Administration to Patients.» *ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY*, 2008: 3047–3051.
- 152.** Chepyala D, Tsai IL, Sun HY, Lin SW, Kuo CH,. "Development and validation of a high-performance liquid chromatography-fluorescence detection method for the accurate quantification of colistin in human plasma." *Journal of Chromatography B*, 2015: 48-54.
- 153.** 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." *J Antimicrob Chemother*, 2006: 57(2):306-11.

- 154.** Zoe E. Athanassa, Sophia L. Markantonis, Marina-Zoe F. Fousteri et al. «Pharmacokinetics of inhaled colistimethate sodium (CMS) in mechanically ventilated critically ill patients.» *Intensive Care Medicine*, November 2012: 1779-1786.
- 155.** Yapa SWS, Li J, Patel K, Wilson JW, Dooley MJ et al. «Pulmonary and systemic pharmacokinetics of inhaled and intravenous colistin methanesulfonate in cystic fibrosis patients: targeting advantage of inhalational administration.» *Antimicrob Agents Chemother.* , May 2014: 58(5):2570-9.
- 156.** Lu Q, Girardi C, Zhang M, Bouhemad B et al. «Nebulized and intravenous colistin in experimental pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa*.» *Intensive Care Med*, 2010: 1147-55.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α

1. Συγκεντρωτικός πίνακας ασθενών που συμμετείχαν στην εργασία.

No	Φύλο	Ηλικία	Διάγνωση	Ουρία (mg/dl)	κ/α BAL	Είδος λοίμωξης
01	Άρρεν	56	Πνευμονία δεξιά	40	-	Πνευμονία
02	Άρρεν	74	Μετεγχειρητική αναπνευστική ανεπάρκεια	42	Acinetobacter baumannii	VAT
03	Θήλυ	54	Αμφοτερόπλευρη πνευμονία	33	-	Πνευμονία
04	Άρρεν	57	Μεταποφρακτική πνευμονία	60	Acinetobacter baumannii	Πνευμονικό απόστημα
05	Άρρεν	65	Εμπύημα αριστερά	13	-	VAT
06	Άρρεν	74	Ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο – Οξύ στεφανιαίο σύνδρομο	25	Acinetobacter baumannii	VAT
07	Άρρεν	-	Αμφοτερόπλευρη πνευμονία – ΧΑΠ (χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια) - ΣΑΥ (σύνδρομο απνοιών-υποπνοιών στον ύπνο)	43	Acinetobacter baumannii	Πνευμονία
08	Άρρεν	75	-	48	Acinetobacter baumannii	-
09	Άρρεν	-	-	73	-	-
10	Άρρεν	69	Πνευμονίτιδα από αμιοδαρόνη	39	Acinetobacter baumannii	Πνευμονία
11	Άρρεν	87	Οξεία αναπνευστική ανεπάρκεια	61	Acinetobacter baumannii, Klebsiella pneumoniae	Πνευμονία
12	Άρρεν	42	Γρίπη Β	37	Acinetobacter baumannii	VAT
13	Άρρεν	56	Πνευμονία δεξιά	48	Acinetobacter baumannii	VAT
14	Άρρεν	69	Ενδονοσοκομειακή πνευμονία αριστερά	84	Acinetobacter baumannii	Πνευμονία
15	Άρρεν	67	Αναπνευστικό arrest – Παρόξυνση ΧΑΠ	88	Acinetobacter baumannii	VAT
16	Θήλυ	69	Εμπύημα (αρ)	33	Acinetobacter baumannii	VAT
17	Άρρεν	73	Αμφοτερόπλευρη πνευμονία	43	Klebsiella pneumoniae	VAT
18	Θήλυ	89	Οξύ στεφανιαίο σύνδρομο	78	Acinetobacter baumannii	Πνευμονία

19	Άρρεν	87	Οξεία αναπνευστική ανεπάρκεια – Λοίμωξη αναπνευστικού	106	Klebsiella pneumoniae	VAT
20	Άρρεν	52	Πνευμονιοκοκκική πνευμονία	50	Acinetobacter baumanii	VAT
21	Θήλυ	56	Αναταχθείσα ανακοπή	31	Acinetobacter baumanii, Klebsiella pneumoniae	Πνευμονία
22	Άρρεν	57	Κρανιοεγκεφαλική κάκωση – Πνευμονία από εισρόφηση	86	Acinetobacter baumanii	Πνευμονία
23	Άρρεν	81	Πνευμονία από εισρόφηση	37	-	Πνευμονία
24	Άρρεν	67	-	-	-	Πνευμονία
25	Θήλυ	75	Αποφρακτικός ειλεός	80	-	-
26	Θήλυ	70	Πανκολίτιδα από Clostridium difficile	60	-	Πνευμονία
27	Άρρεν	82	Οξεία αναπνευστική ανεπάρκεια – Λοίμωξη αναπνευστικού	123	Acinetobacter baumanii	Πνευμονία
28	Θήλυ	78	Status epilepticus	60	-	Πνευμονία
29	Άρρεν	86	Οξύ πνευμονικό οίδημα	71	-	Πνευμονία
30	Άρρεν	57	Ισχαιμία εντέρου	149	Acinetobacter baumanii	Πνευμονία

2. Αναλυτικός πίνακας συγκεντρώσεων κολιστίνης στα βιολογικά δείγματα.

Patient	NOMINAL SAMPLING TIME(h)	ACTUAL SAMPLING TIME (MIN)	PLASMA CONCENTRATION ng/mL	ELF CONCENTRATION ng/mL
1	0	0	0,0	0,0
1	0,50	40	56,6	-
1	1,00	80	137,4	1731,5
1	2,00	130	238,6	-
1	4,00	255	191,6	8265,6
1	6,00	380	105,4	4015,6
1	8,00	495	68,5	1490,9
2	0	0	0,0	0,0
2	1,00	75	154,3	1205,3
2	2,00	137	284,0	-
2	4,00	254	218,3	5898,6
2	6,00	373	125,4	2909,3
2	8,00	493	64,2	1096,4
3	0	0	0,0	0,0
3	0,50	40	71,1	-
3	1,00	72	143,3	1045,9
3	2,00	131	276,6	-
3	4,00	254	208,7	9623,9
3	6,00	373	128,0	5207,0
3	8,00	486	67,2	1239,9
4	0	0	0,0	0,0
4	0,50	40	95,3	-
4	1,00	73	197,8	1133,8
4	2,00	130	365,1	-
4	4,00	261	226,6	6485,6
4	6,00	438	142,0	2478,3
4	8,00	480	83,5	1274,8
5	0	0	0,0	0,0
5	0,50	40	67,3	-
5	1,00	74	125,8	941,3
5	2,00	125	331,1	-
5	4,00	260	197,3	6357,9
5	6,00	381	102,5	3659,8
5	8,00	494	75,8	1332,9
6	0	0	0,0	0,0
6	0,50	40	984,5	-

6	1,00	75	1326,2	3218,7
6	2,00	130	1922,4	3023,6
6	4,00	255	3986,7	1266,8
6	6,00	378	2195,5	-
6	8,00	490	1068,2	929,6
7	0	0	0,0	0,0
7	0,50	41	452,9	-
7	1,00	76	2523,0	12420,4
7	2,00	131	5400,2	-
7	4,00	260	3389,6	2673,5
7	6,00	374	1404,5	814,9
7	8,00	500	573,5	1257,7
8	0	0	0,0	0,0
8	0,50	120	442,4	-
8	1,00	155	2845,3	61481,8
8	2,00	210	8512,2	-
8	4,00	330	6080,2	20181,5
8	6,00	453	893,7	3911,0
8	8,00	632	583,8	1584,5
9	0	0	0,0	0,0
9	0,50	105	4807,2	-
9	1,00	145	6351,2	11944,6
9	2,00	195	3157,6	-
9	4,00	322	1737,7	7928,6
9	6,00	435	881,2	2053,5
9	8,00	555	608,7	3753,9
10	0	0	0,0	0,0
10	0,50	90	952,8	-
10	1,00	120	1198,3	2558,7
10	2,00	180	2226,2	-
10	4,00	300	3014,3	5572,8
10	6,00	420	1599,3	756,6
10	8,00	540	1015,9	563,7
11	0	0	0,0	0,0
11	0,50	60	525,1	-
11	1,00	90	3904,7	160,5
11	2,00	150	1822,5	-
11	4,00	269	422,4	3078,1
11	6,00	388	267,0	20944,5
11	8,00	510	132,8	4857,3

12	0	0	0,0	0,0
12	0,50	55	130,9	-
12	1,00	85	1374,2	65,5
12	2,00	145	3414,8	-
12	4,00	265	2142,9	171,9
12	6,00	390	169,1	7663,8
12	8,00	510	158,7	1421,7
13	0	0	0,0	0,0
13	0,50	45	634,0	-
13	1,00	75	1372,9	93,2
13	2,00	135	5189,2	-
13	4,00	256	743,0	166,5
13	6,00	380	433,0	3625,8
13	8,00	495	368,9	325,0
14	0	0	0,0	0,0
14	0,50	57	157,1	-
14	1,00	87	842,4	4073,7
14	2,00	145	4791,8	-
14	4,00	265	1088,5	3503,2
14	6,00	392	964,2	32235,7
14	8,00	512	912,5	2325,6
15	0	0	0,0	0,0
15	0,50	50	768,6	-
15	1,00	80	2738,9	468,2
15	2,00	140	1837,6	-
15	4,00	260	938,3	3699,3
15	6,00	380	563,6	57875,8
15	8,00	495	349,4	935,3
16	0	0	0,0	0,0
16	0,50	54	147,4	-
16	1,00	84	2738,8	463,3
16	2,00	144	1970,1	-
16	4,00	264	885,7	955,9
16	6,00	384	656,6	4812,4
16	8,00	504	287,7	1431,3
17	0	0	0,0	0,0
17	0,50	45	550,7	-
17	1,00	75	2551,7	384,0
17	2,00	135	1264,0	-
17	4,00	255	645,5	11271,7
17	6,00	375	239,4	13039,5
17	8,00	495	168,2	464,9

18	0	0	0,0	0,0
18	0,50	45	633,1	-
18	1,00	75	2277,3	409,7
18	2,00	135	1705,9	-
18	4,00	255	944,1	8498,4
18	6,00	375	675,4	18844,7
18	8,00	495	399,8	2151,4
19	0	0	0,0	0,0
19	0,50	57	463,2	-
19	1,00	87	4130,5	611,0
19	2,00	147	1698,4	-
19	4,00	267	984,8	1924,1
19	6,00	387	481,6	11551,4
19	8,00	507	130,2	4224,9
20	0	0	0,0	0,0
20	0,50	52	607,1	-
20	1,00	94	1349,2	824,0
20	2,00	146	1007,8	-
20	4,00	272	704,7	189,4
20	6,00	390	321,3	123,1
20	8,00	519	273,7	175,8
21	0	0	0,0	0,0
21	0,50	48	521,3	-
21	1,00	78	1059,4	1975,3
21	2,00	138	829,0	-
21	4,00	258	775,1	358,5
21	6,00	378	522,8	586,3
21	8,00	498	445,1	148,5
22	0	0	0,0	0,0
22	0,50	70	426,1	-
22	1,00	100	2431,1	745,1
22	2,00	160	1881,3	-
22	4,00	280	890,6	8467,2
22	6,00	400	406,5	12739,4
22	8,00	520	0,0	1290,1
23	0	0	0,0	0,0
23	0,50	60	995,8	-
23	1,00	90	2618,7	647,8
23	2,00	150	1164,8	-
23	4,00	270	874,4	1788,7
23	6,00	390	559,0	7810,3
23	8,00	510	174,8	2444,5

24	0	0	0,0	0,0
24	0,50	70	986,0	-
24	1,00	100	2519,9	1515,7
24	2,00	160	1587,1	-
24	4,00	280	872,3	5060,6
24	6,00	-	NO SAMPLE	NO SAMPLE
24	8,00	-	NO SAMPLE	NO SAMPLE
25	0	0	0,0	0,0
25	0,50	73	784,1	-
25	1,00	103	1962,9	1248,4
25	2,00	163	1233,3	-
25	4,00	303	691,3	2206,4
25	6,00	403	322,7	5048,7
25	8,00	523	173,5	97,9
26	0	0	0,0	0,0
26	0,50	70	345,6	-
26	1,00	100	2847,9	2532,3
26	2,00	160	2329,1	-
26	4,00	280	1040,0	1450,2
26	6,00	400	726,7	9347,6
26	8,00	520	390,2	0,0
27	0	0	0,0	0,0
27	0,50	70	656,2	-
27	1,00	100	2027,9	3193,1
27	2,00	160	1075,1	-
27	4,00	280	777,3	21977,2
27	6,00	400	276,6	34637,9
27	8,00	460	113,5	2499,3
28	0	0	0,0	0,0
28	0,50	60	744,9	-
28	1,00	90	1757,6	743,5
28	2,00	150	948,8	-
28	4,00	-	NO SAMPLE	NO SAMPLE
28	6,00	-	NO SAMPLE	NO SAMPLE
28	8,00	-	NO SAMPLE	NO SAMPLE
29	0	0	0,0	0,0
29	0,50	60	636,6	-
29	1,00	90	1775,2	1009,5
29	2,00	150	552,2	-
29	4,00	280	266,2	1505,0
29	6,00	390	218,0	4220,5
29	8,00	518	156,7	795,6

30	0	0	0,0	0,0
30	0,50	65	1096,7	-
30	1,00	95	2366,5	913,4
30	2,00	155	714,7	-
30	4,00	285	466,3	27486,9
30	6,00	395	316,6	5571,2
30	8,00	515	214,2	6519,1

3. Πίνακας τιμών ουρίας που υπολογίστηκαν στο πλάσμα και το BAL.

ΑΣΘΕΝΗΣ	ΧΡΟΝΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ	ΤΙΜΕΣ ΟΥΡΙΑΣ	
		ΠΛΑΣΜΑ	BAL
22	t0	74,50980	15,19608
	t1	49,50980	30,39216
	t4	103,43137	26,47059
	t6	100,49020	31,37255
	t8	50,98039	3,43137
23	t0	26,96078	1,96078
	t1	44,60784	14,21569
	t4	34,80392	11,76471
	t6	27,45098	8,82353
	t8	45,58824	2,45098
24	t0	94,60784	24,50980
	t1	129,90196	14,70588
	t4	61,76471	5,39216
25	t0	71,07843	8,33333
	t1	65,68627	13,23529
	t4	49,01961	21,56863
	t6	48,52941	30,88235
	t8	33,82353	21,56863
26	t0	63,23529	35,29412
	t1	47,54902	10,50000
	t4	49,01961	39,00000
	t6	48,03922	18,62745
	t8	40,68627	9,80392

27	t0	59,80392	15,19608
	t1	74,01961	7,50000
	t4	64,70588	3,43137
	t6	66,66667	7,50000
	t8	65,68627	23,52941
28	t0	38,23529	28,50000
	t1	79,41176	26,50000
29	t0	25,98039	11,27451
	t1	46,07843	14,70588
	t4	32,35294	25,98039
	t6	36,76471	35,78431
	t8	49,01961	22,54902
30	t0	98,52941	12,25490
	t1	95,09804	60,78431
	t4	91,17647	6,37255
	t6	53,43137	39,21569
	t8	90,68627	5,00000