

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
Γ΄ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Ε.Α. ΠΙΚΟΥΛΗΣ

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΛΟΙΜΟΓΟΝΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΤΕΛΕΧΩΝ
***KLEBSIELLA PNEUMONIAE* ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΟΥΝ ΚΡC-2**
ΜΕ ΤΗΝ ΕΓΚΑΙΡΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΣΥΝΔΥΑΣΤΙΚΗΣ
ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΦΕΡΓΑΔΑΚΗ ΣΩΤΗΡΙΑ
ΙΑΤΡΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2021

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

Κ ΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ, ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ,
ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝ
ΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ, ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙ
ΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ
ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ ἩΓΗΣΑΣΘΕ
ΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗ
Ν ἸΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΑΣΘΑΙ, Κ
ΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ, Κ
ΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ἸΥΤΕΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣ ἸΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝ
ΕΕΙΝ ἈΡΡΕΣΙ, ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ,
ἩΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ἈΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥ
ΓΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ
ΛΟΙΠΗΣ ἈΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣ
ΘΑΙ ΥἴΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝ
ΤΟΣ, ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ἸΡ
ΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ, ἸΗΤΡΙΚΩ, ἈΛΛΩ, ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ
ΔΙΔΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ὈΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟ
ΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗ
ΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ἈΔΙΚΗ, ΕΙΡΞΕΙΝ. **¶** ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ
ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΤΙΜΟΝ, ΟΥΔΕΥ
ΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ ὈΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥ
ΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. **¶** ἈΓΝΩΣ Δ
Ε ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝ
ΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. **¶** ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘ
ΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ἈΝΔΡΑΣΙ ΠΡ
ΗΪΟΣ ΤΗΣΔΕ. **¶** ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ἈΝ ΕΣΩ,
ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ὈΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤ
ΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ἈΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ, Τ
ΗΣ ΤΕ ἈΛΛΗΣ ΚΑΙ ἈΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥ
ΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ἈΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡ
ΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ. **¶** Ἀ Δ' ἈΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ,
Ἡ ἸΔΩ, Ἡ ΔΚΟΥΣΩ, Ἡ ΚΑΙ ἈΝΕΥ ΘΕΡΑΠΗΤΗΣ ΚΑΤΑ Β
ΙΟΝ ἈΝΘΡΩΠΩΝ, Ἀ ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ
ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ἈΡΡΗΤΑ ἩΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟ
ἸΑΥΤΑ. **¶** ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕ
Ἀ ΠΟΙΕΟΝΤΙ, ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ, ΕἴΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘ
ΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ, ΠΑΡΑ Π
ΑΣΙΝ ἈΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΔΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙ
ΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΩΝ.

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 22/12/2014

Ημερομηνία κατάθεσης θέματος και πρωτοκόλλου: 23/03/2015

Ημερομηνία κατάθεσης πρώτης έκθεσης προόδου: 08/01/2016

Ημερομηνία κατάθεσης δεύτερης έκθεσης προόδου: 27/01/2017

Ημερομηνία κατάθεσης τρίτης έκθεσης προόδου: 15/07/2021

Ημερομηνία κατάθεσης διδακτορικής διατριβής: 15/07/2021

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Ε.Π. Μισιακός	Καθηγητής, Επιβλέπον μέλος ΔΕΠ
Α.Ν. Μαχαίρας	Καθηγητής
Ε.Ι. Γιαμαρέλλος-Μπουρμπούλης	Καθηγητής

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Ε.Π. Μισιακός	Καθηγητής, Επιβλέπον μέλος ΔΕΠ
Α.Ν. Μαχαίρας	Καθηγητής
Ε.Ι. Γιαμαρέλλος-Μπουρμπούλης	Καθηγητής
Χ. Ρούτση	Καθηγήτρια
Ε. Χατζηαγγελάκη	Καθηγήτρια
Ν. Ζάβρας	Αναπληρωτής Καθηγητής
Α. Παπαδόπουλος	Αναπληρωτής Καθηγητής

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής: Καθηγητής Π.Π. Σφηκάκης

Στους γονείς μου

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	Σελ.
Βιογραφικό σημείωμα	6
Αντί προλόγου	10
Γενικό μέρος	11
1. Εισαγωγή	12
2. Το μόριο της τιγκεκυκλίνης	13
3. Αντιμικροβιακό φάσμα της τιγκεκυκλίνης	13
4. Φαρμακοκινητική/Φαρμακοδυναμική της τιγκεκυκλίνης	15
5. Κλινικές εφαρμογές της τιγκεκυκλίνης	17
5.1 Επιπλεγμένες δερματικές και ενδοκοιλιακές λοιμώξεις	18
5.2 Άλλες κλινικές εφαρμογές	23
6. Κλινική αποτελεσματικότητα και ασφάλεια της τιγκεκυκλίνης	30
Ειδικό μέρος	38
1. Εισαγωγή	39
2. Υλικά και μέθοδοι	40
3. Αποτελέσματα	48
4. Συζήτηση	99
Ελληνική περίληψη	102
Αγγλική περίληψη	103
Βιβλιογραφία	104

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Όνοματεπώνυμο: Φεργαδάκη Σωτηρία

Ημερ. Γέννησης: 22 Μαΐου 1982

Τόπος Γέννησης: Αθήνα

ΣΠΟΥΔΕΣ

2000-2007: Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Βαθμός: «Άριστα»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΕΣ ΣΠΟΥΔΕΣ

2009-2011: Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

«Ελάχιστα επεμβατική χειρουργική, ρομποτική χειρουργική και τηλεχειρουργική». Βαθμός: «Άριστα»

ΓΛΩΣΣΕΣ

Αγγλικά: Certificate of Proficiency in English του Πανεπιστημίου του Cambridge

(Δεκέμβριος 1997)

Γαλλικά: Diplome d' Etudes en Langue Francaise D.E.L.F. 1er Degre

(Αύγουστος 1999)

Σουηδικά: Τάξη Α στο Διδασκαλείο Ξένων Γλωσσών του ΕΚΠΑ

(Ιούνιος 2008)

ΓΝΩΣΗ Η/Υ

2008: Πιστοποίηση ECDL

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

2007-2009: Παρακολούθηση στην Α' Παν/κή Ουρολογική Κλινική του Λαϊκού Νοσοκομείου Αθηνών

2010-2012: Εκπλήρωση υποχρεωτικής υπηρεσίας υπαίθρου στο Κ.Υ. Έμπωνα, Ρόδος

2012-2013: Ειδικότητα στη Γενική Χειρουργική στο Γ.Ν. Χίου

2014-2015: Επιστημονικός συνεργάτης Δ' Παθολογικής Κλινικής Πανεπιστημίου Αθηνών, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο ΑΤΤΙΚΟΝ

2015-2019: Ειδικότητα στην Ωτορινολαρυγγολογική Κλινική του 417 Γ.Ν. ΝΙΜΤΣ

2019-Σήμερα: Εργασία στην Ωτορινολαρυγγολογική Κλινική του 417 Γ.Ν. ΝΙΜΤΣ

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΑ ΙΑΤΡΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Adamakis I, Tyritzis SI, Vasileiou I, Katafigiotis I, Leotsakos I, **Fergadaki S**, Stravodimos KG, Constantidides CA. Recurrent urethrovesical anastomotic strictures following artificial urinary sphincter implantation: a case report. J Med Case Rep. 2012; 6:94.
2. Papagianni E, Kosmidou P, **Fergadaki S**, Pallantzas A, Skandalakis P, Fillipou D. Spinal accessory nerve duplication: A case report and literature review. Case Rep Otolaryngol. 2018; 2018: 1027831.
3. **Fergadaki S**, Renieris G, Machairas N, Sabracos L, Droggiti DI, Misiakos E, Giamarellos-Bourboulis EJ. Efficacy of tigecycline single or in combination for experimental infections by KPC carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. Int J Antimicrob Agents. 2021; 106384.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΙΑΤΡΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Τυριτζής ΣΙ, Σαλάκος Χ, Παπαναστασίου Δ, **Φεργαδάκη Σ**, Γεροπούλου Ε, Κωνσταντινίδης ΚΑ. Διπλός τυφλός ουρητηρικός διπλασιασμός: μια σπάνια ουρολογική οντότητα. Ελληνική Ουρολογία. 2009; 21(2):145-7.
2. Βασιλάκης ΠΓ, Κουταλέλλης ΓΙ, Γλουσιάνου ΓΙ, Γεωργαντής ΑΠ, **Φεργαδάκη ΣΓ**, Κατσάνης ΣΕ. Βλεννώδες αδενοκαρκίνωμα του προστάτη. Ελληνική ουρολογία. 2013; 25(1): 75-7.

ΒΡΑΒΕΙΑ

1. Έπαινος του Επάθλου «Σωτήρης Παπασταμάτης» του 40^{ου} Ετησίου Πανελληνίου Ιατρικού Συνεδρίου (Μάιος 2014, Αθήνα) για την εργασία: «Ένας νέος εκλεκτικός μηχανισμός ανοσιακής απόκρισης των μονοκυττάρων στην *Candida albicans*: μεταβολές σε σοβαρή σήψη.» Πιστίκη Α, Τσαγκάρης Η, Αντωνάκος Ν, Γεωργίτση Μ, Δρογγίτη ΔΕ, Πελεκάνος Ν, **Φεργαδάκη Σ**, Γιαμαρέλλος- Μπουρμπούλης ΕΙ.

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. **Fergadaki S**, Sabracos L, Droggiti DI, Georgitsi M, Misiakos E, Giamarellos-Bourboulis EJ. Addition of tigecycline in the treatment regimen is mandatory for the management of infections by carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, April 2016, Amsterdam, Netherlands. (αναρτημένη ανακοίνωση)

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. Μούκας Θ, **Φεργαδάκη Σ**, Μητσού Γ, Βλαχογιώργου Α, Τουζένη Γ, Καρυδάκη Κ, Γουδαμάνης Ι. Η μελέτη της Έμπωνας στην αντιμετώπιση της υπερουριχαιμίας-η μελέτη ΕΤΟΥΑ (EMPONAS TRIAL ON URIC ACID). 24^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γενικής Ιατρικής 2012.

2. **Φεργαδάκη Σ**, Μούκας Θ, Μητσού Γ, Τουζένη Γ, Βλαχογιώργου Κ, Καρυδάκη Κ, Γουδαμάνης Ι. Αντιμετώπιση ρινορραγιών σε επίπεδο πρωτοβάθμιας φροντίδας υγείας. 24^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γενικής Ιατρικής 2012.
3. Μούκας Θ, **Φεργαδάκη Σ**, Βλαχογιώργου Α, Τουζένη Γ, Μητσού Γ, Φαναράκη Ε, Καρυδάκη Κ. Εφηβεία και καπνιστική συνήθεια. 24^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γενικής Ιατρικής 2012.
4. Μούκας Θ, **Φεργαδάκη Σ**, Φαναράκη Ε, Βλαχογιώργου Α, Μητσού Γ, Τουζένη Γ. Οξεία μέθη σε ανήλικους- ένα σύγχρονο πρόβλημα δημόσιας υγείας. 24^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γενικής Ιατρικής 2012.
5. Μούκας Θ, Τουζένη Γ, **Φεργαδάκη Σ**, Βλαχογιώργου Α, Μητσού Γ, Φαναράκη Ε. Πνευμονική εμβολή- διάγνωση στην πρωτοβάθμια φροντίδα υγείας. 24^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γενικής Ιατρικής 2012.
6. Μούκας Θ, **Φεργαδάκη Σ**, Μητσού Γ, Τουζένη Γ, Καρυδάκη Κ. Παρακολούθηση και ρύθμιση διαβητικών ασθενών στην πρωτοβάθμια φροντίδα υγείας- η εμπειρία δύο ετών στην χρήση φορητής συσκευής μέτρησης γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης. 38^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο 2012.
7. Μουζόπουλος Γ, Παραγή Α, Σκευοφύλαξ Ι, **Φεργαδάκη Σ**, Πάτρα Ε, Νομικός Γ, Βασιλειάδης Β. Διήθηση λαγόνιας περιτονίας του μηρού ως προφύλαξη σε ασθενείς υψηλού κινδύνου για παραλήρημα μετά από κάταγμα ισχίου. 32^ο Συνέδριο Ο.Τ.Ε.ΜΑ.Θ 2013.

ΑΝΤΙ ΠΡΟΛΟΓΟΥ

Μείζον υγειονομικό πρόβλημα στα νοσοκομεία παγκοσμίως αποτελεί σήμερα η αυξανόμενη εμφάνιση πολυανθεκτικών στελεχών *Enterobacteriaceae*. Κύριοι εκπρόσωποι αυτής της ομάδας μικροοργανισμών είναι τα στελέχη *Klebsiella pneumoniae*, που παράγουν καρβαπενεμάσες. Τα στελέχη αυτά σχετίζονται με βαρύτατες λοιμώξεις, που χαρακτηρίζονται από μεγάλη νοσηρότητα και θνητότητα. Η αντοχή που παρατηρείται σε παραδοσιακές θεραπείες κάνει επιτακτική την ανάγκη για ανάπτυξη νέων θεραπευτικών στρατηγικών που περιλαμβάνουν καινούριους αντιμικροβιακούς παράγοντες. Η τιγκεκυκλίνη, το πρώτο αντιβιοτικό της ομάδας των γλυκυλκυκλινών, με το ευρύ αντιμικροβιακό φάσμα της, ανοίγει ελπιδοφόρους ορίζοντες στην αντιμετώπιση των λοιμώξεων από τα πολυανθεκτικά αυτά στελέχη.

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Χρήσης Ζώων για Ιατρικούς και Ερευνητικούς Σκοπούς στο Π.Γ.Ν. ΑΤΤΙΚΟΝ και στο Εργαστήριο Λοιμώξεων και Αντιμικροβιακής Θεραπείας της Δ΄ Παθολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Ε.Ι. Γιαμαρέλλου-Μπουρμπούλη.

Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου στον Καθηγητή κ. Ε.Ι. Γιαμαρέλλο-Μπουρμπούλη, για την εμπιστοσύνη που επέδειξε στο πρόσωπό μου με την ανάθεση της διεκπεραίωσης αυτού του ερευνητικού έργου. Η καθοδήγησή του, χωρίς την οποία θα ήταν αδύνατη η ολοκλήρωση της ερευνητικής αυτής προσπάθειας, ήταν συνεχής και η ευκαιρία που μου προσέφερε να εντρυφήσω στην επιστημονική διαδικασία ήταν ανεκτίμητη.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ. Ε. Μισιακό και τον Καθηγητή κ. Α. Μαχαίρα για την καθοδήγηση και υποστήριξή τους σε όλη τη διάρκεια της ερευνητικής μου πορείας .

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της ομάδας του κ. Ε.Ι. Γιαμαρέλλου-Μπουρμπούλη, και ειδικά τις Μ. Γεωργίση, Δ. Δρογγίτη, Γ. Δαμοράκη, Κ. Κάρλου, Μ. Δρογγίτη, Ι. Κανελλακοπούλου και τον Γ. Ρενιέρη για την πολύτιμη στήριξη και βοήθειά τους σε όλη τη διάρκεια της διεξαγωγής των πειραμάτων μου.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η οικογένεια των Enterobacteriaceae, που περιλαμβάνει είδη gram-αρνητικών βακτηρίων με κύριους εκπροσώπους την *Escherichia coli*, την *Klebsiella pneumoniae* και τα είδη *Enterobacter* προκαλεί μεγάλη ανησυχία στην ιατρική κοινότητα. Η πληθώρα διαφορετικών λοιμώξεων που μπορούν να προκαλέσουν, η αυξανόμενη εξάπλωσή τους, η ανάπτυξη πολυανθεκτικών στελεχών και η συσχέτισή τους με φτωχά κλινικά αποτελέσματα και μεγάλη νοσηρότητα και θνητότητα, τα έχουν κατατάξει ανάμεσα στις μεγαλύτερες υγειονομικές απειλές. Στελέχη που παράγουν ευρέος φάσματος β-λακταμάσες και στελέχη ανθεκτικά στις καρβαπενέμες συνεχώς αυξάνονται, δυσχεραίνοντας την επιλογή αποτελεσματικής θεραπείας, καθώς καταργούνται παραδοσιακές αντιβιοτικές αγωγές λόγω αντοχής σε αυτές (1, 2).

Βασικός εκπρόσωπος της κατηγορίας των πολυανθεκτικών Enterobacteriaceae, είναι η *Klebsiella pneumoniae* που παράγει καρβαπενεμάσες (KPC). Το γονίδιο παραγωγής καρβαπενεμασών μεταφέρεται κυρίως μέσω πλασμιδίου. Οι λοιμώξεις από KPC στελέχη είναι κυρίως ενδονοσοκομειακές και συστηματικές με θνητότητα που υπολογίζεται από 22% έως 57% (3, 4). Η τελευταία θεραπευτική επιλογή για αυτά τα στελέχη KPC-*Klebsiella pneumoniae* ήταν μέχρι πρόσφατα η κολιμυκίνη. Την τελευταία δεκαετία η χρήση της ήταν συνεχώς αυξανόμενη, λόγω της ανάδυσης των στελεχών που παράγουν καρβαπενεμάσες, καθώς έγινε ο πιο σημαντικός παράγοντας για την αντιμετώπιση τους. Η αυξανόμενη αυτή χρήση οδήγησε ωστόσο και στην εμφάνιση στελεχών ανθεκτικών στην κολιμυκίνη (5-7).

Ενόψει της έλλειψης αποτελεσματικών αντιβιοτικών αγωγών για την αντιμετώπιση των λοιμώξεων από στελέχη που παράγουν καρβαπενεμάσες, η ανάγκη για ανάπτυξη νέων αντιμικροβιακών παραγόντων είναι άκρως επιτακτική. Η τιγκεκυκλίνη είναι ένα βακτηριοστατικό αντιβιοτικό με ευρύ αντιμικροβιακό φάσμα, που δεν επηρεάζεται από την παρουσία των καρβαπενεμασών, αφού δεν υδρολύεται από αυτές. Τα KPC στελέχη εξακολουθούν να διατηρούν την ευαισθησία τους στην τιγκεκυκλίνη, γεγονός που την κάνει μια ελπιδοφόρο εναλλακτική λύση στα χέρια των κλινικών ιατρών (8, 9).

2. ΤΟ ΜΟΡΙΟ ΤΗΣ ΤΙΓΚΕΚΥΚΛΙΝΗΣ

Η τιγκεκυκλίνη είναι ημισυνθετικό αντιβιοτικό, το πρώτο αντιβιοτικό της τάξης των γλυκυλκυκλινών (10). Προέρχεται δομικά από τη μινοκυκλίνη με την προσθήκη μιας τριτοταγούς βουτυλο-γλυκυλάμιδο πλευρικής αλύσου στον άνθρακα 9 του D δακτυλίου του σκελετού της τετρακυκλίνης. Ο χημικός της τύπος είναι $C_{29}H_{39}N_5O_8$ και το μοριακό της βάρος 585,65. Η τιγκεκυκλίνη συνδέεται αναστρέψιμα στις 30S και 70S υπομονάδες του βακτηριακού ριβοσώματος, εμποδίζοντας την είσοδο του αμινο-ακυλ-t-RNA στην A συνδετική περιοχή του ριβοσώματος. Αναστέλλει έτσι την πρωτεϊνοσύνθεση, παρεμποδίζοντας την ενσωμάτωση των αμινοξέων στην επιμηκούμενη πεπτιδική αλυσίδα, τρεις φορές πιο αποτελεσματικά από τη μινοκυκλίνη και είκοσι φορές πιο αποτελεσματικά από την τετρακυκλίνη (11, 12).

Η αντοχή στις τετρακυκλίνες οφείλεται κυρίως στα tet και otr γονίδια, η έκφραση των οποίων οδηγεί σε δύο μηχανισμούς αντοχής: ριβοσωμική προστασία μέσω απόσπασης της τετρακυκλίνης από τη θέση σύνδεσής της στο ριβόσωμα (tet[M], tet[O], otr[A]), και εκροή της τετρακυκλίνης μέσω ενεργού μεταφοράς εκτός του βακτηριακού κυττάρου. Η τιγκεκυκλίνη συνδέεται με διαφορετικό προσανατολισμό και αυξημένη συγγένεια στη βακτηριακή ριβοσωμική υπομονάδα, 5 φορές μεγαλύτερη από ό,τι η μινοκυκλίνη και πάνω από 100 φορές μεγαλύτερη από ό,τι η τετρακυκλίνη. Η αυξημένη αυτή συγγένεια σύνδεσης, προστατεύει από τη διαδικασία της ριβοσωμικής προστασίας, ενώ η ογκώδης πλευρική αλυσος αποτελεί εμπόδιο για την εκροή της τιγκεκυκλίνης έξω από το βακτηριακό κύτταρο (11, 12).

3. ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟ ΦΑΣΜΑ ΤΗΣ ΤΙΓΚΕΚΥΚΛΙΝΗΣ

Τα όρια ευαισθησίας των μικροοργανισμών στην τιγκεκυκλίνη έχουν οριστεί από το CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) και τον FDA (Food and Drug Administration) της Αμερικής ως εξής: ευαίσθητα όταν η MIC είναι μικρότερη ή ίση από 2 $\mu\text{g/ml}$, ενδιάμεσης ευαισθησίας όταν η MIC είναι μεγαλύτερη από 2 $\mu\text{g/ml}$ ή μικρότερη από 8 $\mu\text{g/ml}$ και ανθεκτικά όταν η MIC είναι μεγαλύτερη ή ίση από 8 $\mu\text{g/ml}$ (3, 13). Η δράση της είναι κατά κύριο λόγο

βακτηριοστατική, αλλά στην περίπτωση των gram-θετικών μικροοργανισμών μπορεί να επιδείξει και βακτηριοκτόνο δράση σε συγκεντρώσεις 4 φορές μεγαλύτερες από την MIC₉₀ (14).

Το αντιμικροβιακό της φάσμα είναι ευρύ. Το μεγαλύτερο ποσοστό των gram-θετικών κόκκων παρουσιάζει ευαισθησία στο αντιβιοτικό (*Staphylococcus aureus*, κοαγκουλάση-αρνητικοί σταφυλόκοκκοι, β-αιμολυτικοί στρεπτόκοκκοι, πρασινίζοντες στρεπτόκοκκοι, και εντερόκοκκοι). Από τους gram-αρνητικούς μικροοργανισμούς αυξημένη ευαισθησία παρουσιάζουν τα εντεροβακτηριακά (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp, *Serratia* spp), και οι μικροοργανισμοί *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Acinetobacter* spp, και *Stenotrophomonas maltophilia*. Αντίθετα το αντιβιοτικό δε φαίνεται να έχει ιδιαίτερη δράση έναντι των *Proteus vulgaris*, *Morganella* spp και *Providencia* spp, καθώς και έναντι της *Pseudomonas aeruginosa*. Τέλος, δράση παρατηρείται σε αναερόβιους μικροοργανισμούς όπως *Bacteroides* spp, *Fusobacterium* spp, *Prevotella* spp, *Clostridium* spp., καθώς και σε άτυπα μικρόβια (11, 15). Το ποσοστό ευαισθησίας στη τιγκεκυκλίνη ανάμεσα στα gram-θετικά παθογόνα υπολογίζεται μεγαλύτερο από 99% και ανάμεσα στα gram-αρνητικά παθογόνα μεγαλύτερο από 92% για τα είδη *Enterobacter*, *Escherichia coli* και *Klebsiella oxytoca*, 80–89% για τα στελέχη *Klebsiella pneumoniae* και 79% για τη *Serratia marcescens* (16).

Καθώς η ανάδυση των πολυανθεκτικών μικροοργανισμών αποτελεί παγκόσμιο υγειονομικό πρόβλημα, η τιγκεκυκλίνη φαίνεται να είναι ελκυστικό αντιμικροβιακό για τη θεραπεία των πολυανθεκτικών μικροοργανισμών, καθώς εξακολουθούν να έχουν μεγαλύτερη ευαισθησία σε αυτή συγκριτικά με άλλα αντιμικροβιακά. Σε αυτή την κατηγορία περιλαμβάνονται είδη όπως σταφυλόκοκκοι ανθεκτικοί στη μεθικιλίνη, εντερόκοκκοι ανθεκτικοί στη βανκομυκίνη, πολυανθεκτικά στελέχη *Acinetobacter baumannii* και στελέχη *Klebsiella pneumoniae* που παράγουν καρβαπενεμάσες. Η αντοχή που έχει αναπτυχθεί στην τιγκεκυκλίνη παγκοσμίως υπολογίζεται στο 15% για τα είδη *Enterobacter*, 6% για τα είδη *Klebsiella* και 0.2% για την *Escherichia coli* (17, 18).

Σύμφωνα με τους Πουρνάρα και συν., παγκοσμίως το ποσοστό αντοχής των *Enterobacteriaceae* στην τιγκεκυκλίνη είναι μικρότερο από 10%, με

παρατηρούμενη αύξηση μεταξύ στελεχών που παράγουν ευρέος φάσματος β-λακταμάσες, στελεχών ανθεκτικών στις καρβαπενέμες και πολυανθεκτικών στελεχών. Ο κύριος μηχανισμός αντοχής που περιγράφεται είναι η αντλία απέκκρισης AcrAB, ωστόσο ενοχοποιούνται κι άλλες αντλίες και μονοπάτια ελέγχου. Η ρύθμιση της βέλτιστης δόσης ώστε να επιτυγχάνονται τα καλύτερα θεραπευτικά αποτελέσματα με τον μικρότερο κίνδυνο ανάπτυξης αντοχής, είναι μείζονος σημασίας (19). Είναι αξιοσημείωτο ότι εμφάνιση ανθεκτικών στην τιγκεκυκλίνη μικροοργανισμών έχει παρατηρηθεί ακόμα και σε ασθενείς, οι οποίοι δεν έλαβαν αγωγή με τιγκεκυκλίνη. Η αγωγή με άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες, που αποτελούν υπόστρωμα για την αντλία AcrAB φαίνεται ότι ενισχύουν τη δράση της, με αποτέλεσμα διασταυρούμενη αντοχή των παθογόνων μικροοργανισμών και στην τιγκεκυκλίνη (20). Τέλος έχει παρατηρηθεί συχνή εμφάνιση ανθεκτικών στην τιγκεκυκλίνη μικροβιακών στελεχών μετά από τη θεραπεία επιπλεγμένων λοιμώξεων του ουροποιητικού. Αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί στις υψηλές δόσεις τιγκεκυκλίνης που χορηγούνται στις λοιμώξεις του ουροποιητικού ώστε να επιτευχθούν τα απαραίτητα θεραπευτικά επίπεδα στα ούρα (21) .

4. ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ/ΦΑΡΜΑΚΟΔΥΝΑΜΙΚΗ ΤΗΣ ΤΙΓΚΕΚΥΚΛΙΝΗΣ

Οι Muralidharan και συν., διερεύνησαν τη φαρμακοκινητική της τιγκεκυκλίνης σε τρεις μελέτες, που αφορούσαν τη χορήγηση αυξανόμενης άπαξ δόσης, τη χορήγηση αυξανόμενων πολλαπλών δόσεων και τη χορήγηση του φαρμάκου σε διαφορετικούς όγκους και διαφορετικής διάρκειας έγχυσης. Η μέση μέγιστη συγκέντρωση του φαρμάκου που παρατηρήθηκε μετά από έγχυση μίας ώρας κυμάνθηκε από 0,11 mg/ml για άπαξ δόση 12,5 mg έως 2,82 mg/ml για δόση 300 mg. Όταν ο χρόνος έγχυσης αυξήθηκε σε τέσσερις ώρες στις δόσεις 200 mg και 300 mg η μέγιστη συγκέντρωση του φαρμάκου μειώθηκε. Η μέση κάθαρση του φαρμάκου παρέμεινε σταθερή ανεξαρτήτως δόσης, με μόλις το 13% αμεταβόλιστου φαρμάκου να εκκρίνεται στα ούρα. Ο μέσος χρόνος ημίσειας ζωής υπολογίστηκε σε 40 έως 60 ώρες, ενώ παρατηρήθηκε απότομη πτώση της συγκέντρωσης του φαρμάκου στον ορό μετά το τέλος της έγχυσης, που υπέδειξε ευρεία κατανομή του στους ιστούς.

Στην περίπτωση των πολλαπλών δόσεων, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά των συγκεντρώσεων της τιγκεκυκλίνης στον ορό. Τέλος η μέγιστη συγκέντρωση του φαρμάκου ήταν μεγαλύτερη όταν η έγχυση διήρκησε 30 λεπτά, σε σχέση με την έγχυση διάρκειας μίας ώρας. Κατέληξαν έτσι στο συμπέρασμα ότι η τιγκεκυκλίνη παρουσιάζει γραμμική φαρμακοκινητική με ευρεία κατανομή στους ιστούς (22).

Οι Rodvold και συν., κατέληξαν σε ανάλογα συμπεράσματα μετά από τη έγχυση άπαξ δόσης 100 mg σε 104 ασθενείς. Επισημάναν την απότομη πτώση της συγκέντρωσης του φαρμάκου που σχετίζεται με την ευρεία κατανομή στους ιστούς. Η συγκέντρωση του φαρμάκου ήταν 23 φορές μεγαλύτερη στη χοληδόχο κύστη συγκριτικά με τον ορό, που συνηγορεί υπέρ της απέκκρισης του φαρμάκου κυρίως μέσω της χολής. Οι συγκεντρώσεις του φαρμάκου που παρατηρήθηκαν στο έντερο και ολικό πνευμονικό ιστό ήταν 2 φορές μεγαλύτερες από τη συγκέντρωση στον ορό, ενώ φάνηκε ότι έχει μειωμένη εισχώρηση στα οστά και το εγκεφαλονωτιαίο υγρό (23).

Σε μία μελέτη που περιλάμβανε 12 υγιείς μάρτυρες μελετήθηκε η φαρμακοκινητική και ο μεταβολισμός της τιγκεκυκλίνης με τη χρήση ραδιοσημασμένου φαρμάκου. Οι μάρτυρες έλαβαν αρχική δόση 100 mg τιγκεκυκλίνης, την οποία ακολούθησαν δόσεις των 50 mg ανά 12 ώρες. Μετά την τρίτη μέρα, χορηγήθηκε στα μισά άτομα 50 mg ραδιοσημασμένης τιγκεκυκλίνης. Επιβεβαιώθηκε ότι η απέκκριση του φαρμάκου γίνεται κυρίως μέσω της χολής (59%) με το μεγαλύτερο ποσοστό του φαρμάκου να απεκκρίνεται μέσα σε 120 ώρες. Απέκκριση από τα ούρα παρατηρήθηκε σε μικρότερο ποσοστό (33%), εντός 240 ωρών, με το μεγαλύτερο ποσοστό της ουσίας να ανιχνεύεται τις πρώτες 72 ώρες. Επίσης παρατηρήθηκε μεταβολισμός του φαρμάκου μέσω γλυκουρονιδίωσης, που είναι ασυνήθης για αντιβιοτικά με παρόμοια δομή (24).

Σύμφωνα με τους Estes και συν., το φάρμακο παρουσιάζει μη γραμμική σύνδεση με τις πρωτεΐνες του πλάσματος με το ελεύθερο ποσοστό να μειώνεται, καθώς οι συγκεντρώσεις του φαρμάκου αυξάνονται. Η τιγκεκυκλίνη έχει την ικανότητα να σχηματίζει χηλικά σύμπλοκα με μεταλλικά ιόντα, τα οποία μεταβάλλουν τη διάχυση μέσω των μεμβρανών και την πρόσδεση στις πρωτεΐνες του πλάσματος. Το φάρμακο ανιχνεύεται σε όλα τα σωματικά υγρά, όπως στη χολή, στο υγρό που περιβάλλει τα επιθηλιακά κύτταρα, στο

εγκεφαλονωτιαίο υγρό και σε ιστούς, όπως το έντερο, ο πνεύμονας και τα οστά, ωστόσο οι ερευνητές τόνισαν το γεγονός ότι οι μετρούμενες συγκεντρώσεις αφορούν τόσο την ελεύθερη, όσο και τη δεσμευμένη σε πρωτεΐνες μορφή του φαρμάκου (25).

Η τιγκεκυκλίνη χορηγείται ενδοφλέβια, συνδέεται σε μεγάλο βαθμό με τις πρωτεΐνες (71%-89%), έχει μεγάλο όγκο κατανομής στους ιστούς (7-10 L/kg), δε μεταβολίζεται σε μεγάλο βαθμό και απεκκρίνεται κυρίως μέσω της χολής και δευτερευόντως από τα νεφρά. Δεν επηρεάζει τα ένζυμα του κυτοχρώματος 450 (15, 26).

Η δόση του φαρμάκου έχει καθοριστεί σε 100 mg δόση εφόδου, που ακολουθείται από 50 mg ανά 12 ώρες. Αν και η φαρμακοκινητική του φαρμάκου, δίνει πλεονέκτημα στην άπαξ δόση, οι πολλαπλές δόσεις φαίνεται ότι μειώνουν την πιθανότητα των παρενεργειών. Δεν απαιτείται προσαρμογή της δόσης ανάλογα με το φύλο, τη φυλή, την ηλικία και σε περίπτωση νεφρικής ανεπάρκειας. Ωστόσο σε σοβαρή ηπατική ανεπάρκεια η δόση μειώνεται σε 25 mg ανά 12 ώρες μετά την δόση εφόδου των 100 mg (11, 25).

Έρευνες έχουν δώσει πλεονέκτημα στη χορήγηση υψηλής δόσης τιγκεκυκλίνης (200 mg δόση εφόδου και 100 mg ανά 12 ώρες) για την αντιμετώπιση σοβαρών λοιμώξεων από πολυανθεκτικούς μικροοργανισμούς. Με δεδομένη τιμή MIC, η υψηλότερη δόση θα πρέπει να σχετίζεται με αυξημένο πηλίκo AUC/MIC και πιθανότατα με βελτιωμένη κλινική αποτελεσματικότητα. Αντικρουόμενες ωστόσο, είναι οι απόψεις για πιθανότητα τοξικής δράσης του φαρμάκου, όταν χορηγείται σε υψηλή δόση και εμφάνισης ανεπιθύμητων ενεργειών, η οποίες φαίνεται να είναι δοσοεξαρτώμενες (27, 28). Η συνήθης δόση φαίνεται να είναι αποτελεσματική για τους gram-θετικούς μικροοργανισμούς, όχι όμως και για τους πολυανθεκτικούς gram-αρνητικούς, για τους οποίους προτείνεται ρύθμιση ανά περίπτωση (29).

5. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΤΙΓΚΕΚΥΚΛΙΝΗΣ

Η χρήση της τιγκεκυκλίνης εγκρίθηκε από τον FDA των ΗΠΑ τον Ιούνιο του 2005. Η έγκριση αυτή αφορούσε αρχικά τη χρήση του φαρμάκου στη θεραπεία των επιπλεγμένων λοιμώξεων του δέρματος και δερματικών δομών,

των επιπλεγμένων ενδοκοιλιακών λοιμώξεων, του ανθεκτικού στη μεθικιλίνη χρυσίζοντος σταφυλόκοκκου (MRSA), των ανθεκτικών στη μεθικιλίνη εντεροκόκκων (VRE). Στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε και στη θεραπεία της πνευμονίας της κοινότητας, της πνευμονίας νοσοκομειακής αιτιολογίας και των λοιμώξεων του διαβητικού ποδιού (30).

5.1 ΕΠΙΠΛΕΓΜΕΝΕΣ ΔΕΡΜΑΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΕΝΔΟΚΟΙΛΙΑΚΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ

Οι λοιμώξεις του δέρματος και των δομών του και οι ενδοκοιλιακές λοιμώξεις αποτελούν μια ετερογενή ομάδα λοιμώξεων, καθώς περιλαμβάνουν διαφορετικές εστίες και διαφορετικούς παθογόνους μικροοργανισμούς. Οι Renteria και συν., μελέτησαν την αποτελεσματικότητα της τιγκεκυκλίνης στη θεραπεία αυτών των λοιμώξεων, διερευνώντας την ευαισθησία 2245 στελεχών που απομονώθηκαν από ασθενείς από νοσοκομεία της Αφρικής και Μέσης Ανατολής. Τα πιο συχνά παθογόνα που απομονώθηκαν από ασθενείς με δερματικές λοιμώξεις ήταν *Staphylococcus aureus* (27,9%), με στελέχη ανθεκτικά στη μεθικιλίνη να απαντώνται σε ποσοστό 25%, στελέχη *Enterobacter* (14,5%) και *Pseudomonas aeruginosa* (13,9%), ενώ στους ασθενείς με ενδοκοιλιακή λοίμωξη ήταν *Escherichia coli* (28,2%), στελέχη *Enterobacter* (22%) και στελέχη *Klebsiella* (20,8%). Οι συγγραφείς υποστήριξαν ότι τα κοινά παθογόνα που ευθύνονται για αυτές τις λοιμώξεις, εξακολουθούν να παραμένουν ευαίσθητα στην τιγκεκυκλίνη με MICs να κυμαίνονται από 0,25 μg/ml έως 2 μg/ml, ενισχύοντας έτσι την άποψη για χρήση του φαρμάκου στη θεραπεία αυτών των λοιμώξεων (31).

Ο Grolman, στην ανασκόπηση του συμπέρανε ότι η χρήση της τιγκεκυκλίνης στη θεραπεία των επιπλεγμένων δερματικών λοιμώξεων και δομών του δέρματος είναι αποτελεσματική. Ως τα κύρια υπεύθυνα παθογόνα για αυτές τις λοιμώξεις αναγνώρισε το *Staphylococcus aureus* και το *Streptococcus pyogenes*, ενώ υπογράμμισε το συνεχώς αυξανόμενο ποσοστό λοιμώξεων από ανθεκτικό στη μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus*. Υποστήριξε ότι η τιγκεκυκλίνη δε φαίνεται να υστερεί σε σχέση με την παραδοσιακή θεραπεία με βανκομυκίνη και αζιτρεονάμη, καθώς και ότι οι τιμές των MIC της τιγκεκυκλίνης ήταν χαμηλές τόσο για τα ευαίσθητα όσο και για τα

ανθεκτικά μικροβιακά στελέχη. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες ήταν παρόμοιες και στις δύο θεραπευτικές ομάδες. Καταλήγει στο συμπέρασμα ότι εξαιτίας της αντοχής των μικροβιακών στελεχών στις υπάρχουσες αντιβιοτικές θεραπείες, η συνετή χρήση της τιγκεκυκλίνης είναι μια εγγυημένη εναλλακτική λύση (32).

Οι Matthews και συν., συνέκριναν την αποτελεσματικότητα της τιγκεκυκλίνης στη θεραπεία των δερματικών λοιμώξεων με την αποτελεσματικότητα του συνδυασμού αμινοπενικιλίνης-αναστολέα β-λακταμάσης. Η μελέτη περιλάμβανε 531 ασθενείς, από τους οποίους 268 έλαβαν ενδοφλέβια τιγκεκυκλίνη σε αρχική δόση 100 mg και δόση συντήρησης 50 mg ανά 12 ώρες και 263 έλαβαν ενδοφλέβια συνδυασμό αμπικιλίνης-σουλμπακτάμης σε δόση 1,5-3 gr ανά 6 ώρες ή συνδυασμό αμοξικιλίνης-κλαβουλανικού οξέος σε δόση 1,2 gr ανά 6-8 ώρες. Προσθήκη βανκομυκίνης έγινε σε περίπτωση λοίμωξης από ανθεκτικό στη μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus*. Το συχνότερα απομονωμένο παθογόνο ήταν ο *Staphylococcus aureus*, που σε μεγάλο ποσοστό παρουσίαζε αντοχή στη μεθικιλίνη. Η μονοθεραπεία με τιγκεκυκλίνη δε φάνηκε να υστερεί σε σχέση με τη συνδυαστική θεραπεία με τους άλλους παράγοντες. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες από το γαστρεντερικό (ναυτία, έμετος) ήταν αυξημένες στην ομάδα της τιγκεκυκλίνης, αλλά διακοπή της θεραπείας εξαιτίας αυτών έγινε σε λίγους μόνο ασθενείς. Συμπερασματικά, η τιγκεκυκλίνη ήταν αποτελεσματική και ασφαλής εναλλακτική λύση για την εμπειρική θεραπεία των δερματικών λοιμώξεων, λόγω του ευρύτατου αντιμικροβιακού φάσματος της και της ικανοποιητικής διείσδυσης στους ιστούς (33).

Οι Montravers και συν, περιέλαβαν στην έρευνά τους πέντε ευρωπαϊκές μελέτες. Σε αυτές, σύνολο 254 ασθενών με λοίμωξη δέρματος και εν τω βάθει δομών, έλαβαν θεραπεία με τιγκεκυκλίνη είτε σε συνδυαστική θεραπεία, είτε ως μονοθεραπεία. Τα κύρια παθογόνα που απομονώθηκαν ήταν *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* και *Enterococcus faecium*. Πολυμικροβιακή λοίμωξη παρατηρήθηκε στο 39,2% των περιπτώσεων, ενώ σε ποσοστό 30,5% υπεύθυνα ήταν ανθεκτικά παθογόνα. Στους περισσότερους ασθενείς δόθηκε η τυπική δόση τιγκεκυκλίνης, ενώ σε ποσοστό 71,8% έλαβαν μονοθεραπεία με τιγκεκυκλίνη. Παρά το γεγονός ότι οι περισσότεροι ασθενείς ήταν βαρέως πάσχοντες σε μονάδες εντατικής θεραπείας ή είχαν υψηλή βαθμολογία APACHE II ή SOFA, τα θεραπευτικά αποτελέσματα της τιγκεκυκλίνης ήταν

επιτυχή στο 79,6% των ασθενών. Παρατηρήθηκε καλύτερη ανταπόκριση στις δερματικές λοιμώξεις της κοινότητας σε σύγκριση με τις νοσοκομειακές λοιμώξεις, καθώς και στους ασθενείς που έλαβαν μονοθεραπεία σε σύγκριση με τις συνδυαστικές θεραπείες. Αυτό πιθανώς να οφείλεται στο γεγονός ότι οι ασθενείς που έλαβαν συνδυαστική θεραπεία είχαν βαρύτερη νόσο, καθώς και στην πιθανότητα λοιμώξεων από *Pseudomonas aeruginosa* σε αυτούς τους ασθενείς. Στους ασθενείς με δερματική λοίμωξη και υψηλές βαθμολογίες APACHE II και SOFA που έλαβαν τιγκεκυκλίνη, παρατηρήθηκε θνητότητα σε ποσοστό 9,4%, χαμηλότερη από την αναμενόμενη για αυτή την ομάδα ασθενών, που υπολογίζεται σε ποσοστό 21%. Κατέληξαν λοιπόν στο συμπέρασμα ότι η τιγκεκυκλίνη είτε ως μονοθεραπεία είτε στα πλαίσια συνδυαστικής θεραπείας είχε πλεονεκτικά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση των λοιμώξεων του δέρματος και των εν τω βάθει δομών του (34).

Η δεύτερη βασική ένδειξη για την τιγκεκυκλίνη είναι η θεραπεία των επιπλεγμένων ενδοκοιλιακών λοιμώξεων. Οι Chen και συν., μελέτησαν την αποτελεσματικότητα της θεραπείας με τιγκεκυκλίνη σε σύγκριση με τη θεραπεία με ιμιπενέμη-σιλαστατίνη. Οι επιπλεγμένες ενδοκοιλιακές λοιμώξεις συνήθως είναι πολυμικροβιακές και οφείλονται σε αερόβιους και αναερόβιους μικροοργανισμούς, με επικράτηση των εντεροβακτηριακών και ανθεκτικών μικροοργανισμών, όπως είδη *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* και *Candida*. Οι ασθενείς στη μελέτη χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, στην ομάδα που έλαβε ενδοφλέβια τιγκεκυκλίνη με δόση εφόδου 100 mg και εν συνεχεία δόση συντήρησης 50 mg ανά 12 ώρες και στην ομάδα που έλαβε ιμιπενέμη-σιλαστατίνη σε δόση 500 mg/500 mg ανά 6 ώρες. Η θεραπεία διήρκησε 2 εβδομάδες. Η μονοθεραπεία με τιγκεκυκλίνη είχε ικανοποιητικά αποτελέσματα, αντίστοιχα με αυτά της θεραπείας με ιμιπενέμη-σιλαστατίνη, όσον αφορά το κλινικό αποτέλεσμα και την επίτευξη ίασης ανεξάρτητα από τον τύπο της ενδοκοιλιακής λοίμωξης, με ποσοστά ίασης για τις δύο ομάδες 81,7% και 90,9% αντίστοιχα στο μικροβιακά αξιολογήσιμο πληθυσμό και 86,5% και 97,9% αντίστοιχα στον τροποποιημένο με πρόθεση για θεραπεία πληθυσμό. Η τιγκεκυκλίνη επέδειξε ευρύ αντιμικροβιακό φάσμα, αν και τα αποτελέσματα ήταν καλύτερα στην περίπτωση μονήρους μικροβιακού παράγοντα συγκριτικά με πολυμικροβιακή νόσο. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες ήταν αυξημένες στην ομάδα της τιγκεκυκλίνης, κυρίως ναυτία και έμετος, ωστόσο το φάρμακο ήταν

καλά ανεκτό από τους ασθενείς και χορηγήθηκε με ασφάλεια. Το ευρύ μικροβιακό φάσμα, η καλή ανοχή από τους ασθενείς και η αποτελεσματικότητα της τιγκεκυκλίνης, την έκανε ελκυστικό παράγοντα αντιμετώπισης των επιπλεγμένων ενδοκοιλιακών λοιμώξεων, που συνήθως χαρακτηρίζονται από παρουσία πολλαπλών μικροοργανισμών και ανθεκτικών στελεχών (35).

Οι Towfigh και συν., συνέκριναν την αποτελεσματικότητα της θεραπείας των επιπλεγμένων ενδοκοιλιακών λοιμώξεων με τιγκεκυκλίνη με την αποτελεσματικότητα της θεραπείας με κεφτριαξόνη-μετρονιδαζόλη. Η πολυκεντρική αυτή μελέτη περιλάμβανε νοσηλευόμενους ασθενείς από 53 κέντρα, οι οποίοι διαχωρίστηκαν στην ομάδα που έλαβε τιγκεκυκλίνη ενδοφλεβίως σε δόση εφόδου 100mg και δόση συντήρησης 50 mg ανά 12 ώρες και στην ομάδα που έλαβε ενδοφλεβίως κεφτριαξόνη 2 gr άπαξ ημερησίως και μετρονιδαζόλη 1-2 gr σε διαμοιρασμένες δόσεις. Η έρευνα περιέλαβε ασθενείς με διάφορα αίτια ενδοκοιλιακής λοίμωξης και διαφορετική βαθμολογία APACHE II. Η τιγκεκυκλίνη δεν υστερούσε σε σχέση με την κεφτριαξόνη-μετρονιδαζόλη ως προς τα θεραπευτικά αποτελέσματα, με ποσοστό κλινικής ίασης 70% έναντι 74% στην άλλη ομάδα. Τα αποτελέσματα ήταν παρόμοια και σε μικροβιολογικό επίπεδο, καθώς η εκρίζωση των κοινών παθογόνων που απομονώθηκαν επετεύχθη σε αντίστοιχα ποσοστά και για τις δύο ομάδες. Το ποσοστό των ανεπιθύμητων ενεργειών δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά στο σύνολό τους. Το καταληκτικό συμπέρασμα ήταν ότι η μονοθεραπεία με τιγκεκυκλίνη είχε εξίσου ικανοποιητικά αποτελέσματα με την παραδοσιακή θεραπεία με κεφαλοσπορίνη-μετρονιδαζόλη και ήταν μια ασφαλής επιλογή, ιδίως στην περίπτωση πολυανθεκτικών στελεχών, όπως στελεχών που παράγουν ευρέος φάσματος β-λακταμάσες (36).

Στη μελέτη των Masada και συν., 23 ασθενείς έλαβαν θεραπεία με τιγκεκυκλίνη, ένας ως μονοθεραπεία και οι υπόλοιποι σε συνδυασμό με άλλα αντιμικροβιακά κυρίως φλουκοναζόλη και πιπερακιλλίνη-ταζομπακτάμη. Οι ασθενείς νοσηλεύονταν σε χειρουργική μονάδα εντατικής θεραπείας εξαιτίας σοβαρών ενδονοσοκομειακών, ενδοκοιλιακών λοιμώξεων. Σοβαρή σήψη διαπιστώθηκε στο 56,5% των ασθενών και σηπτική καταπληξία στο 43,5%. Παρά τη σοβαρότητα της νόσου, τις συνυπάρχουσες παθήσεις και ανεξάρτητα από την αιτιολογία, οι ασθενείς παρουσίασαν καλή ανταπόκριση στη θεραπεία

με τιγκεκυκλίνη σε ποσοστό 78%, ενώ η θνητότητα που καταγράφηκε αντιστοιχούσε σε ποσοστό 21,7%. Η θνητότητα ήταν μικρότερη από την αναμενόμενη για αυτούς ασθενείς, που υπολογίζεται στο 30%. Η συνδυαστική θεραπεία αποσκοπούσε στην κάλυψη της πιθανότητας συλλοίμωξης από είδη *Candida*, *Pseudomonas aeruginosa* ή είδη *Proteus*. Οι συγγραφείς καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η εμπειρική θεραπεία που περιλαμβάνει τιγκεκυκλίνη, ήταν αποτελεσματική και ασφαλής στην αντιμετώπιση των σοβαρών νοσοκομειακών ενδοκοιλιακών λοιμώξεων, ανεξαρτήτως αιτιολογίας (37).

Οι ίδιοι ερευνητές σε μεταγενέστερη έρευνά τους, υποστήριξαν το πλεονέκτημα της χορήγησης υψηλής δόσης τιγκεκυκλίνης για τη θεραπεία επιπλεγμένων νοσοκομειακών ενδοκοιλιακών λοιμώξεων και κυρίως όταν η εστία προέλευσής τους είναι το κόλον. Μελετήθηκαν 121 ασθενείς με επιπλεγμένες ενδοκοιλιακές λοιμώξεις που εισήχθησαν σε χειρουργική μονάδα εντατικής θεραπείας. Χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, 54 έλαβαν θεραπεία που περιλάμβανε τιγκεκυκλίνη και 67 έλαβαν θεραπεία που δεν περιλάμβανε τιγκεκυκλίνη. Η δόση της τιγκεκυκλίνης ορίστηκε σε 200 mg δόση εφόδου και δόση συντήρησης 100 mg ανά 12 ώρες. Βρέθηκε ότι η υψηλή δόση τιγκεκυκλίνης παρουσίαζε πλεονέκτημα σε περιπτώσεις υψηλού μικροβιακού φορτίου και πολυμικροβιακών λοιμώξεων από ανθεκτικούς μικροοργανισμούς. Η ομάδα της τιγκεκυκλίνης περιλάμβανε ασθενείς με βαρύτερη νόσο, με πηγή προέλευσης το έντερο, μεγαλύτερο ποσοστό εμφάνισης σηπτικής καταπληξίας και μεγαλύτερη πιθανότητα μηχανικού αερισμού. Στους ασθενείς αυτούς απομονώθηκαν περισσότερα μικροβιακά είδη ανά δείγμα, σε μεγάλο ποσοστό ανθεκτικά και κυρίως είδη *Enterococcus*. Η βαρύτητα της νόσου σε αυτούς τους ασθενείς οδήγησε σε μακροχρόνια νοσηλεία, αλλά η πρώιμη θνητότητα δεν είχε στατιστικά σημαντική διαφορά από την άλλη ομάδα. Αυτό ίσχυε και για τη συνολική θνητότητα κατά τη διάρκεια της νοσηλείας. Η χορήγηση υψηλότερης δόσης τιγκεκυκλίνης από την τυπική στους ασθενείς με τα προαναφερόμενα επιβαρυντικά χαρακτηριστικά, φάνηκε να έχει τα επιθυμητά θεραπευτικά αποτελέσματα (38).

Οι Eckmann και συν., έκαναν ανασκόπηση των αποτελεσμάτων πέντε μεγάλων ευρωπαϊκών μελετών, που αφορούσαν κλινικά δεδομένα της χρήσης τιγκεκυκλίνης στη θεραπεία ενδοκοιλιακών λοιμώξεων. Η τιγκεκυκλίνη χορηγήθηκε σε περιπτώσεις υποψίας πολυανθεκτικού μικροοργανισμού,

αποτυχίας της προηγηθείσας θεραπείας και βαρύτερης νόσου. Παρά την υψηλή βαθμολογία APACHE II ή SOFA στους ασθενείς, η θνητότητα που καταγράφηκε σε όσους έλαβαν θεραπεία με τιγκεκυκλίνη ήταν μικρότερη από την αναμενόμενη, με ποσοστό 18,7% έναντι 26,2%. Η μονοθεραπεία με τιγκεκυκλίνη φάνηκε να πλεονεκτεί σε σχέση με τη θεραπεία με συνδυασμό αντιβιοτικών, που περιλαμβάνει τιγκεκυκλίνη, αλλά αυτό πιθανώς να οφειλόταν στη μεγαλύτερη βαρύτητα νόσου στις περιπτώσεις που προτιμήθηκε η συνδυαστική θεραπεία. Αν και παρατηρήθηκε αυξημένο ποσοστό θνητότητας μετά τη θεραπεία με τιγκεκυκλίνη σε σχέση με άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες, τα πλεονεκτήματά της φάνηκε να υπερνικούν τον κίνδυνο αυτό, αρκεί η χρήση του φαρμάκου να γίνεται με τα σωστά κριτήρια (39).

Η αναδρομική μελέτη των Solomkin και συν., υποστήριξε επίσης τα καλά θεραπευτικά αποτελέσματα της τιγκεκυκλίνης στις επιπλεγμένες ενδοκοιλιακές λοιμώξεις. Οι συγγραφείς συνέκριναν την αποτελεσματικότητα της τιγκεκυκλίνης με άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες και ειδικά με το συνδυασμό ιμιπενέμης-σιλαστατίνης. Και στις δύο περιπτώσεις τα ποσοστά ίασης και η ανάγκη για επανεισαγωγή στο νοσοκομείο μετά από θεραπεία με τιγκεκυκλίνη ήταν παρόμοια με εκείνα μετά από θεραπεία με τους άλλους παράγοντες. Αυτό το αποτέλεσμα παρέμεινε ίδιο και μετά την εφαρμογή μεθόδων εξομοίωσης των χαρακτηριστικών των μελετούμενων πληθυσμών (40).

5.2 ΑΛΛΕΣ ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Το ευρύ αντιμικροβιακό φάσμα και η φαρμακοκινητική της τιγκεκυκλίνης, που υποδεικνύει καλή κατανομή στον πνευμονικό ιστό, κάνει ελκυστική τη χρήση της στην αντιμετώπιση πνευμονικών λοιμώξεων.

Στη μελέτη των Tanaseanu και συν., μελετήθηκαν ασθενείς νοσηλεύόμενοι λόγω πνευμονίας της κοινότητας. Χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, στην ομάδα που έλαβε τιγκεκυκλίνη ενδοφλεβίως 100 mg δόση εφόδου και 50 mg δόση συντήρησης ανά 12 ώρες και στην ομάδα που έλαβε λεβοφλοξασίνη ενδοφλεβίως σε δόση 500 mg άπαξ ή δύο φορές ημερησίως. Η θεραπεία με τιγκεκυκλίνη ήταν εξίσου αποτελεσματική με τη θεραπεία με λεβοφλοξασίνη, με

ποσοστά ίασης 89.7% και 86.3% αντίστοιχα στον κλινικά αξιολογήσιμο πληθυσμό ($p < 0,001$) και 81.0% και 79.7% αντίστοιχα στον κλινικά τροποποιημένο με πρόθεση για θεραπεία πληθυσμό ($p < 0,001$), οδηγώντας σε εκρίζωση τόσο των συνήθων όσο και άτυπων μικροοργανισμών που προκαλούν πνευμονία. Τα αποτελέσματα ήταν θετικά ακόμα και σε βαρύτερη νόσο, με συνοδά νοσήματα και βακτηριαιμία. Αν και καταγράφηκαν περισσότερες παρενέργειες στην ομάδα της τιγκεκυκλίνης, δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά με την ομάδα της λεβοφλοξασίνης (41).

Σύγκριση ανάμεσα στην τιγκεκυκλίνη και το συνδυασμό ιμιπενέμης-σιλαστατίνης έγινε από τους Freire και συν., οι οποίοι χρησιμοποίησαν ασθενείς με πνευμονία νοσοκομειακής αιτιολογίας. Οι ασθενείς της ομάδας της τιγκεκυκλίνης έλαβαν τη τυπική ενδοφλέβια δόση τιγκεκυκλίνης σε συνδυασμό με κεφταζιδίμη 2 gr ανά 8 ώρες για κάλυψη της *Pseudomonas aeruginosa* και η άλλη ομάδα ασθενών έλαβε ενδοφλεβίως ιμιπενέμη-σιλαστατίνη 500-1000 mg ανά 8 ώρες συνδυαστικά με βανκομυκίνη 1 gr ανά 12 ώρες σε περίπτωση ανθεκτικού στη μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus*. Αμινογλυκοσίδη προστέθηκε και στις δύο ομάδες σε περίπτωση διπλής κάλυψης της *Pseudomonas aeruginosa*. Τα ποσοστά ίασης για τις δύο ομάδες ήταν 67,9% και 78,2% αντίστοιχα στον κλινικά αξιολογήσιμο πληθυσμό και 67,2% και 67,6% αντίστοιχα στον τροποποιημένο με πρόθεση για θεραπεία πληθυσμό. Η τιγκεκυκλίνη φάνηκε να μην είναι υποδεέστερη της ιμιπενέμης-σιλαστατίνης στον τροποποιημένο με πρόθεση για θεραπεία πληθυσμό, όχι όμως και στον κλινικά αξιολογήσιμο. Η διαφορά αυτή πιθανώς να οφειλόταν στα περιστατικά πνευμονίας λόγω μηχανικού αερισμού, στα οποία η τιγκεκυκλίνη φάνηκε να μην πλεονεκτεί της ιμιπενέμης-σιλαστατίνης. Το γεγονός ότι στους ασθενείς με πνευμονία λόγω μηχανικού αερισμού το πηλίκιο AUC/MIC για την τιγκεκυκλίνη ήταν χαμηλό, θα μπορούσε να εξηγήσει τη θεραπευτική αυτή αστοχία. Το ίδιο γεγονός θα μπορούσε να δικαιολογήσει και τη χορήγηση σε υψηλότερη δόση, ώστε να βελτιστοποιηθούν τα αποτελέσματα του φαρμάκου (42).

Τη βέλτιστη δόση της τιγκεκυκλίνης για θεραπεία της πνευμονίας νοσοκομειακής αιτιολογίας, ώστε να βελτιστοποιηθούν και τα κλινικά αποτελέσματά της, μελέτησαν οι Ramirez και συν., δοκιμάζοντας δύο δόσεις, 150 mg δόση εφόδου και δόση συντήρησης 75 mg ανά 12 ώρες ή 200 mg δόση εφόδου και 100 mg δόση συντήρησης ανά 12 ώρες. Η δόση των 75 mg

δεν έδειξε διαφορές στην κλινική ανταπόκριση στη θεραπεία συγκριτικά με τη τυπική δόση. Αντίθετα η δόση των 100 mg ήταν πιο αποτελεσματική από τις μικρότερες δόσεις τιγκεκυκλίνης αλλά και από το συνδυασμό ιμιπενέμη-σιλαστατίνης με ποσοστά ίασης 85.0% στην ομάδα θεραπείας με 100 mg τιγκεκυκλίνης, 69.6% στην ομάδα θεραπείας με 75 mg τιγκεκυκλίνης και 75.0% στην ομάδα θεραπείας με ιμιπενέμη-σιλαστατίνη στον κλινικά αξιολογήσιμο πληθυσμό. Οι ερευνητές απέδωσαν τα αποτελέσματα στη γραμμική φαρμακοκινητική του φαρμάκου, καθώς μεγαλύτερη δόση, οδηγεί σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στον ορό και μεγαλύτερη AUC, αντιρροπώντας την πιθανή έξοδο υγρού προς τον εξωκυττάριο χώρο που παρατηρείται στους σηπτικούς ασθενείς. Η υψηλότερη δόση δε συσχετίστηκε με αύξηση του κινδύνου επιπλοκών (43).

Ένα από τα ανησυχητικά προβλήματα στην αντιμετώπιση της πνευμονίας νοσοκομειακής αιτιολογίας είναι η αύξηση των περιστατικών που οφείλονται σε gram-αρνητικά βακτήρια ανθεκτικά στις καρβαπενέμες. Αυτά τα περιστατικά χαρακτηρίζονται από μεγάλο ποσοστό αποτυχίας της αρχικής εμπειρικής θεραπείας, από μεγάλη θνητότητα και δυσχεραίνουν την επιλογή κατάλληλης θεραπείας. Οι Wu και συν., μελέτησαν την αποτελεσματικότητα της τιγκεκυκλίνης σε νοσηλευομένους σε αναπνευστική μονάδα εντατικής θεραπείας λόγω πνευμονίας από gram-αρνητικά βακτήρια ανθεκτικά στις καρβαπενέμες. Η χορήγηση της τιγκεκυκλίνης επιλέχθηκε λόγω αποτυχίας της εμπειρικής θεραπείας. Από τους 299 ασθενείς με ενδονοσοκομειακή πνευμονία, 95 είχαν πνευμονία λόγω μηχανικού αερισμού. Στο 71,6% των ασθενών, στους οποίους απέτυχε η εμπειρική θεραπεία, απομονώθηκαν gram-αρνητικά βακτήρια ανθεκτικά στις καρβαπενέμες, *Acinetobacter baumannii* στο μεγαλύτερο ποσοστό, *Klebsiella pneumoniae* και *Escherichia coli*. Από αυτούς, 31 ασθενείς έλαβαν θεραπεία με τιγκεκυκλίνη. Το ποσοστό κλινικής ίασης και μικροβιακής εκρίζωσης στους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με τιγκεκυκλίνη ήταν 48,4% και 61,3% αντίστοχα. Η συνολική θνητότητα ήταν 45,2%. Οι ασθενείς στους οποίους απέτυχε η θεραπεία με τιγκεκυκλίνη χαρακτηρίζονταν από υψηλότερη βαθμολογία APACHE II και μεγαλύτερης διάρκειας ακατάλληλη προηγηθείσα θεραπεία. Υψηλή δόση τιγκεκυκλίνης (200 mg δόση εφόδου και 100 mg δόση συντήρησης ανά 12 ώρες) σε σύγκριση με την τυπική δόση οδήγησε σε αυξημένη κλινική επιτυχία (65% έναντι 18,2%, p:0,023) και

μικρότερη θνητότητα (30% έναντι 72,7%, p: 0,031) (44).

Οι Gardiner και συν., περιέλαβαν στη μελέτη τους 170 ασθενείς με δευτεροπαθή βακτηριαμία λόγω λοιμώξεων του δέρματος, ενδοκοιλιακών λοιμώξεων και πνευμονίας της κοινότητας. Από αυτούς, 91 ασθενείς έλαβαν αγωγή με τιγκεκυκλίνη και 79 άλλη αντιβιοτική αγωγή. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ποσοστών ίασης στην ομάδα της τιγκεκυκλίνης (81,3%) και στην ομάδα της αγωγής σύγκρισης (78,5%), ανεξάρτητα από την πρωτοπαθή εστία λοίμωξης και το υπεύθυνο παθογόνο. Σύμφωνα με τους συγγραφείς οι δύο βασικοί προβληματισμοί για τη χρήση της τιγκεκυκλίνης στην αντιμετώπιση της βακτηριαμίας είναι οι χαμηλές συγκεντρώσεις του φαρμάκου στον ορό και η βακτηριοστατική δράση. Ωστόσο στη μελέτη τους δεν παρατηρήθηκαν στοιχεία που να υποδεικνύουν ότι η φαρμακοκινητική και η βακτηριοστατική δράση του φαρμάκου διακυβεύουν την αποτελεσματικότητά του στη θεραπεία της δευτεροπαθούς βακτηριαμίας. Στην ομάδα της τιγκεκυκλίνης παρατηρήθηκαν περισσότερα περιστατικά εμμένουσας βακτηριαμίας, χωρίς όμως να έχει γίνει επαρκής καταγραφή των στοιχείων, ώστε να προκύψει αξιόπιστο καταληκτικό συμπέρασμα για ενδεχόμενη αποτυχία της αγωγής. Η μελέτη καταλήγει στο συμπέρασμα ότι η θεραπεία με τιγκεκυκλίνη στη δευτεροπαθή βακτηριαμία λόγω λοιμώξεων δέρματος, ενδοκοιλιακών λοιμώξεων και πνευμονίας της κοινότητας ήταν εξίσου αποτελεσματική και ασφαλής με άλλες αντιβιοτικές αγωγές (45).

Στοιχεία για την πιθανή αποτελεσματικότητα της τιγκεκυκλίνης σε δευτεροπαθή βακτηριαμία παραθέτουν και οι Morelli και συν., στην αναφορά περιστατικού ενός άνδρα 68 ετών, που παρουσίασε βακτηριαμία από *KPC-Klebsiella pneumoniae* μετά από δεξιά ηπατεκτομή και αριστερή ηπατονησιτιδική αναστόμωση λόγω όγκου Klatskin. Ο ασθενής έλαβε αρχικά θεραπεία με συνδυασμό διπλής καρβαπενέμης και μετά από δέκα ημέρες επανεισήχθη για υποτροπή της βακτηριαμίας και μικρο-αποστηματοποίηση των ενδοηπατικών χοληφόρων. Έλαβε αγωγή με κολιμυκίνη, ριφαμπικίνη και τιγκεκυκλίνη με υποχώρηση των κλινικών συμπτωμάτων και ομαλοποίηση των εργαστηριακών παραμέτρων μετά από δύο εβδομάδες. Καθώς οι υποτροπές συνέχιζαν με θετικές αιμοκαλλιέργειες για *KPC-Klebsiella pneumoniae*, ο ασθενής αντιμετωπίστηκε με μεροπενέμη, κολιμυκίνη και υψηλότερη δόση τιγκεκυκλίνης (200 mg δόση εφόδου και 100 mg δόση συντήρησης ανά 12

ώρες). Ο ασθενής εξήλθε με οδηγία για μακροχρόνια λήψη αγωγής με χαμηλή δόση τιγκεκυκλίνης, με αποτέλεσμα την πλήρη ίαση. Οι συγγραφείς υποστήριξαν ότι η τιγκεκυκλίνη στα πλαίσια συνδυαστικής θεραπείας ήταν αποτελεσματική στον έλεγχο της βακτηριαιμίας, ενώ η μακροχρόνια λήψη της αν και αντισυμβατική, εξασφάλισε τον έλεγχο της αρχικής εστίας λοίμωξης και των υποτροπών της βακτηριαιμίας με πιθανή ενίσχυση χρονοεξαρτώμενης βακτηριοκτόνου δράσης του φαρμάκου (46).

Οι Bulik και συν., διερεύνησαν την πιθανή θέση της τιγκεκυκλίνης στη θεραπεία των λοιμώξεων του διαβητικού ποδιού. Οι ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη έπασχαν από χρόνια λοίμωξη διαβητικού ποδιού ήπιας ή μέτριας βαρύτητας. Οι ασθενείς έλαβαν τιγκεκυκλίνη ενδοφλεβίως στην τυπική της δόση και έγινε σύγκριση της συγκέντρωσης του φαρμάκου στο φλεγμαίνοντα και σε υγιή ιστό. Η φαρμακοκινητική του φαρμάκου αποδείχτηκε παρόμοια για τον ορό, το φλεγμαίνοντα ιστό και τον υγιή ιστό, με ίση διείσδυση του φαρμάκου στον παθολογικό και υγιή ιστό, αντίστοιχη του 100% των συγκεντρώσεων του ελεύθερου φαρμάκου στο πλάσμα. Όταν τα ποσοστά διείσδυσης υπολογίστηκαν με βάση το AUC του πλάσματος, αυτή υπολογίστηκε περίπου 65%. Η κατανομή του φαρμάκου στους ιστούς έγινε ταχύτατα, σε 4 ώρες από τη χορήγηση του. Η περιφερική αγγειοπάθεια που παρατηρείται στους διαβητικούς, δε φάνηκε να εμποδίζει την κατανομή της τιγκεκυκλίνης. Οι συγγραφείς υποστήριξαν ότι με βάση τα στοιχεία της φαρμακοκινητικής της τιγκεκυκλίνης, αυτή φαίνεται να έχει θέση στη θεραπεία των λοιμώξεων του διαβητικού ποδιού (47).

Οι Lauf και συν., συνέκριναν την αποτελεσματικότητα της τιγκεκυκλίνης στις λοιμώξεις του διαβητικού ποδιού σε σύγκριση με τη θεραπεία με ερταπενέμη με ή χωρίς την προσθήκη βανκομυκίνης. Η τιγκεκυκλίνη χορηγήθηκε ενδοφλεβίως σε δόση 150 mg άπαξ ημερησίως και ερταπενέμη σε δόση 1 gr επίσης άπαξ ημερησίως. Τα ποσοστά κλινικής ίασης στον κλινικά αξιολογήσιμο πληθυσμό ήταν 77,5% για την ομάδα της τιγκεκυκλίνης και 82,5% για την ομάδα της ερταπενέμης. Τα αντίστοιχα ποσοστά στον κλινικά τροποποιημένο με πρόθεση για θεραπεία πληθυσμό ήταν 71,4% και 77,9%. Αν και τα ποσοστά ίασης στην ομάδα της τιγκεκυκλίνης ήταν μεγαλύτερα από τα αναμενόμενα, το φάρμακο δεν κατάφερε να εξασφαλίσει τα απαραίτητα κριτήρια θεραπευτικής ισοδυναμίας με την ερταπενέμη. Ειδικά στην υποομάδα

των ασθενών με συνοδό οστεομυελίτιδα, τα ποσοστά ήταν πολύ χαμηλά (<36%). Στη μελέτη καταγράφηκε μεγαλύτερο ποσοστό ανεπιθύμητων ενεργειών και διακοπής θεραπείας λόγω αυτών στην ομάδα της τιγκεκυκλίνης από το αναμενόμενο (48).

Πέρα από τις εγκεκριμένες και συνήθεις κλινικές χρήσεις της τιγκεκυκλίνης, υπάρχουν αναφορές περιστατικών με χρήση της εκτός έγκρισης, κυρίως ως θεραπεία σωτηρίας σε αποτυχία προηγούμενης αγωγής ή σε περίπτωση πολυανθεκτικών μικροοργανισμών. Οι Chaari και συν., χορήγησαν αγωγή με κολιμυκίνη και τιγκεκυκλίνη σε ασθενή 68 ετών που παρουσίασε βακτηριακή ενδοκαρδίτιδα. Ο ασθενής είχε εισαχθεί στη μονάδα εντατικής θεραπείας λόγω κρανιοεγκεφαλικής κάκωσης. Τη 14^η ημέρα νοσηλείας παρουσίασε σημεία σηπτικής καταπληξίας. Οι αιμοκαλλιέργειες και η καλλιέργεια του κεντρικού φλεβικού καθετήρα ήταν θετικές για *KPC-Klebsiella pneumoniae*, ενώ το διοισοφάγειο υπερηχογράφημα επιβεβαίωσε την παρουσία ενδοκαρδίτιδος. Ο ασθενής, βάσει αντιβιογράμματος, έλαβε αγωγή με κολιμυκίνη και τιγκεκυκλίνη, με θετικά αποτελέσματα εντός 5 ημερών, ενώ πλήρης λύση της ενδοκαρδίτιδος επιβεβαιώθηκε με νέο υπερηχογράφημα μετά από 52 ημέρες θεραπείας (49). Οι Kooli και συν., περιγράφουν το περιστατικό ενός άνδρα 25 ετών, που παρουσίασε μηνιγγίτιδα από πολυανθεκτικό *Acinetobacter baumannii* μετά από χειρουργική επέμβαση για αστροκύττωμα και παροχέτευση υδροκεφάλου. Παρά τη χορήγηση συνδυαστικής αντιβιοτικής θεραπείας ο ασθενής παρέμενε στην ίδια κατάσταση, έτσι ώστε δόθηκε ως θεραπεία σωτηρίας ο συνδυασμός κολιμυκίνης και τιγκεκυκλίνης βάσει αντιβιογράμματος. Μετά από δύο μέρες ο ασθενής απυρέτησε και η θεραπεία συνεχίστηκε για 21 ημέρες. Αν και η εισχώρηση της τιγκεκυκλίνης είναι μικρή στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό, ο συνδυασμός με κολιμυκίνη έδειξε να αποδίδει (50). Ένα ακόμα περιστατικό μηνιγγίτιδος από πολυανθεκτικό μικροοργανισμό περιγράφεται από τους Jasran και συν., και μάλιστα σε νήπιο. Η σημασία είναι διπλή καθώς δεν υπάρχουν εμπειριστατωμένες έρευνες για την ασφάλεια της τιγκεκυκλίνης σε παιδιατρικό πληθυσμό. Το 21 μηνών παιδί που έπασχε από λευχαιμία, υπεβλήθη σε ανοσοκαταστολή λόγω μεταμόσχευσης βλαστοκυττάρων περιφερικού αίματος. Την 3^η ημέρα παρουσίασε πυρετό και απομονώθηκε στο αίμα *Enterococcus faecium* ανθεκτικός στη βανκομυκίνη. Χορηγήθηκε θεραπεία με λινεζολίδη και δαπτομυκίνη. Μετά από 14 ημέρες οι

αιμοκαλλιέργειες αρνητικοποιήθηκαν, αλλά το παιδί εμφάνισε μηνιγγίτιδα, με απομόνωση του ίδιου μικροοργανισμού στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό, ο οποίος παρουσίαζε ανθεκτικότητα στη λινεζολίδη. Στη θεραπεία με δαπτομυκίνη προστέθηκε τιγκεκυκλίνη ως τελική λύση και οι καλλιέργειες έγιναν στείρες σε δύο ημέρες. Αν και δεν είναι σαφές ποιος ήταν ακριβώς ο ρόλος της τιγκεκυκλίνης, στην αντιμετώπιση της μηνιγγίτιδας, θα μπορούσε να είναι μια εναλλακτική όταν έχουν εξαντληθεί τα άλλα θεραπευτικά μέσα (51). Ένα ακόμα περιστατικό που αφορά παιδιατρικό ασθενή περιγράφεται από τους Dinleyici και συν., και αφορά ένα κορίτσι 6 ετών που έπασχε από λεμφοβλαστική λευχαιμία. Το παιδί κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας εμφάνισε εμπύρετο επεισόδιο ουδετεροπενίας. Χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικοί συνδυασμοί αντιβιοτικών χωρίς αποτέλεσμα και τελικά στις αιμοκαλλιέργειες απομονώθηκαν στελέχη πολυανθεκτικού *Corynebacterium jeikeium*, τα οποία ήταν ευαίσθητα μόνο στην τιγκεκυκλίνη. Ως μόνη λύση χρησιμοποιήθηκε αγωγή με τιγκεκυκλίνη σε δόση 1 mg/kg ανά 12 ώρες που οδήγησε σε λύση της λοίμωξης. Περαιτέρω έρευνα για την ασφάλεια της τιγκεκυκλίνης στα παιδιά είναι επιβεβλημένη, καθώς η ανάδυση πολυανθεκτικών στελεχών αποτελεί πλέον μέγιστη ανησυχία (52).

Οι Schwab και συν., ανέλυσαν την αποτελεσματικότητα της τιγκεκυκλίνης σε περιπτώσεις εμπυρέτου ουδετεροπενίας σε ασθενείς με αιματολογικές παθήσεις. Η ομάδα αυτή ασθενών θα μπορούσε να επωφεληθεί από το ευρύ αντιμικροβιακό φάσμα της τιγκεκυκλίνης, κυρίως λόγω της συχνής παρουσίας ανθεκτικών μικροοργανισμών, όπως *Enterobacteriaceae* που παράγουν ευρέος φάσματος β-λακταμάσες και εντερόκοκκους ανθεκτικούς στη βανκομυκίνη. Οι ασθενείς έλαβαν αγωγή με τιγκεκυκλίνη ως θεραπεία τρίτης γραμμής. Κλινική ανταπόκριση παρατηρήθηκε σε ποσοστό 43%, με αύξηση του ποσοστού σε 60% στους ασθενείς με πιστοποιημένη μικροβιολογικά λοίμωξη. Καλύτερα αποτελέσματα είχε η συνδυαστική θεραπεία, με σκοπό την κάλυψη της πιθανότητας *Pseudomonas aeruginosa* σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία. Στην περίπτωση πνευμονίας το ποσοστό ανταπόκρισης ήταν 39%, το οποίο μπορεί να ερμηνευτεί λόγω της χορήγησης της τυπικής δόσης τιγκεκυκλίνης που φαίνεται να είναι ανεπαρκής, αλλά και στην αυξημένη πιθανότητα μυκητιασικής πνευμονικής λοίμωξης. Η τοξικότητα του φαρμάκου ήταν χαμηλή, ενώ τα χαμηλότερα ποσοστά ναυτίας συγκριτικά με άλλες μελέτες

μπορεί να οφείλονταν στην ευρεία χρήση αντιεμετικών σε αυτούς τους ασθενείς (53).

Αξιοσημείωτο είναι ότι προσφάτως έχει ξεκινήσει η έρευνα για μία διαφορετική δράση της τιγκεκυκλίνης, πέραν της αντιμικροβιακής. Οι Xu και συν., συνοψίζουν τις μελέτες που αφορούν την πιθανές αντικαρκινικές ιδιότητες του φαρμάκου. Η τιγκεκυκλίνη φάνηκε να έχει τοξική δράση έναντι των καρκινικών κυττάρων σε περιπτώσεις λευχαιμίας, μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα, οστεοσαρκώματος, λεμφωμάτων και καρκίνου του μαστού λόγω ανεπάρκειας του γονιδίου RB1. Η τοξικότητα του φαρμάκου αποδόθηκε στην παρέμβαση στη φυσιολογική λειτουργία του μιτοχονδρίου μέσω αναστολής της έκφρασης των γονιδίων του μιτοχονδριακού DNA και της διαδικασίας της μετάφρασης και πρωτεϊνοσύνθεσης. Επίσης αναφέρθηκε ότι παρεμβαίνει στη οδό σηματοδότησης μέσω πρωτεϊνών Akt, όπως στις περιπτώσεις του νευροβλαστώματος, γλοιώματος και γαστρικού καρκίνου, καθώς και στην οδό σηματοδότησης μέσω της οδού Wnt/ β -κατενίνης, όπως στην περίπτωση καρκίνου εκ πλακωδών κυττάρων του τραχήλου. Η τιγκεκυκλίνη θα μπορούσε να είναι μια πιθανή προσθήκη στο οπλοστάσιο της θεραπείας του καρκίνου, αλλά οι συγγραφείς επισήμαναν ότι απαιτούνται περισσότερες μελέτες που να εξασφαλίζουν την ασφάλεια χορήγησής της στους ογκολογικούς ασθενείς και της αποτελεσματικότητας του συνδυασμού της με άλλα χημειοθεραπευτικά φάρμακα (54).

6. ΚΛΙΝΙΚΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΗΣ ΤΙΓΚΕΚΥΚΛΙΝΗΣ

Η αποτελεσματικότητα της τιγκεκυκλίνης στη θεραπεία λοιμώξεων από πολυανθεκτικούς μικροοργανισμούς επιβεβαιώνεται στην έρευνα των Heizmann και συν., η οποία περιελάμβανε ασθενείς που έπασχαν από πλήθος διαφορετικών λοιμώξεων, δερματικές και ενδοκοιλιακές λοιμώξεις, πνευμονία της κοινότητας και ενδονοσοκομειακής αιτιολογίας, λοιμώξεις σε έδαφος διαβητικού ποδιού, βακτηριαιμία και πολυεστιακές λοιμώξεις. Επιτυχώς αντιμετωπίστηκε το 91,6% των ασθενών, από αυτούς 93,6% με μονοθεραπεία και 88% με συνδυασμό που περιείχε τιγκεκυκλίνη. Τα ποσοστά επιτυχίας της

μονοθεραπείας ήταν πολύ υψηλά, πάνω από 90% για το σύνολο των πολυανθεκτικών μικροοργανισμών και πάνω από 80% για το σύνολο των λοιμώξεων. Ιδιαίτερα υψηλά ήταν για τη βακτηριαιμία (100%), την πνευμονία της κοινότητας (100%) και τις δερματικές λοιμώξεις (95%). Υψηλό ποσοστό επιτυχίας καταγράφηκε στη συγκεκριμένη έρευνα και για την ενδονοσοκομειακή πνευμονία (94,7%) (55).

Στην κλινική πράξη, η τιγκεκυκλίνη χρησιμοποιείται σε ασθενείς με πολυμικροβιακές επιπλεγμένες λοιμώξεις, συνήθως από πολυανθεκτικούς μικροοργανισμούς, οι οποίοι παρουσιάζουν μεγάλης βαρύτητας νόσο με συνυπάρχουσες παθήσεις. Οι Bassetti και συν., στην ανασκόπηση των δεδομένων πέντε ευρωπαϊκών μελετών, προσπάθησαν να συνοψίσουν τους παράγοντες που οδήγησαν στη χρήση της τιγκεκυκλίνης και την αποτελεσματικότητά της. Οι ασθενείς σε αυτές τις μελέτες έπασχαν από λοιμώξεις για τις οποίες οι τιγκεκυκλίνη έχει λάβει έγκριση σε ποσοστό 58,3%, ενώ οι υπόλοιποι έπασχαν από λοιμώξεις εκτός εγκεκριμένου φάσματος. Οι περισσότεροι από αυτούς είχαν λάβει προηγηθείσα αγωγή με άλλα αντιβιοτικά, κυρίως τρίτης και τέταρτης γενιάς κεφαλοσπορίνες, φθοριοκινολόνη και καρβαπενέμες. Οι κύριοι λόγοι επιλογής της θεραπείας με τιγκεκυκλίνη ήταν η αποτυχία της προηγηθείσας αγωγής, η λοίμωξη από πολυανθεκτικά μικρόβια συνδυαστικά με το ευρύ αντιμικροβιακό φάσμα της τιγκεκυκλίνης, η βαρύτητα της νόσου με βαθμολογία APACHE II μεγαλύτερη από 15 και SOFA μεγαλύτερη ή ίση από 7 και συνυπάρχουσες παθήσεις. Ιδιαίτερα σημαντικό ήταν ότι η τιγκεκυκλίνη δε χρειάστηκε προσαρμογή δόσης στους ασθενείς με επηρεασμένη νεφρική λειτουργία. Η τιγκεκυκλίνη επέδειξε πλεονεκτικά κλινικά αποτελέσματα σε αυτούς τους ασθενείς με τα προαναφερόμενα χαρακτηριστικά, ακόμα και σε ασθενείς με νόσο σε προχωρημένο στάδιο που απαιτούσαν νοσηλεία σε μονάδα εντατικής θεραπείας, κάνοντας τη ένα δυνατό όπλο στη θεραπεία επιπλεγμένων λοιμώξεων, κυρίως όταν δεν υπάρχει άλλη διαθέσιμη αγωγή (56). Οι ίδιοι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η κλινική αποτυχία και η θνητότητα που παρατηρήθηκε στους ασθενείς με τιγκεκυκλίνη δεν οφείλεται στο ίδιο το φάρμακο και στην αστοχία της θεραπείας, αλλά στις συνυπάρχουσες παθήσεις και άλλους υποκείμενους παράγοντες που αφορούσαν τη βαρύτητα της νόσου. Αξιοσημείωτο είναι ότι στους ασθενείς με επιπλεγμένες ενδοκοιλιακές λοιμώξεις παρατηρήθηκε αυξημένο ποσοστό

πνευμονίας. Πιθανώς η τιγκεκυκλίνη να απέτυχε να αποτρέψει ή να αντιμετωπίσει αυτά τα επεισόδια λόγω μικρότερης δόσης από την απαιτούμενη για την θεραπεία της ενδονοσοκομειακής πνευμονίας (57).

Το 2010 ο FDA (Food and Drug Administration) και ο EMA (European Medicines Agency) εξέδωσαν προειδοποίηση για αυξημένη θνητότητα στους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με τιγκεκυκλίνη. Με έναυσμα αυτή την προειδοποίηση, οι Tasina και συν., μελέτησαν την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της τιγκεκυκλίνης συλλέγοντας δεδομένα από 14 προηγηθείσες τυχαιοποιημένες μελέτες. Η τιγκεκυκλίνη δεν αποδείχτηκε πιο αποτελεσματική από τους συγκρινόμενους αντιμικροβιακούς παράγοντες, ενώ οι ανεπιθύμητες ενέργειες, κυρίως ναυτία και έμετος, ήταν περισσότερες στις περιπτώσεις θεραπείας με τιγκεκυκλίνη, καθώς και η ανάγκη για διακοπή της θεραπείας λόγω αυτών. Επίσης αναφέρθηκε η πιθανότητα παγκρεατίτιδος λόγω του φαρμάκου, ενώ η θνητότητα ανεξαρτήτως αιτίας ήταν αυξημένη, αλλά όχι σε στατιστικά σημαντικό βαθμό (58). Οι Vardakas και συν., επεσήμαναν ότι η τιγκεκυκλίνη ήταν εξίσου αποτελεσματική σε σύγκριση με άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες όταν αυτή χρησιμοποιείται για τις εγκεκριμένες ενδείξεις. Η θνητότητα ήταν αυξημένη σε στατιστικά σημαντικό βαθμό μόνο όταν στην ανάλυση συνυπολογίστηκαν και οι μη εγκεκριμένες ενδείξεις του φαρμάκου (59). Οι Prasad και συν, αντίθετα στη μετα-ανάλυσή τους υποστήριξαν ότι η θεραπεία με τιγκεκυκλίνη συνοδεύεται από αυξημένη θνητότητα ($p:0,01$) και αυξημένα ποσοστά αποτυχίας ίασης ($p:0,004$) τόσο στις εγκεκριμένες, όσο και στις μη εγκεκριμένες ενδείξεις. Τα αποτελέσματα αυτά τα συνέδεσαν με τη βακτηριοστατική κι όχι βακτηριοκτόνο δράση του φαρμάκου και τη χαμηλή συγκέντρωση στο ορό. Σε περίπτωση σοβαρών λοιμώξεων με αυξημένο κίνδυνο βακτηραιμίας, συμπέραναν ότι η τιγκεκυκλίνη δεν μπορεί να ανταποκριθεί θεραπευτικά και για αυτό το λόγο υποστήριξαν τη χρήση της μόνο σε περίπτωση αποτυχίας άλλων αντιμικροβιακών και σε λοιμώξεις απειλητικές για τη ζωή του ασθενούς (60). Οι Gandul και συν., υποστήριξαν ότι η θεραπεία με τιγκεκυκλίνη χαρακτηρίζεται από αυξημένο κίνδυνο επιλοίμωξης από μικροοργανισμούς ανθεκτικούς στην τιγκεκυκλίνη και κυρίως από *Pseudomonas aeruginosa*. Στην έρευνά τους το ποσοστό επιλοίμωξεων άγγιζε το 24% των ασθενών, οδηγώντας σε κλινική αποτυχία της θεραπείας και αύξηση της θνητότητας (61).

Οι McGovern και συν., επεδίωξαν να ερμηνεύσουν τους λόγους της παρατηρηθείσας αύξησης θνητότητας στους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με τιγκεκυκλίνη. Υποστήριξαν ότι το συμπέρασμα της αυξημένης θνητότητας, στο οποίο κατέληξαν οι προηγούμενες μελέτες, δεν προήλθε από διερεύνηση του αποτελέσματος της θεραπείας ανάλογα με τον τύπο της λοίμωξης. Η μεγαλύτερη θνητότητα παρατηρήθηκε στους ασθενείς με ενδονοσοκομειακή πνευμονία (52%), που αποτελούσαν το 15% του συνόλου των ασθενών. Στους ασθενείς αυτούς και ειδικά στην υποομάδα με πνευμονία λόγω μηχανικού αερισμού, παρατηρήθηκαν υψηλότερο βακτηριακό φορτίο και μεγαλύτερη πιθανότητα βακτηριαιμίας. Σε συνδυασμό με τα χαμηλά επίπεδα στον ορό και την ανεπαρκή δόση για αυτές τις περιπτώσεις θα μπορούσε να ερμηνευθεί και η μεγαλύτερη θνητότητα σε αυτούς τους ασθενείς. Οι ιδιαίτεροι χαρακτήρες του τύπου της λοίμωξης κι όχι η αποτυχία της θεραπείας, έδειξαν να σχετίζονται περισσότερο με τη θνητότητα. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η μεγάλη ετερογένεια των μελετών ως προς τον τύπο της λοίμωξης, η έλλειψη καθορισμένου χρονικού παραθύρου εκτίμησης της θνητότητας και το γεγονός ότι θα έπρεπε να υπολογίζεται η θνητότητα που αφορά το ίδιο το αποτέλεσμα του φαρμάκου κι όχι η θνητότητα από οποιαδήποτε αιτία, πιθανώς οδήγησαν στο αποτέλεσμα του αυξημένου κινδύνου θνητότητας στους ασθενείς που έλαβαν τιγκεκυκλίνη (62).

Την άποψη για την ιδιαίτερη βαρύτητα της υποκείμενης παθοφυσιολογίας των νόσων στο τελικό αποτέλεσμα της αγωγής υποστήριξαν και οι De Rosa και συν., στη μελέτη τους. Ο σκεπτικισμός σχετικά με την αποτελεσματικότητα της τιγκεκυκλίνης σε βαρέως πάσχοντες, βασίστηκε σε αποτελέσματα που προήλθαν από χρήση της τιγκεκυκλίνης σε μια καθορισμένη δόση και ανεξάρτητα από τους ιδιαίτερους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς που χαρακτηρίζουν αυτούς τους ασθενείς. Οι βαρέως πάσχοντες χαρακτηρίζονται από παθοφυσιολογικές μεταβολές που επηρεάζουν την φαρμακοκινητική ενός φαρμάκου. Αυξημένος όγκος κατανομής και αυξημένη κάθαρση του φαρμάκου, μπορούν να επηρεάσουν την κατανομή, τη συγκέντρωση και τη διείσδυση του στους φλεγμαίνοντες ιστούς. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η αποτελεσματικότητα της τιγκεκυκλίνης θα πρέπει να κρίνεται με βάση τη σωστή προσαρμογή της δόσης ανάλογα με την παθοφυσιολογία της νόσου, καθώς μια ανεπαρκής δόση τιγκεκυκλίνης, θα οδηγούσε σε μη

ικανοποιητικά αποτελέσματα και αυξημένη θνητότητα (18).

Οι Guirao και συν., μελέτησαν την ασφάλεια χορήγησης της τιγκεκυκλίνης με βάση κλινικά δεδομένα. Οι ασθενείς νοσηλεύονταν λόγω επιπλεγμένων δερματικών και ενδοκοιλιακών λοιμώξεων, με νόσο μεγάλης βαρύτητας και συνυπάρχουσες παθήσεις. Οι περισσότεροι ασθενείς έλαβαν τιγκεκυκλίνη ως μονοθεραπεία και ως θεραπεία δεύτερης γραμμής μετά την αποτυχία άλλης αντιβιοτικής αγωγής. Οι πιο συχνές επιπλοκές που παρατηρήθηκαν και οδήγησαν σε θάνατο ήταν πολυοργανική ανεπάρκεια και μετάπτωση σε σήψη και σηπτική καταπληξία. Η θνητότητα υπολογίστηκε σε 9.4% για τις δερματικές λοιμώξεις και 18.7% για τις ενδοκοιλιακές λοιμώξεις, ποσοστά χαμηλότερα από τα αναμενόμενα για τις συγκεκριμένες νόσους. Ωστόσο αν και η θνητότητα που καταγράφηκε ήταν υψηλότερη από αυτή των συγκρινόμενων αντιβιοτικών παραγόντων, μπορεί να αποδοθεί σε παράγοντες ανεξάρτητους από την αγωγή, όπως η υψηλή βαθμολογία APACHE II και SOFA, η συνοσηρότητα, η μακρύτερη χρονικά θεραπεία με ακατάλληλα αντιβιοτικά πριν τη χορήγηση της τιγκεκυκλίνης. Επίσης καταγράφηκαν υπερπυρεξία, επιλοίμωξη του τραύματος, κοιλιακό άλγος και γαστρεντερικές διαταραχές. Ο πληθυσμός της ομάδας της τιγκεκυκλίνης, περιλάμβανε αυξημένο ποσοστό ασθενών σε κρίσιμο επίπεδο, που αυξάνει εξ'όρισμού τον κίνδυνο για ανεπιθύμητα συμβάματα και θάνατο (63).

Οι Dixit και συν., στη μετα-ανάλυσή τους, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η τιγκεκυκλίνη σχετίζεται με περισσότερες ανεπιθύμητες ενέργειες και αυξημένη θνητότητα. Η αποτελεσματικότητά της φάνηκε αμφίβολη σε σοβαρές λοιμώξεις από μικροοργανισμούς αυξημένης λοιμογονικότητας, όπως η πνευμονία νοσοκομειακής αιτιολογίας και πνευμονία λόγω μηχανικού αερισμού. Τονίζουν λοιπόν τη χρήση της τιγκεκυκλίνης σε συνδυαστικά αντιμικροβιακά σχήματα και κάτω από ελεγχόμενη χορήγηση (64). Σε ανάλογα αποτελέσματα κατέληξαν οι Shen και συν., στη μετα-ανάλυση 15 τυχαιοποιημένων ελεγχόμενων δοκιμών που αφορούσαν τη σύγκριση της τιγκεκυκλίνης με άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες. Υποστήριξαν ότι η θεραπεία με τιγκεκυκλίνη είναι λιγότερο αποτελεσματική από άλλες αντιβιοτικές αγωγές στην αντιμετώπιση επιπλεγμένων λοιμώξεων και ειδικά στην περίπτωση ενδοκομμειακής πνευμονίας και λοιμώξεων του διαβητικού ποδιού. Η μειωμένη αποτελεσματικότητα αποδόθηκε στη βακτηριοστατική

δράση του φαρμάκου. Στην περίπτωση των λοιμώξεων του διαβητικού ποδιού, στην αποτυχία της θεραπείας συνυπολογίστηκαν οι χαμηλές συγκεντρώσεις στα οστά και στο υγρό που περιβάλλει το επιθηλιακά κύτταρα, ενώ στην ενδονοσοκομειακή πνευμονία η υψηλή επίπτωση της *Pseudomonas aeruginosa* και η ανεπαρκής δοσολογία. Επίσης επισήμαναν την εμφάνιση ανθεκτικών στην τιγκεκυκλίνη στελεχών *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* και *Escherichia coli*. Οι συγγραφείς πρότειναν υψηλότερες δόσεις και συνδυαστική θεραπεία με άλλα αντιμικροβιακά, ώστε να επιτευχθεί το επιθυμητό αποτέλεσμα. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην μικροβιακή εκρίζωση μεταξύ των ομάδων, αν και ήταν μικρότερη στην ομάδα της τιγκεκυκλίνης. Ανεπιθύμητες ενέργειες από το γαστρεντερικό, ναυτία και έμετος καταγράφηκαν σε μεγαλύτερο ποσοστό στην ομάδα της τιγκεκυκλίνης, καθώς και υπερπυρεξία, ρίγη, κεφαλαλγία και άλγος. Τα ποσοστά παρενεργειών από το αιμοποιητικό, λεμφικό και αναπνευστικό σύστημα ήταν παρόμοια και στις δύο ομάδες. Τέλος η θνητότητα στην ομάδα της τιγκεκυκλίνης ήταν αυξημένη σε στατιστικά σημαντικό βαθμό. Οι συγγραφείς υποστήριξαν ότι η τιγκεκυκλίνη πρέπει να χρησιμοποιείται ως τελευταία επιλογή θεραπείας και υπό προσεκτική παρακολούθηση του ασθενούς (30).

Συνοπτικά, οι συχνότερες ανεπιθύμητες ενέργειες της τιγκεκυκλίνης είναι εκ του γαστρεντερικού, ναυτία, έμετος, διάρροια, ενώ έχουν καταγραφεί και διαταραχή της ηπατικής λειτουργίας με αύξηση των τρανσαμινασών και της αλκαλικής φωσφατάσης, ηπατίτιδα, παγκρεατίτιδα, ίλιγγος, απώλεια ακοής, δερματικές αντιδράσεις, εξάνθημα τύπου Stevens-Johnson, σύνδρομο ομοιάζον με ερυθματώδη λύκο, διαταραχή της οστικής ανάπτυξης και υπέρχρωση οδόντων στα παιδιά (15, 65, 66). Οι Shao και συν., περιέγραψαν ένα περιστατικό πυρετού και λευχαιμοειδούς αντίδρασης σε ασθενή μετά από αγωγή που έλαβε με τιγκεκυκλίνη λόγω πνευμονίας. Ο ασθενής παρουσίασε εμπύρετο, εξάνθημα και μεγάλη αύξηση του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων 3 εβδομάδες μετά την έναρξη της τιγκεκυκλίνης, χωρίς σημεία επιδείνωσης της αρχικής νόσου ή αιματολογικού νοσήματος. Διακοπή της θεραπείας οδήγησε σε υποχώρηση των συμπτωμάτων. Σύμφωνα με τους συγγραφείς, τέτοια περιστατικά έχουν περιγραφεί ήδη για τη μινοκυκλίνη, οπότε η τιγκεκυκλίνη ως παράγωγό της θα μπορούσε να προκαλεί αντίστοιχες αντιδράσεις

υπερευαισθησίας (67).

Ιδιαίτερα έχει μελετηθεί η συσχέτιση της χορήγησης τιγκεκυκλίνης με την εμφάνιση παγκρεατίτιδος. Οι Gilson και συν., περιέγραψαν ένα περιστατικό ασθενούς, ο οποίος εμφάνισε οξεία παγκρεατίτιδα μετά από αγωγή με τιγκεκυκλίνη. Τα συμπτώματα εμφανίστηκαν 16 ημέρες μετά την έναρξη της θεραπείας και η παγκρεατίτιδα επιβεβαιώθηκε εργαστηριακά και απεικονιστικά. Λύση της παγκρεατίτιδος επήλθε ταχέως μετά τη διακοπή της αγωγής (68). Αντίστοιχα οι Mascarello και συν., περιέγραψαν την εμφάνιση οξείας νεκρωτικής παγκρεατίτιδος σε ασθενή μετά από 12 ημέρες αγωγής με τιγκεκυκλίνη. Η διακοπή της θεραπείας οδήγησε και σε αυτή την περίπτωση σε υποχώρηση των συμπτωμάτων μετά από 10 ημέρες. Ωστόσο ο συγκεκριμένος ασθενής είχε λάβει 8 ώρες προ της εμφάνισης της παγκρεατίτιδος δόση προποφόλης, που θα μπορούσε να αποτελεί συμπαράγοντα στην εμφάνιση της παγκρεατίτιδος (69). Οι McGovern και συν., υποστηρίζουν ότι πιθανότητα παγκρεατίτιδος σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπεία με τιγκεκυκλίνη είναι μικρότερη από 1%. Ο μηχανισμός με τον οποίο η τιγκεκυκλίνη προκαλεί παγκρεατίτιδα είναι άγνωστος. Ως πιθανοί μηχανισμοί αναφέρθηκαν προκαλούμενη αύξηση τριγλυκεριδίων από την τιγκεκυκλίνη, υψηλή συγκέντρωση του φαρμάκου στη χολή και παραγωγή τοξικών μεταβολιτών. Προηγούμενο ιστορικό παγκρεατίτιδος και συγχορήγηση της τιγκεκυκλίνης με άλλα φάρμακα τοξικά για το πάγκρεας θα πρέπει να συνυπολογίζονται (70). Η άποψη για την ιδιαίτερη σημασία άλλων επιβαρυντικών παραγόντων, ενισχύεται από την αναφορά περιστατικού των Hemphill και συν., οι οποίοι περιέγραψαν την εμφάνιση παγκρεατίτιδος σε ασθενή με κυστική ίνωση μετά τη χορήγηση τιγκεκυκλίνης. Επιβεβαίωση της συσχέτισης της τιγκεκυκλίνης και της ανάπτυξης παγκρεατίτιδος προήλθε από το γεγονός ότι ο ασθενής παρουσίασε τη συγκεκριμένη επιπλοκή δύο φορές, μετά από δύο διαφορετικές λήψεις τιγκεκυκλίνης, με χρονική παρεμβολή 11 μηνών. Οι ασθενείς με κυστική ίνωση παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο παγκρεατίτιδος. Ο συνδυασμός τιγκεκυκλίνης με προϋπάρχουσα επιβαρυντική κατάσταση για το πάγκρεας οδήγησε στην εκδήλωση της νόσου (71).

Παρά τη συσχέτιση της τιγκεκυκλίνης με εμφάνιση οξείας παγκρεατίτιδος, οι Occhionorelli και συν., υποστήριξαν ότι η τιγκεκυκλίνη μπορεί να έχει θέση στη θεραπεία της νεκρωτικής παγκρεατίτιδος. Μελέτησαν

την πορεία 6 ασθενών που παρουσίασαν οξεία νεκρωτική παγκρεατίτιδα με αιμοκαλλιέργειες και καλλιέργειες περιπαγκρεατικού υγρού θετικές για ποικίλα gram-θετικά και gram-αρνητικά μικρόβια. Η αρχική αντιμετώπιση με παραδοσιακούς αντιμικροβιακούς παράγοντες απέτυχε, ενώ η χορήγηση τιγκεκυκλίνης οδήγησε σε λύση της λοίμωξης. Ενόψει της αύξησης των πολυανθεκτικών μικροοργανισμών, η τιγκεκυκλίνη θα μπορούσε να αποτελέσει εναλλακτική λύση στη θεραπεία ενδοκοιλιακών λοιμώξεων λόγω παγκρεατίτιδος (72).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η εμφάνιση λοιμώξεων από Enterobacteriaceae ανθεκτικά στις καρβαπενέμες (CRE) αναγνωρίζεται σήμερα ως μία από τις μεγαλύτερες προκλήσεις στις μολυσματικές ασθένειες. Τα CREs αναδύονται σε νοσοκομεία των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής, της Λατινικής Αμερικής, της Γερμανίας και στις χώρες της Μεσογείου (73-76). Η παρατεταμένη νοσηλεία, η συνοσηρότητα, όπως κακοήθειες και ουδετεροπενία και η πρόσφατη λήψη αντιμικροβιακών ευρέος φάσματος και καρβαπενέμες είναι οι πιο σημαντικοί παράγοντες κινδύνου για την απόκτηση αυτών των στελεχών. Φορεία στο γαστρεντερικό σωλήνα των ασθενών που νοσηλεύονται στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας είναι συχνή, οδηγώντας σε οριζόντια διασπορά (77). Τα πιο συνηθισμένα CREs είναι είδη *Klebsiella pneumoniae* που παράγουν καρβαπενεμάσες (KPCs). Τα στελέχη που παράγουν KPC-2 και KPC-3 κυριαρχούν (78). Η εμφάνιση αντοχής στην κολιμυκίνη, που οφείλεται σε αυξημένα ποσοστά συνταγογράφησης (79, 80) συχνά οδηγεί σε θεραπεία με συνδυασμό δύο ή ακόμα και τριών αντιμικροβιακών. Έχει προταθεί ότι οι καρβαπενέμες θα πρέπει να είναι μέρος αυτού του συνδυασμού ιδιαίτερα εάν η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) της ιμιπενέμης είναι κάτω από 16 μg/ml (81).

Η τιγκεκυκλίνη ανήκει στην οικογένεια των γλυκυκυκλινών αντιμικροβιακών με ένα ευρύ φάσμα κατά των πολυανθεκτικών Gram-θετικών κόκκων και Gram-αρνητικών βακτηρίων. Έχει εγκριθεί για τη αντιμετώπιση ενδοκοιλιακών λοιμώξεων (intra-abdominal infections-IAI) και επιπλεγμένων λοιμώξεων του δέρματος και των δερματικών δομών (complicated skin and skin structures infections-cSSTIs). Δεν υδρολύεται από τις καρβαπενεμάσες και αναμένεται να είναι δραστική έναντι των KPC και των CRE. Παρά το γεγονός ότι τα in vitro δεδομένα δείχνουν ότι η τιγκεκυκλίνη παραμένει ενεργή κατά των KPC και των CRE, οι δοκιμασίες χρόνου-θανάτωσης αποτυγχάνουν να αποδείξουν βακτηριοκτόνο δράση κατά των στελεχών *K. pneumoniae* που παράγουν KPC-2 αλλά αποδεικνύουν μάλλον βακτηριοστατικό αποτέλεσμα (8). Υπάρχει ακόμα έλλειψη δεδομένων για την κλινική αποτελεσματικότητα της τιγκεκυκλίνης έναντι των λοιμώξεων από στελέχη *K.pneumoniae* που παράγουν KPC. Δύο πρόσφατες μελέτες ανέλυσαν δεδομένα από 41 και 125

ασθενείς αντίστοιχα με λοίμωξη από στελέχη *K.pneumoniae* που παράγουν KPC (82, 83). Αυτές οι μελέτες έδειξαν ότι ο συνδυασμός τιγκεκυκλίνης με κολιμυκίνη-πολυμυξίνη Β και μεροπενέμη ήταν η καλύτερη στρατηγική σε σχέση με το πλεονέκτημα επιβίωσης. Ωστόσο, η ακριβής δράση της τιγκεκυκλίνης σε αυτά σχήματα δεν έχει αποσαφηνιστεί.

Στόχος της παρούσας μελέτης είναι να παρέχει ένα ισχυρό υπόβαθρο για τη χρήση της τιγκεκυκλίνης στην αντιμετώπιση πειραματικών λοιμώξεων από στελέχη *K. pneumoniae* που παράγουν KPC-2 με ιδιαίτερη έμφαση στην αποτελεσματικότητά της όταν χορηγείται ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με κολιμυκίνη ή/και μεροπενέμη. Μελετήθηκε επίσης και η σχέση με το επίπεδο της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) της μεροπενέμης.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Εξεταζόμενα στελέχη

Τρία KPC στελέχη (αριθμημένα ως 2, 18 και 19), επιλέχθηκαν από μια διαθέσιμη βιβλιοθήκη 250 στελεχών που διατηρούνται κατεψυγμένα στους -70°C στο Εργαστήριο Ανοσολογίας των Λοιμώξεων της Δ' Παθολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου ΑΤΤΙΚΟΝ. Η παραγωγή KPC-2 καθορίστηκε με PCR (76). Τα στελέχη αυτά επιλέχθηκαν ώστε να έχουν διαφορετική MIC της μεροπενέμης. Αν και αυτά τα στελέχη είχαν διαφορετικά πρότυπα στην ηλεκτροφόρηση με παλλόμενο πεδίο (pulsed-field gel electrophoresis-PFGE) του DNA τους, η αλληλουχία του ολικού γονιδιώματος τους (whole genome sequencing-WGS) επιβεβαίωσε ότι ήταν γενετικά διαφορετικά. Το DNA από κάθε στέλεχος απομονώθηκε με το QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, U.S.A) : 100ng από gDNA υπεβλήθησαν σε δόμηση DNA βιβλιοθήκης με τη χρήση του Ion XpressTM Plus Fragment Library Kit (Thermo Fisher Scientific, MA, USA) και ταυτοποιήθηκαν με έναν μοναδικό προσαρμογέα με τη χρήση του Ion Xpress barcode adapters kit (Thermo Fisher Scientific). Το στέλεχος 2 επέδειξε υψηλή ομοιότητα με την *K.pneumoniae* E16KP0218, το στέλεχος 18 με την *K.pneumoniae* 19110124 και το στέλεχος 19 με την *K.pneumoniae* HS11286.

Σχεδιασμός ζωικής μελέτης

Χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 540 άρρενες μύες τύπου C57BL/6, σωματικού βάρους 20-25 gr και ηλικίας 7-9 εβδομάδων (Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Αθήνα, Ελλάδα). Τα πειράματα διεξήχθησαν στο Εργαστήριο Πειραματικής Ιατρικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου ΑΤΤΙΚΟΝ (Αθήνα, Ελλάδα). Μετά απο την περίοδο εγκλιματισμού, τα ζώα στεγάστηκαν σε κλωβούς (3-5 ζώα ανά κλωβό) με σταθερό ρυθμό ροής αέρα 70 αλλαγές ανά ώρα, σε απομονωμένο δωμάτιο με ελεγχόμενη θερμοκρασία στους 24°C και 6 πμ/6 μμ κύκλο ημέρας/νύχτας. Τα ζώα διατρέφονταν με καθορισμένη τροφή (AnaLab, Αθήνα) και είχαν πρόσβαση σε νερό κατά βούληση. Η μελέτη εγκρίθηκε από την Επιτροπή Δεοντολογίας του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου ΑΤΤΙΚΟΝ και τη Διεύθυνση Κτηνιατρικής της Νομαρχίας Αθηνών (αριθμός αδείας 4074/ 27-06-2014).

Μεμονωμένες αποικίες των στελεχών υπό δοκιμασία επωάστηκαν σε 5 ml θρεπτικού υλικού Mueller-Hinton broth (Oxoid Ltd., London, UK) σε ανακινούμενο υδατόλουτρο στους 37°C για 12 ώρες. Την ημέρα του πειράματος το ενοφθάλμισμα ρυθμίστηκε σε 1×10^8 cfu/ml χρησιμοποιώντας το 0.5 της κλίμακας MacFarland. Το ενοφθάλμισμα για κάθε στέλεχος επιλέχθηκε από προκαταρκτικά πειράματα ώστε να καθοριστεί το χαμηλότερο θανατηφόρο ενοφθάλμισμα. Αυτό καθορίστηκε σε 1×10^5 cfu/ζώο για το στέλεχος 2 και εγχύθηκε ενδοπεριτοναϊκώς σε συνολικό όγκο 200μl. Ωστόσο, τα στελέχη 18 και 19 απέτυχαν να προκαλέσουν θανάσιμη λοίμωξη όταν εγχύθηκαν σε ενοφθάλμισμα 1×10^5 ή 1×10^7 cfu/ζώο. Γι αυτό το λόγο, τα ζώα υπεβλήθησαν σε ουδετεροπενία με χρήση ενέσιμης κυκλοσφαμίδης, όπως έχει προηγουμένως περιγραφεί (84), και στη συνέχεια ενοφθάλμισμα 1×10^7 cfu/ζώο εγχύθηκε ενδοπεριτοναϊκώς για τα στελέχη 18 και 19 σε συνολικό όγκο 200 μl, το οποίο ήταν θανατηφόρο. Η χρήση των ουδετεροπενικών μυών αναπαριστά την κλινική κατάσταση των στελεχών KPC τα οποία προσβάλλουν εξασθενημένους ξενιστές (77).

Κάθε στέλεχος εγχύθηκε στο ένα τρίτο του συνόλου των μυών. Στη συνέχεια τα ζώα χωρίστηκαν τυχαία σε οκτώ ομάδες όπως περιγράφεται παρακάτω. Σε κάθε ομάδα κατενεμήθηκαν 22 μύες εκτός από την ομάδα Β, που περιέλαβε 26 μύες. Για κάθε ημέρα πειράματος έγιναν χειρισμοί σε δύο ζώα ανά ομάδα. Οι φαρμακευτικές ουσίες είχαν μορφή σκόνης και

ανασυστάθηκαν με WFI (water for injection). Όλες οι παρεμβάσεις έγιναν υπό ελαφρά αναισθησία με αιθέρα:

- Ομάδα Α (μάρτυρες): στα ζώα εγχύθηκαν άπαξ ημερησίως 200μl WFI υποδορίως στην περιοχή του αυχένα, ξεκινώντας μία ώρα μετά την έγχυση του βακτηρίου.
- Ομάδα Β: στα ζώα εγχύθηκαν άπαξ ημερησίως 50 mg/kg τιγκεκυκλίνης (Pfizer, Αθήνα, Ελλάδα) σε όγκο 200μl υποδορίως στην περιοχή του αυχένα, ξεκινώντας μία ώρα μετά την έγχυση του βακτηρίου. Η δόση είναι η μέγιστη αναφερόμενη για τους μυσ (85-87).
- Ομάδα C: στα ζώα εγχύθηκαν άπαξ ημερησίως 60 mg/kg μεροπενέμης (Astra Zeneca, Αθήνα, Ελλάδα), υποδορίως στην περιοχή του αυχένα σε όγκο 200μl, ξεκινώντας μία ώρα μετά την έγχυση του βακτηρίου. Η δόση αυτή έχει αποδειχτεί να επιτυγχάνει τη μέγιστη βακτηριοκτόνο δράση σε μοντέλα λοίμωξης μυών (88, 89).
- Ομάδα D: στα ζώα εγχύθηκαν άπαξ ημερησίως 40 mg/kg μεθυλοσουλφονικής κολιμυκίνης (Norma, Ιωάννινα, Ελλάδα) υποδορίως στην περιοχή του αυχένα σε όγκο 200μl, ξεκινώντας μία ώρα μετά τη έγχυση του βακτηρίου. Η δόση είναι η μέγιστη αναφερόμενη για τους μυσ (87,90,91)
- Ομάδα E: στα ζώα εγχύθηκαν άπαξ ημερησίως 50 mg/kg τιγκεκυκλίνης και 40 mg/kg κολιμυκίνης, υποδορίως στην περιοχή του αυχένα σε όγκο 200μl έκαστη, ξεκινώντας μία ώρα μετά την έγχυση του βακτηρίου.
- Ομάδα F: στα ζώα εγχύθηκαν άπαξ ημερησίως 60 mg/kg μεροπενέμης και 40 mg/kg κολιμυκίνης, υποδορίως στην περιοχή του αυχένα σε όγκο 200μl έκαστη, ξεκινώντας μία ώρα μετά την έγχυση του βακτηρίου.
- Ομάδα G: στα ζώα εγχύθηκαν άπαξ ημερησίως 50 mg/kg τιγκεκυκλίνης και 60 mg/kg μεροπενέμης, υποδορίως στην περιοχή του αυχένα σε όγκο 200μl έκαστη, ξεκινώντας μία ώρα μετά την έγχυση του βακτηρίου.
- Ομάδα H: στα ζώα εγχύθηκαν άπαξ ημερησίως 50 mg/kg τιγκεκυκλίνης, 60mg/kg μεροπενέμης και 40 mg/kg κολιμυκίνης, υποδορίως στην περιοχή του αυχένα σε όγκο 200μl έκαστη, ξεκινώντας μία ώρα μετά την έγχυση του βακτηρίου.

Οι μονοδοσικοί αντιβιοτικοί παράγοντες χρησιμοποιήθηκαν με τον τρόπο που έχουν προηγουμένως βρεθεί να είναι αποτελεσματικοί.

Οι μύες ζυγίζονταν καθημερινά, ενώ καθημερινά καταγραφόταν και η θερμοκρασία τους εκ του πρωκτού. Η επιβίωση καταγράφηκε σε δέκα ζώα ανά ομάδα κάθε 12 ώρες για μέγιστο όριο δεκατεσσάρων ημερών. Έξι ζώα από κάθε ομάδα θυσιάστηκαν στις 6 ώρες και 24 ώρες μετά την βακτηριακή έγχυση για την εκτίμηση της βακτηριακής ανάπτυξης και για δειγματοληψία αίματος. Πιο συγκεκριμένα, μετά από αναισθησία με αιθέρα, έγινε κοιλιακή τομή στη μέση γραμμή υπό άσηπτες συνθήκες. Το έντερο εκτοπίστηκε προς τα αριστερά και η περιτοναϊκή κοιλότητα εκπλύθηκε ενδελχώς με 3 ml αποστειρωμένου PBS (phosphate buffered saline) με pH 7,2. Το PBS στη συνέχεια συνελέγη και χρησιμοποιήθηκε για ποσοτική καλλιέργεια και για μέτρηση των επιπέδων του φαρμάκου. Εν συνεχεία, αναγνωρίστηκε και παρακεντήθηκε η κάτω κοίλη φλέβα και συνελέγησαν 0,2 ml αίματος σε αποστειρωμένο και ελεύθερο πυρετογόνων σωληνάριο για εκτίμηση των επιπέδων του φαρμάκου. Τα σωληνάρια με το αίμα των ζώων φυγοκεντρήθηκαν σε 13.000 g και 24°C για 10 λεπτά και ο ορός φυλάχθηκε στους -80°C μέχρι να αναλυθεί. Έγινε διατομή τμημάτων του ήπατος, του κάτω λοβού του δεξιού πνεύμονα, του σπλήνα και του δεξιού νεφρού με ξεχωριστές αποστειρωμένες λεπίδες, συνελέγησαν σε ξεχωριστά αποστειρωμένα δοχεία με 1 ml PBS με pH 7,2 και χρησιμοποιήθηκαν για ποσοτικές καλλιέργειες ιστών και για μέτρηση των επιπέδων του φαρμάκου. Δύο ζώα της ομάδας B θυσιάστηκαν στις 0,5 ώρες και άλλα δύο στις 2 ώρες μετά τη έγχυση του φαρμάκου. Συνελέγησαν 0,3 ml αίματος μετά από φλεβοκέντηση της κάτω κοίλης φλέβας κάτω από άσηπτες συνθήκες και φυγοκεντρήθηκαν όπως περιγράφηκε παραπάνω.

Ανάλυση του ορού

Στον ορό που συνελέγη 6 ώρες μετά τη λοίμωξη, η ουρία μετρήθηκε με τη μέθοδο ουρεάσης/γλουταμικής αφυδρογονάσης (κατώτατο όριο ανίχνευσης 0,04 mg/dl), η κρεατινίνη μετρήθηκε με τη μέθοδο Jaffe (κατώτατο όριο ανίχνευσης 0,03 mg/dl), η ασπαρτική αμινοτρανσφεράση (AST) και η αλανική αμινοτρανσφεράση (ALT) μετρήθηκαν με τη μέθοδο IFCC με το σύστημα ADVIA 1800 (SIEMENS, Munich, Germany, κατώτατο όριο ανίχνευσης 0,8 U/l και 0,6 U/l αντίστοιχα).

Ποσοτικές καλλιέργειες των ιστών

Αφού ζυγίστηκαν κάτω από στείρες συνθήκες, τα δείγματα ιστών ομογενοποιήθηκαν με 1 ml θρεπτικού υλικού Mueller-Hinton και αραιώθηκαν τέσσερις συνεχόμενες φορές 1:10 σε αποστειρωμένο Mueller-Hinton. Στη συνέχεια, 0,1 ml από κάθε αραιώση στρώθηκε πάνω σε MacConkey άγαρ (Becton Dickinson, Cockeysville, MD) και τα τριβλία επωάστηκαν για 24 ώρες στους 35°C. Ο αριθμός των αποικιών μετρήθηκε και πολλαπλασιάστηκε με τον αντίστοιχο συντελεστή αραιώσης. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως \log_{10} cfu/g. Το ελάχιστο όριο ανίχνευσης ήταν 10 cfu/g. Ο αριθμός των βιώσιμων κυττάρων στο περιτοναϊκό έκπλυμα μετρήθηκε σε μια παρόμοια διαδικασία μετά από καλλιέργειες διαδοχικών αραιώσεων. Το κατώτερο όριο ανίχνευσης ήταν 10 cfu/ml και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε \log_{10} cfu/ml.

Υψηλής απόδοσης υγρή χρωματογραφία

Η τιγκεκυκλίνη αγοράστηκε από τη Phizer Inc (New Jersey, U.S.A). Η σουλφονική κολιμυκίνη, η σουλφονική νετιλιμικίνη, ο 9-φθορενυλομεθυλικός χλωροφορμικός εστέρας (FMOC-Cl), το τριφθοροξικό οξύ, το όξινο ανθρακικό νάτριο αγοράστηκαν από την Alfa Aesar (Erlenbachweg, Germany). Η μεροπενέμη, το 3-[N-μορφολινο]προπανοσουλφονικό οξύ (3-[N-morpholino]propanesulfonic acid, MOPS), το διυδρογονικό φωσφορικό νάτριο και το όξινο φωσφορικό νάτριο αγοράστηκαν από τη Sigma–Aldrich (Steinheim, GmbH). Το βορικό οξύ και η κατάλληλου βαθμού για την HPLC μεθανόλη, το ακετονιτρίλιο, το τετραϋδροφουράνιο, η ακετόνη και το νερό αγοράστηκαν από την Scharlab (Sentmenat, Barcelona, Spain). Το υδροξείδιο του νατρίου αποκτήθηκε από τη Merck. Το DMSO αποκτήθηκε από την AppliChem (Barcelona, Spain).

Όγκος 0,2 ml των υπερκειμένων του ορού ή του ήπατος ή του σπληνός αναμείχθηκαν με 0,2 ml τριχλωροξικού οξέος 20% (Merck, Darmstadt, Germany) και φυγοκεντρήθηκαν σε 13.000 g και στους 4°C για 10 λεπτά. Μετά τη φυγοκέντρηση, όγκος 0,3 ml του υπερκειμένου εγχύθηκε σε σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (high-performance liquid chromatography system-HPLC, Agilent 1100 Series, Waldbronn, Γερμανία) με τα ακόλουθα χαρακτηριστικά έκπλυσης: Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6x150 mm, 5 μ m) στήλη κάτω από 37°C, κινητή φάση αποτελούμενη από φωσφορικό ρυθμιστικό

διάλυμα (pH 6,8) με 4 mM 1-οκτανοσουλφονικού οξέος και ακετονιτρίλιο σε αναλογία 75:25 με ρυθμό ροής 1 ml/min, ανίχνευση με υπεριώδη ακτινοβολία πραγματοποιήθηκε στα 350 nm. Ο χρόνος κατακράτησης της χρωματογραφικής κορυφής που αντιστοιχούσε στην τιγκεκυκλίνη ήταν 2,38 λεπτά και υπολογίστηκε σε µg/ml. Οι συγκεντρώσεις της τιγκεκυκλίνης υπολογίστηκαν με τη δημιουργία μιας πρότυπης καμπύλης με γνωστές συγκεντρώσεις καθαρής ουσίας (Pfizer Inc, New Jersey, USA). Το κατώτερο όριο ανίχνευσης ήταν 0,05 µg/ml. Οι συγκεντρώσεις της τιγκεκυκλίνης στους ιστούς εκφράστηκαν ως mg/g. Οι συγκεντρώσεις της τιγκεκυκλίνης στον ορό εκφράστηκαν ως µg/ml.

Το ανθρακικό ρυθμιστικό διάλυμα (1%, pH=10) για τις μετρήσεις της κολιμυκίνης ετοιμάστηκε με διάλυση 1 gr όξινου ανθρακικού νατρίου σε 100 ml αποσταγμένου κατάλληλου για την HPLC νερού και το pH του διαλύματος ρυθμίστηκε στο 10 με τη χρήση υδροξειδίου του νατρίου 10%. Αποθεματικό διάλυμα σουλφονικής κολιμυκίνης (1 mg/ml) και σουλφονικής νετιλιμικίνης (0,5 mg/ml) εσωτερικού προτύπου προετοιμάστηκαν με διάλυση 10 και 5 mg από τις αντίστοιχες ουσίες σε 10 ml αποσταγμένου νερού κατάλληλου για HPLC. Αποθεματικό διάλυμα 100mM FMOC-Cl προετοιμάστηκε με διάλυση 260 mg FMOC-Cl σε 10 ml ακετονιτρίλιου. Ανάλυση με HPLC πραγματοποιήθηκε στους 22°C κάτω από ισοκρατικές συνθήκες. Η κινητή φάση αποτελούνταν από ένα μείγμα ακετονιτρίλιου/ νερού/ τετραϋδροφουράνιου (82:16:2 v/v/v) και εκτελέστηκε με όγκο ροής 0.5ml/λεπτό. Το δείγμα ενέθηκε σε όγκο 20 µl. Όλοι οι διαλύτες διηθήθηκαν σε μεμβράνη φιλτραρίσματος 0,45 µm (Agilent). Ο διαχωρισμός πραγματοποιήθηκε σε στήλη ανάλυσης 50x 3mm, 3µm Luna Reverse-Phase C18, η οποία αποκτήθηκε από την Phenomenex (Aschaffenburg, Germany) με στήλη προστασίας 12,5x 4,6 mm, 5µm Eclipse XDB-C8, η οποία αποκτήθηκε από την Agilent. Όλες οι μετρήσεις εκτελέστηκαν σε μήκη κύματος διέγερσης και εκπομπής 260 και 316 nm αντίστοιχα. Τη μέρα της ανάλυσης, ενεργό διάλυμα νετιλιμικίνης ετοιμάστηκε από αποθεματικό διάλυμα με διάλυση με νερό σε τελική συγκέντρωση νετιλιμικίνης 20 µg/ml. Πρότυπα διαλύματα από αποθεματικό διάλυμα κολιμυκίνης ετοιμάστηκε σε τελική συγκέντρωση ορού 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125, 1,56, 0,78 µg/ml. Μετά 20 µl από κάθε πρότυπο προσετέθησαν σε 250µl ορού για την καμπύλη

βαθμονόμησης. 50 ml ενεργού διαλύματος νετιλμικίνης προστέθηκαν σε 250 ml κάθε δείγματος και προτύπου. 50 ml TFA 50% προστέθηκαν για να επιταχύνουν τις πρωτεΐνες και το μείγμα αναδεύτηκε για 1 λεπτό για φυγοκέντρηση στις 5000 rpm για 10 λεπτά στους 4°C. Το υπερκείμενο μετά πέρασε στο φιαλίδιο στέρερης φάσης εκχύλισης που έχει αποκτηθεί από τη Scharlab. Πιο συγκεκριμένα, τα SPE C18 φιαλίδια (50 μm, 100mg/ml) προετοιμάστηκαν με τη χρήση 1 ml μεθανόλης και εξισορροπήθηκαν με 1 ml 1% ανθρακικού ρυθμιστικού διαλύματος. Μετά την προσπέλαση του δείγματος από το φιαλίδιο, ξεπλύθηκε με 1 ml ανθρακικού ρυθμιστικού διαλύματος, που ακολουθήθηκε από 70 ml από διάλυμα 100 mM FMOC-Cl. Η αντίδραση μετατροπής διήρκεσε 15 λεπτά. Μετά από αυτή την περίοδο το φιαλίδιο πλύθηκε δύο φορές με διάλυμα ACN/H₂O σε αναλογία 70:30. Τα παράγωγα εκλούστηκαν σε γυάλινο σωλήνα με 1 ml ακετόνης και εξαερώθηκαν σε ήπιο ατμό αζώτου. Στη συνέχεια επανασυστάθηκαν με 200 ml DMSO και 300 ml H₃BO₃ 0,1 M και 100 ml μεταφέρθηκαν σε δοχεία της HPLC.

Η κινητή φάση των μετρήσεων της μεροπενέμης αποτελούνταν από μείγμα φωσφορικού ρυθμιστικού διαλύματος 0,1 M (pH 6,8) και μεθανόλης με μέθοδο βαθμιαίας έκλουσης. Η αρχική κινητή φάση ήταν 100% φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα. Μεταξύ 0 και 25 λεπτών, το ποσοστό (%) της μεθανόλης αυξήθηκε γραμμικά κατά 30%. Μετά η σύνθεση της κινητής φάσης επανήλθε στις αρχικές συνθήκες για 10 λεπτά για επανεξισορρόπηση. Όλοι οι διαλύτες και το νερό διηθήθηκαν σε μεμβράνη φιλτραρίσματος 0,45 μm (Agilent). Ο όγκος ροής ρυθμίστηκε σε 0,5 ml/λεπτό και ο όγκος έγχυσης ήταν 50 μl. Ο διαχωρισμός πραγματοποιήθηκε στους 30°C, σε στήλη ανάλυσης 250x 4mm, 5μm Nucleosil 100-5 C18, με στήλη προστασίας 12,5x 4,6 mm, 5μm Eclipse XDB-C8, η οποία αποκτήθηκε από την Agilent. Το μήκος κύματος ανίχνευσης ορίστηκε στα 280 nm. Το σταθεροποιητικό διάλυμα ετοιμάστηκε με διάλυση 2,64 gr MOPS σε 100ml απεσταγμένου νερού και το pH ρυθμίστηκε στο 6,8 με 2,5 N υδροξείδιο του νατρίου. Το αποθεματικό πρότυπο διάλυμα μεροπενέμης ετοιμάστηκε σε συγκέντρωση 1 mg/ml σε σταθεροποιητικό διάλυμα και αποθηκεύτηκε στους -80°C. Τη μέρα της ανάλυσης, ποσότητες αποψύχθηκαν και υπεβλήθησαν σε διπλές διαδοχικές διαλύσεις των κορυφαίων προτύπων, ώστε να φτιαχτεί η πρότυπη καμπύλη με συνολικά 8 σημεία (200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125, 1,56 μg/ml). 100 μl δείγματος ή προτύπου αναμείχθηκαν με

100 ml σταθεροποιητικού διαλύματος. Το μείγμα αναδεύτηκε και επωάστηκε σε θερμοκρασία δωματίου για περίπου 5 λεπτά. Στη συνέχεια φυγοκεντρήθηκε στα 15000 g για 5 λεπτά και το υπερκείμενο εξαερώθηκε στους 30°C σε επωαστή Thermo Shaker (Lab Tech, Korea). Το υπόλειμμα διαλύθηκε σε 200 ml σταθεροποιητικού διαλύματος και χρησιμοποιήθηκε για ανάλυση.

Δοκιμασίες χρόνου-θανάτωσης

Το αποτέλεσμα χρόνου-θανάτωσης της τιγκεκυκλίνης, της μεροπενέμης και της κολιμυκίνης έναντι των στελεχών KPC μελετήθηκε. Καλλιέργεια λογαριθμικής φάσης (5×10^6 cfu/ml) εκτέθηκε προοδευτικά σε σωλήνες με MHB σε τελικό όγκο 10 ml σε αντιβιοτικά μεμονωμένα ή σε συνδυασμό διπλό ή τριπλό. Οι εφαρμοσμένες συγκεντρώσεις ήταν 1xMIC, οι μέσες συγκεντρώσεις του ορού καθορίστηκαν στον ορό των μυών 6 ώρες μετά τη χορήγηση (βλ. αποτελέσματα). Οι μέσες συγκεντρώσεις καθορίστηκαν και στους ιστούς των μυών (βλ. αποτελέσματα). Στην έναρξη, 2, 4, 6, 24 ώρες της επώασης στους 37°C σε παλλόμενο υδατόλουτρο, ποσότητα 0,1 ml από κάθε σωλήνα αραιώθηκε διαδοχικά έξι φορές 1:10 σε 0,9% χλωριούχο νάτριο. 0,1 ml από κάθε διάλυση τοποθετήθηκε σε τριβλίο με MacConkey άγαρ. Τα τριβλία επωάστηκαν για 24 ώρες στους 35°C. Στη συνέχεια μετρήθηκε η βακτηριακή ανάπτυξη σε κάθε τριβλίο και πολλαπλασιάστηκε με το συντελεστή αραιώσης. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως λογάριθμος \log_{10} cfu/ml.

Στατιστική ανάλυση

Οι ποσοτικές μεταβλητές εκφράστηκαν ως μέσες τιμές \pm SE και οι συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων έγιναν με τη μέθοδο ANOVA με post-hoc ανάλυση κατά Bonferroni. Προκειμένου να διευκολυνθεί η στατιστική με λιγότερες ομάδες συγκρίσεων, οι ομάδες E, G και H αναλύθηκαν μαζί ως ζώα που έλαβαν σχήματα που περιελάμβαναν τιγκεκυκλίνη, ενώ οι ομάδες C, D και F αναλύθηκαν από κοινού ως ζώα που έλαβαν σχήματα που δεν περιελάμβαναν τιγκεκυκλίνη. Η επιβίωση υπολογίστηκε μετά από ανάλυση κατά Kaplan-Meier και οι συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων έγιναν με τη δοκιμασία log-rank. Συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων τιγκεκυκλίνης και του βακτηριακού φορτίου στους ιστούς διεξήχθη σύμφωνα με βαθμό συσχέτισης κατά

Spearman. Οποιαδήποτε τιμή p κάτω από 0,05 μετά την προσαρμογή κατά Bonferroni για πολλαπλές συγκρίσεις θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Οι MICs για τη μεροπενέμη, την κολιμυκίνη και την τιγκεκυκλίνη για το στέλεχος 2 ήταν 4, 0,5 και 1 $\mu\text{g/ml}$ αντιστοίχως. Η επιβίωση των μυών που μολύνθηκαν με το στέλεχος 2 στο πέρας των 14 ημέρων ήταν 10, 100, 86,7 και 100% για την ομάδα των μαρτύρων, την ομάδα της τιγκεκυκλίνης, των ομάδων που περιελάμβαναν τιγκεκυκλίνη και των ομάδων που δεν περιελάμβαναν τιγκεκυκλίνη αντιστοίχως (Σχήμα 1). Η λεπτομερής επιβίωση για κάθε μια από τις οκτώ ομάδες που μολύνθηκαν από το στέλεχος 2 παρέχεται στο Συμπληρωματικό Πίνακα Σ1.

Οι MICs για τη μεροπενέμη, την κολιμυκίνη και την τιγκεκυκλίνη για το στέλεχος 18 ήταν 256, 1 και 1 $\mu\text{g/ml}$ αντιστοίχως. Η επιβίωση των μυών που μολύθηκαν με το στέλεχος 18 στο πέρας των 14 ημέρων ήταν 0, 90, 70 και 36,7% για την ομάδα των μαρτύρων, την ομάδα της τιγκεκυκλίνης, των ομάδων που περιελάμβαναν τιγκεκυκλίνη και των ομάδων που δεν περιελάμβαναν τιγκεκυκλίνη αντιστοίχως (Σχήμα 2). Η λεπτομερής επιβίωση για κάθε μια από τις οκτώ ομάδες που μολύνθηκαν από το στέλεχος 18 παρέχεται στο Συμπληρωματικό Πίνακα Σ1.

Οι MICs για τη μεροπενέμη, την κολιμυκίνη και την τιγκεκυκλίνη για το στέλεχος 19 ήταν 16, 1 και 1 $\mu\text{g/ml}$ αντιστοίχως. Η επιβίωση των μυών που μολύνθηκαν με το στέλεχος 19 στο πέρας των 14 ημερών ήταν 10, 50, 63,3 και 13,3% για την ομάδα των μαρτύρων, την ομάδα της τιγκεκυκλίνης, των ομάδων που περιελάμβαναν τιγκεκυκλίνη και των ομάδων που δεν περιελάμβαναν τιγκεκυκλίνη αντιστοίχως (Σχήμα 3). Η λεπτομερής επιβίωση για κάθε μια από τις οκτώ ομάδες που μολύνθηκαν από το στέλεχος 19 παρέχεται στο Συμπληρωματικό Πίνακα Σ1.

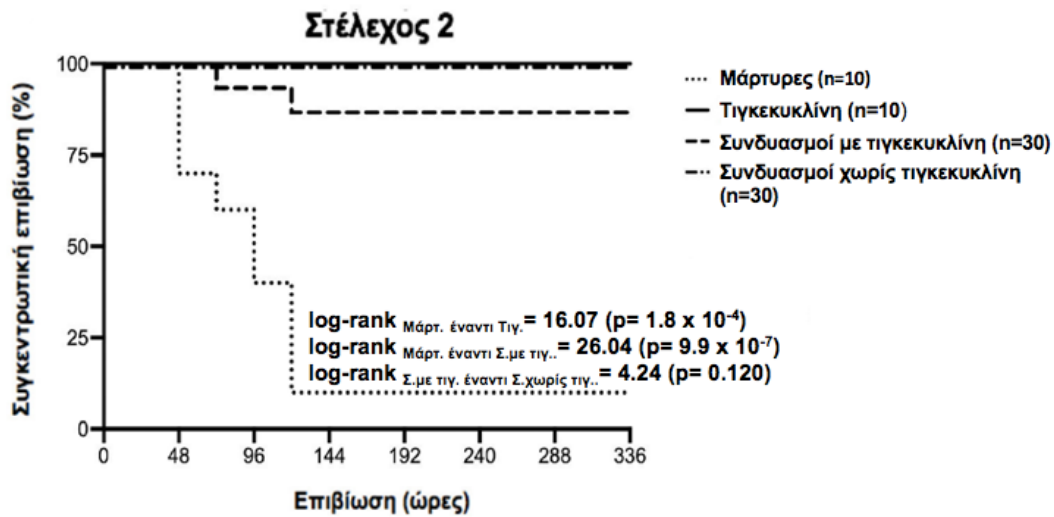
Καμία στατιστικά σημαντική διαφορά στο βάρος και στις αλλαγές θερμοκρασίας δεν καταγράφηκε μεταξύ των ομάδων. Η λοίμωξη από *K. pneumoniae* οδήγησε ταχύτερα σε πολυοργανική ανεπάρκεια στην ομάδα των μαρτύρων σε σύγκριση με τις ομάδες που περιελάμβαναν τιγκεκυκλίνη όπως

υποδεικνύται από τα στατιστικά σημαντικά κατώτερα επίπεδα ALT και AST και της κρεατινίνης του ορού (Σχήματα 4 έως 7).

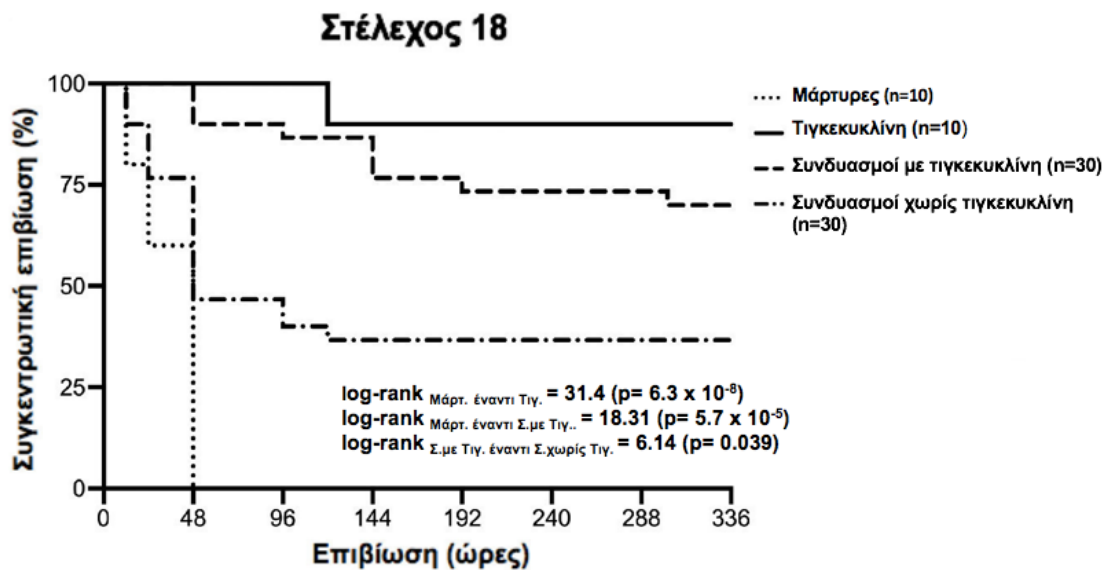
Προκειμένου να κατανοήσουμε καλύτερα την τροποποίηση του βακτηριακού φορτίου στους ιστούς, διεξήχθησαν πειράματα θυσιών των ζώων στις 6 ώρες και στις 24 ώρες μετά την βακτηριακή έγχυση. Το βακτηριακό φορτίο στις καλλιέργειες ιστών των ζώων που μολύνθηκαν με τα στελέχη 2, 18 και 19 ακολούθησε παρόμοια πρότυπα (Σχήματα 8 έως 22). Το βακτηριακό φορτίο μειώθηκε σημαντικά στους ιστούς των μυών που έλαβαν τιγκεκυκλίνη ως μονοθεραπεία ή σχήμα που περιελάμβανε τιγκεκυκλίνη σε σύγκριση με τους μάρτυρες που δεν έλαβαν θεραπεία. Με μόνη εξαίρεση τα ζώα που μολύνθηκαν με το στέλεχος 2 (Σχήματα 8 έως 12), το βακτηριακό φορτίο στους ιστούς των ζώων που μολύνθηκαν από τα στελέχη 18 και 19 ήταν σημαντικά μειωμένο στους ιστούς μετά από μονοθεραπεία με τιγκεκυκλίνη ή θεραπεία με σχήμα που περιελάμβανε τιγκεκυκλίνη σε σύγκριση με τα ζώα που έλαβαν σχήμα που δεν περιελάμβανε τιγκεκυκλίνη (Σχήματα 13 έως 22). Το λεπτομερές βακτηριακό φορτίο στους ιστούς για καθεμία από τις οκτώ ομάδες που μελετήθηκαν, για καθένα από τα τρία στελέχη παρέχεται στους Συμπληρωματικούς Πίνακες Σ2 έως Σ4.

Οι συγκεντρώσεις και των τριών αντιβιοτικών στον ορό ήταν χαμηλότερες σε σχέση με τους ιστούς (Σχήματα 23, 24, 27, 28, 31 και 32). Οι συγκεντρώσεις της κολιμυκίνης και της μεροπενέμης στον ορό ήταν εντός των αναμενόμενων ορίων τιμών σύμφωνα με τα δημοσιευμένα δεδομένα (92, 93). Αρνητική συσχέτιση βρέθηκε μεταξύ των συγκεντρώσεων της τιγκεκυκλίνης στους ιστούς και το βακτηριακό φορτίο σε αυτούς (Σχήματα 25 και 26), ενώ αυτό δεν ίσχυε για την κολιμυκίνη (Σχήματα 29 και 30) ή τη μεροπενέμη (Σχήματα 33 και 34).

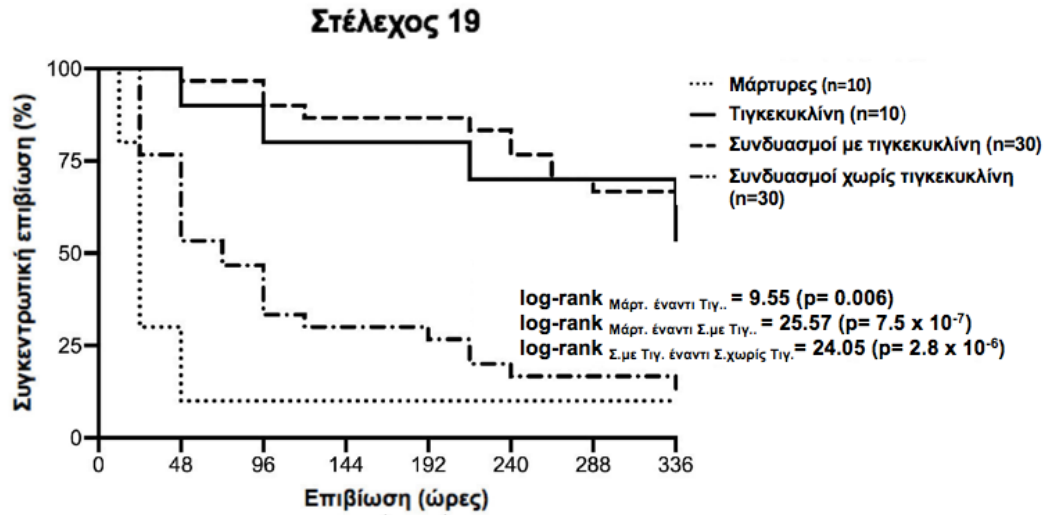
Με σκοπό να επικυρωθεί η μείωση του βακτηριακού φορτίου που βρέθηκε στους ιστούς, τα στελέχη εκτέθηκαν προοδευτικά σε τιγκεκυκλίνη, μεροπενέμη και κολιμυκίνη σε συγκεντρώσεις ίσες με 1xMIC ή με τις μέσες τιμές επιπέδων στον ορό ή με τις μέσες τιμές επιπέδων στους ιστούς. Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν τα ευρήματα στα ζώα καθώς οι συνδυασμοί με τιγκεκυκλίνη είχαν τη μεγαλύτερη βακτηριοκτόνο επίδραση (Σχήμα 35 έως 43, Συμπληρωματικός Πίνακας 5).



Σχήμα 1. Συγκριτική επιβίωση μυών στους οποίους εγχύθηκε το στέλεχος 2. Τα ζώα χωρίστηκαν στις εξής ομάδες: ομάδα ελέγχου (n= 10), θεραπείας με τιγκεκυκλίνη (n= 10), θεραπείας με συνδυασμούς που περιείχαν τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n= 30) και θεραπείας με συνδυασμούς χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n= 30). Παρέχονται οι συγκρίσεις μετά από ανάλυση με log-rank test και στις τιμές p των συγκρίσεων έχει γίνει προσαρμογή για πολλαπλές συγκρίσεις κατά Bonferroni.

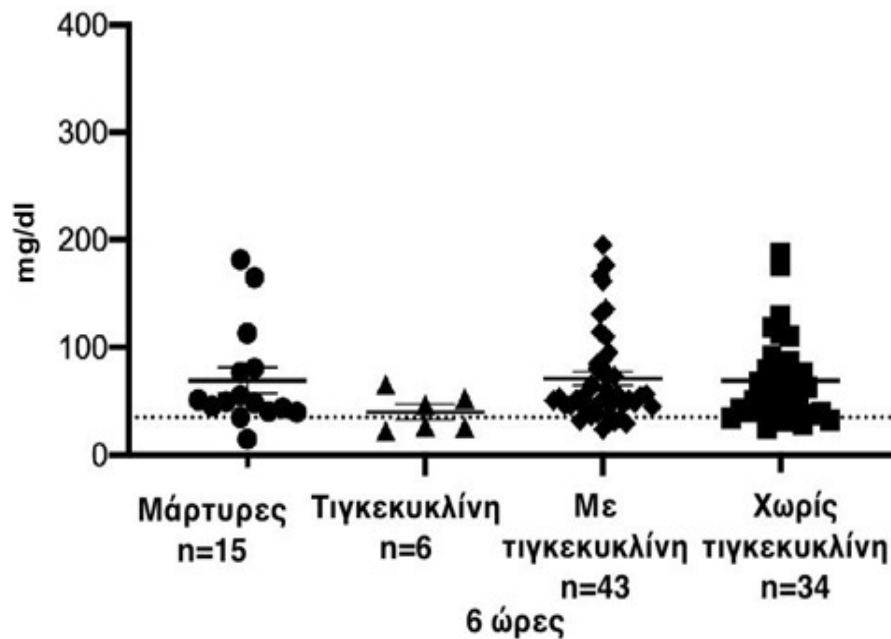


Σχήμα 2. Συγκριτική επιβίωση μυών στους οποίους εγχύθηκε το στέλεχος 18. Τα ζώα χωρίστηκαν στις εξής ομάδες: ομάδα ελέγχου (n= 10), θεραπείας με τιγκεκυκλίνη (n= 10), θεραπείας με συνδυασμούς που περιείχαν τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n= 30) και θεραπείας με συνδυασμούς χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n= 30). Παρέχονται οι συγκρίσεις μετά από ανάλυση με log-rank test και στις τιμές p των συγκρίσεων έχει γίνει προσαρμογή για πολλαπλές συγκρίσεις κατά Bonferroni.



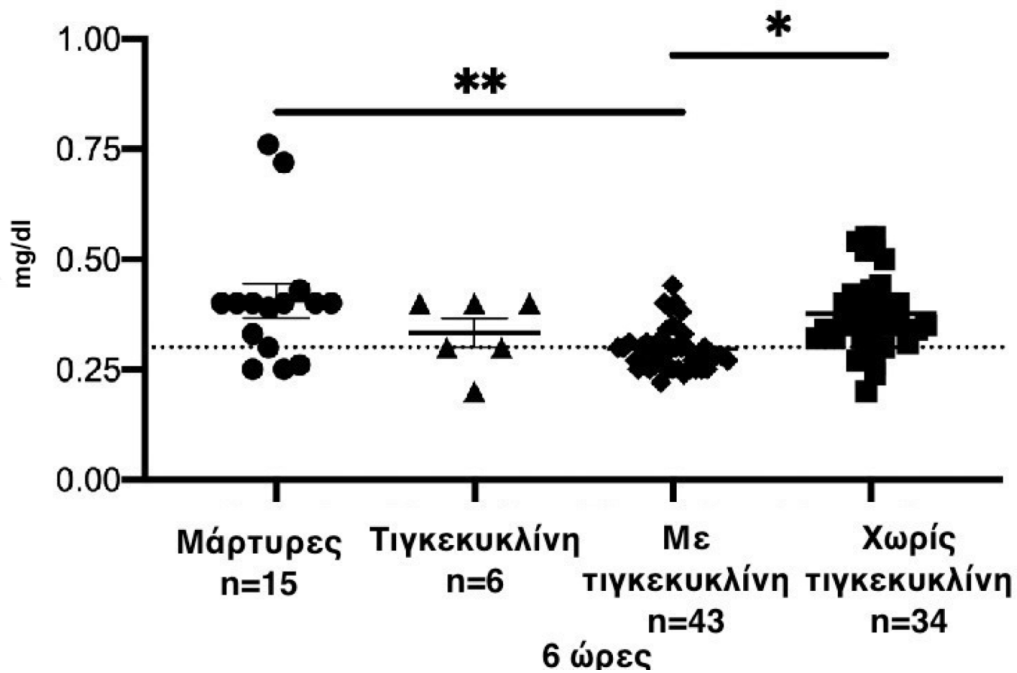
Σχήμα 3. Συγκριτική επιβίωση μυών στους οποίους εγχύθηκε το στέλεχος 19. Τα ζώα χωρίστηκαν στις εξής ομάδες: ομάδα ελέγχου (n= 10), θεραπείας με τιγκεκυκλίνη (n= 10), θεραπείας με συνδυασμούς που περιείχαν τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n= 30) και θεραπείας με συνδυασμούς χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n= 30). Παρέχονται οι συγκρίσεις μετά από ανάλυση με log-rank test και στις τιμές p των συγκρίσεων έχει γίνει προσαρμογή για πολλαπλές συγκρίσεις κατά Bonferroni

Ουρία

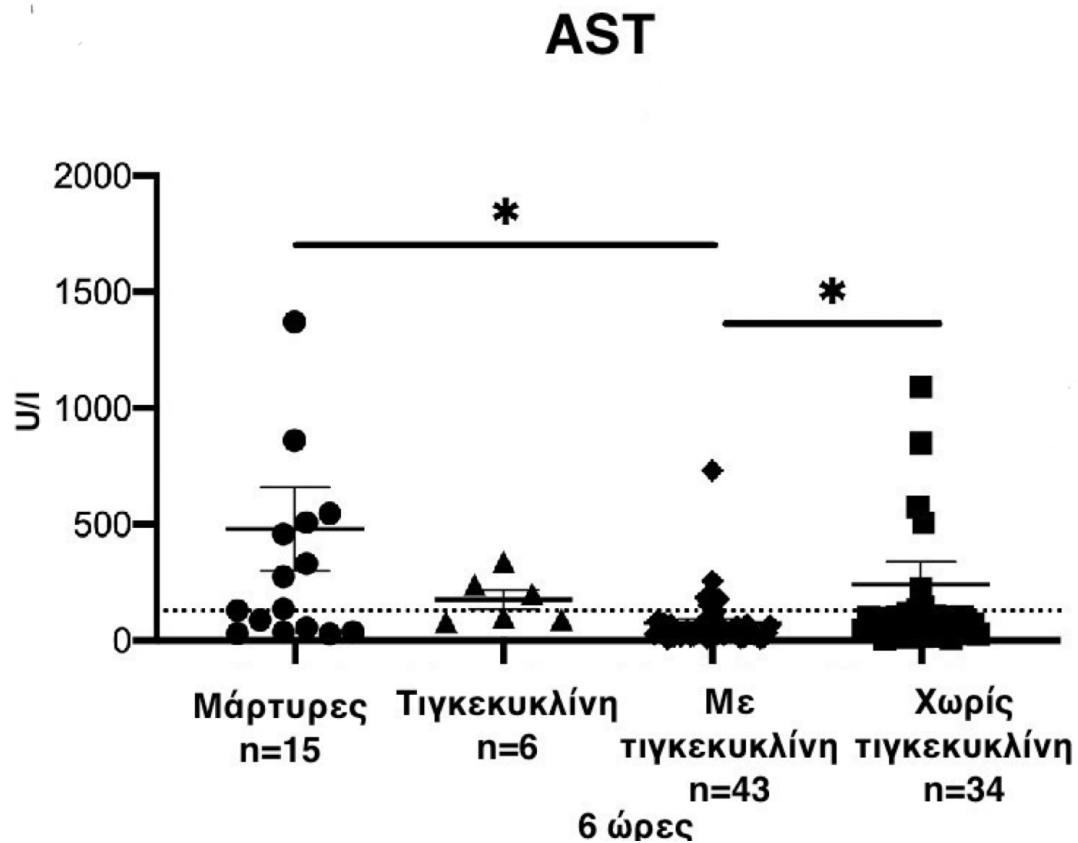


Σχήμα 4. Μέσες τιμές συγκεντρώσεων ουρίας στον ορό. Οι μετρήσεις έγιναν 6 ώρες μετά τη μόλυνση με *K.pneumoniae* και θεραπεία με WFI (μάρτυρες), τιγκεκυκλίνη, συνδυασμούς που περιείχαν τιγκεκυκλίνη (συνδυασμός με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο) και συνδυασμούς χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο). Το σχήμα δείχνει τις αθροιστικές τιμές από τη μόλυνση και από τα τρία στελέχη. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την ανώτερη φυσιολογική τιμή. Παρουσιάζονται οι συγκρίσεις με τη μέθοδο Student's test: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

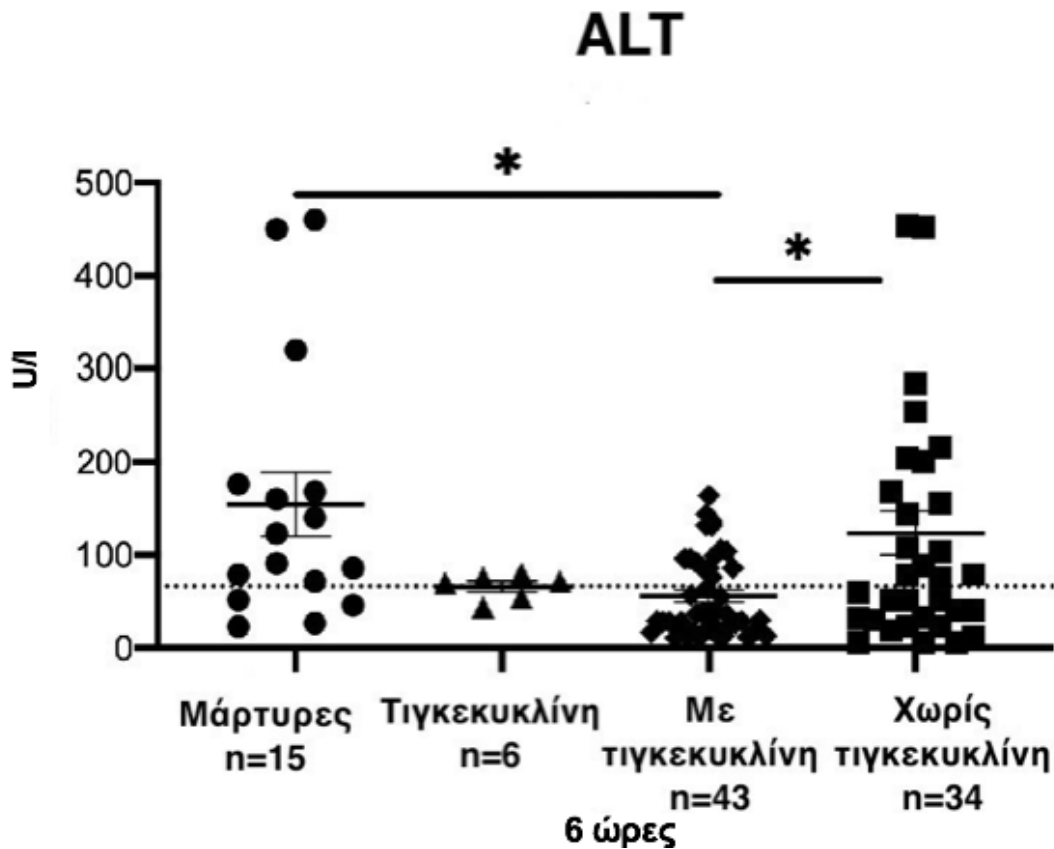
Κρεατινίνη



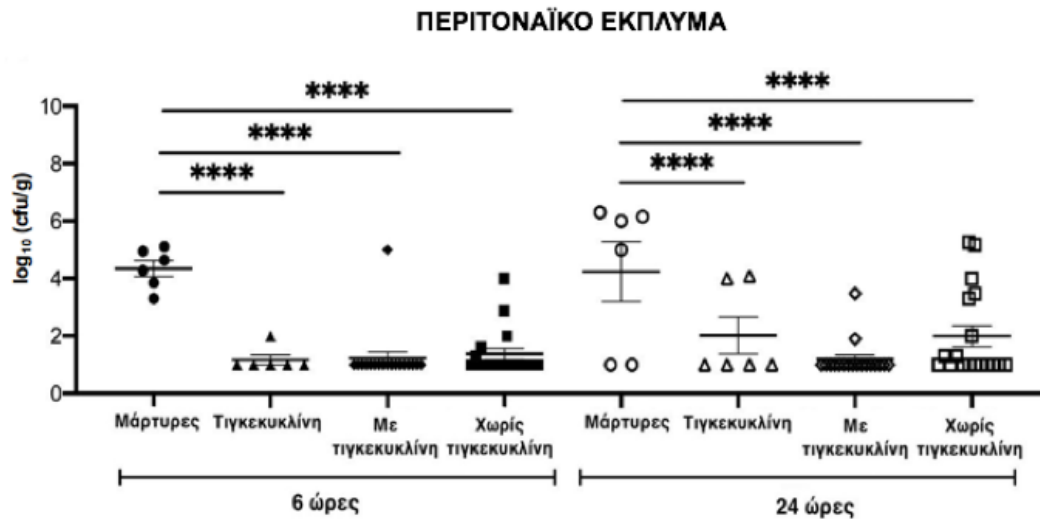
Σχήμα 5. Μέσες τιμές συγκεντρώσεων κρεατινίνης στον ορό. Οι μετρήσεις έγιναν 6 ώρες μετά τη μόλυνση με *K.pneumoniae* και θεραπεία με WFI (μάρτυρες), τιγκεκυκλίνη, συνδυασμούς που περιείχαν τιγκεκυκλίνη (συνδυασμός με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο) και συνδυασμούς χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο). Το σχήμα δείχνει τις αθροιστικές τιμές από τη μόλυνση και από τα τρία στελέχη. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την ανώτερη φυσιολογική τιμή. Παρουσιάζονται οι συγκρίσεις με τη μέθοδο Student's test: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.



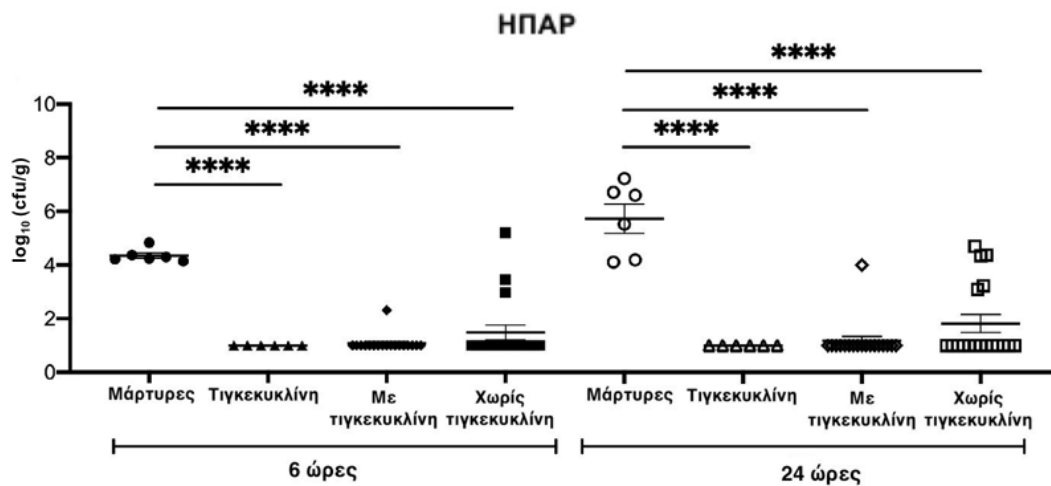
Σχήμα 6. Μέσες τιμές συγκεντρώσεων ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης (AST) στον ορό. Οι μετρήσεις έγιναν 6 ώρες μετά τη μόλυνση με *K.pneumoniae* και θεραπεία με WFI (μάρτυρες), τιγκεκυκλίνη, συνδυασμούς που περιείχαν τιγκεκυκλίνη (συνδυασμός με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο) και συνδυασμούς χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο). Το σχήμα δείχνει τις αθροιστικές τιμές από τη μόλυνση και από τα τρία στελέχη. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την ανώτερη φυσιολογική τιμή. Παρουσιάζονται οι συγκρίσεις με τη μέθοδο Student's test: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.



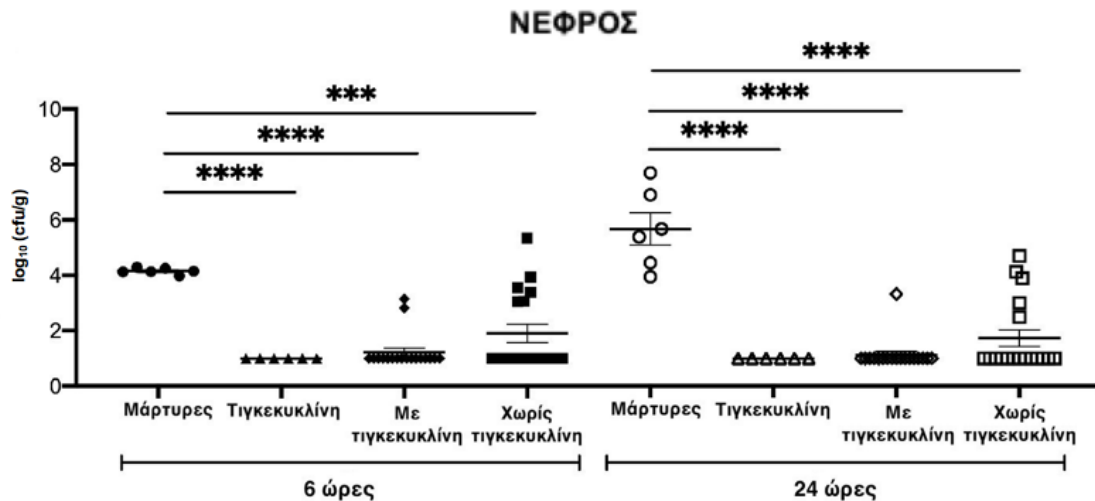
Σχήμα 7. Μέσες τιμές συγκεντρώσεων αλανική αμινοτρανσφεράσης (ALT) στον ορό. Οι μετρήσεις έγιναν 6 ώρες μετά τη μόλυνση με *K.pneumoniae* και θεραπεία με WFI (μάρτυρες), τιγκεκυκλίνη, συνδυασμούς που περιείχαν τιγκεκυκλίνη (συνδυασμός με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο) και συνδυασμούς χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο). Το σχήμα δείχνει τις αθροιστικές τιμές από τη μόλυνση και από τα τρία στελέχη. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την ανώτερη φυσιολογική τιμή. Παρουσιάζονται οι συγκρίσεις με τη μέθοδο Student's test: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.



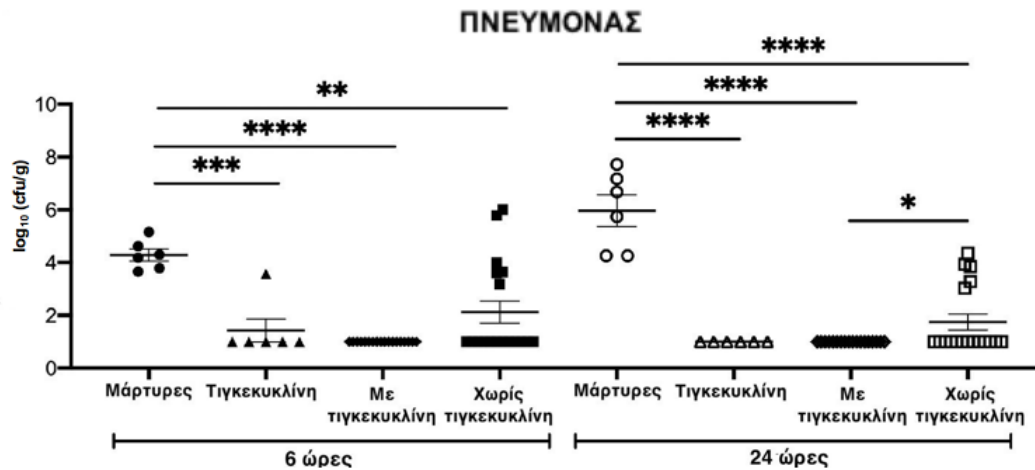
Σχήμα 8. Η βακτηριακή ανάπτυξη στο περιτοναϊκό έκπλυμα μυών μετά την έγχυση του στελέχους 2 στις 6 και 24 ώρες θυσίας. Τα ζώα χωρίστηκαν στις εξής ομάδες: ομάδα ελέγχου (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με τιγκεκυκλίνη (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με σχήματα που περιείχαν τιγκεκυκλίνη (συνδυασμός με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας) και ομάδα θεραπείας με σχήματα χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας). Παρουσιάζονται οι συγκρίσεις με τη μέθοδο Student's test: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,0001, ****p<0,0001.



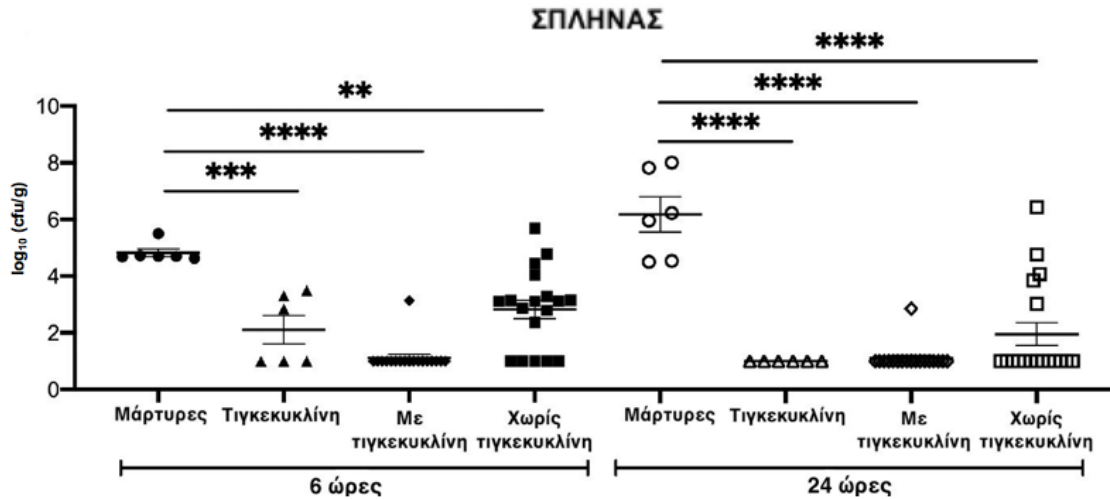
Σχήμα 9. Η βακτηριακή ανάπτυξη στο ήπαρ μυών μετά την έγχυση του στελέχους 2 στις 6 και 24 ώρες θυσίας. Τα ζώα χωρίστηκαν στις εξής ομάδες: ομάδα ελέγχου (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με τιγκεκυκλίνη (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με σχήματα που περιείχαν τιγκεκυκλίνη (συνδυασμός με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας) και ομάδα θεραπείας με σχήματα χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας). Παρουσιάζονται οι συγκρίσεις με τη μέθοδο Student's test: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,0001, ****p<0,0001.



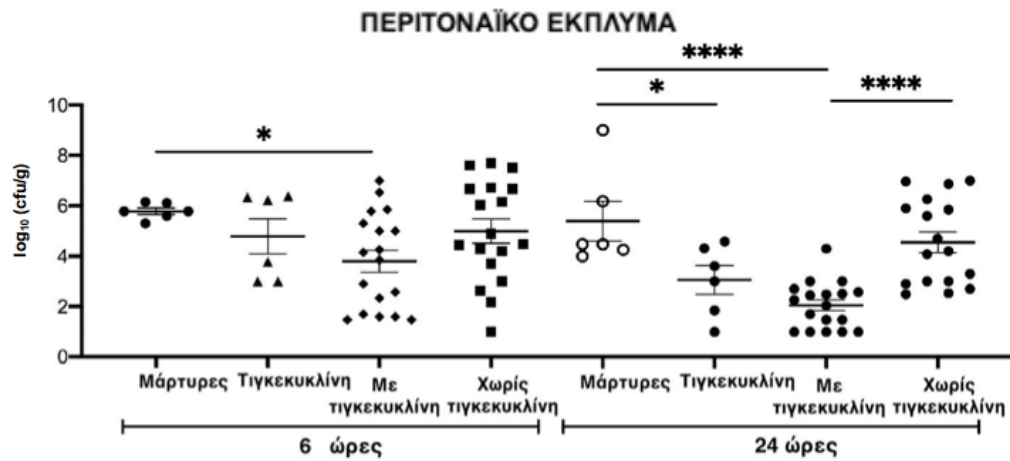
Σχήμα 10. Η βακτηριακή ανάπτυξη στο δεξιό νεφρό μυών μετά την έγχυση του στελέχους 2 στις 6 και 24 ώρες θυσίας. Τα ζώα χωρίστηκαν στις εξής ομάδες: ομάδα ελέγχου (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με τιγκεκυκλίνη (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με σχήματα που περιείχαν τιγκεκυκλίνη (συνδυασμός με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας) και ομάδα θεραπείας με σχήματα χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας). Παρουσιάζονται οι συγκρίσεις με τη μέθοδο Student's test: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,0001, ****p<0,0001.



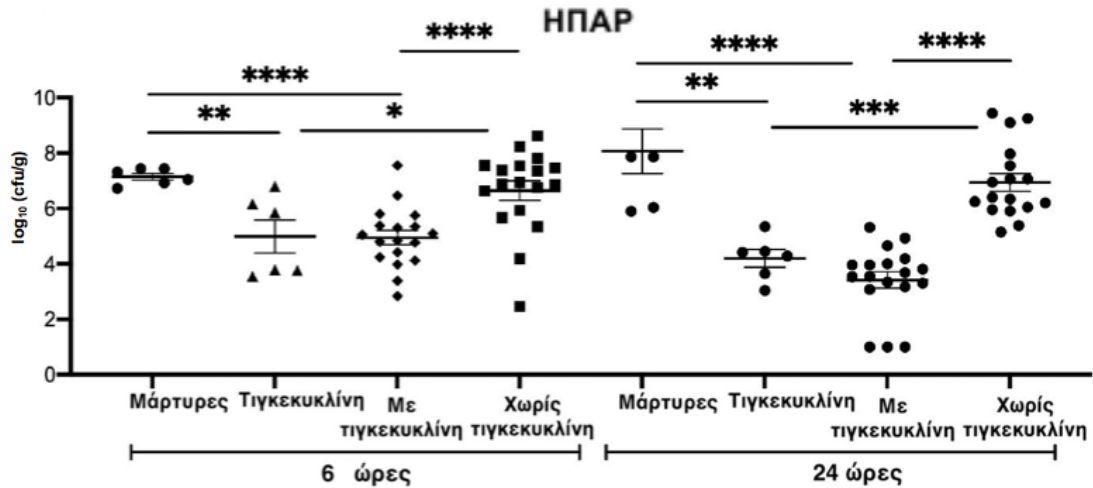
Σχήμα 11. Η βακτηριακή ανάπτυξη στον πνεύμονα μυών μετά την έγχυση του στελέχους 2 στις 6 και 24 ώρες θυσίας. Τα ζώα χωρίστηκαν στις εξής ομάδες: ομάδα ελέγχου (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με τιγκεκυκλίνη (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με σχήματα που περιείχαν τιγκεκυκλίνη (συνδυασμός με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας) και ομάδα θεραπείας με σχήματα χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας). Παρουσιάζονται οι συγκρίσεις με τη μέθοδο Student's test: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,0001, ****p<0,0001.



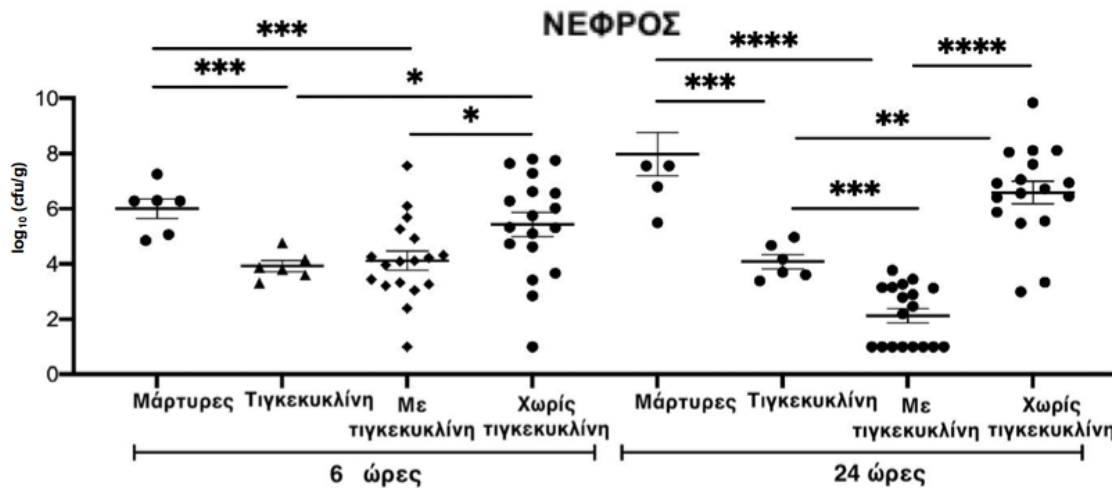
Σχήμα 12. Η βακτηριακή ανάπτυξη στο σπλήνα μυών μετά την έγχυση του στελέχους 2 στις 6 και 24 ώρες θυσίας. Τα ζώα χωρίστηκαν στις εξής ομάδες: ομάδα ελέγχου (n= 6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με τιγκεκυκλίνη (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με σχήματα που περιείχαν τιγκεκυκλίνη (συνδυασμός με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας) και ομάδα θεραπείας με σχήματα χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας). Παρουσιάζονται οι συγκρίσεις με τη μέθοδο Student's test: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,0001, ****p<0,0001.



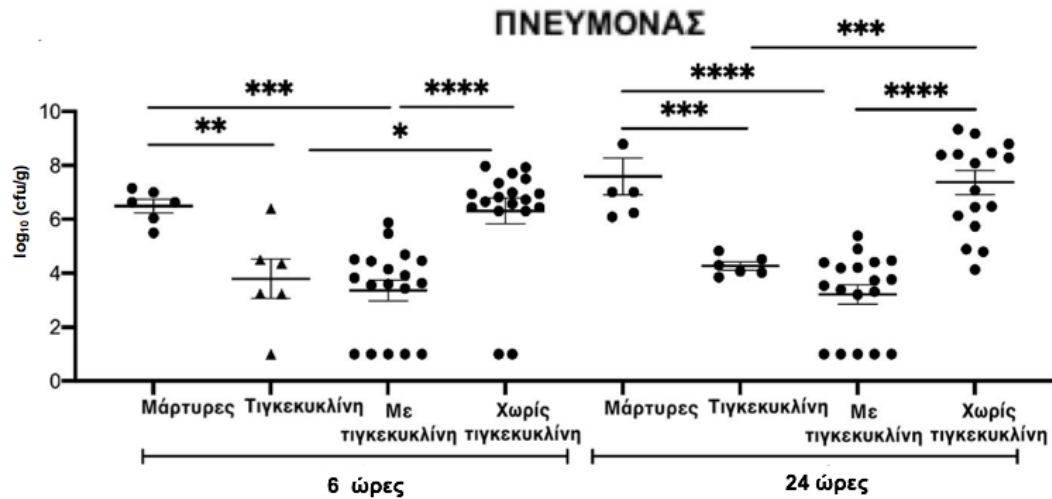
Σχήμα 13. Η βακτηριακή ανάπτυξη στο περιτοναϊκό έκπλυμα μυών μετά την έγχυση του στελέχους 18 στις 6 και 24 ώρες θυσίας. Τα ζώα χωρίστηκαν στις εξής ομάδες: ομάδα ελέγχου (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με τιγκεκυκλίνη (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με σχήματα που περιείχαν τιγκεκυκλίνη (συνδυασμός με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας) και ομάδα θεραπείας με σχήματα χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας). Παρουσιάζονται οι συγκρίσεις με τη μέθοδο Student's test: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,0001, ****p<0,0001.



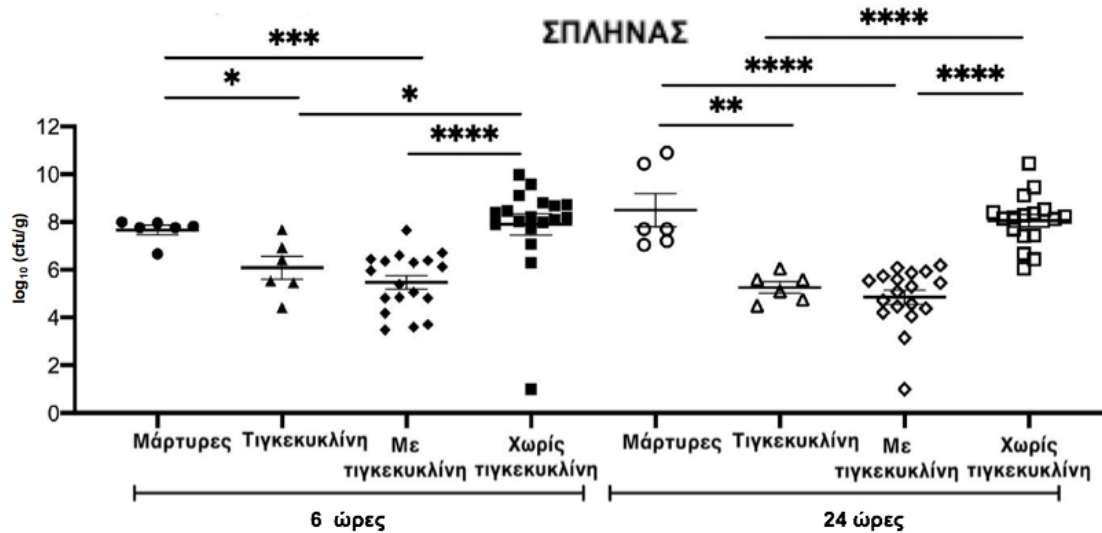
Σχήμα 14. Η βακτηριακή ανάπτυξη στο ήπαρ μυών μετά την έγχυση του στελέχους 18 στις 6 και 24 ώρες θυσίας. Τα ζώα χωρίστηκαν στις εξής ομάδες: ομάδα ελέγχου (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με τιγκεκυκλίνη (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με σχήματα που περιείχαν τιγκεκυκλίνη (συνδυασμός με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας) και ομάδα θεραπείας με σχήματα χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας). Παρουσιάζονται οι συγκρίσεις με τη μέθοδο Student's test: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,0001, ****p<0,0001.



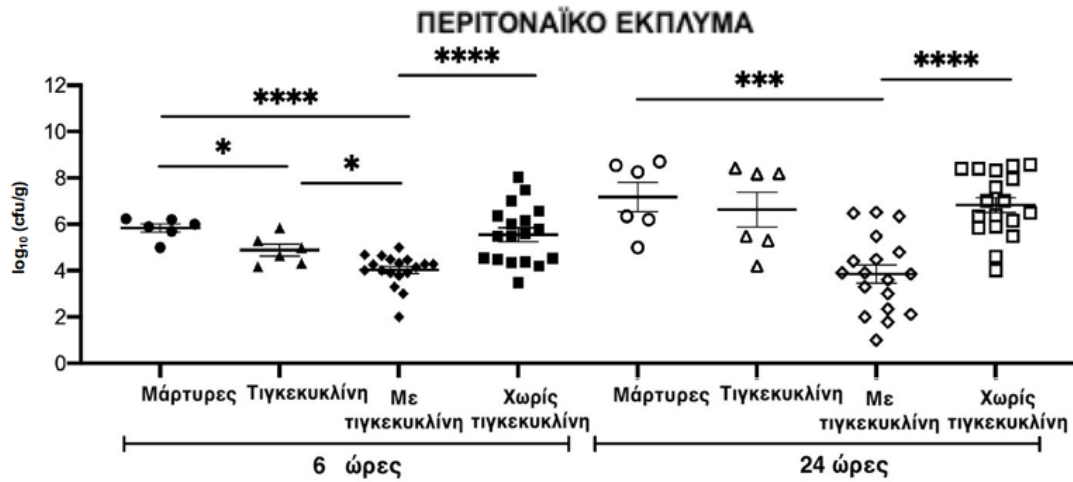
Σχήμα 15. Η βακτηριακή ανάπτυξη στο δεξιό νεφρό μυών μετά την έγχυση του στελέχους 18 στις 6 και 24 ώρες θυσίας. Τα ζώα χωρίστηκαν στις εξής ομάδες: ομάδα ελέγχου (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με τιγκεκυκλίνη (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με σχήματα που περιείχαν τιγκεκυκλίνη (συνδυασμός με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας) και ομάδα θεραπείας με σχήματα χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας). Παρουσιάζονται οι συγκρίσεις με τη μέθοδο Student's test: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,0001, ****p<0,0001.



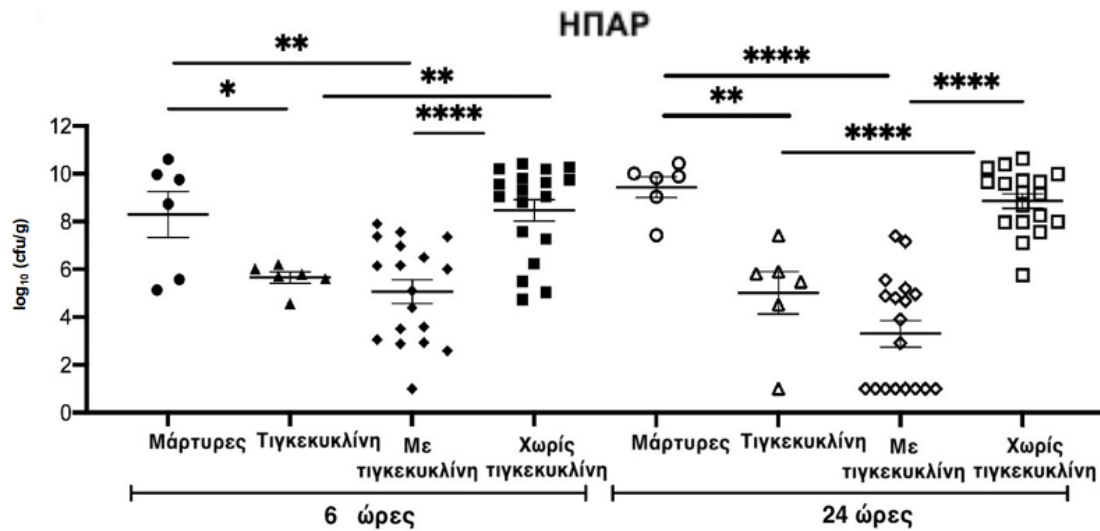
Σχήμα 16. Η βακτηριακή ανάπτυξη στ3εον πνεύμονα μυών μετά την έγχυση του στελέχους 18 στις 6 και 24 ώρες θυσίας. Τα ζώα χωρίστηκαν στις εξής ομάδες: ομάδα ελέγχου (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με τιγκεκυκλίνη (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με σχήματα που περιείχαν τιγκεκυκλίνη (συνδυασμός με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας) και ομάδα θεραπείας με σχήματα χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας). Παρουσιάζονται οι συγκρίσεις με τη μέθοδο Student's test: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,0001, ****p<0,0001.



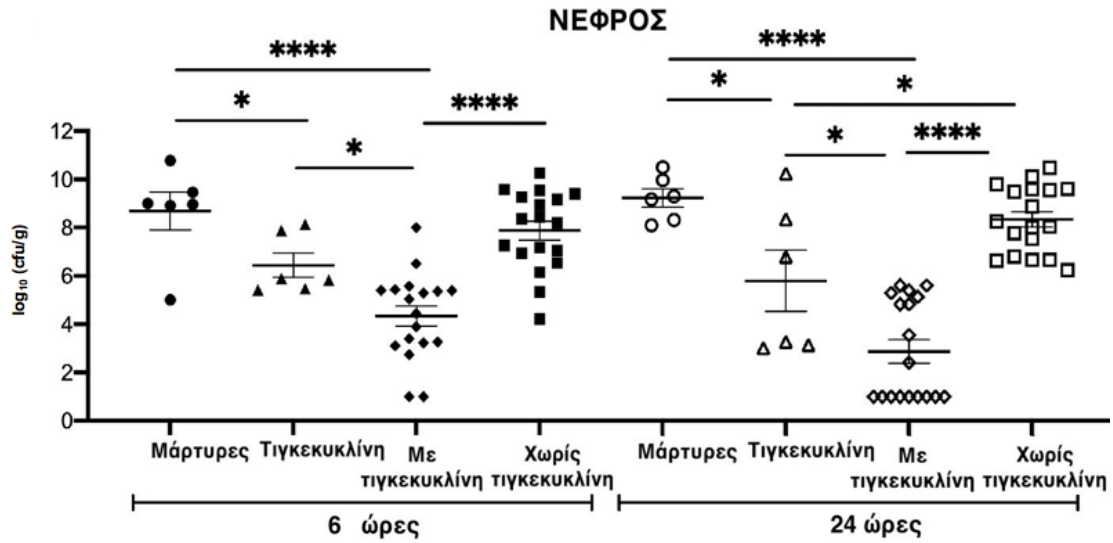
Σχήμα 17. Η βακτηριακή ανάπτυξη στο σπλήνα μυών μετά την έγχυση του στελέχους 18 στις 6 και 24 ώρες θυσίας. Τα ζώα χωρίστηκαν στις εξής ομάδες: ομάδα ελέγχου (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με τιγκεκυκλίνη (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με σχήματα που περιείχαν τιγκεκυκλίνη (συνδυασμός με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας) και ομάδα θεραπείας με σχήματα χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας). Παρουσιάζονται οι συγκρίσεις με τη μέθοδο Student's test: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,0001, ****p<0,0001.



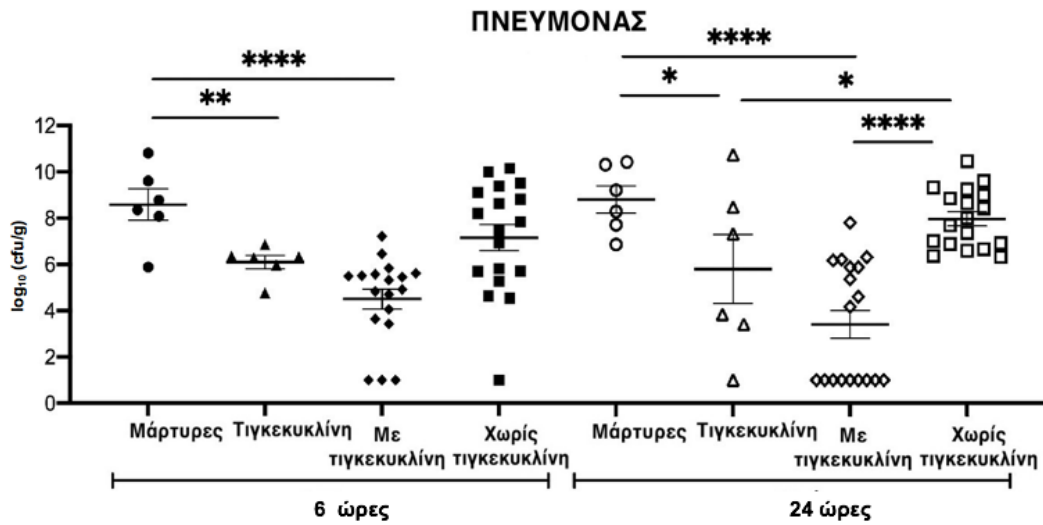
Σχήμα 18. Η βακτηριακή ανάπτυξη στο περιτοναϊκό έκπλυμα μυών μετά την έγχυση του στελέχους 19 στις 6 και 24 ώρες θυσίας. Τα ζώα χωρίστηκαν στις εξής ομάδες: ομάδα ελέγχου (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με τιγκεκυκλίνη (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με σχήματα που περιείχαν τιγκεκυκλίνη (συνδυασμός με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας) και ομάδα θεραπείας με σχήματα χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας). Παρουσιάζονται οι συγκρίσεις με τη μέθοδο Student's test: *p< 0,05, **p<0,01, ***p<0,0001, ****p<0,0001.



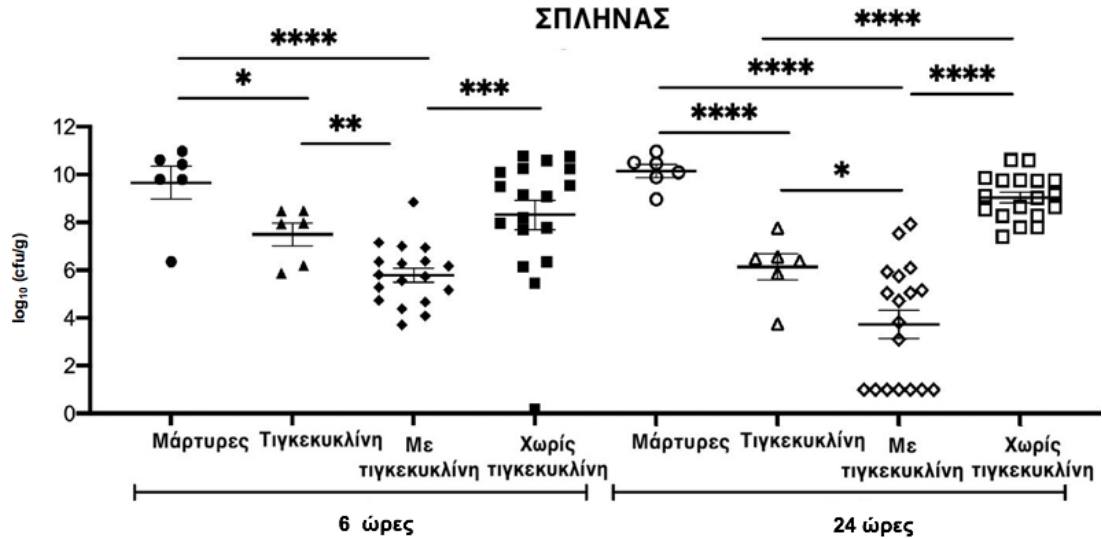
Σχήμα 19. Η βακτηριακή ανάπτυξη στο ήπαρ μυών μετά την έγχυση του στελέχους 19 στις 6 και 24 ώρες θυσίας. Τα ζώα χωρίστηκαν στις εξής ομάδες: ομάδα ελέγχου (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με τιγκεκυκλίνη (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με σχήματα που περιείχαν τιγκεκυκλίνη (συνδυασμός με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας) και ομάδα θεραπείας με σχήματα χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας). Παρουσιάζονται οι συγκρίσεις με τη μέθοδο Student's test: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,0001, ****p<0,0001.



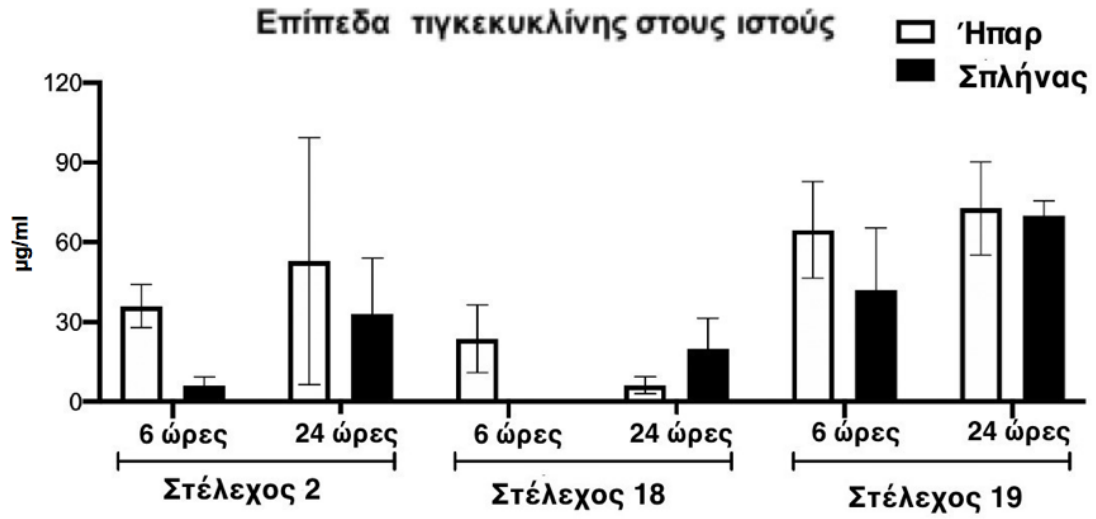
Σχήμα 20. Η βακτηριακή ανάπτυξη στο δεξιό νεφρό μυών μετά την έγχυση του στελέχους 19 στις 6 και 24 ώρες θυσίας. Τα ζώα χωρίστηκαν στις εξής ομάδες: ομάδα ελέγχου (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με τιγκεκυκλίνη (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με σχήματα που περιείχαν τιγκεκυκλίνη (συνδυασμός με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας) και ομάδα θεραπείας με σχήματα χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας). Παρουσιάζονται οι συγκρίσεις με τη μέθοδο Student's test: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,0001, ****p<0,0001.



Σχήμα 21. Η βακτηριακή ανάπτυξη στον πνεύμονα μυών μετά την έγχυση του στελέχους 19 στις 6 και 24 ώρες θυσίας. Τα ζώα χωρίστηκαν στις εξής ομάδες: ομάδα ελέγχου (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με τιγκεκυκλίνη (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με σχήματα που περιείχαν τιγκεκυκλίνη (συνδυασμός με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας) και ομάδα θεραπείας με σχήματα χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας). Παρουσιάζονται οι συγκρίσεις με τη μέθοδο Student's test: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,0001, ****p<0,0001.

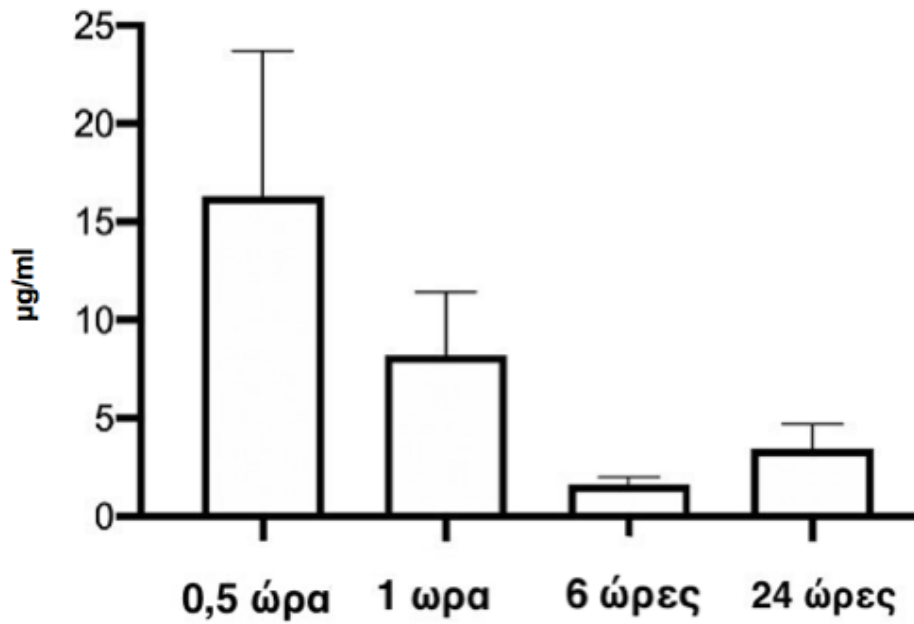


Σχήμα 22. Η βακτηριακή ανάπτυξη στο σπλήνα μυών μετά την έγχυση του στελέχους 19 στις 6 και 24 ώρες θυσίας. Τα ζώα χωρίστηκαν στις εξής ομάδες: ομάδα ελέγχου (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με τιγκεκυκλίνη (n=6 ανά ώρα θυσίας), ομάδα θεραπείας με σχήματα που περιείχαν τιγκεκυκλίνη (συνδυασμός με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας) και ομάδα θεραπείας με σχήματα χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο, n=18 ανά ώρα θυσίας). Παρουσιάζονται οι συγκρίσεις με τη μέθοδο Student's test: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,0001, ****p<0,0001.

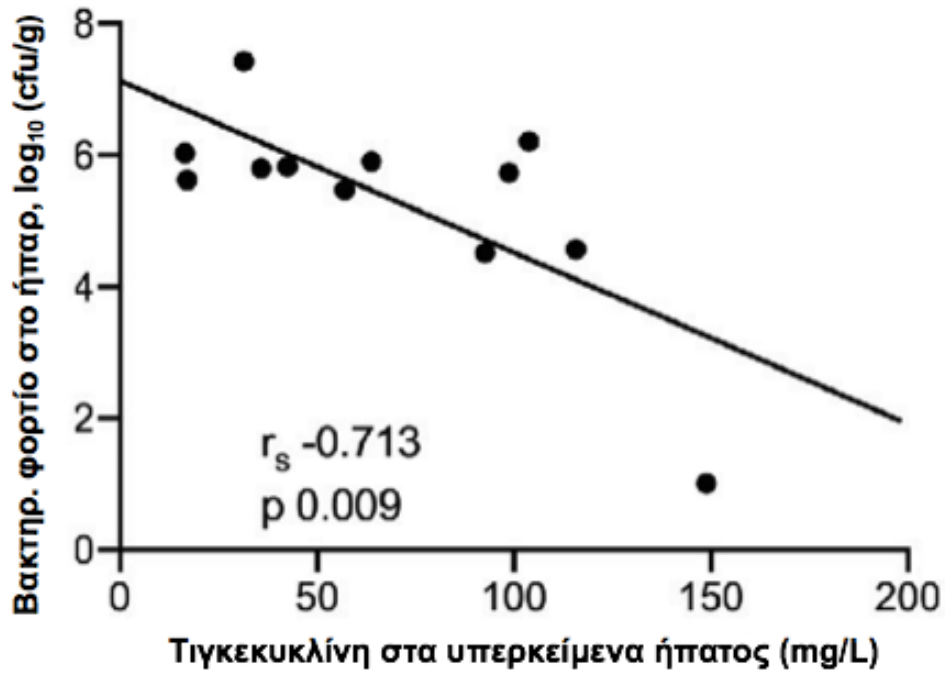


Σχήμα 23. Φαρμακοκινητική της τιγκεκυκλίνης. Οι συγκεντρώσεις τιγκεκυκλίνης στα υπερκείμενα ήπατος και σπληνός στις 6 και 24 ώρες θυσίας ανάλογα με το στέλεχος υπό μελέτη.

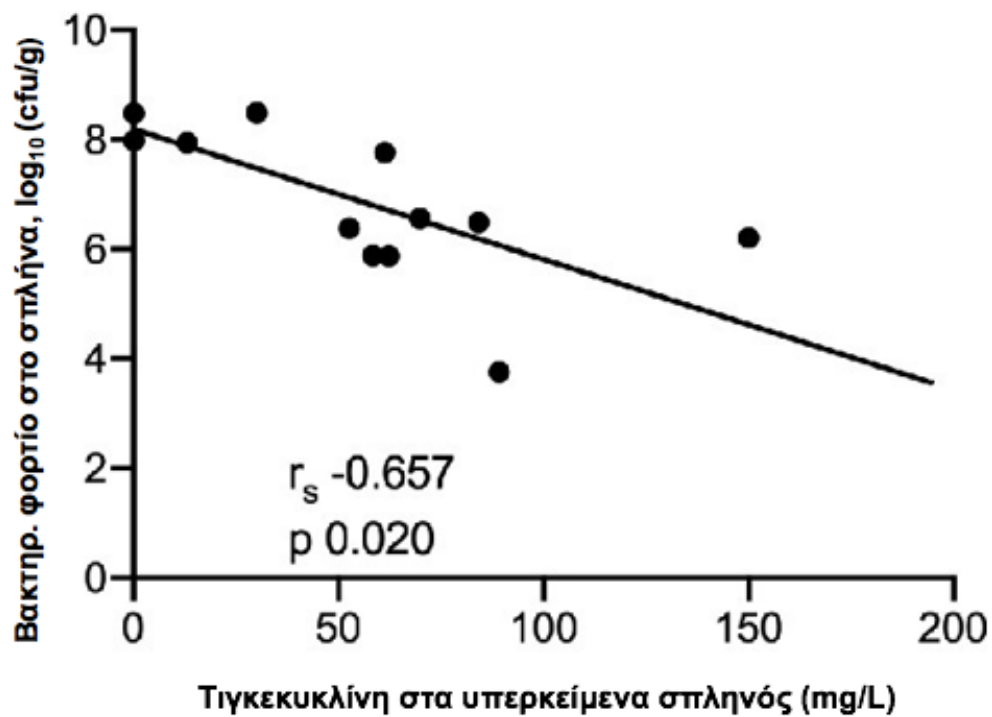
Επίπεδα τιγκεκυκλίνης στον ορό



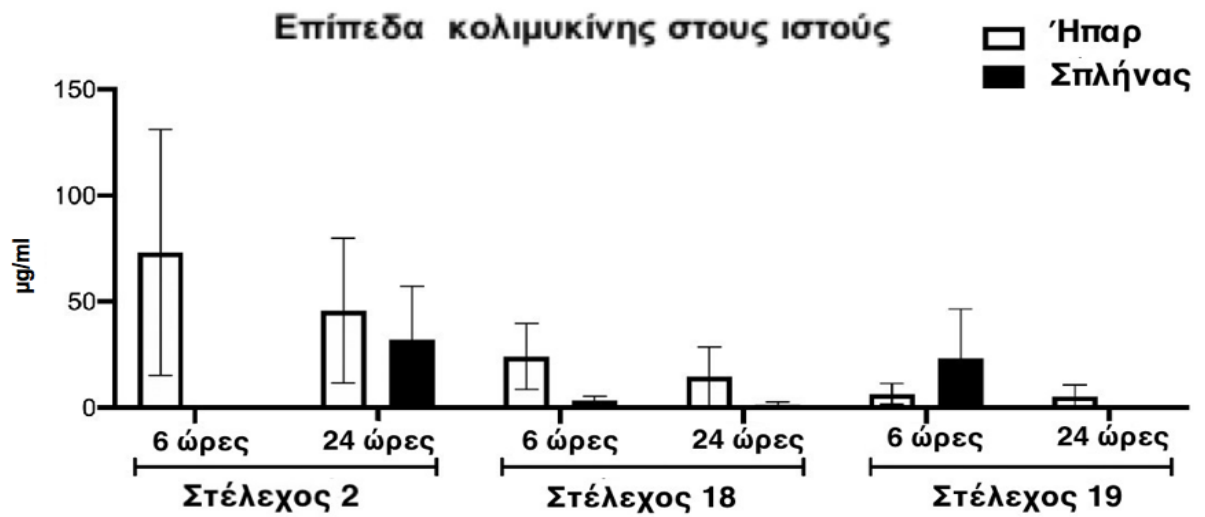
Σχήμα 24. Φαρμακοκινητική της τιγκεκυκλίνης. Επίπεδα τιγκεκυκλίνης στον ορό ανάλογα με το χρόνο δειγματοληψίας.



Σχήμα 25. Φαρμακοκινητική της τυγκεκυκλίνης. Συσχέτιση μεταξύ επιπέδων τυγκεκυκλίνης στο ήπαρ και βακτηριακού φορτίου στο ήπαρ για το στέλεχος 19 (παρόμοια συσχέτιση βρέθηκε στους μυς για τα στελέχη 2 και 18). Ο συντελεστής βαθμού συσχέτισης κατά Spearman και οι αντίστοιχες τιμές p παρέχονται.

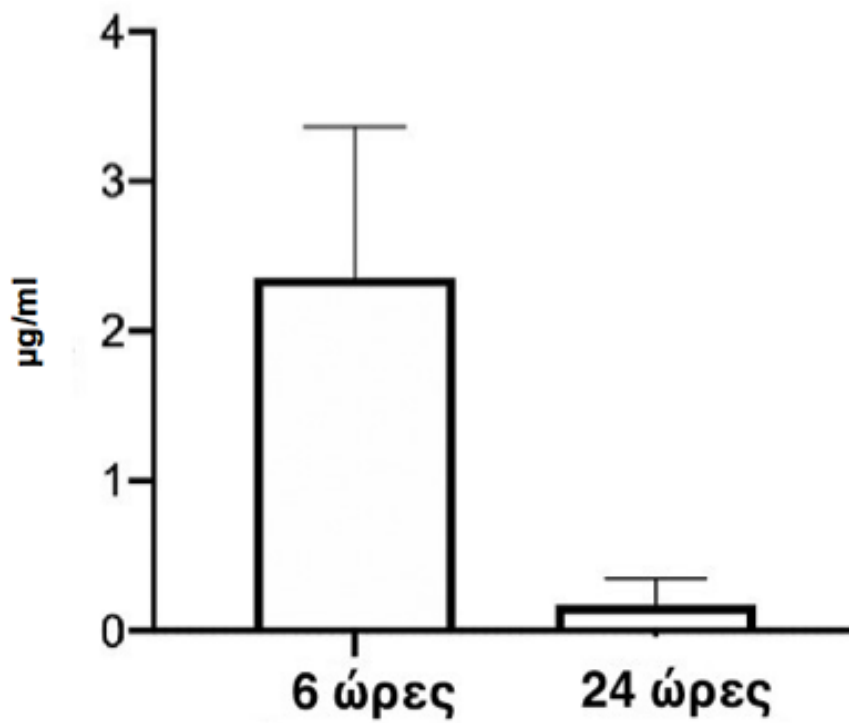


Σχήμα 26. Φαρμακοκινητική της τυγκεκυκλίνης. Συσχέτιση μεταξύ επιπέδων τυγκεκυκλίνης στο σπλήνα και βακτηριακού φορτίου στο σπλήνα για το στέλεχος 19 (παρόμοια συσχέτιση βρέθηκε στους μυς για τα στελέχη 2 και 18). Ο συντελεστής βαθμού συσχέτισης κατά Spearman και οι αντίστοιχες τιμές p παρέχονται.

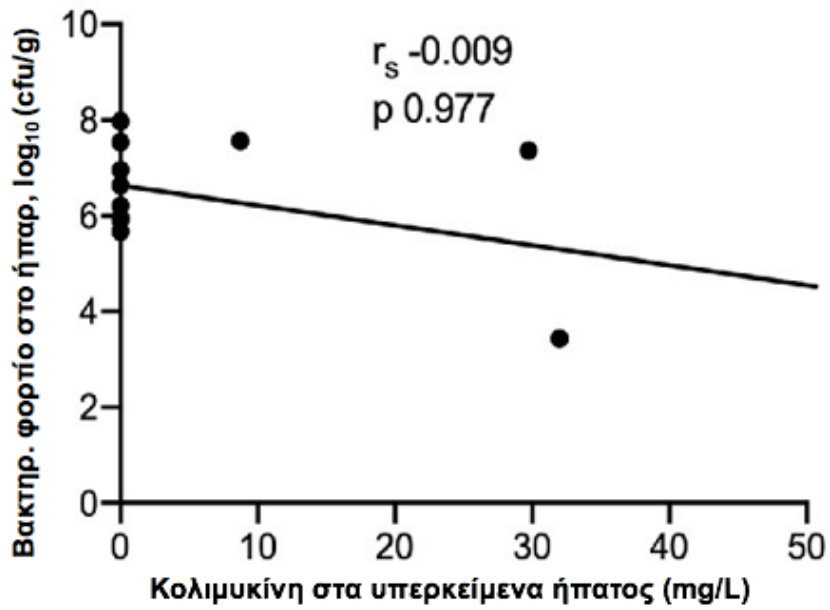


Σχήμα 27. Φαρμακοκινητική της κολιμυκίνης. Οι συγκεντρώσεις κολιμυκίνης στα υπερκείμενα ήπατος και σπληνός στις 6 και 24 ώρες θυσίας ανάλογα με το στέλεχος υπό μελέτη.

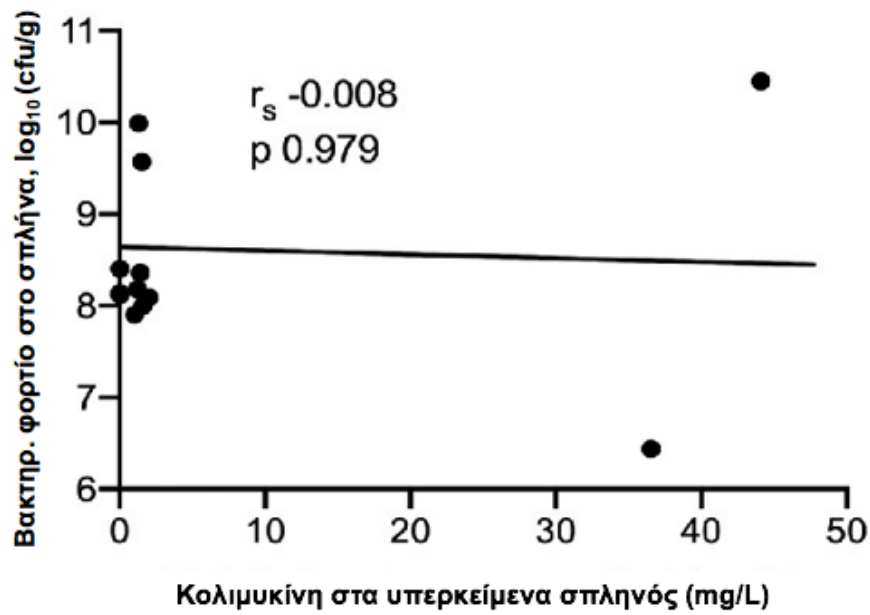
Επίπεδα κολιμυκίνης στον ορό



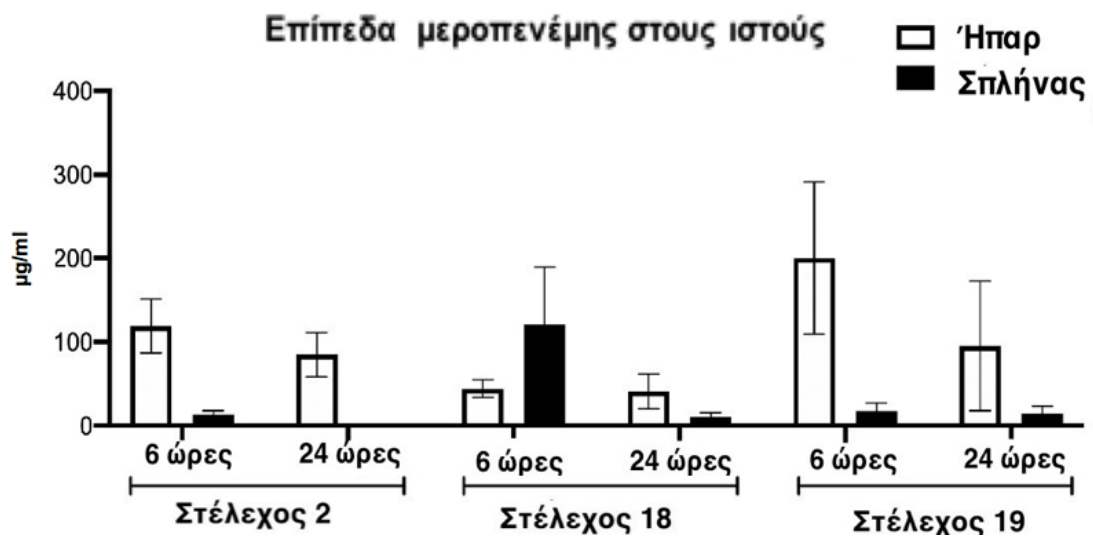
Σχήμα 28. Φαρμακοκινητική της κολιμυκίνης. Επίπεδα κολιμυκίνης στον ορό ανάλογα με το χρόνο δειγματοληψίας.



Σχήμα 29. Φαρμακοκινητική της κολιμυκίνης. Συσχέτιση μεταξύ επιπέδων κολιμυκίνης στο ήπαρ και βακτηριακού φορτίου στο ήπαρ και για το στέλεχος 19 (παρόμοια συσχέτιση βρέθηκε στους μύς για τα στελέχη 2 και 18). Ο συντελεστής βαθμού συσχέτισης κατά Spearman και οι αντίστοιχες τιμές p παρέχονται.

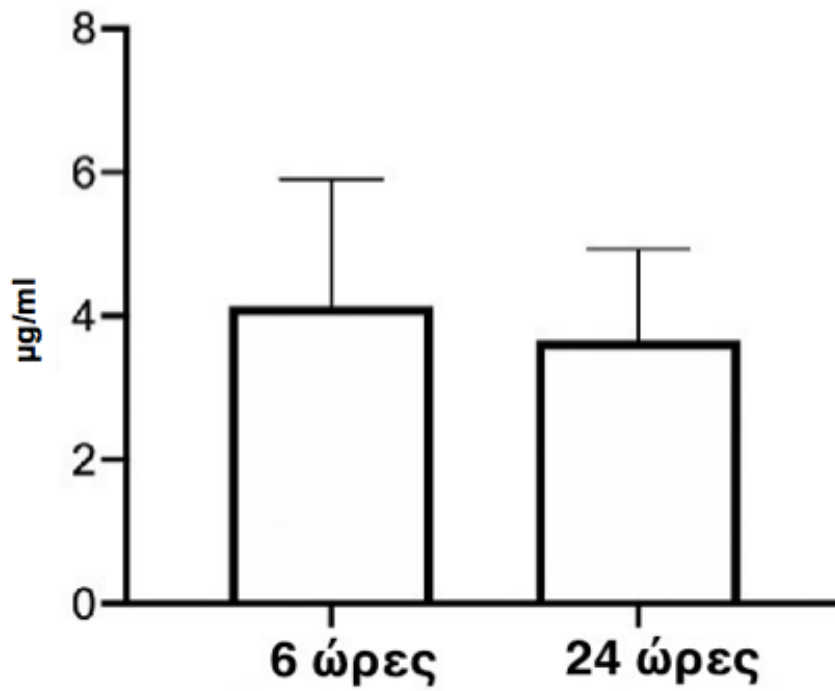


Σχήμα 30. Φαρμακοκινητική της κολιμυκίνης. Συσχέτιση μεταξύ επιπέδων κολιμυκίνης στο σπλήνα και βακτηριακού φορτίου στο σπλήνα για το στέλεχος 19 (παρόμοια συσχέτιση βρέθηκε στους μύς για τα στελέχη 2 και 18). Ο συντελεστής βαθμού συσχέτισης κατά Spearman και οι αντίστοιχες τιμές p παρέχονται.

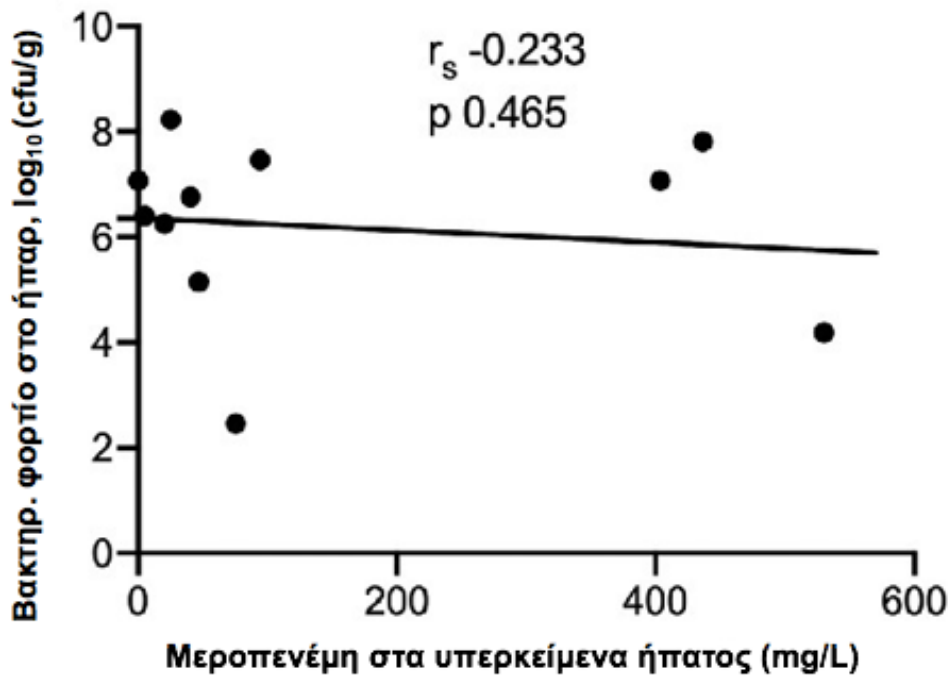


Σχήμα 31. Φαρμακοκινητική της μεροπενέμης. Οι συγκεντρώσεις μεροπενέμης στα υπερκείμενα ήπατος και σπληνός στις 6 και 24 ώρες θυσίας ανάλογα με το στέλεχος υπό μελέτη.

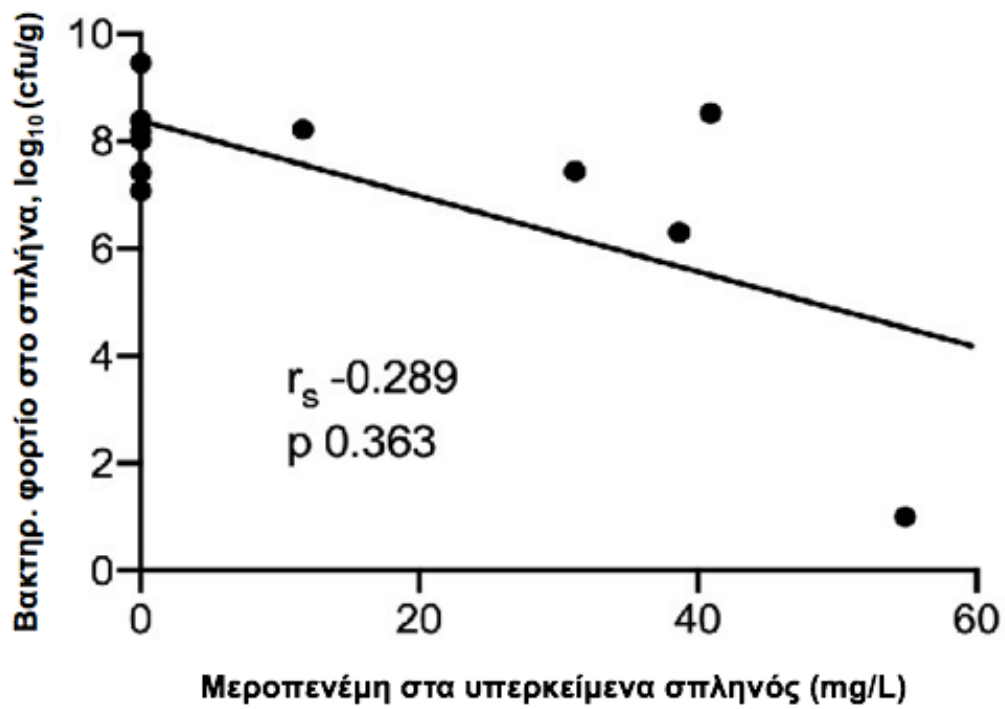
Επίπεδα μεροπενέμης στον ορό



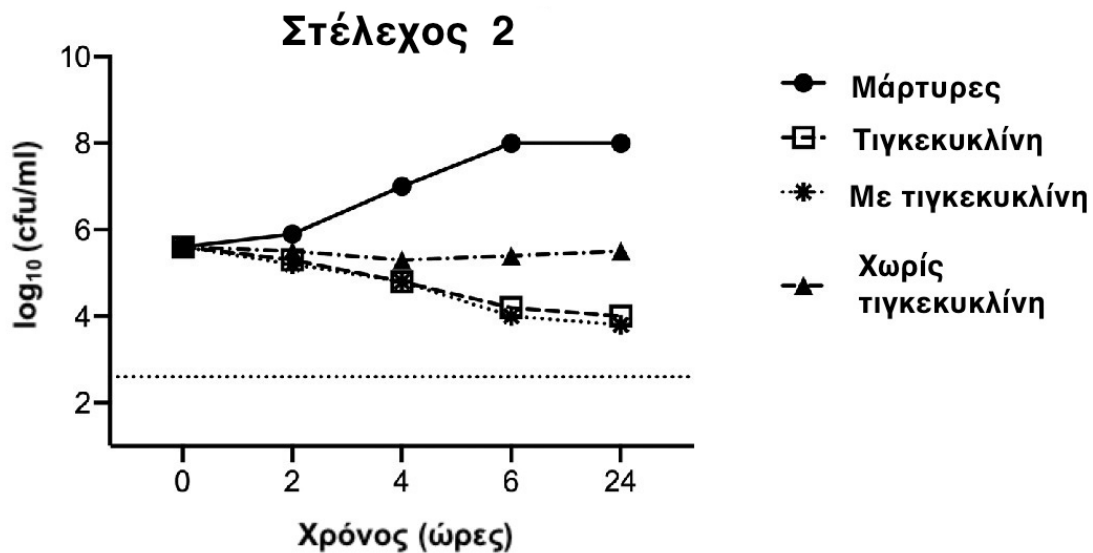
Σχήμα 32. Φαρμακοκινητική της μεροπενέμης. Επίπεδα μεροπενέμης στον ορό ανάλογα με το χρόνο δειγματοληψίας.



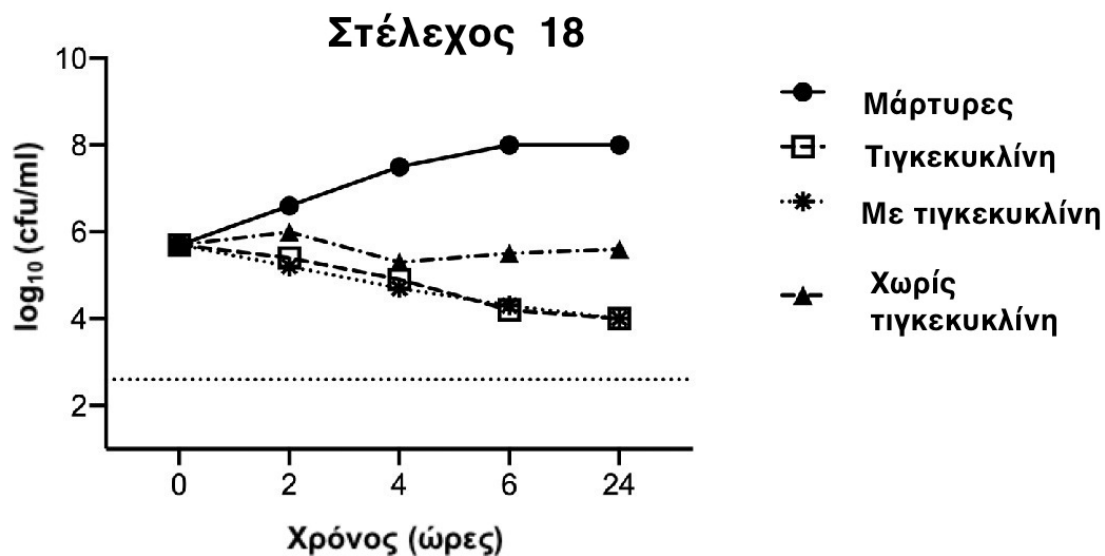
Σχήμα 33. Φαρμακοκινητική της μεροπενέμης. Συσχέτιση μεταξύ επιπέδων μεροπενέμης στο ήπαρ και βακτηριακού φορτίου στο ήπαρ για το στέλεχος 19 (παρόμοια συσχέτιση βρέθηκε στους μυς για τα στελέχη 2 και 18). Ο συντελεστής βαθμού συσχέτισης κατά Spearman και οι αντίστοιχες τιμές p παρέχονται.



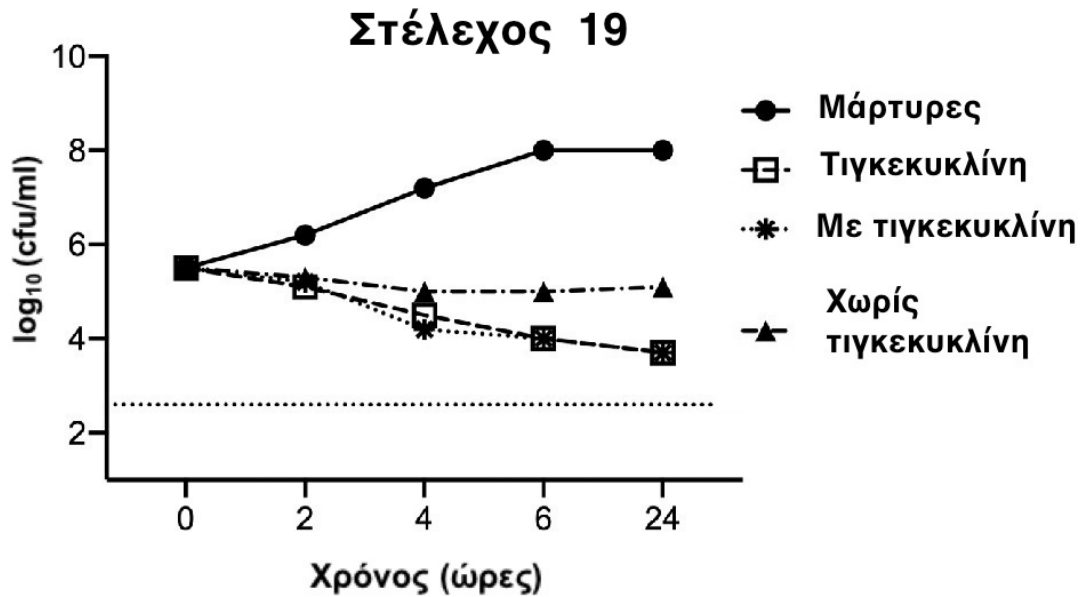
Σχήμα 34. Φαρμακοκινητική της μεροπενέμης. Συσχέτιση μεταξύ επιπέδων μεροπενέμης στο σπλήνα και βακτηριακού φορτίου στο σπλήνα για το στέλεχος 19 (παρόμοια συσχέτιση βρέθηκε στους μυς για τα στελέχη 2 και 18). Ο συντελεστής βαθμού συσχέτισης κατά Spearman και οι αντίστοιχες τιμές p παρέχονται.



Σχήμα 35. Δοκιμασίες χρόνου-θανάτωσης της τιγκεκυκλίνης και των συνδυασμών με μεροπενέμη και κολιμυκίνη. Καμπύλες χρόνου-θανάτωσης για το στέλεχος 2 μετά από έκθεση σε 1xMIC (ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση) τιγκεκυκλίνης, μεροπενέμης και κολιμυκίνης. Τα αποτελέσματα δίνονται για όλους μαζί τους συνδυασμούς με τιγκεκυκλίνη (συνδυασμοί τιγκεκυκλίνης με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο) και για όλους μαζί τους συνδυασμούς χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο). Η διακεκομμένη γραμμή υποδεικνύει το κατώτερο όριο ανίχνευσης.

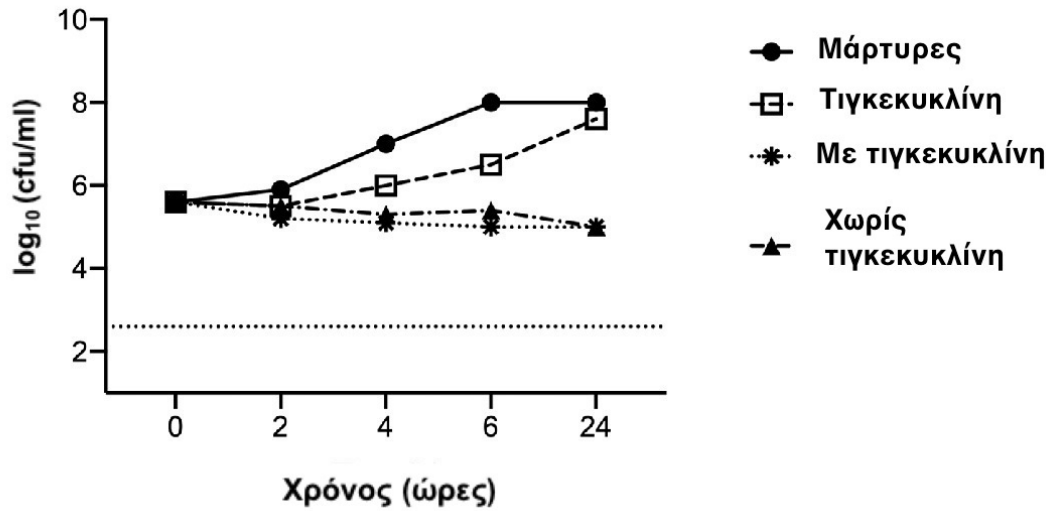


Σχήμα 36. Δοκιμασίες χρόνου-θανάτωσης της τιγκεκυκλίνης και των συνδυασμών με μεροπενέμη και κολιμυκίνη. Καμπύλες χρόνου-θανάτωσης για το στέλεχος 18 μετά από έκθεση σε 1xMIC (ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση) τιγκεκυκλίνης, μεροπενέμης και κολιμυκίνης. Τα αποτελέσματα δίνονται για όλους μαζί τους συνδυασμούς με τιγκεκυκλίνη (συνδυασμοί τιγκεκυκλίνης με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο) και για όλους μαζί τους συνδυασμούς χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο) Η διακεκομμένη γραμμή υποδεικνύει το κατώτερο όριο ανίχνευσης.



Σχήμα 37. Δοκιμασίες χρόνου-θανάτωσης της τιγκεκυκλίνης και των συνδυασμών με μεροπενέμη και κολιμυκίνη. Καμπύλες χρόνου-θανάτωσης για το στέλεχος 19 μετά από έκθεση σε 1xMIC (ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση) τιγκεκυκλίνης, μεροπενέμης και κολιμυκίνης. Τα αποτελέσματα δίνονται για όλους μαζί τους συνδυασμούς με τιγκεκυκλίνη (συνδυασμοί τιγκεκυκλίνης με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο) και για όλους μαζί τους συνδυασμούς χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο). Η διακεκομμένη γραμμή υποδεικνύει το κατώτερο όριο ανίχνευσης.

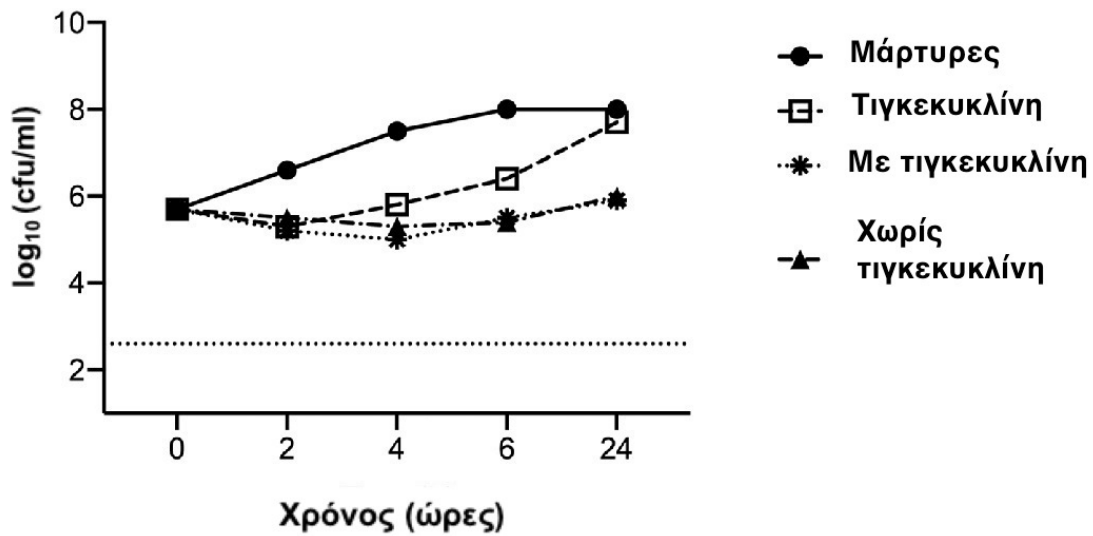
Στέλεχος 2



Σχήμα 38. Δοκιμασίες χρόνου-θανάτωσης της τιγκεκυκλίνης και των συνδυασμών με μεροπενέμη και κολιμυκίνη. Καμπύλες χρόνου-θανάτωσης για τα στέλεχος 2 μετά από έκθεση στις μέσες τιμές επιπέδων ορού τιγκεκυκλίνης, μεροπενέμης και κολιμυκίνης. Τα αποτελέσματα δίνονται για όλους μαζί τους συνδυασμούς με τιγκεκυκλίνη (συνδυασμοί τιγκεκυκλίνης με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο) και για όλους μαζί τους συνδυασμούς χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο)

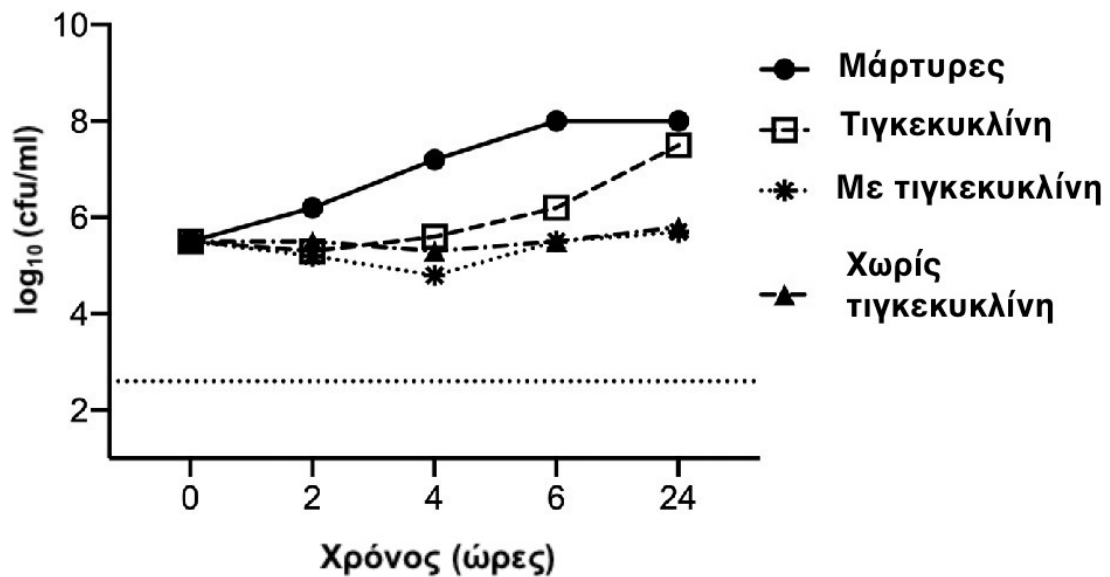
Η διακεκομμένη γραμμή υποδεικνύει το κατώτερο όριο ανίχνευσης.

Στέλεχος 18



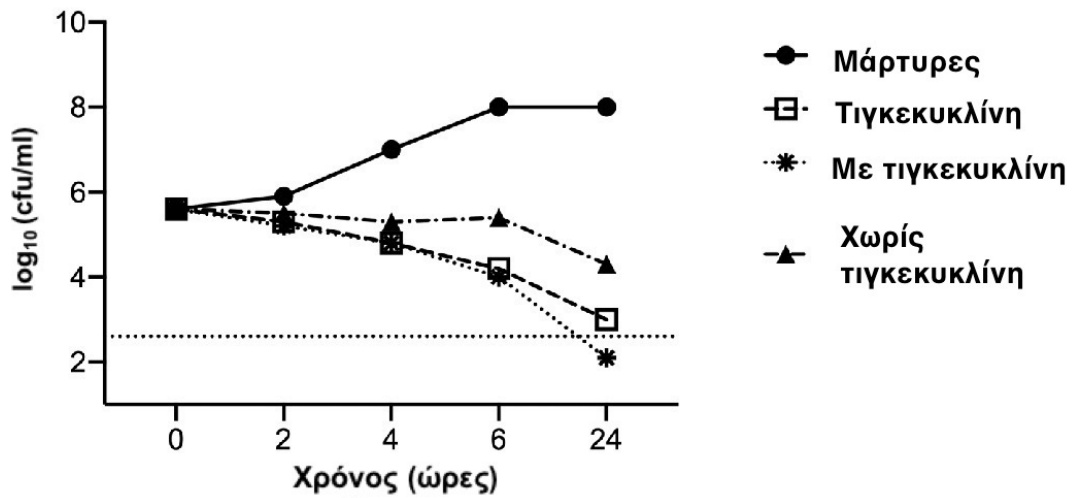
Σχήμα 39. Δοκιμασίες χρόνου-θανάτωσης της τιγκεκυκλίνης και των συνδυασμών με μεροπενέμη και κολιμυκίνη. Καμπύλες χρόνου-θανάτωσης για τα στέλεχος 18 μετά από έκθεση στις μέσες τιμές επιπέδων ορού τιγκεκυκλίνης, μεροπενέμης και κολιμυκίνης. Τα αποτελέσματα δίνονται για όλους μαζί τους συνδυασμούς με τιγκεκυκλίνη (συνδυασμοί τιγκεκυκλίνης με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο) και για όλους μαζί τους συνδυασμούς χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο)
Η διακεκομμένη γραμμή υποδεικνύει το κατώτερο όριο ανίχνευσης.

Στέλεχος 19



Σχήμα 40. Δοκιμασίες χρόνου-θανάτωσης της τιγκεκυκλίνης και των συνδυασμών με μεροπενέμη και κολιμυκίνη. Καμπύλες χρόνου-θανάτωσης για τα στέλεχος 19 μετά από έκθεση στις μέσες τιμές επιπέδων ορού τιγκεκυκλίνης, μεροπενέμης και κολιμυκίνης. Τα αποτελέσματα δίνονται για όλους μαζί τους συνδυασμούς με τιγκεκυκλίνη (συνδυασμοί τιγκεκυκλίνης με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο) και για όλους μαζί τους συνδυασμούς χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο). Η διακεκομμένη γραμμή υποδεικνύει το κατώτερο όριο ανίχνευσης.

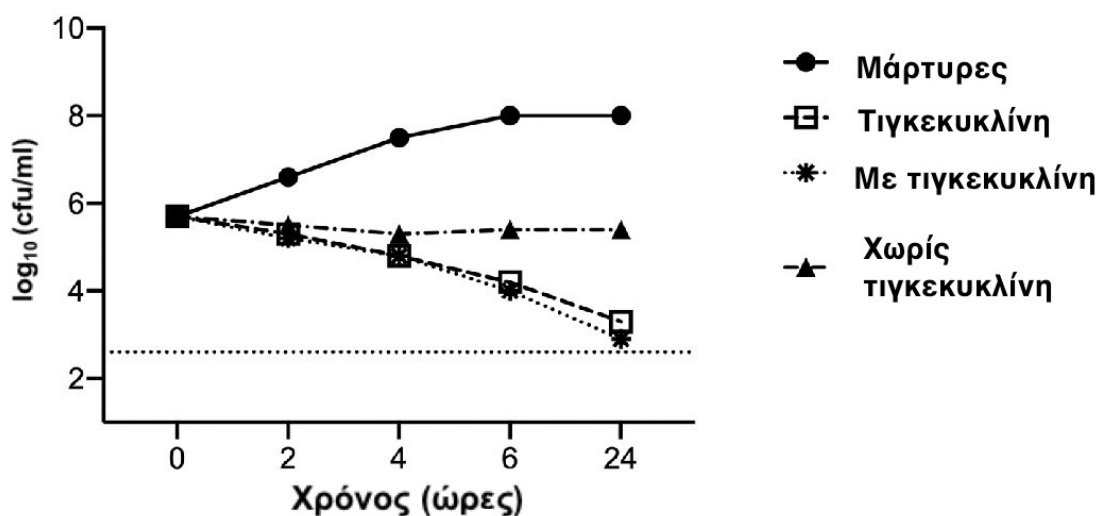
Στέλεχος 2



Σχήμα 41. Δοκιμασίες χρόνου-θανάτωσης της τιγκεκυκλίνης και των συνδυασμών με μεροπενέμη και κολιμυκίνη. Καμπύλες χρόνου-θανάτωσης για το στέλεχος 2 μετά από έκθεση στις μέσες τιμές επιπέδων ιστών τιγκεκυκλίνης, μεροπενέμης και κολιμυκίνης. Τα αποτελέσματα δίνονται για όλους μαζί τους συνδυασμούς με τιγκεκυκλίνη (συνδυασμοί τιγκεκυκλίνης με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο) και για όλους μαζί τους συνδυασμούς χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο)

Η διακεκομμένη γραμμή υποδεικνύει το κατώτερο όριο ανίχνευσης.

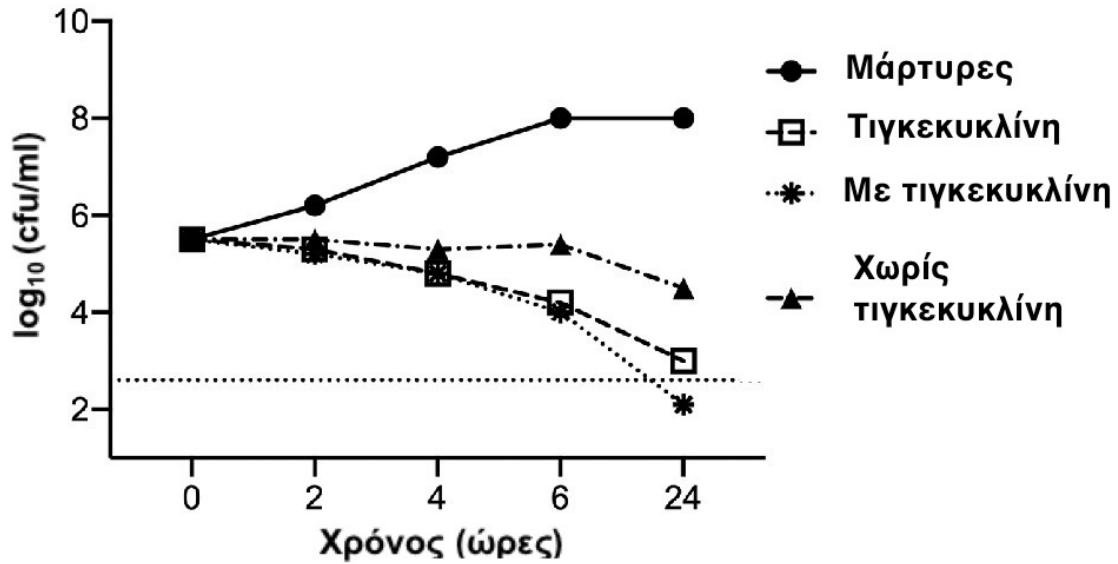
Στέλεχος 18



Σχήμα 42. Δοκιμασίες χρόνου-θανάτωσης της τιγκεκυκλίνης και των συνδυασμών με μεροπενέμη και κολιμυκίνη. Καμπύλες χρόνου-θανάτωσης για το στέλεχος 18 μετά από έκθεση στις μέσες τιμές επιπέδων ιστών τιγκεκυκλίνης, μεροπενέμης και κολιμυκίνης. Τα αποτελέσματα δίνονται για όλους μαζί τους συνδυασμούς με τιγκεκυκλίνη (συνδυασμοί τιγκεκυκλίνης με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο) και για όλους μαζί τους συνδυασμούς χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο)

Η διακεκομμένη γραμμή υποδεικνύει το κατώτερο όριο ανίχνευσης.

Στέλεχος 19



Σχήμα 43. Δοκιμασίες χρόνου-θανάτωσης της τιγκεκυκλίνης και των συνδυασμών με μεροπενέμη και κολιμυκίνη. Καμπύλες χρόνου-θανάτωσης για το στέλεχος 19 μετά από έκθεση στις μέσες τιμές επιπέδων ιστών τιγκεκυκλίνης, μεροπενέμης και κολιμυκίνης. Τα αποτελέσματα δίνονται για όλους μαζί τους συνδυασμούς με τιγκεκυκλίνη (συνδυασμοί τιγκεκυκλίνης με μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο) και για όλους μαζί τους συνδυασμούς χωρίς τιγκεκυκλίνη (μεροπενέμη, κολιμυκίνη ή και τα δύο)

Η διακεκομμένη γραμμή υποδεικνύει το κατώτερο όριο ανίχνευσης.

Συμπληρωματικός Πίνακας 1. Ποσοστά επιβίωσης (%) μετά από 14 ημέρες μεταξύ ομάδων μυών για κάθε στέλεχος

	Στέλεχος 2	Στέλεχος 18	Στέλεχος 19
Μάρτυρες (ομάδα Α)	10%	0%	10%
Τιγκεκυκλίνη (ομάδα Β)	100%	90%	50%
Μεροπενέμη (ομάδα C)	100%	30%	0%
Κολιμυκίνη (ομάδα D)	100%	20%	20%
Τιγκεκυκλίνη + κολιμυκίνη (ομάδα E)	80%	60%	50%
Μεροπενέμη + κολιμυκίνη (ομάδα F)	100%	60%	20%
Τιγκεκυκλίνη + μεροπενέμη (ομάδα G)	90%	80%	50%
Τιγκεκυκλίνη + μεροπενέμη + κολιμυκίνη (ομάδα H)	90%	70%	100%

Συμπληρωματικός Πίνακας 2. Βακτηριακό φορτίο στους ιστούς μετά την έγχυση του στελέχους 2. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέσες τιμές ± SE.

	Περιτοναϊκό έκπλυμα	Ήπαρ	Νεφρός	Πνεύμονας	Σπλήνας
Θυσίες 6 ωρών	log10 cfu/ml	log10 cfu/g	log10 cfu/g	log10 cfu/g	log10 cfu/g
Μάρτυρες (ομάδα A)	4.36±0.28	4.35±0.10	4.15±0.04	4.29±0.23	4.82±0.14
Τιγκεκυκλίνη (ομάδα B)	1.17±0.17 ^c	1.00 ^c	1.00 ^c	1.43±0.43 ^b	2.11±0.50 ^b
Μεροπενέμη (ομάδα C)	1.67±0.49 ^c	1.41±0.41 ^c	2.26±0.57 ^b	2.24±0.83 ^a	2.43±0.50 ^b
Κολιμυκίνη (ομάδα D)	1.00 ^c	1.7±0.70 ^c	1.72±0.72 ^b	2.34±0.88 ^a	3.07±0.76 ^a
Τιγκεκυκλίνη + κολιμυκίνη (ομάδα E)	1.00 ^c	1.22±0.22 ^c	1.00 ^c	1.00 ^b	1.00 ^c
Μεροπενέμη + κολιμυκίνη (ομάδα F)	1.46±0.30 ^c	1.33±0.33 ^c	1.74±0.47 ^b	1.80±0.51 ^b	2.99±0.49 ^a
Τιγκεκυκλίνη + μεροπενέμη (ομάδα G)	1.00 ^c	1.00 ^c	1.00 ^c	1.00 ^b	1.00 ^c
Τιγκεκυκλίνη + μεροπενέμη + κολιμυκίνη (ομάδα H)	1.00 ^c	1.00 ^c	1.00 ^c	1.00 ^b	1.00 ^c
Θυσίες 24 ωρών					
Μάρτυρες (ομάδα A)	4.24±1.04	5.73±0.55	5.68±0.58	5.97±0.60	6.18±0.62
Τιγκεκυκλίνη (ομάδα B)	2.01±0.64 ^a	1.00 ^c	1.00 ^c	1.00 ^c	1.00 ^c
Μεροπενέμη (ομάδα C)	2.35±0.57 ^a	1.72±0.46 ^c	1.58±0.37 ^c	1.72±0.46 ^c	1.99±0.62 ^c
Κολιμυκίνη (ομάδα D)	1.76±0.70 ^a	2.74±0.78 ^c	1.62±0.62 ^c	2.03±0.66 ^c	1.91±0.91 ^c
Τιγκεκυκλίνη + κολιμυκίνη (ομάδα E)	1.67±0.67 ^a	1.00 ^c	1.66±0.42 ^c	1.00 ^c	1.36±0.36 ^c
Μεροπενέμη + κολιμυκίνη (ομάδα F)	1.86±0.68 ^a	1.00 ^c	2.00±0.63 ^c	1.49±0.49 ^c	1.96±0.65 ^c
Τιγκεκυκλίνη + μεροπενέμη (ομάδα G)	1.41±0.41 ^a	1.00 ^c	1.00 ^c	1.00 ^c	1.31±0.31 ^c
Τιγκεκυκλίνη + μεροπενέμη + κολιμυκίνη (ομάδα H)	1.15±0.15 ^b	1.50±0.50 ^c	1.39±0.39 ^c	1.00 ^c	1.00 ^c

^ap στατιστικά μη σημαντικό έναντι μαρτύρων, ^bp<0,05 έναντι μαρτύρων, ^cp<0,001 έναντι μαρτύρων

Συμπληρωματικός Πίνακας 3. Βακτηριακό φορτίο στους ιστούς μετά την έγχυση του στελέχους 18. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέσες τιμές ± SE.

	Περιτοναϊκό έκπλυμα	Ήπαρ	Νεφρός	Πνεύμονας	Σπλήνας
Θυσίες 6 ωρών	log ₁₀ cfu/ml	log ₁₀ cfu/g	log ₁₀ cfu/g	log ₁₀ cfu/g	log ₁₀ cfu/g
Μάρτυρες (ομάδα A)	5.79±0.16	7.09±0.13	5.95±0.44	6.47±0.31	7.64±0.25
Τιγκεκυκλίνη (ομάδα B)	4.79±0.69 ^a	4.99±0.59 ^a	3.93±0.21 ^a	3.80±0.73 ^a	6.08±0.48 ^a
Μεροπενέμη (ομάδα C)	4.90±0.69 ^a	6.15±0.94 ^a	6.54±0.73 ^a	6.02±1.01 ^a	6.50±1.15 ^a
Κολιμυκίνη (ομάδα D)	4.96±1.09 ^a	6.79±0.34 ^a	4.45±0.42 ^a	6.70±0.16 ^a	8.62±0.37 ^a
Τιγκεκυκλίνη + κολιμυκίνη (ομάδα E)	4.33±0.77 ^a	5.23±0.25 ^a	4.13±0.61 ^a	4.29±0.30 ^a	5.33±0.60 ^a
Μεροπενέμη + κολιμυκίνη (ομάδα F)	5.13±0.78 ^a	7.00±0.43 ^a	5.30±0.88 ^a	6.22±1.08 ^a	8.59±0.19 ^a
Τιγκεκυκλίνη + μεροπενέμη (ομάδα G)	3.83±0.84 ^a	5.26±0.49 ^a	4.59±0.61 ^a	3.49±0.82 ^a	6.05±0.45 ^a
Τιγκεκυκλίνη + μεροπενέμη + κολιμυκίνη (ομάδα H)	3.25±0.78 ^a	4.38±0.52 ^b	3.63±0.62 ^a	2.32±0.59 ^b	5.02±0.42 ^a
Θυσίες 24 ώρων					
Μάρτυρες (ομάδα A)	5.58±0.94	8.11±0.99	8.06±0.94	7.70±0.83	8.66±0.83
Τιγκεκυκλίνη (ομάδα B)	3.06±0.58 ^a	4.20±0.32 ^b	4.09±0.26 ^b	4.27±0.15 ^b	5.26±0.24 ^b
Μεροπενέμη (ομάδα C)	5.02±0.64 ^a	6.39±0.35 ^a	7.27±0.33 ^a	9.29±0.40 ^a	8.21±0.38 ^a
Κολιμυκίνη (ομάδα D)	4.64±0.79 ^a	7.07±0.57 ^a	6.53±0.92 ^a	6.58±0.66 ^a	8.32±0.52 ^a
Τιγκεκυκλίνη + κολιμυκίνη (ομάδα E)	1.96±0.56 ^b	3.59±0.63 ^c	1.62±0.41 ^c	3.78±0.62 ^a	5.09±0.39 ^b
Μεροπενέμη + κολιμυκίνη (ομάδα F)	4.07±0.74 ^a	7.28±0.66 ^a	6.08±0.68 ^a	6.57±0.64 ^b	7.67±0.46 ^a
Τιγκεκυκλίνη + μεροπενέμη (ομάδα G)	2.13±0.19 ^b	2.97±0.65 ^c	2.43±0.46 ^c	2.81±0.58 ^a	4.36±0.78 ^c
Τιγκεκυκλίνη + μεροπενέμη + κολιμυκίνη (ομάδα H)	2.07±0.35 ^b	3.69±0.14 ^c	2.33±0.47 ^c	3.07±0.69 ^c	5.11±0.26 ^b

^ap στατιστικά μη σημαντικό έναντι μαρτύρων, ^bp<0,05 έναντι μαρτύρων, ^cp<0,001 έναντι μαρτύρων

Συμπληρωματικός Πίνακας 4. Βακτηριακό φορτίο στους ιστούς μετά την έγχυση του στελέχους 19. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέσες τιμές ± SE.

	Περιτοναϊκό έκπλυμα	Ήπαρ	Νεφρός	Πνεύμονας	Σπλήνας
Θυσιές 6 ωρών	log10 cfu/ml	log10 cfu/g	log10 cfu/g	log10 cfu/g	log10 cfu/g
Μάρτυρες (ομάδα Α)	5.84±0.19	8.30±0.97	8.69±0.79	8.59±0.67	9.66±0.69
Τιγκεκυκλίνη (ομάδα Β)	4.88±0.26 ^a	5.66±0.23 ^a	6.44±0.50 ^a	6.10±0.29 ^a	7.50±0.47 ^a
Μεροπενέμη (ομάδα C)	5.90±0.53 ^a	9.80±0.26 ^a	8.26±0.72 ^a	7.26±1.38 ^a	8.36±1.69 ^a
Κολιμυκίνη (ομάδα D)	5.64±0.55 ^a	7.93±0.83 ^a	8.16±0.62 ^a	7.03±0.81 ^a	8.73±0.40 ^a
Τιγκεκυκλίνη + κολιμυκίνη (ομάδα E)	4.34±0.14 ^a	4.66±0.58 ^a	5.09±0.70 ^b	4.33±0.75 ^b	5.49±0.36 ^b
Μεροπενέμη + κολιμυκίνη (ομάδα F)	5.12±0.49 ^a	7.68±0.89 ^a	7.21±0.71 ^a	7.17±0.85 ^a	7.86±0.87 ^a
Τιγκεκυκλίνη + μεροπενέμη (ομάδα G)	4.04±0.17 ^b	5.28±0.96 ^a	4.44±0.49 ^b	5.36±0.57 ^a	5.70±0.72 ^b
Τιγκεκυκλίνη + μεροπενέμη + κολιμυκίνη (ομάδα H)	3.69±0.43 ^b	5.23±1.09 ^a	3.48±0.92 ^c	3.83±0.90 ^c	6.18±0.46 ^a
Θυσιές 24 ωρών					
Μάρτυρες (ομάδα Α)	7.17±0.63	9.44±0.44	9.23±0.38	8.80±0.59	10.15±0.28
Τιγκεκυκλίνη (ομάδα Β)	6.63±0.76 ^a	5.02±0.89 ^b	5.80±1.27 ^a	5.80±1.49 ^a	6.14±0.54 ^b
Μεροπενέμη (ομάδα C)	6.66±0.86 ^a	8.98±0.52 ^a	9.34±0.31 ^a	8.26±0.62 ^a	9.05±0.48 ^a
Κολιμυκίνη (ομάδα D)	7.01±0.43 ^a	8.73±0.77 ^a	8.30±0.62 ^a	7.79±0.54 ^a	9.37±0.35 ^a
Τιγκεκυκλίνη + κολιμυκίνη (ομάδα E)	4.16±0.95 ^b	2.91±0.85 ^c	3.23±0.82 ^c	3.14±0.97 ^b	3.50±1.20 ^c
Μεροπενέμη + κολιμυκίνη (ομάδα F)	6.82±0.39 ^a	8.88±0.28 ^a	7.38±0.47 ^a	7.85±0.46 ^a	8.70±0.32 ^a
Τιγκεκυκλίνη + μεροπενέμη (ομάδα G)	4.66±0.42 ^a	3.47±1.16 ^c	3.19±0.98 ^c	3.82±1.29 ^b	3.83±0.95 ^c
Τιγκεκυκλίνη + μεροπενέμη + κολιμυκίνη (ομάδα H)	2.73±0.27 ^c	3.53±0.99 ^c	2.19±0.80 ^c	3.28±1.06 ^b	3.85±1.08 ^c

^ap στατιστικά μη σημαντικό έναντι μαρτύρων, ^bp<0,05 έναντι μαρτύρων, ^cp<0,001 έναντι μαρτύρων

Συμπληρωματικός Πίνακας 5: Δοκιμασίες χρόνου-θανάτωσης

Μέσες μεταβολές του βασικού βακτηριακού ενοφθαλμίσματος μετά από επώαση για 24 ώρες με διαφορετικές συγκεντρώσεις τιγκεκυκλίνης, μεροπενέμης και κολιμυκίνης.

	KPC στέλεχος 2	KPC στέλεχος 18	KPC στέλεχος 19
Μέση μεταβολή (log ₁₀ cfu/ml)			
Αντιμικροβιακός παράγοντας/συνδυασμός			
Τιγκεκυκλίνη			
1 x MIC	-1.6	-1.7	-1.8
0.5 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ορού)	2	2	2
30 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ιστών)	-2.6	-2.4	-2.5
Μεροπενέμη			
1 x MIC	0	0	-0.3
4 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ορού)	-0.2	2	2
40 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ιστών)	-1.6	-0.3	-0.6
Κολιμυκίνη			
1 x MIC	-0.3	-0.2	-0.5
2 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ορού)	-0.7	-0.5	-0.5
10 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ιστών)	-0.5	-0.4	-0.5
Τιγκεκυκλίνη + Μεροπενέμη			
1 x MIC καθεμίας	-0.6	-1	-1
0.5 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ορού)+ 4 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ορού)	-0.5	2	2
30 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ιστών)+ 40 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ιστών)	-1.6	-1.3	-1.6
Τιγκεκυκλίνη + κολιμυκίνη			
1 x MIC	-1.2	-1	-1.2
0.5 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ορού) + 2 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ορού)	-0.6	-0.7	-0.7
30 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ιστών)+ 10 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ιστών)	-3.8 ^b	-2.7	-3.7 ^b

Μεροπενέμη + Κολιμυκίνη			
1 x MIC	0	0	-0.3
4 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ορού) + 2 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ορού)	-0.8	-0.6	-0.6
40 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ιστών)+ 10 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ιστών)	-1.8	-0.3	-1.8
Τιγκεκυκλίνη + Μεροπενέμη+ Κολιμυκίνη			
1 x MIC	-3.6 ^{a, b}	-3.2 ^a	-3.3 ^a
0.5 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ορού) + 4 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ορού) + 2 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ορού)	-0.8	-0.7	-0.8
30 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ιστών) + 40 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ιστών) + 10 µg/ml (μέση τιμή επιπέδου ιστών)	-5 ^{a, b}	-4.5 ^{a, b}	-5 ^{a, b}

cfu, μονάδες σχηματισμού αποικίας

Οι MICs για το στέλεχος 2 ήταν: τιγκεκυκλίνη 1 µg/ml, μεροπενέμη 4 µg/ml, κολιμυκίνη 0.5 µg/ml

Οι MICs για το στέλεχος 18 ήταν: τιγκεκυκλίνη 1 µg/ml, μεροπενέμη 256 µg/ml, κολιμυκίνη 0.5 µg/ml

Οι MICs για το στέλεχος 19 ήταν: τιγκεκυκλίνη 1 µg/ml, μεροπενέμη 16 µg/ml, κολιμυκίνη 1 µg/ml

^aμέση μείωση $\geq 3 \log_{10}$ από τη βασική τιμή υποδηλώνει βακτηριοστατικό αποτέλεσμα

^bμέση μείωση $\geq 2 \log_{10}$ σε σύγκριση με το πιο δραστικό φάρμακο υποδηλώνει συνέργεια

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα μελέτη υποδεικνύει ένα ευεργετικό αποτέλεσμα σε πειραματικές λοιμώξεις από στελέχη *K.pneumoniae* που παράγουν KPC-2, όταν η τιγκεκυκλίνη περιλαμβάνεται στο θεραπευτικό αλγόριθμο. Τα στελέχη που χρησιμοποιήθηκαν για την πρόκληση λοίμωξης στα ζώα είχαν MICs της μεροπενέμης που κυμαίνονταν μεταξύ 4 και 256 µg/ml και ήταν ευαίσθητα στην τιγκεκυκλίνη με τις MICs να κυμαίνονται μεταξύ 0,5 και 2 µg/ml. Ανεξάρτητα από το επίπεδο της MIC της μεροπενέμης, η θεραπεία με τιγκεκυκλίνη και σχήματα που περιελάμβαναν τιγκεκυκλίνη παρέτειναν την επιβίωση σε σύγκριση με τη θεραπεία με σχήματα που δεν περιελάμβαναν τιγκεκυκλίνη. Το όφελος επιβίωσης συσχετίστηκε με τις πλεονεκτικές φαρμακοκινητικές ιδιότητες της τιγκεκυκλίνης στους ιστούς που οδήγησαν σε ταχεία μείωση της βακτηριακής ανάπτυξης σε αυτούς.

Αυτά τα ευρήματα είναι σύμφωνα με τα αποτελέσματα αναδρομικών κλινικών μελετών που δείχνουν την ανάγκη συνδυαστικής θεραπείας για τη αντιμετώπιση των λοιμώξεων από στελέχη *K.pneumoniae* που παράγουν KPC. Οι Tumbarello και συν. (83), σε μία ομάδα 125 ασθενών με βακτηριαιμία λόγω στελεχών *K.pneumoniae* που παράγουν KPC, υπογράμμισε τη σπουδαιότητα της χρήσης τιγκεκυκλίνης στα θεραπευτικά σχήματα και τη συσχέτιση με πλεονέκτημα επιβίωσης. Αυτά τα ευρήματα είναι παρόμοια με τα αποτελέσματα των Δαΐκου και συν. (81), οι οποίοι υποστήριξαν τη σημασία της συνδυαστικής θεραπείας. Υπέδειξαν επίσης ότι το μέγιστο όφελος από την προσθήκη καρβαπενέμης παρατηρείται όταν η MIC είναι μικρότερη από 16 µg/ml. Αυτό συνάδει με τη στατιστικά σημαντική αποτελεσματικότητα των σχημάτων χωρίς τιγκεκυκλίνη κατά του στελέχους 2 στη μελέτη μας, όπου η MIC για τη μεροπενέμη ήταν 4 µg/ml. Προηγούμενα ευρήματα *in vitro* κατά των στελεχών *K. pneumoniae* που παράγουν KPC συνάδουν επίσης με το πλεονέκτημα που προσφέρει στους μύς η θεραπεία με τιγκεκυκλίνη (8, 94).

Επιδείξαμε ότι οι συγκεντρώσεις στους ιστούς ήταν πολύ μεγαλύτερες από εκείνες στον ορό και είχαν αρνητική συσχέτιση με το βακτηριακό φορτίο. Αυτό είναι σύμφωνο με την ευνοϊκή φαρμακοκινητική της τιγκεκυκλίνης στους ιστούς. Οι Muralidharan και συν. (22), ανέφεραν ότι η συγκέντρωση της τιγκεκυκλίνης στον ορό παρουσίαζε μια απότομη μείωση μετά το τέλος της

έγχυσης και μια παράλληλη ταχεία και εκτεταμένη κατανομή από τα κεντρικά διαμερίσματα στους πνεύμονες, το δέρμα, το ήπαρ, την καρδιά και τα οστά. Άλλοι ερευνητές έχουν δείξει ότι οι συγκεντρώσεις της τιγκεκυκλίνης στη χοληδόχο κύστη ξεπέρασαν εκείνη του ορού κατά 23 φορές, οι συγκεντρώσεις της τιγκεκυκλίνης στον πνεύμονα και το παχύ εντέρο υπερέβησαν τις συγκεντρώσεις στον ορό κατά 2 φορές ή περισσότερο υποδεικνύοντας ένα μεγάλο όγκο κατανομής (23, 25). Τέλος, οι Koomanchai και συν. (85), βρήκαν τις συγκεντρώσεις της τιγκεκυκλίνης στο υγρό που περιβάλλει τα επιθηλιακά κύτταρα σε μς με πειραματική πνευμονία από *Staphylococcus aureus* να είναι μεγαλύτερες από εκείνες στον ορό. Αυτό συσχετίστηκε με αποτελεσματική διείσδυση στο παρέγχυμα του πνεύμονα και με ενισχυμένη βακτηριακή θανάτωση. Εξίσου ευνοϊκή αυξημένη συγκέντρωση στον πνεύμονα βρέθηκε και από εμάς.

Τέσσερις βασικοί περιορισμοί στην πειραματική μας μελέτη πρέπει να αναφερθούν. Ο πρώτος περιορισμός είναι η έλλειψη πειραμάτων απόκρισης στη δόση, που θα απαιτούσαν υπερβολικό αριθμό ζώων. Για να μειωθεί ο αριθμός των ζώων που χρησιμοποιήθηκαν, επιλέξαμε να χορηγήσουμε υψηλές δόσεις (86-91). Ο δεύτερος περιορισμός είναι η μελέτη των στελεχών με μηχανισμό ανοχής μέσω παραγωγής KPC κι όχι άλλων ενζύμων. Ο τρίτος περιορισμός είναι η άπαξ ημερήσια χορήγηση των αντιβιοτικών. Ωστόσο, τα κλινικά σχετιζόμενα επίπεδα στους ιστούς που επιτεύχθηκαν, δεν περιορίζουν την επεξήγηση των ευρημάτων. Ο τελευταίος περιορισμός είναι η έλλειψη καθορισμού του βακτηριακού φορτίου σε μετέπειτα χρονικά σημεία, που οφείλεται στη επίπτωση των θανάτων στους μάρτυρες και στους μς που έλαβαν σχήματα χωρίς τιγκεκυκλίνη μετά από 24 ώρες. Αν και μπορεί να υποστηριχθεί ότι η ενδοπεριτοναϊκή έγχυση δεν είναι ισοδύναμη της ενδοκοιλιακής λοίμωξης, διατηρεί τα χαρακτηριστικά της μονομικροβιακής πειραματικής λοίμωξης, όπως έχει μελετηθεί και από άλλους (95-98).

Τα ευρήματά μας, που προέρχονται από ένα πειραματικό μοντέλο λοίμωξης υποδηλώνουν ότι σε περίπτωση λοίμωξης από στελέχη *K.pneumoniae* που παράγουν KPC και είναι ευαίσθητα στην τιγκεκυκλίνη, η θεραπεία με τιγκεκυκλίνη είτε ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες προσφέρει σημαντικό πλεονέκτημα επιβίωσης. Αυτό σχετίζεται με την αποτελεσματική φαρμακοκινητική της τιγκεκυκλίνης

στους ιστούς που οδηγεί σε ταχεία μείωση του βακτηριακού φορτίου. Μη χρήση της τιγκεκυκλίνης απέτυχε να παράσχει παρόμοια οφέλη, όταν η MIC της μεροπενέμης ήταν 16 μg/ml ή μεγαλύτερη. Τα πειραματικά μας ευρήματα υποστηρίζουν την ανάγκη για περαιτέρω επεξηγηματικές προσπάθειες για την διερεύνηση της χρήσης της τιγκεκυκλίνης στη θεραπευτική αγωγή των λοιμώξεων από στελέχη *K. pneumoniae* που παράγουν KPC στην κλινική πράξη.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή Αν και *in vitro* δεδομένα δείχνουν ότι η τιγκεκυκλίνη είναι δραστική έναντι στελεχών *Klebsiella pneumoniae* που παράγουν καρβαπενεμάσες (KPC) τα πειραματικά και κλινικά δεδομένα είναι περιορισμένα. Μελετήσαμε την επίδραση της τιγκεκυκλίνης ως μονοθεραπείας ή σε συνδυασμό σε πειραματικές λοιμώξεις με KPC.

Μέθοδοι Συνολικά 540 αρσενικοί μύες τύπου C57BL/6 μολύνθηκαν με τρία γενετικά διαφορετικά στελέχη KPC, ευαίσθητα στην τιγκεκυκλίνη με ελάχιστες ανασταλτικές συγκεντρώσεις της μεροπενέμης 4, 16 και 256 mg/L αντιστοίχως. Οι μύες έλαβαν θεραπεία τυχαία με WFI (water for injection), τιγκεκυκλίνη και συνδυασμούς μεροπενέμης, κολιμυκίνης με/χωρίς μεροπενέμη και κολιμυκίνη. Η επιβίωση καταγράφηκε για 14 ημέρες. Σε ξεχωριστά πειράματα, μύες θυσιάστηκαν σε 6 και 24 ώρες μετά την βακτηριακή έγχυση για ποσοτικές καλλιέργειες ιστών και για ορολογικές αναλύσεις. Καμπύλες χρόνου-θανάτου πραγματοποιήθηκαν. Οι συγκεντρώσεις της τιγκεκυκλίνης, της κολιμυκίνης και της μεροπενέμης μετρήθηκαν στους ιστούς και στον ορό με σύστημα HPLC.

Αποτελέσματα Η επιβίωση παρατάθηκε σημαντικά στους μύες που χορηγήθηκαν τιγκεκυκλίνη ως μονοθεραπεία και σχήματα που περιελάμβαναν τιγκεκυκλίνη σε σύγκριση με τους μάρτυρες και τους μύς που έλαβαν σχήματα που δεν περιελάμβαναν τιγκεκυκλίνη. Τα σχήματα χωρίς τιγκεκυκλίνη ήταν δραστικά μόνο κατά των στελεχών με MIC της μεροπενέμης 4 mg/ml. Η θνητότητα σχετίστηκε με εξέλιξη προς πολυοργανική ανεπάρκεια. Μονοθεραπεία με τιγκεκυκλίνη και τα σχήματα που περιλαμβάνουν τιγκεκυκλίνη πέτυχαν ταχεία μείωση του βακτηριακού φορτίου στους ιστούς και *in vitro*. Οι συγκεντρώσεις της τιγκεκυκλίνης στους ιστούς είχε αρνητική συσχέτιση με το βακτηριακό φορτίο στους ιστούς.

Συμπέρασμα Η τιγκεκυκλίνη ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με μεροπενέμη ή κολιμυκίνη επιτυγχάνει αποτελεσματική θεραπεία των πειραματικών λοιμώξεων από KPC, ανεξάρτητα από το επίπεδο της MIC της μεροπενέμης.

ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Background Although in vitro data suggests tigecycline to be active against carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* (KPC) experimental and clinical data are limited. We studied the effect of tigecycline single or in combination for experimental infections by KPC.

Methods A total of 540 male C57BL/6 mice were infected with three genetically diverse KPC isolates susceptible to tigecycline with minimum inhibitory concentrations of meropenem of 4, 16 and 256 mg/L respectively. Mice were randomly treated with water for injection, tigecycline, and combinations of meropenem, colistin with/without meropenem and colistin. Survival was recorded for 14 days; in separate experiments mice were sacrificed six and 24 hours after bacterial challenge for quantitative cultures of tissues and serological analysis. Time-kill curves were performed. Tigecycline, colistin and meropenem concentrations were measured in tissues and serum by HPLC.

Results Survival was significantly prolonged when mice were treated with single tigecycline and tigecycline-containing regimens as compared to controls and tigecycline-sparing regimens. Tigecycline-sparing regimens were active only against the isolate with MIC of meropenem of 4 µg/ml. Mortality was associated with progression into multiple organ failure. Tigecycline and tigecycline-containing regimens achieved rapid decrease of bacterial loads both in tissues and in vitro. Tigecycline concentrations in tissues were negatively correlated with tissue load.

Conclusion Tigecycline single or in combination with meropenem or colistin achieves effective treatment of experimental KPC infections irrespective of the level of MIC of meropenem.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Thaden JT, Pogue JM, Kaye KS. Role of newer and re-emerging older agents in the treatment of infections caused by carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Virulence*. 2016:1-14.
2. Neuner EA, Gallagher JC. Pharmacodynamic and pharmacokinetic considerations in the treatment of critically ill patients infected with carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Virulence*. 2016:1-13.
3. Zarkotou O, Pournaras S, Tselioti P, Dragoumanos V, Pitiriga V, Ranellou K, et al. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* and impact of appropriate antimicrobial treatment. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17(12):1798-803.
4. Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis*. 2009;9(4):228-36.
5. Bogdanovich T, Adams-Haduch JM, Tian GB, Nguyen MH, Kwak EJ, Muto CA, et al. Colistin-resistant, *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing *Klebsiella pneumoniae* belonging to the international epidemic clone ST258. *Clin Infect Dis*. 2011;53(4):373-6.
6. Duin Dv, Doi Y. Outbreak of colistin-resistant KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: Are we at the end of the road? *J Clin Microbiol*. 2015;53:3116-7.
7. Giani T, Arena F, Vaggelli G, Conte V, Chiarelli A, Henrici De Angelis L, et al. Large Nosocomial Outbreak of Colistin-Resistant, Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Traced to Clonal Expansion of an mgrB Deletion Mutant. *J Clin Microbiol*. 2015;53(10):3341-4.
8. Pournaras S, Vrioni G, Neou E, Dendrinou J, Dimitroulia E, Poulou A, et al. Activity of tigecycline alone and in combination with colistin and meropenem against *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing Enterobacteriaceae strains by time-kill assay. *Int J Antimicrob Agents*. 2011;37(3):244-7.
9. Tsala M, Vourli S, Daikos GL, Tsakris A, Zerva L, Mouton JW, et al. Impact of bacterial load on pharmacodynamics and susceptibility breakpoints for tigecycline and *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*. 2017;72(1):172-80.

10. Fernandes P, Martens E. Antibiotics in late clinical development. *Biochem Pharmacol*. 2016.
11. Doan TL, Fung HB, Mehta D, Riska PF. Tigecycline: a glycycline antimicrobial agent. *Clin Ther*. 2006;28(8):1079-106.
12. Olson MW, Ruzin A, Feyfant E, Rush TS, 3rd, O'Connell J, Bradford PA. Functional, biophysical, and structural bases for antibacterial activity of tigecycline. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50(6):2156-66.
13. Anthony KB, Fishman NO, Linkin DR, Gasink LB, Edelstein PH, Lautenbach E. Clinical and microbiological outcomes of serious infections with multidrug-resistant gram-negative organisms treated with tigecycline. *Clin Infect Dis*. 2008;46(4):567-70.
14. Gostelow M, Gonzalez D, Smith PB, Cohen-Wolkowicz M. Pharmacokinetics and safety of recently approved drugs used to treat methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in infants, children, and adults. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2014;7(3):327-40.
15. Greer ND. Tigecycline (Tygacil): the first in the glycycline class of antibiotics. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*. 2006;19:155-61.
16. Marco F, Dowzicky MJ. Antimicrobial susceptibility among important pathogens collected as part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (T.E.S.T.) in Spain, 2004-2014. *J Glob Antimicrob Resist*. 2016;6:50-6.
17. Giammanco A, Calà C, Fasciana T, Dowzicky MJ. Global Assessment of the Activity of Tigecycline against multidrug-resistant gram-negative pathogens between 2004 and 2014 as part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial. *mSphere*. 2017;2(1):e00310-16.
18. De Rosa FG, Corcione S, Di Perri G, Scaglione F. Re-defining tigecycline therapy. *New Microbiol*. 2015;38(2):121-36.
19. Pournaras S, Koumaki V, Spanakis N, Gennimata V, Tsakris A. Current perspectives on tigecycline resistance in Enterobacteriaceae: susceptibility testing issues and mechanisms of resistance. *Int J Antimicrob Agents*. 2016;48(1):11-8.
20. Lin Y-T, Huang Y-W, Huang H-H, Yang T-C, Wang F-D, Fung C-P. In vivo evolution of tigecycline-non-susceptible *Klebsiella pneumoniae* strains in patients: relationship between virulence and resistance. *Int J Antimicrob Agents*. 2016;48:485-91.

21. Tsai HY, Liao CH, Cheng A, Liu CY, Huang YT, Sheng WH, et al. Emergence of tigecycline-resistant *Klebsiella pneumoniae* after tigecycline therapy for complicated urinary tract infection caused by carbapenem-resistant *Escherichia coli*. *J Infect*. 2012;65(6):584-6.
22. Muralidharan G, Micalizzi M, Speth J, Raible D, Troy S. Pharmacokinetics of tigecycline after single and multiple doses in healthy subjects. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(1):220-9.
23. Rodvold KA, Gotfried MH, Cwik M, Korth-Bradley JM, Dukart G, Ellis-Grosse EJ. Serum, tissue and body fluid concentrations of tigecycline after a single 100 mg dose. *J Antimicrob Chemother*. 2006;58:1221-9.
24. Hoffmann M, DeMaio W, Jordan RA, Talaat R, Harper D, Speth J, et al. Metabolism, excretion, and pharmacokinetics of [14C]tigecycline, a first-in-class glycylicycline antibiotic, after intravenous infusion to healthy male subjects. *Drug Metab Dispos*. 2007;35(9):1543-53.
25. Estes KS, Derendorf H. Comparison of the pharmacokinetic properties of vancomycin, linezolid, tigecyclin, and daptomycin. *Eur J Med Res*. 2010;15(12):533-43.
26. Slover CM, Rodvold KA, Danziger LH. Tigecycline: a novel broad-spectrum antimicrobial. *Ann Pharmacother*. 2007;41(6):965-72.
27. Falagas ME, Vardakas KZ, Tsiveriotis KP, Triarides NA, Tansarli GS. Effectiveness and safety of high-dose tigecycline-containing regimens for the treatment of severe bacterial infections. *Int J Antimicrob Agents*. 2014;44(1):1-7.
28. Pascale GD, Montini L, Pennisi MA, Bernini V, Maviglia R, Bello G, et al. High dose tigecycline in critically ill patients with severe infections due to multidrug-resistant bacteria. *Crit Care*. 2014;18:R90.
29. Xie J, Wang T, Sun J, Chen S, Cai J, Zhang W, et al. Optimal tigecycline dosage regimen is urgently needed: results from a pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis of tigecycline by Monte Carlo simulation. *Int J Infect Dis*. 2014;18:62-7.
30. Shen F, Han Q, Xie D, Fang M, Zeng H, Deng Y. Efficacy and safety of tigecycline for the treatment of severe infectious diseases: an updated meta-analysis of RCTs. *Int J Infect Dis*. 2015;39:25-33.

31. Renteria MI, Biedenbach DJ, Bouchillon SK, Hoban DJ, Raghubir N, Sajben P, et al. In vitro activity of tigecycline against isolates collected from complicated skin and skin structure infections and intra-abdominal infections in Africa and Middle East countries: TEST 2007-2012. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2014;79(1):54-9.
32. Grolman DC. Therapeutic applications of tigecycline in the management of complicated skin and skin structure infections. *Int J Infect Dis.* 2007;11 Suppl 1:S7-15.
33. Matthews P, Alpert M, Rahav G, Rill D, Zito E, Gardiner D, et al. A randomized trial of tigecycline versus ampicillin-sulbactam or amoxicillin-clavulanate for the treatment of complicated skin and skin structure infections. *BMC Infect Dis.* 2012;12:297.
34. Montravers P, Bassetti M, Dupont H, Eckmann C, Heizmann WR, Guirao X, et al. Efficacy of tigecycline for the treatment of complicated skin and soft-tissue infections in real-life clinical practice from five European observational studies. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68 Suppl 2:ii15-24.
35. Chen Z, Wu J, Zhang Y, Wei J, Leng X, Bi J, et al. Efficacy and safety of tigecycline monotherapy vs. imipenem/cilastatin in Chinese patients with complicated intra-abdominal infections: a randomized controlled trial. *BMC Infect Dis.* 2010;10:217.
36. Towfigh S, Pasternak J, Poirier A, Leister H, Babinchak T. A multicentre, open-label, randomized comparative study of tigecycline versus ceftriaxone sodium plus metronidazole for the treatment of hospitalized subjects with complicated intra-abdominal infections. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16(8):1274-81.
37. Maseda E, Denis SE, Riquelme A, Gilsanz F. Use of tigecycline in critically ill patients with serious nosocomial intra-abdominal infections. *Rev Esp Quimioter.* 2013;26(1):56-63.
38. Maseda E, Rica ASr-d-l-, Anillo Vc, Salgado P, Tamayo E, García-Bernedo CA, et al. A practice-based observational study identifying factors associated with the use of high-dose tigecycline in the treatment of secondary peritonitis in severely ill patients. *Rev Esp Quimioter.* 2015;28(1):47-53.
39. Eckmann C, Montravers P, Bassetti M, Bodmann KF, Heizmann WR, Sanchez Garcia M, et al. Efficacy of tigecycline for the treatment of complicated

intra-abdominal infections in real-life clinical practice from five European observational studies. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68 Suppl 2:ii25-35.

40. Solomkin J, Mullins CD, Quintana A, Eckmann C, Shelbaya A, Ernst FR, et al. Evaluation of tigecycline efficacy and post-discharge outcomes in a clinical practice population with complicated intra-abdominal infection:

A propensity score–matched analysis. *Surg Infect.* 2016;17:402-11.

41. Tanaseanu C, Bergallo C, Teglia O, Jasovich A, Oliva ME, Dukart G, et al. Integrated results of 2 phase 3 studies comparing tigecycline and levofloxacin in community-acquired pneumonia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008;61(3):329-38.

42. Freire AT, Melnyk V, Kim MJ, Datsenko O, Dzyublik O, Glumcher F, et al. Comparison of tigecycline with imipenem/cilastatin for the treatment of hospital-acquired pneumonia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2010;68(2):140-51.

43. Ramirez J, Dartois N, Gandjini H, Yan JL, Korth-Bradley J, McGovern PC. Randomized phase 2 trial to evaluate the clinical efficacy of two high-dosage tigecycline regimens versus imipenem-cilastatin for treatment of hospital-acquired pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(4):1756-62.

44. Wu X, Zhu Y, Chen Q, Gong L, Lin J, Lv D, et al. Tigecycline therapy for nosocomial pneumonia due to carbapenem-resistant gram-negative bacteria in critically ill patients who received inappropriate initial antibiotic treatment: A retrospective case study. *Biomed Res Int.* 2016;2016:8395268.

45. Gardiner D, Dukart G, Cooper A, Babinchak T. Safety and efficacy of intravenous tigecycline in subjects with secondary bacteremia: pooled results from 8 phase III clinical trials. *Clin Infect Dis.* 2010;50(2):229-38.

46. Morelli L, Tartaglia D, Furbetta N, Palmeri M, Ferranti S, Tagliaferri E, et al. Long-term, low-dose tigecycline to treat relapsing bloodstream infection due to KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* after major hepatic surgery. *Int J Infect Dis.* 2015;36:4–5.

47. Bulik CC, Wiskirchen DE, Shepard A, Sutherland CA, Kuti JL, Nicolau DP. Tissue penetration and pharmacokinetics of tigecycline in diabetic patients with chronic wound infections described by using In vivo microdialysis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:5209–13.

48. Lauf L, Ozsvár Zf, Mitha I, Regöly-Mérei J, Embil JM, Cooper A, et al. Phase 3 study comparing tigecycline and ertapenem in patients with diabetic foot infections with and without osteomyelitis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2014;78:469–80.
49. Chaari A, Mnif B, Chtara K, Abid L, Charfeddine S, Baccouche N, et al. Efficacy of tigecycline-colistin combination in the treatment of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* endocarditis. *J Glob Antimicrob Resist*. 2015;3(3):214-6.
50. Kooli I, Brahim HB, Kilani M, Gannouni C, Aouam A, Toumi A, et al. Successful treatment of postoperative multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* meningitis by tigecycline. *J Glob Antimicrob Resist*. 2016;5:62-3.
51. Jaspan HB, Brothers AW, Campbell AJ, McGuire JK, Browd SR, Manley TJ, et al. Multidrug-resistant *Enterococcus faecium* meningitis in a toddler: characterization of the organism and successful treatment with intraventricular daptomycin and intravenous tigecycline. *Pediatr Infect Dis J*. 2010;29(4):379-81.
52. Dinleyici EC, Yargic ZA, Bor O, Kiremitci A, Durmaz G. Tigecycline treatment of multi-drug-resistant *Corynebacterium jeikeium* infection in a child with relapsing and refractory acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2010;55(2):349-51.
53. Schwab KS, Hahn-Ast C, Heinz WJ, Germing U, Egerer G, Glasmacher A, et al. Tigecycline in febrile neutropenic patients with haematological malignancies: a retrospective case documentation in four university hospitals. *Infection*. 2014;42(1):97-104.
54. Xu Z, Yan Y, Li Z, Qian L, Gong Z. The Antibiotic Drug Tigecycline: A Focus on its Promising Anticancer Properties. *Front Pharmacol*. 2016;7:473.
55. Heizmann WR, Löschmann PA, Eckmann C, Eiff Cv, Bodmann KF, Petrik C. Clinical efficacy of tigecycline used as monotherapy or in combination regimens for complicated infections with documented involvement of multiresistant bacteria. *Infection* 2015;43:37-43.
56. Bassetti M, Eckmann C, Bodmann KF, Dupont H, Heizmann WR, Montravers P, et al. Prescription behaviours for tigecycline in real-life clinical practice from five European observational studies. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68 Suppl 2:ii5-14.

57. Bassetti M, McGovern PC, Wenisch C, Meyer RD, Yan JL, Wible M, et al. Clinical response and mortality in tigecycline complicated intra-abdominal infection and complicated skin and soft-tissue infection trials. *Int J Antimicrob Agents*. 2015;46:346-50.
58. Tasina E, Haidich AB, Kokkali S, Arvanitidou M. Efficacy and safety of tigecycline for the treatment of infectious diseases: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2011;11(11):834-44.
59. Vardakas KZ, Rafailidis PI, Falagas ME. Effectiveness and safety of tigecycline: Focus on use for approved indications. *Clin Infect Dis*. 2012;54(11):1672-4.
60. Prasad P, Sun J, Danner RL, Natanson C. Excess deaths associated with tigecycline after approval based on noninferiority trials. *Clin Infect Dis*. 2012;54(12):1699-709.
61. Martin-Gandul C, Garcia-Cabrera E, Castillo-Ojeda E, Jimenez-Mejias ME. More about the safety of tigecycline for the treatment of infectious diseases: the role of superinfection rates. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67(4):1048-9.
62. McGovern PC, Wible M, El-Tahtawy A, Biswas P, Meyer RD. All-cause mortality imbalance in the tigecycline phase 3 and 4 clinical trials. *Int J Antimicrob Agents*. 2013;41(5):463-7.
63. Guirao X, Sanchez Garcia M, Bassetti M, Bodmann KF, Dupont H, Montravers P, et al. Safety and tolerability of tigecycline for the treatment of complicated skin and soft-tissue and intra-abdominal infections: an analysis based on five European observational studies. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68 Suppl 2:ii37-44.
64. Dixit D, Madduri RP, Sharma R. The role of tigecycline in the treatment of infections in light of the new black box warning. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2014;12(4):397-400.
65. Stein GE, Craig WA. Tigecycline: a critical analysis. *Clin Infect Dis*. 2006;43(4):518-24.
66. Stein GE, Babinchak T. Tigecycline: an update. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013;75(4):331-6.

67. Shao QQ, Qin L, Ruan GR, Chen RX, Luan ZJ, Ma XJ. Tigecycline-induced Drug Fever and Leukemoid Reaction: A Case Report. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(45):e1869.
68. Gilson M, Moachon L, Jeanne L, Dumaine V, Eyrolle L, Morand P, et al. Acute pancreatitis related to tigecycline: case report and review of the literature. *Scand J Infect Dis*. 2008;40(8):681-3.
69. Mascarello M, Papa G, Arnez ZM, Luzzati R. Acute necrotizing pancreatitis related to tigecycline. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67(5):1296-7.
70. McGovern PC, Wible M, Korth-Bradley JM, Quintana A. Pancreatitis in tigecycline Phase 3 and 4 clinical studies. *J Antimicrob Chemother*. 2014;69(3):773-8.
71. Hemphill MT, Jones KR. Tigecycline-induced acute pancreatitis in a cystic fibrosis patient: A case report and literature review. *J Cyst Fibros*. 2016;15(1):e9-11.
72. Occhionorelli S, Morganti L, Cultrera R, Andreotti D, Maccatrozzo S, Cappellari L, et al. Acute necrotizing pancreatitis: can tigecycline be included in a therapeutic strategy? *G Chir*. 2015;36:15-20.
73. Gupta N, Limbago BM, Patel JB, Kallen AJ. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: epidemiology and prevention. *Clin Infect Dis*. 2011;53(1):60-7.
74. Steinmann J, Kaase M, Gatermann S, Popp W, Steinmann E, Damman M, et al. Outbreak due to a *Klebsiella pneumoniae* strain harbouring KPC-2 and VIM-1 in a German university hospital, July 2010 to January 2011. *Euro Surveill*. 2011;16: pii19944.
75. Gregory CJ, Llata E, Stine N, Gould C, Santiago LM, Vazquez GJ, et al. Outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Puerto Rico associated with a novel carbapenemase varian. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010;31:476-84.
76. Souli M, Galani I, Antoniadou A, Papadomichelakis E, Poulakou G, Panagea T, et al. An outbreak of unfection due to b-Lactamase *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase 2–Producing *K. pneumoniae* in a greek university hospital: Molecular characterization, epidemiology, and outcomes. *Clin Infect Dis*. 2010;50:364-73.

77. Patel N, Harrington S, Dihmess A, Woo B, Masoud R, Martis P, et al. Clinical epidemiology of carbapenem-intermediate or -resistant Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66(7):1600-8.
78. Adler A, Navon-Venezia S, Moran-Gilad J, Marcos E, Schwartz D, Carmeli Y. Laboratory and clinical evaluation of screening agar plates for detection of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae from surveillance rectal swabs. *J Clin Microbiol.* 2011;49(6):2239-42.
79. Cannatelli A, D'Andrea MM, Giani T, Di Pilato V, Arena F, Ambretti S, et al. In vivo emergence of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-type carbapenemases mediated by insertional inactivation of the PhoQ/PhoP mgrB regulator. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(11):5521-6.
80. Capone A, Giannella M, Fortini D, Giordano A, Meledandri M, Ballardini M, et al. High rate of colistin resistance among patients with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection accounts for an excess of mortality. *Clin Microbiol Infect.* 2013;19:E23-E30.
81. Daikos GL, Tsaousi S, Tzouveleki LS, Anyfantis I, Psychogiou M, Argyropoulou A, et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: lowering mortality by antibiotic combination schemes and the role of carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(4):2322-8.
82. Qureshi ZA, Paterson DL, Potoski BA, Kilayko MC, Sandovsky G, Sordillo E, et al. Treatment Outcome of Bacteremia Due to KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae*: Superiority of Combination Antimicrobial Regimens. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:2108-13.
83. Tumbarello M, Viale P, Viscoli C, Treccarichi EM, Tumietto F, Marchese A, 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):943-50.
84. Tzepi IM, Giamarellos-Bourboulis EJ, Carrer DP, Tsaganos T, Claus RA, Vaki I, et al. Angiopoietin-2 enhances survival in experimental sepsis induced by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Pharmacol Exp Ther.* 2012;343(2):278-87.

85. Koomanachai P, Crandon JL, Banevicius MA, Peng L, Nicolau DP. Pharmacodynamic profile of tigecycline against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an experimental pneumonia model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(12):5060-3.
86. Koomanachai P, Kim A, Nicolau DP. Pharmacodynamic evaluation of tigecycline against *Acinetobacter baumannii* in a murine pneumonia model. *J Antimicrob Chemother.* 2009;63:982-7.
87. Docobo-Pérez F, Nordmann P, Domínguez-Herrera J, López-Rojas R, Smani Y, Poirel L, et al. Efficacies of colistin and tigecycline in mice with experimental pneumonia due to NDM-1-producing strains of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *Int J Antimicrob Agents.* 2021;39:251-4.
88. Louie A, Liu W, Fikes S, Brown D, Drusano GL. Impact of meropenem in combination with tobramycin in a murine model of *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(6):2788-92.
89. Hilliard JJ, Melton JL, Hall L, Abbanat D, Fernandez J, Ward CK, et al. Comparative effects of carbapenems on bacterial load and host immune response in a *Klebsiella pneumoniae* murine pneumonia model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011; 55: 836-44.
90. Dudhani RV, Turnidge JD, Coulthard K, Milne RW, Rayner CR, Li J, 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: 1117-24.
91. 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: 1984-90.
92. Bergogne-Bérézin E, Muller-Serieys C, Aubier M, Dombret MC. Concentration of meropenem in serum and in bronchial secretions in patients undergoing fiberoptic bronchoscopy. *Eur J Clin Pharmacol.* 1994;46:87-8.
93. Pacheco T, Bustos RH, Diana González D, Garzón V, García JC, Ramírez D. An approach to measuring colistin plasma levels regarding the treatment of multidrug-resistant bacterial infection. *Antibiotics (Basel).* 2019;8:100.

94. Michail G, Labrou M, Pitiriga V, Manousaka S, Sakellaridis N, Tsakris A, et al. Activity of Tigecycline in combination with Colistin, Meropenem, Rifampin, or Gentamicin against KPC-producing Enterobacteriaceae in a murine thigh infection model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(12):6028-33.
95. Franklin GA, Scott MJ, Patel M, Peyton JC, Cheadle JC. A novel model of pneumonia from intraperitoneal injection of bacteria. *Am J Surg.* 2003;186:493-9.
96. Fung YP, Chang FY, Lin JC, Ho DMT, Chen CT, Chen JH, et al. Immune response and pathophysiological features of *Klebsiella pneumoniae* liver abscesses in an animal model. *Lab Invest.* 2011;91:1029-39.
97. Bansal S, Harjai K, Chhibber S. Depolymerase improves gentamicin efficacy during *Klebsiella pneumoniae* induced murine infection. *BMC Infect Dis.* 2014;14:456.
98. Skurnik D, Roux D, Pons S, Guillard T, Lu X, Cywes-Bentley C, et al. Extended-spectrum antibodies protective against carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71:927-35.