



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ

Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΣΤΟ ΧΡΟΝΟ IN VITRO ΚΑΙ IN VIVO ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ

ΑΣΗΜΙΝΑ ΣΑΦΑΡΙΚΑ
ΑΚΑΔΗΜΑΪΚΗ ΥΠΟΤΡΟΦΟΣ

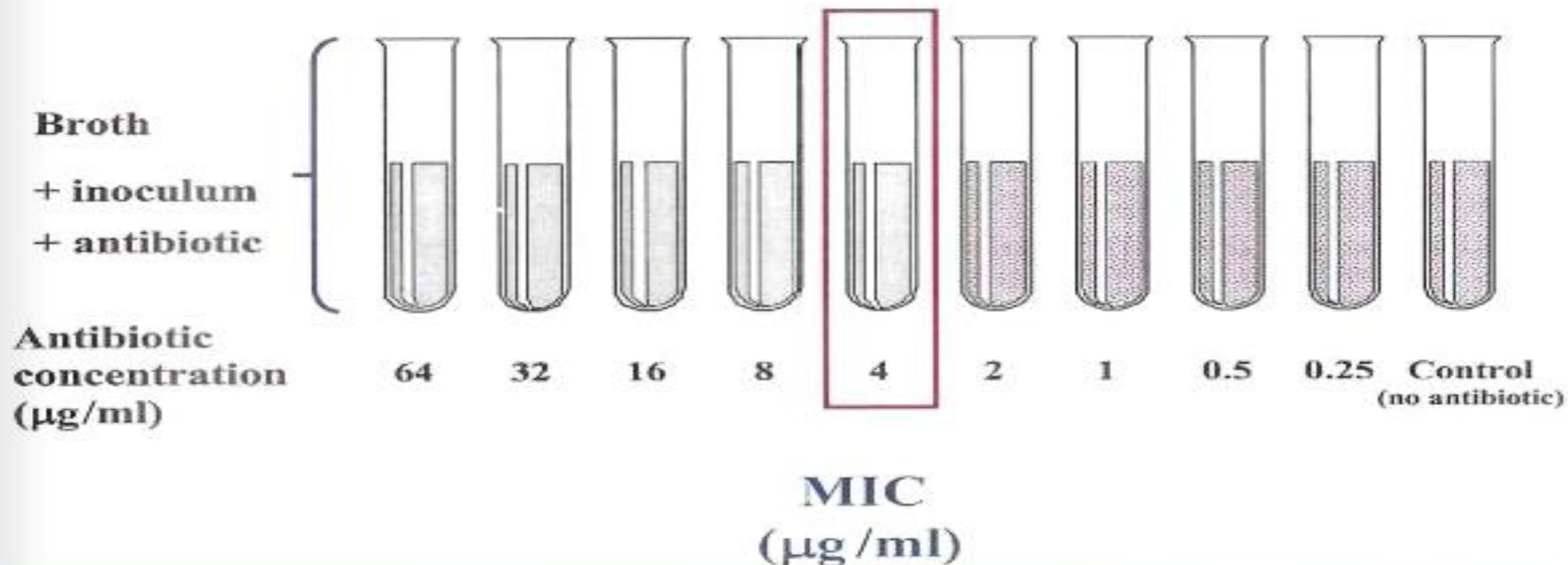
Δ΄ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΑΤΤΙΚΟΝ

MIC ΚΑΙ MBC

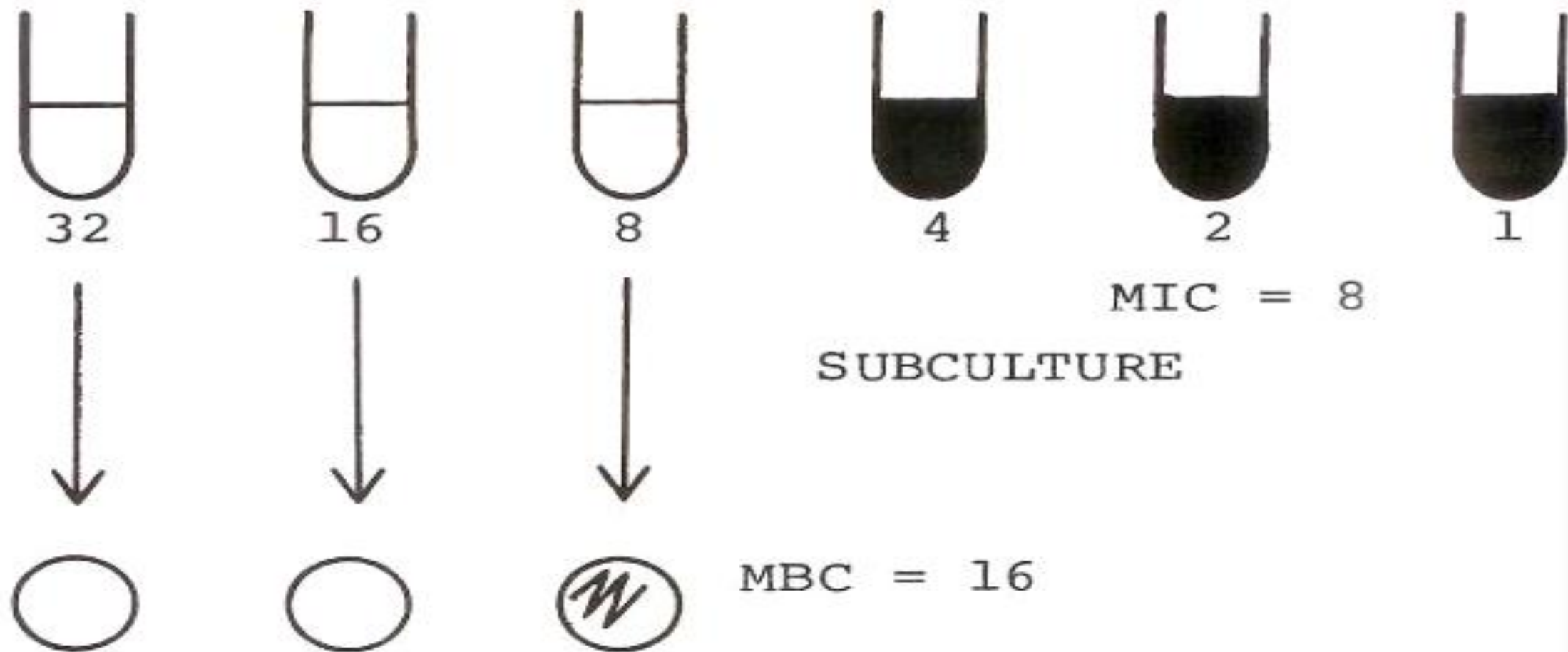
- **ΕΛΑΧΙΣΤΗ ΑΝΑΣΤΑΛΤΙΚΗ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ(MIC):** Η μικρότερη πυκνότητα του αντιμικροβιακού που αναστέλλει την ανάπτυξη του μικροβίου στα θρεπτικά υλικά
- **ΕΛΑΧΙΣΤΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΚΤΟΝΟΣ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ(MBC):** Η μικρότερη πυκνότητα του αντιμικροβιακού που θανατώνει το μικρόβιο.

MIC

MIC – the lowest concentration of antibiotic that inhibits bacterial growth



MIC - MBC



MIC ΚΑΙ MBC

ΔΕΝ ΜΑΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΟΥΝ ΓΙΑ:

- ΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΟΥ ΣΤΟΝ ΧΡΟΝΟ
- ΤΟΝ ΡΥΘΜΟ ΘΑΝΑΤΩΣΗΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΒΙΩΝ ΚΑΙ ΑΝ ΑΥΞΑΝΕΤΑΙ ΣΕ ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΟΥ
- ΣΥΝΕΧΙΖΟΜΕΝΗ ΔΡΑΣΗ ΠΟΥ ΠΑΡΑΜΕΝΕΙ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΚΘΕΣΗ ΣΤΟ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΟ

TIME-KILLING CURVES

- Ιστορικά έχουν χρησιμοποιηθεί για αξιολόγηση νέων φαρμάκων
Μπορούν να ελέγξουν:
- Την εξαρτώμενη από τη συγκέντρωση και το χρόνο βακτηριοκτόνο δράση των αντιμικροβιακών παραγόντων.
- Την παρουσία ανθεκτικών μεταλλακτών, παράδοξης δράσης, αντοχής
- Την παρουσία συνέργειας μεταξύ δύο ή περισσότερων αντιμικροβιακών παραγόντων

TIME-KILLING CURVES

ΑΡΧΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

- Έλεγχος αποτελεσματικότητας του αντιμικροβιακού παράγοντα έναντι ενός συγκεκριμένου βακτηριακού στελέχους
- Μετράει αλλαγές στο χρόνο και αντιπροσωπεύει μια δυναμική εικόνα δράσης του αντιβιοτικού αλλά σπάνια χρησιμοποιείται για ρύθμιση της θεραπείας
- Ο αριθμός των επιζώντων βακτηρίων σε ορισμένη συγκέντρωση αντιβιοτικού

TIME-KILLING CURVES

- Εξ' αιτίας της επιλογής ανθεκτικών μεταλλακτών ή της εξασθένησης της δράσης του αντιμικροβιακού ο αριθμός των αποικιών μπορεί να αυξηθεί μετά την αρχική μείωση του αριθμού των μικροοργανισμών
- Μπορώ να απομονώσω τους επιζήσαντες μικροοργανισμούς και να καθορίσω την MIC τους
- Εάν έχει συμβεί εξασθένηση της αντιμικροβιακής δράσης θα αυξηθεί η MIC
- Αν έχω επιλογή ανθεκτικού υποπληθυσμού η MIC θα είναι πολλές φορές υψηλότερη από την MIC του αρχικού είδους

TIME-KILLING CURVES

- Ελέγχεται μόνο μία συγκέντρωση του αντιβιοτικού (ο μέσος όρος αυτής που επιτυγχάνεται στο αίμα). Κατά περιοδικά διαστήματα της επώασης και στους χρόνους 0,4,8,24 h με δειγματοληψία μετρώνται οι αποκίες (καμπύλη με τον αριθμό αποικιών στη τεταγμένη και το χρόνο στην τετμημένη)
- Σωληνάρια (10 ml MHB) που αντιστοιχούν στους χρόνους δειγματοληψίας (0,4,8,24h) και την επιλεγείσα συγκέντρωση αντιβιοτικού, εμβολιάζονται με 0,1 ml ενοφθαλμίσματος ώστε να έχω συγκέντρωση 1.5×10^6 cfu/ml

TIME-KILLING CURVES

- Στους αντίστοιχους χρόνους εμβολιάζονται 0,1 ml καλλιέργηματος σε λιωμένο άγαρ και παρασκευάζονται τρυβλία
- Χρησιμοποιείται και σωληνάριο και τρυβλίο χωρίς αντιβιοτικό (μάρτυρας ανάπτυξης του μικροβίου). Εναλλακτικά το παραπάνω καλλιέργημα επιστρώνεται σε τρυβλία με άγαρ
- Επώαση και αρίθμηση των επιζώντων στελεχών

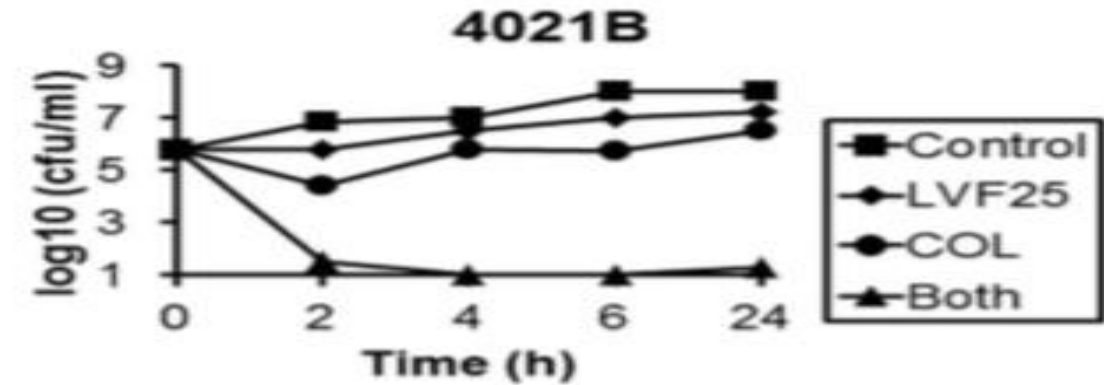
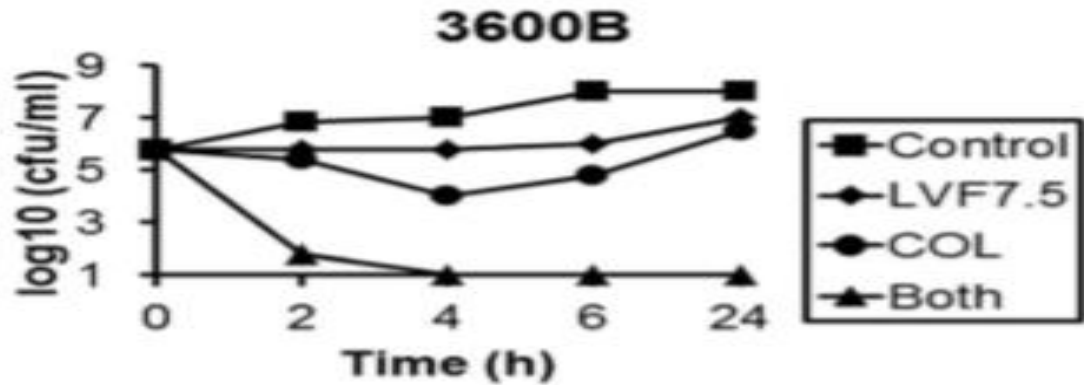
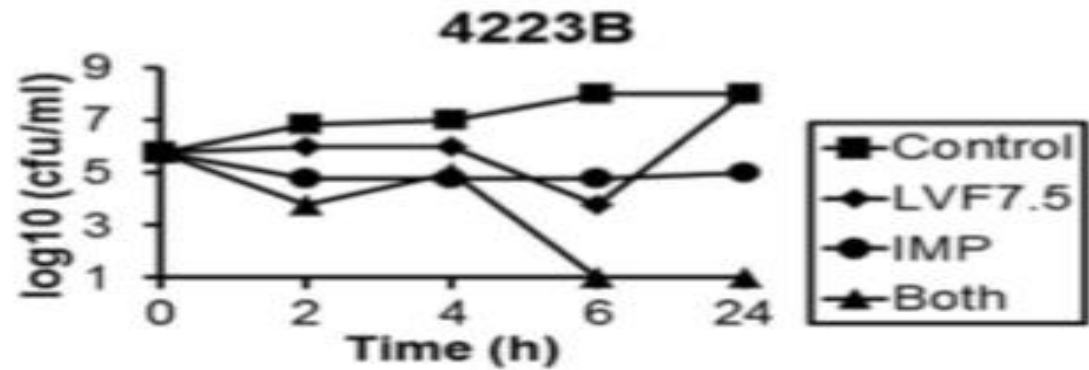
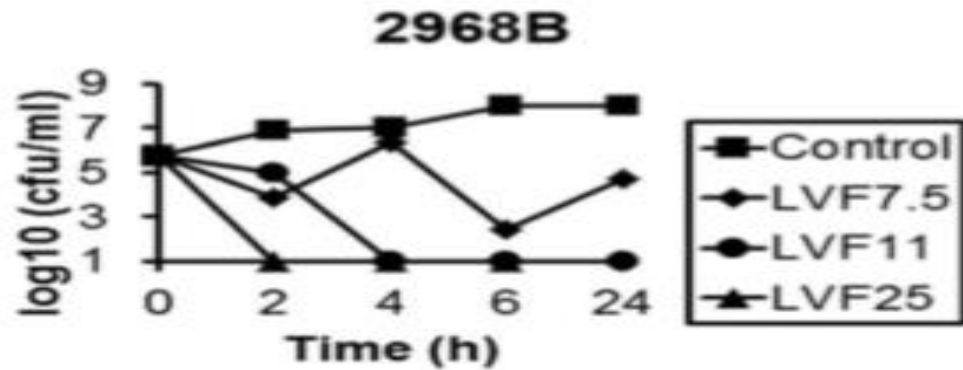
TIME-KILLING CURVES(ΕΛΕΓΧΟΣ ΣΥΝΕΡΓΕΙΑΣ)

- Σχεδιάζονται οι καμπύλες με κάθε αντιβιοτικό χωριστά και με το συνδυασμό
- Το βακτήριο εμβολιάζεται σε ζωμό χωρίς αντιβιοτικό, σε ζωμό που περιέχει κάθε αντιβιοτικό χωριστά και σε ζωμό που περιέχει το συνδυασμό των αντιβιοτικών
- Σε ορισμένα χρονικά διαστήματα γίνεται δειγματοληψία από κάθε καλλιέργεια, αραιώνεται και γίνεται α/α από όπου αριθμούνται τα ζώντα βακτήρια

TIME-KILLING CURVES

- **Βακτηριοκτόνος δράση**: Ορίζεται η μείωση του αρχικού ενοφθαλμίσματος κατά $3\log_{10}$
- **Συνέργεια** μεταξύ δύο ή περισσότερων αντιμικροβιακών : Η μείωση κατά $2\log_{10}$ της βακτηριακής ανάπτυξης συγκρινόμενης με το πιο δραστικό αντιμικροβιακό.
- **Ανταγωνιστική δράση** μεταξύ δύο ή περισσότερων αντιμικροβιακών : Η αύξηση κατά $2\log_{10}$ της βακτηριακής ανάπτυξης συγκρινόμενης με το πιο δραστικό αντιμικροβιακό.

TIME-KILLING CURVES

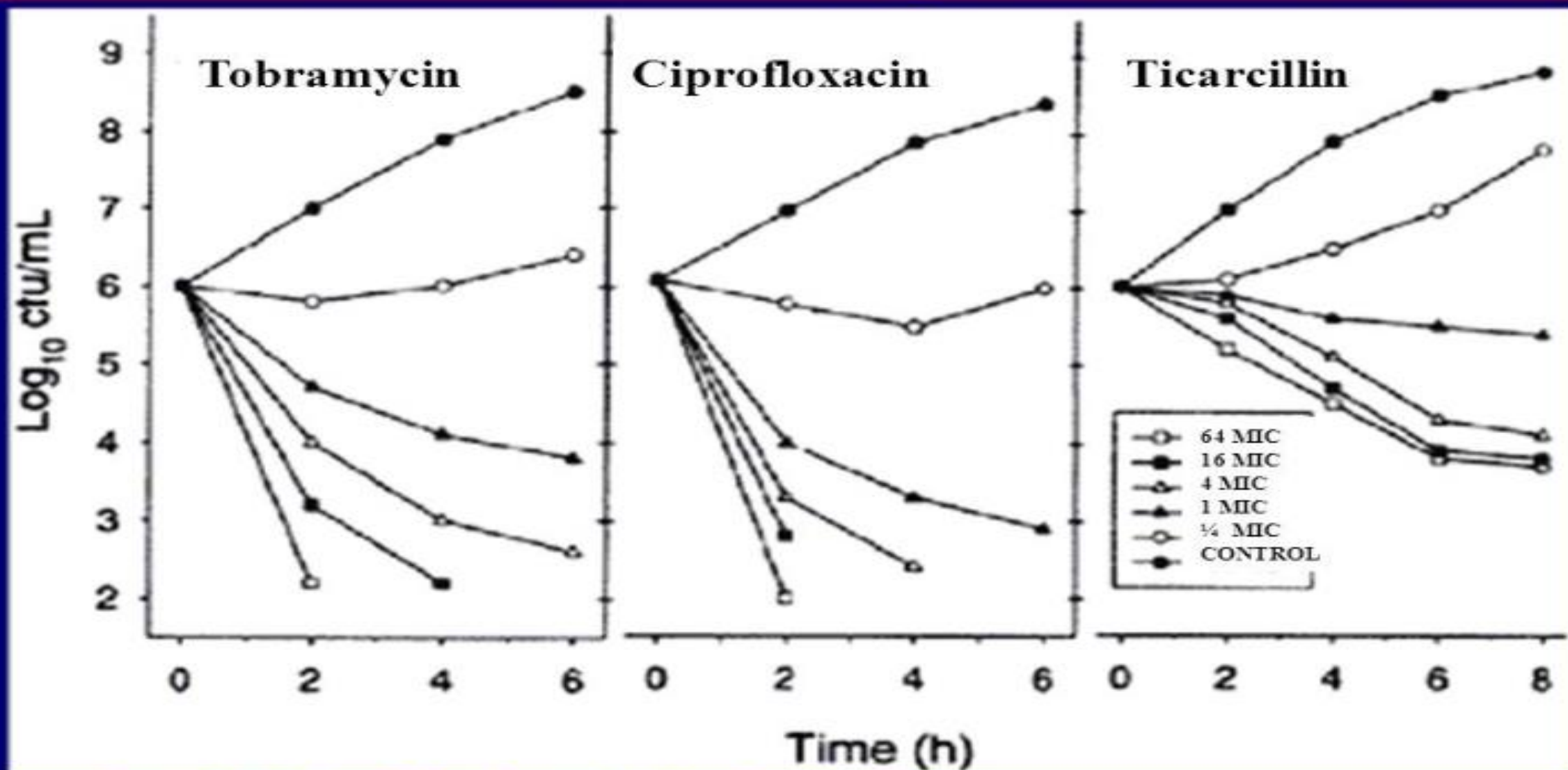


Representative time-kill curves on four isolates of *P. aeruginosa*.

COL colistin, IMP imipenem, LVF7.5 levofloxacin 7.5 µg/ml

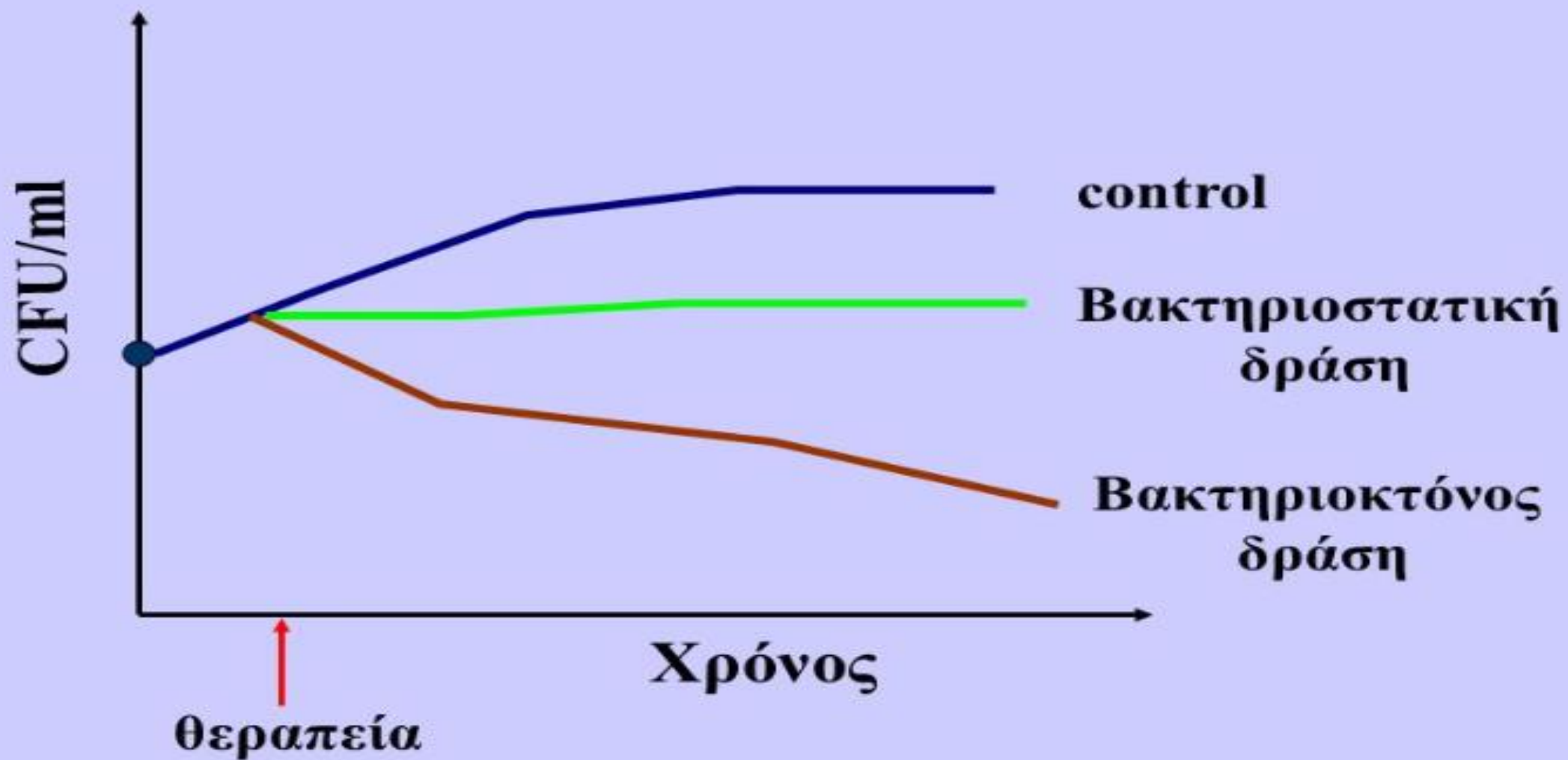
LVF11 levofloxacin 11 µg/ml, LVF25 levofloxacin 25 µg/ml

Time-kill Curves For *P. aeruginosa* ATCC 27853



Scand J Infect Dis Suppl. 1991;74:63-70.

Time kill curves



IN VITRO ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ

- Η συγκέντρωση του αντιβιοτικού παραμένει σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια της δοκιμασίας και σε μη συνδεδεμένη μορφή.
- Προσδιορισμός της δραστηριότητας σε συγκεκριμένο χρονικό διάστημα μετά την έναρξη της επώασης.(Δείχνουν τι συμβαίνει σε μια συγκεκριμένη χρονική στιγμή)
- Διαφορετική η φύση του θρεπτικού υλικού σε σχέση με τους ιστούς (δεν περιέχει πρωτεΐνες,ΡΗ:7.2)
- Μικροβιακό φορτίο 10^5 cfu/ml, εκθετική-μη στατική –φάση ανάπτυξης
- Παρουσία ανθεκτικών υποπληθυσμών στην καλλιέργεια του παθογόνου που ενώ φαίνονται ευαίσθητοι ,κατά τη διάρκεια της θεραπείας αναπτύσσουν αντοχή που δεν είχε προσδιοριστεί εργαστηριακά.

ΑΡΧΕΣ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ-ΣΤΟΧΟΙ

- Το καλύτερο διαθέσιμο για την κάθε περίπτωση αντιμικροβιακό(ανάλογα με την εστία της λοίμωξης, το παθογόνο και την παθοφυσιολογία του ασθενούς), στη σωστή δόση και διάρκεια θεραπείας, με μειωμένη επίπτωση ανεπιθύμητων ενεργειών και τοξικότητας.
- Αποφυγή επικράτησης ανθεκτικών στελεχών μικροβίων
- Μείωση της επικρατούσης αντοχής
- Η «ιδανική» προσφορά υπηρεσιών υγείας με λογικό κόστος.

ΕΠΙΛΟΓΗ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΟΥ

- Αντιμικροβιακό φάσμα
- Φαρμακοκινητικές ιδιότητες
- Φαρμακοδυναμική
- Τοξικότητα και ανεπιθύμητες ενέργειες
- Αλληλοεπιδράσεις
- Δοσολογικά σχήματα
- Διάρκεια χορηγήσεως
- Την δυνατότητα μείωσης της αντοχής ή πρόληψης της ανάπτυξης αντοχής
- Ενδείξεις χορηγήσεως

Φαρμακοκινητική:

– Η χρονική εξέλιξη των ποσοτικών και ποιοτικών μεταβολών των φαρμάκων στον οργανισμό

- Απορρόφηση
- Κατανομή
- Μεταβολισμός
- Απομάκρυνση

ΤΙ ΚΑΝΕΙ Ο ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ ΣΤΟ ΦΑΡΜΑΚΟ

Φαρμακοδυναμική:

– Η μελέτη της σχέσης ανάμεσα στη δόση/συγκέντρωση ενός φαρμάκου και τη φαρμακολογική, τοξικολογική ή κλινική απάντηση του οργανισμού, δηλαδή περιγράφει την αντιμικροβιακή δράση στη εστία της λοίμωξης

ΤΙ ΚΑΝΕΙ ΤΟ ΦΑΡΜΑΚΟ ΜΕΣΑ ΣΤΟΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ



ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ (PK)

Οι φαρμακοκινητικές ιδιότητες καθορίζουν

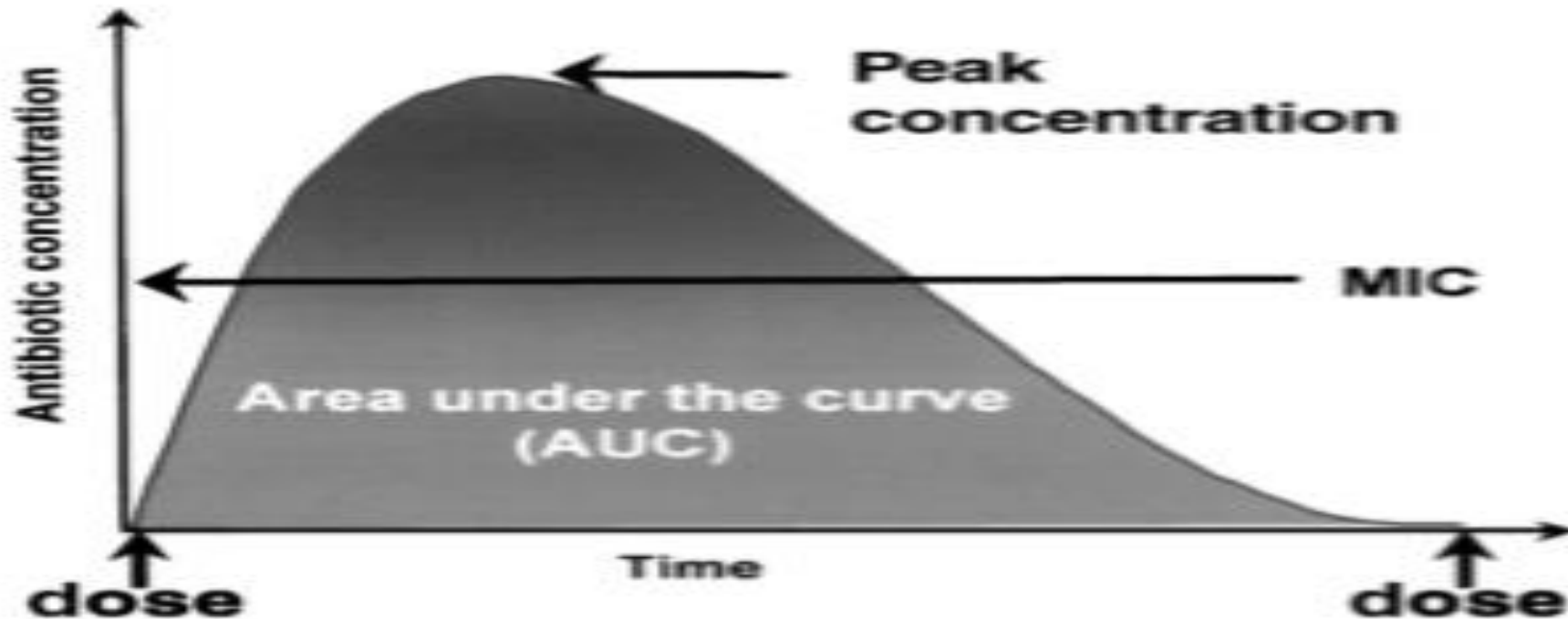
- την κατάλληλη δόση και
- την καλύτερη οδό χορήγησης του φαρμάκου

ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ-ΔΟΣΟΛΟΓΙΑ

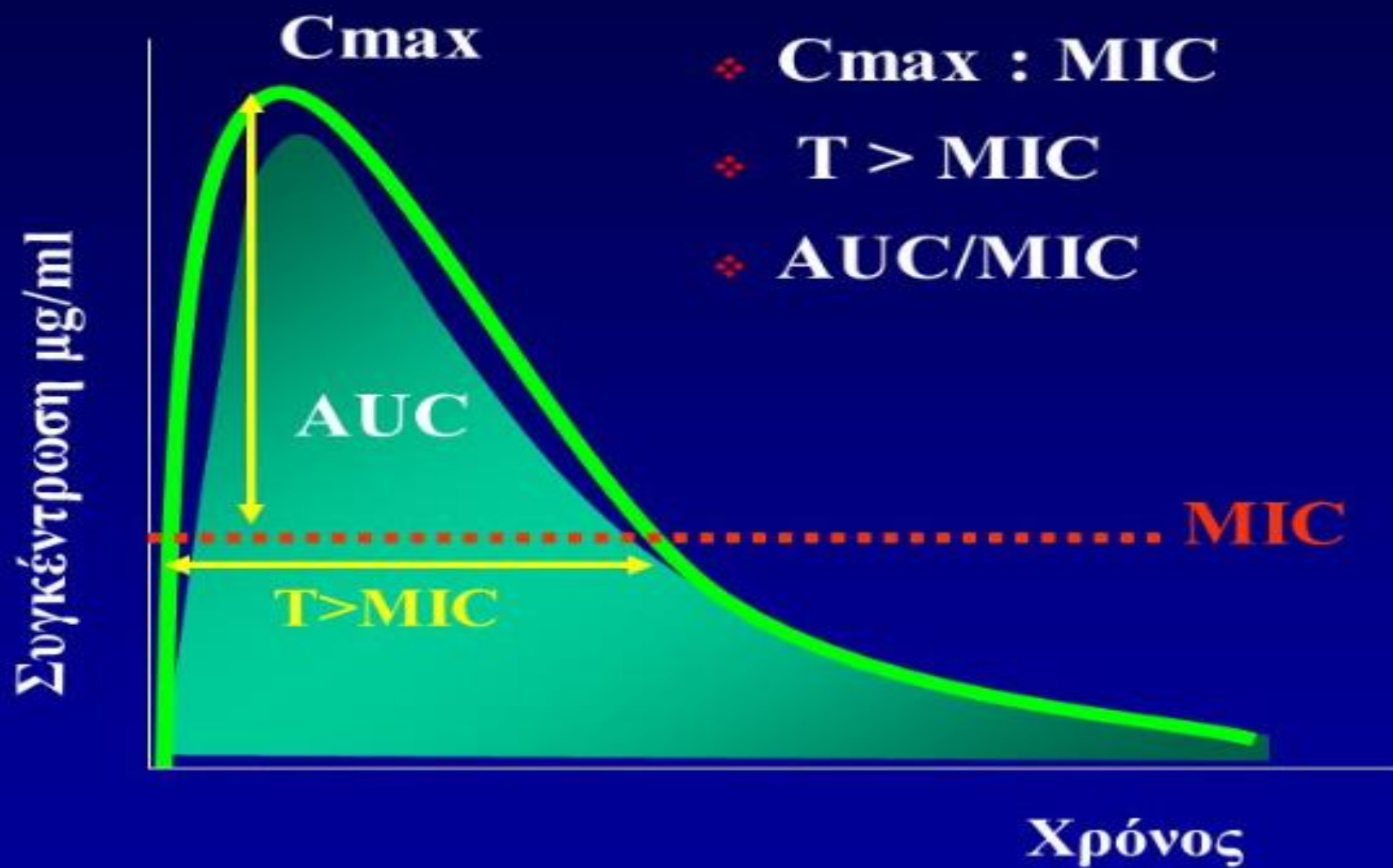
- Τα αντιμικροβιακά πρέπει να χορηγούνται στη σωστή δοσολογία, και με τα κατάλληλα μεσοδιαστήματα μεταξύ των δόσεων
- Να λαμβάνεται υπόψη η παρουσία αιμοδιηθήσεως ή νεφρικής ανεπαρκείας
- Είναι σημαντική η αποφυγή υποθεραπείας μέσω χαμηλής δοσολογίας
- Η χορήγηση των αμινογλυκοσιδών συνιστάται να γίνεται άπαξ ημερησίως

ΠΕΡΙΟΧΗ ΚΑΤΩ ΑΠΌ ΤΗΝ ΚΑΜΠΥΛΗ(AREA UNDER THE CURVE)(AUC)

Δείχνει το συνολικό ποσό του φαρμάκου και τη διάρκεια της παρουσίας του στον υπό μελέτη ιστό. Εκφράζεται σε $\text{mg}\cdot\text{h}/\text{L}$



ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΦΑΡΜΑΚΟΔΥΝΑΜΙΚΗΣ



ΧΡΟΝΟΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ

Η αποτελεσματικότητα εξαρτάται από το χρονικό διάστημα κατά το οποίο η στάθμη του φαρμάκου στο πλάσμα ξεπερνά την MIC του μικροβίου

ΆΡΑ

Πρέπει να ακολουθούνται δοσολογικά σχήματα στα οποία:

- Μικρές δόσεις χορηγούνται σε συχνά χρονικά διαστήματα

Ή

Να επιλέγονται φάρμακα με μακρύ $T_{1/2}$

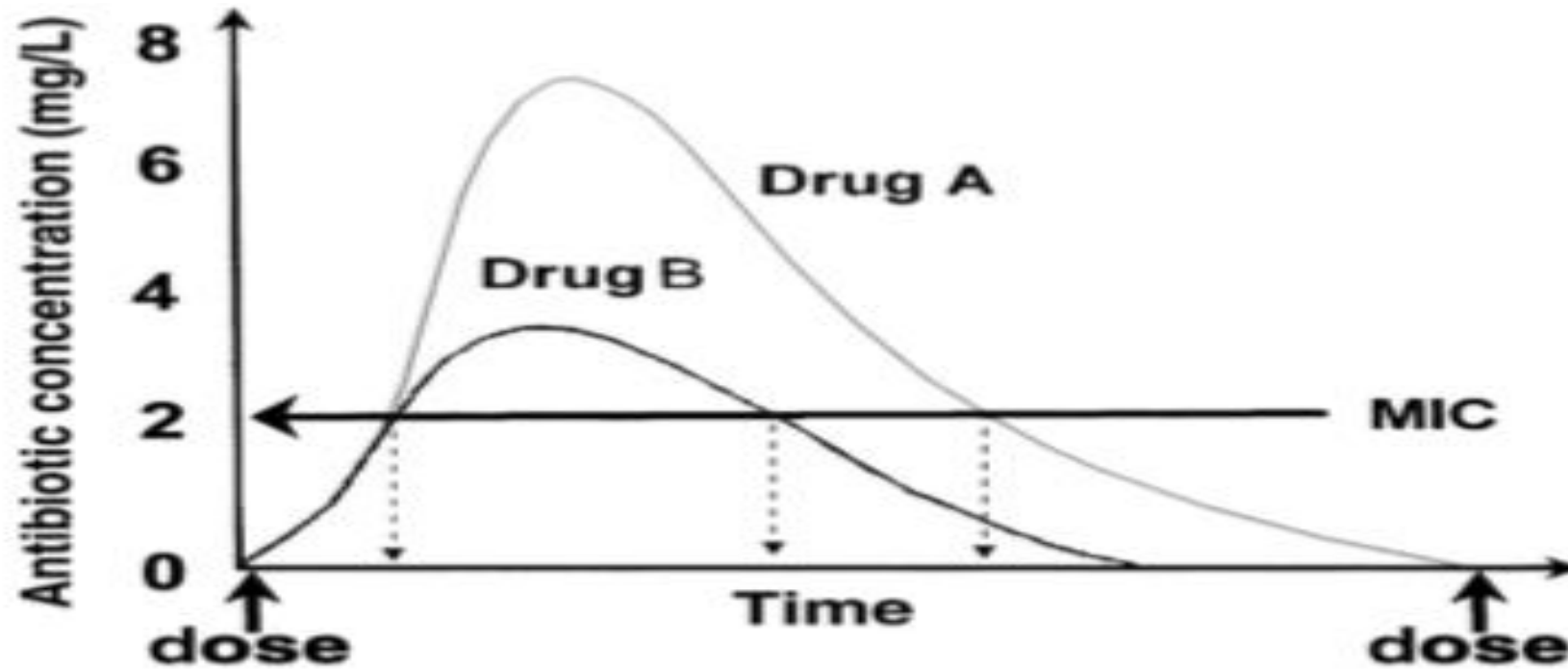
ΧΡΟΝΟΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ

- Αποτελεσματικά δοσολογικά σχήματα είναι αυτά που επιτυγχάνουν στάθμες στο αίμα υψηλότερες της MIC για τουλάχιστον 40-50% του μεσοδιαστήματος χορήγησης του φαρμάκου

T>MIC

- Καθορίζει το αποτελεσματικότερο φάρμακο μέσα στην ομάδα

ΧΡΟΝΟΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ



$T > MIC$: συσχέτιση της φαρμακοκινητικής στον ορό με την MIC (ευαισθησία) ενός οργανισμού.
Το φάρμακο A είναι παρών σε συγκέντρωση 2 mg/l στο 50% του μεσοδιαστήματος χορήγησης, ενώ το φάρμακο B είναι παρών σε συγκέντρωση 2 mg/l στο 30% του μεσοδιαστήματος χορήγησης.

ΧΡΟΝΟΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ

- Β- ΛΑΚΤΑΜΕΣ
- ΜΑΚΡΟΛΙΔΕΣ
- ΚΛΙΝΔΑΜΥΚΙΝΗ
- ΟΞΑΖΟΛΙΔΙΝΟΝΕΣ
- ΓΛΥΚΥΚΥΚΛΙΝΕΣ

ΣΥΝΕΧΗΣ ΕΓΧΥΣΗ Β-ΛΑΚΤΑΜΩΝ

- Προτείνεται από πολλούς συγγραφείς
- Επιτυγχάνει τους φαρμακοκινητικούς και φαρμακοδυναμικούς στόχους στο αίμα και στο ELF (epithelial lining fluid) (υγρό που επαλείφει τους πνεύμονες)
- Απαιτεί μικρότερες ημερήσιες ποσότητες αντιβιοτικού.
- Εναλλακτικά παρατεταμένη ενδοφλέβια έγχυση

Μεροπενέμη: Αύξηση του $T > MI$ C

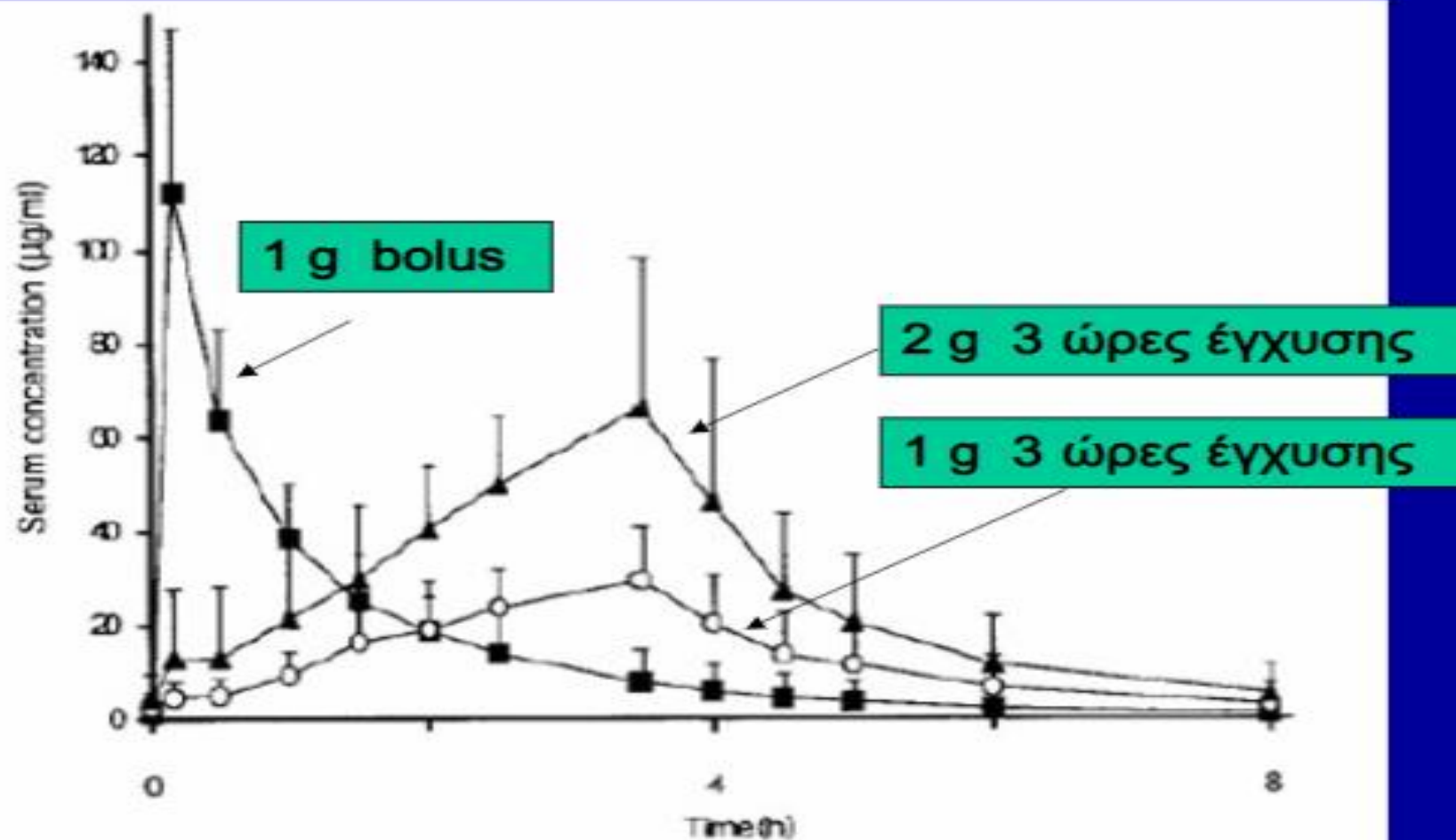
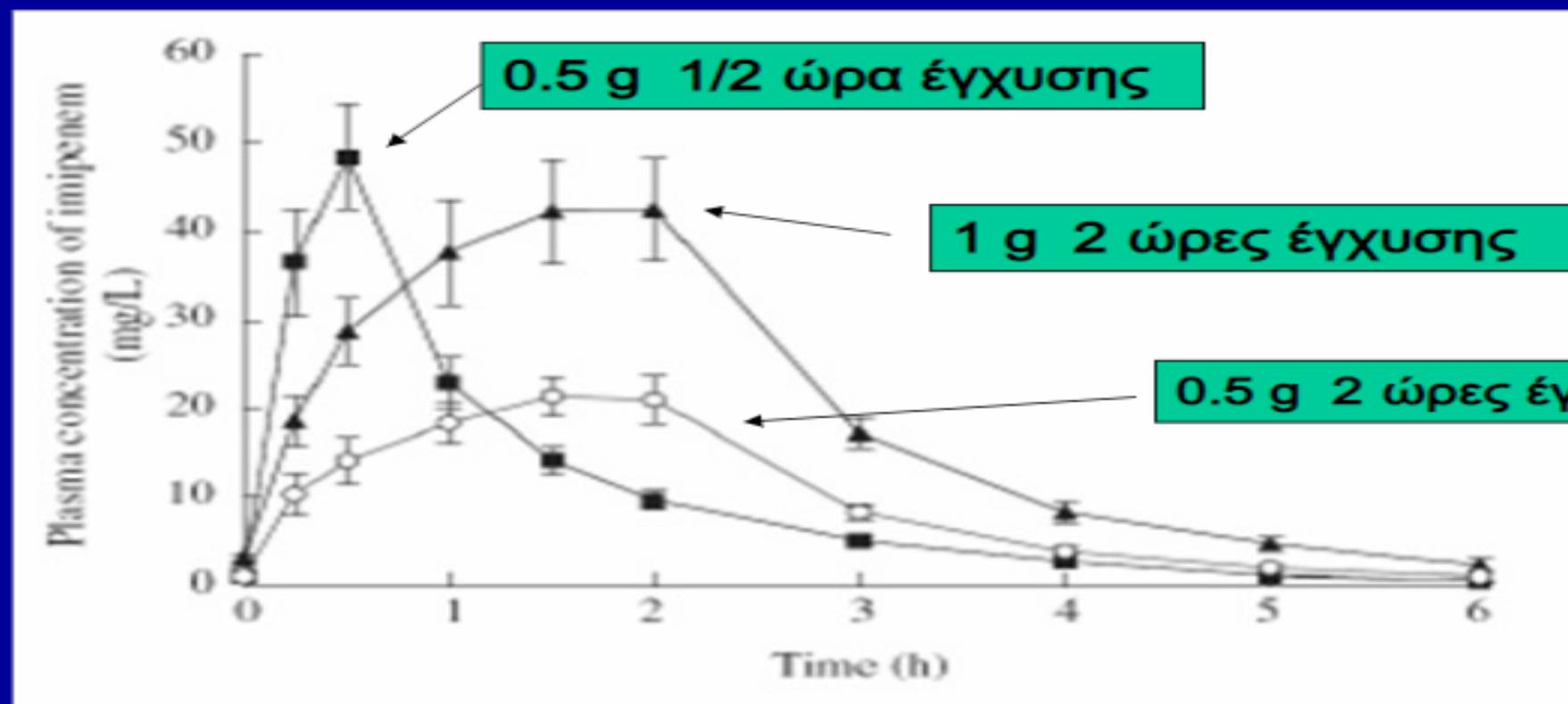


FIG. 1. Mean serum meropenem concentration-time data for nine patients with VAP following administration of 1 g by bolus injection (filled squares), 1 g by a 3-h infusion (open circles), and 2 g by a 3-h infusion (filled triangles).

Ομοίως με την ΙΜΙΠΕΝΕΜΗ



Jaruratanasirikul et al JAC 2005;49(4):1337

ΔΟΣΟΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ

- Όσο υψηλότερη είναι η **C_{max}** τόσο μεγαλύτερη και ταχύτερη η βακτηριοκτόνος δράση και τόσο μεγαλύτερης διάρκειας το ΡΑΕ
- Αποτελεσματικότερα τα δοσολογικά σχήματα που χορηγούν εφ'άπαξ όλη την ημερήσια δόση (αμινογλυκοσίδες)

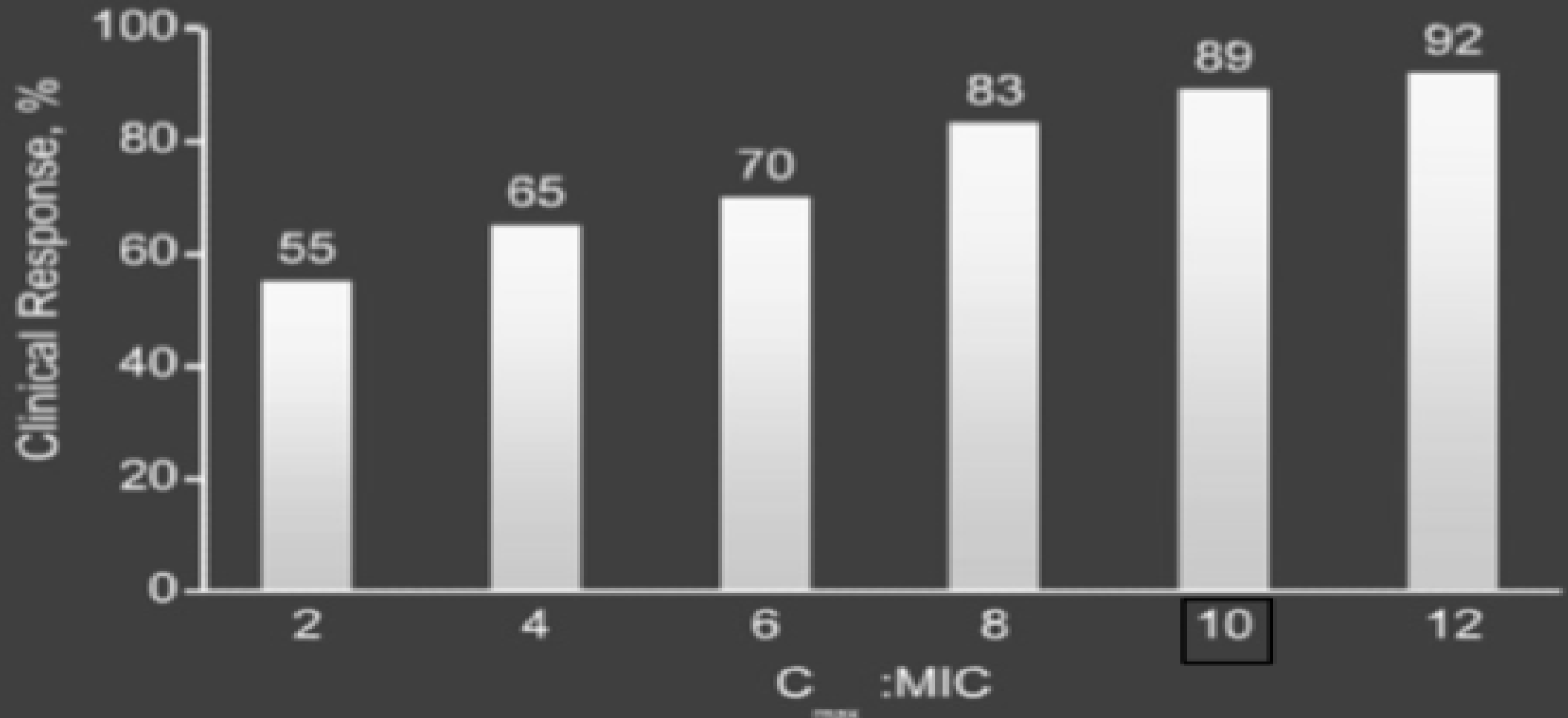
POST-ANTIBIOTIC EFFECT

- Μερικά αντιμικροβιακά έχουν παρατεταμένη αντιμικροβιακή δράση ακόμα και μετά την μείωση της συγκέντρωσης τους σε υποανασταλτικά επίπεδα
- Η παρατεταμένη αυτή καταστολή της ανάπτυξης των μικροοργανισμών, η οποία δεν οφείλεται στους αμυντικούς μηχανισμούς του ξενιστή χαρακτηρίζεται ως μετα-αντιβιοτική δράση του αντιμικροβιακού.(PAE)
- Η PAE είναι φαινόμενο που έχει παρατηρηθεί in vitro

ΔΟΣΟΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ

- ΑΜΙΝΟΓΛΥΚΟΣΙΔΕΣ
- ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ
- ΚΕΤΟΛΙΔΕΣ
- ΜΕΤΡΟΝΙΔΑΖΟΛΗ

Αμινογλυκοσίδες: C_{max}/MIC και κλινική ανταπόκριση

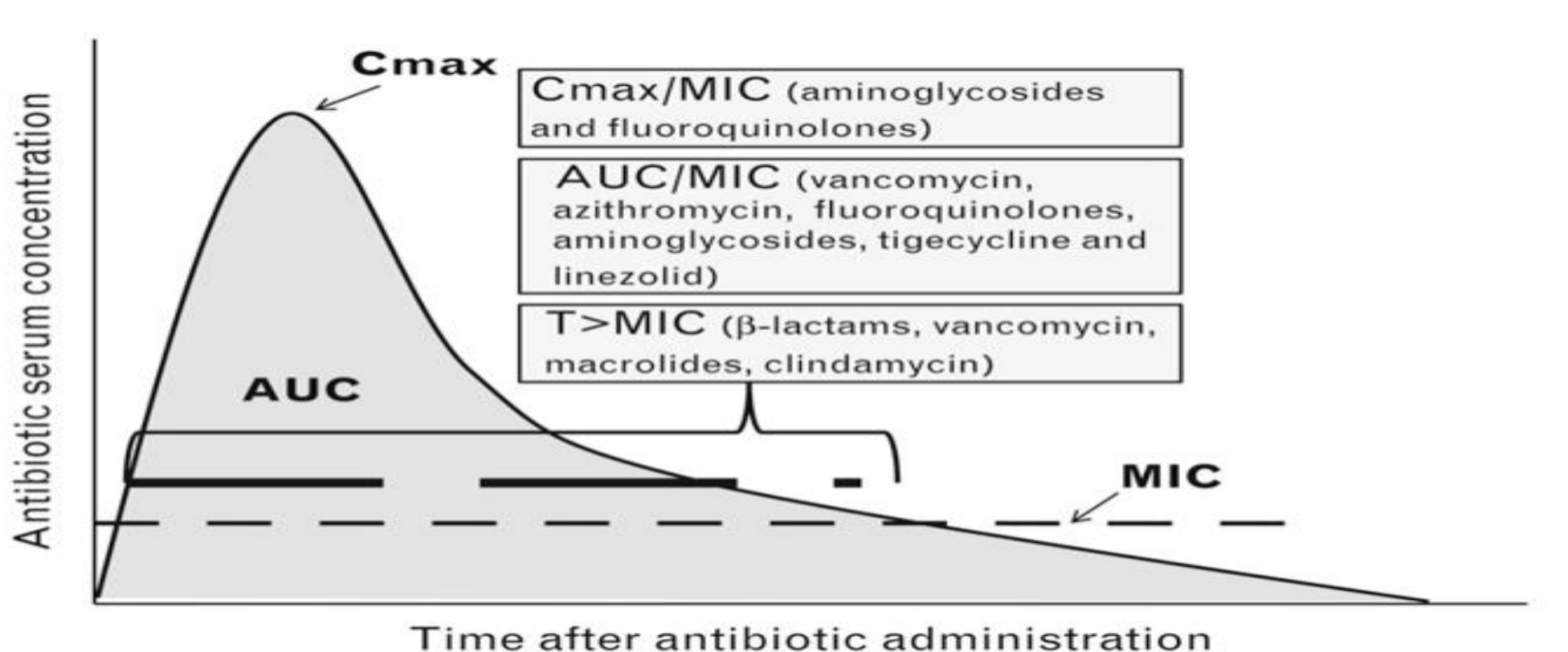


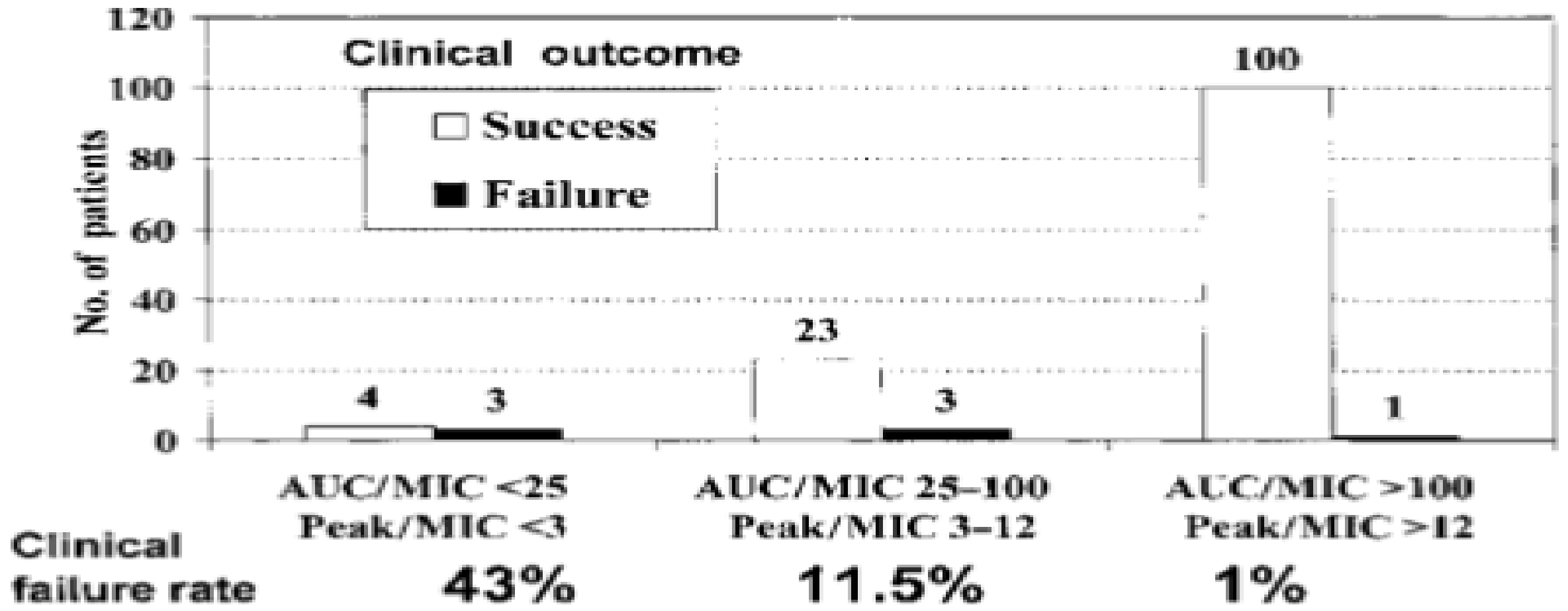
Moore et al. J Infect Dis 1987; 155:93-99

AUC/MIC

Η AUC αντιπροσωπεύει την συγκέντρωση του φαρμάκου και τον χρόνο έκθεσης στην οποία εκτίθενται τα μικρόβια πάνω από την ελάχιστη MIC που είναι απαραίτητη για να υπάρξει αποτέλεσμα

ΟΣΟ ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΗ ΕΙΝΑΙ Η ΑΝΑΛΟΓΙΑ ΤΟΣΟ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟ ΕΙΝΑΙ ΤΟ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟ.





Συσχέτιση των φαρμακοκινητικών/φαρμακοδυναμικών παραμέτρων σε 134 νοσηλεύομενους ασθενείς με λοιμώξεις αναπνευστικού, δέρματος ή επιπλεγμένες ουρολοιμώξεις που θεραπεύτηκαν με 500mg IV λεβοφλοξασίνης καθημερινά για 5-14 ημέρες.

Οι αριθμοί πάνω από κάθε στήλη είναι οι αριθμοί των ασθενών Preston et al(JAMA1998)

ΤΥΠΟΣ**ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΟ****ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ****ΣΤΟΧΟΣ****Τύπος I**

Εξαρτώμενη από την συγκέντρωση και παρατεταμένη επιμένουσα δράση

Αμινογλυκοσίδες
Κινολόνες
Δαπτομυκίνη

**Peak/MIC και
AUC/MIC**

Μέγιστη συγκέντρωση και ημερήσια δόση

Τύπος II

Εξαρτώμενη από τον χρόνο έκθεσης με ελάχιστη ή μέτρια επιμένουσα δράση

Πενικιλίνες
Κεφαλοσπορίνες
καρβαπενέμες
Κλινδαμυκίνη
Μακρολίδες

T > MIC

Ιδανική διάρκεια έκθεσης

Τύπος III

Εξαρτώμενη από τον χρόνο, ελάχιστα ή καθόλου από την συγκέντρωση και παρατεταμένη επιμένουσα δράση

γλυκοπεπτιδία
Αζιθρομυκίνη
Τετρακυκλίνες
στρεπτογραμμίνες

AUC/MIC

Βελτιστοποίηση της ημερήσιας δόσης

ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ

- Για καλύτερο κλινικό και θεραπευτικό αποτέλεσμα πρέπει:
- $24\text{hAUC/MIC} \geq 25-30$ για *S.pneumoniae*
- $24\text{hAUC/MIC} \geq 100-125$ για Gram(-) βακτήρια

ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ

S. pneumoniae ($AUC_{24} / MIC \geq 25-30$)

Κινολόνη	Δόση	C_{max}	AUC	MIC_{90}	C_{max}/MIC	AUC_{24} / MIC
Cipro	750	3,6	32	2	1,8	16
Levo	500	5,7	48	1	5,7	48
Moxi	400	4,5	48	0,25	18	192
Gati	400	4,2	34	0,5	8,4	68

ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ

P. aeruginosa ($AUC_{24} / MIC \geq 100-125$)

Κινολόνη	Δόση	C_{max}	AUC	MIC_{90}	C_{max}/MIC	AUC_{24}/MIC
Cipro	750	3,6	32	4	0,9	8
Levo	500	5,7	48	16	0,36	3
Moxi	400	4,5	48	8	0,56	6
Gati	400	4,2	34	8	0,52	4,25

**ΣΧΕΣΗ AUC_{24} / MIC ή $Peak / MIC$ ΚΑΙ
ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ
LRTIs ΥΠΟ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ CIPRO**

PK / PD Παράμετρος	Ασθενείς που ανέπτυξαν αντοχή / σύνολο ασθενών
$Peak / MIC > 8$ ή $AUC_{24} / MIC \geq 100$	3 / 31 (10%)
$Peak / MIC < 8$ ή $AUC_{24} / MIC < 100$	8 / 80 (80%)

ΣΧΕΣΗ AUC_{24} / MIC ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΗΣ *P. aeruginosa* Ή ΑΛΛΩΝ GNB

AUC_{24} / MIC	Ασθενείς που ανέπτυξαν αντοχή / σύνολο των ασθενών (%)	
	Θεραπεία με Ciprofloxacin	
	<i>P. aeruginosa</i>	Άλλοι GNB
< 100	10/10 (100)	2/4 (50)
\geq 100	2/8 (25)	2/28 (7)
<i>p</i>	0,002	0,07

MONTE CARLO SIMULATION

- Τα μαθηματικά στην Ιατρική

PK
σε υγιείς εθελοντές
ή ασθενείς

προσομοίωση

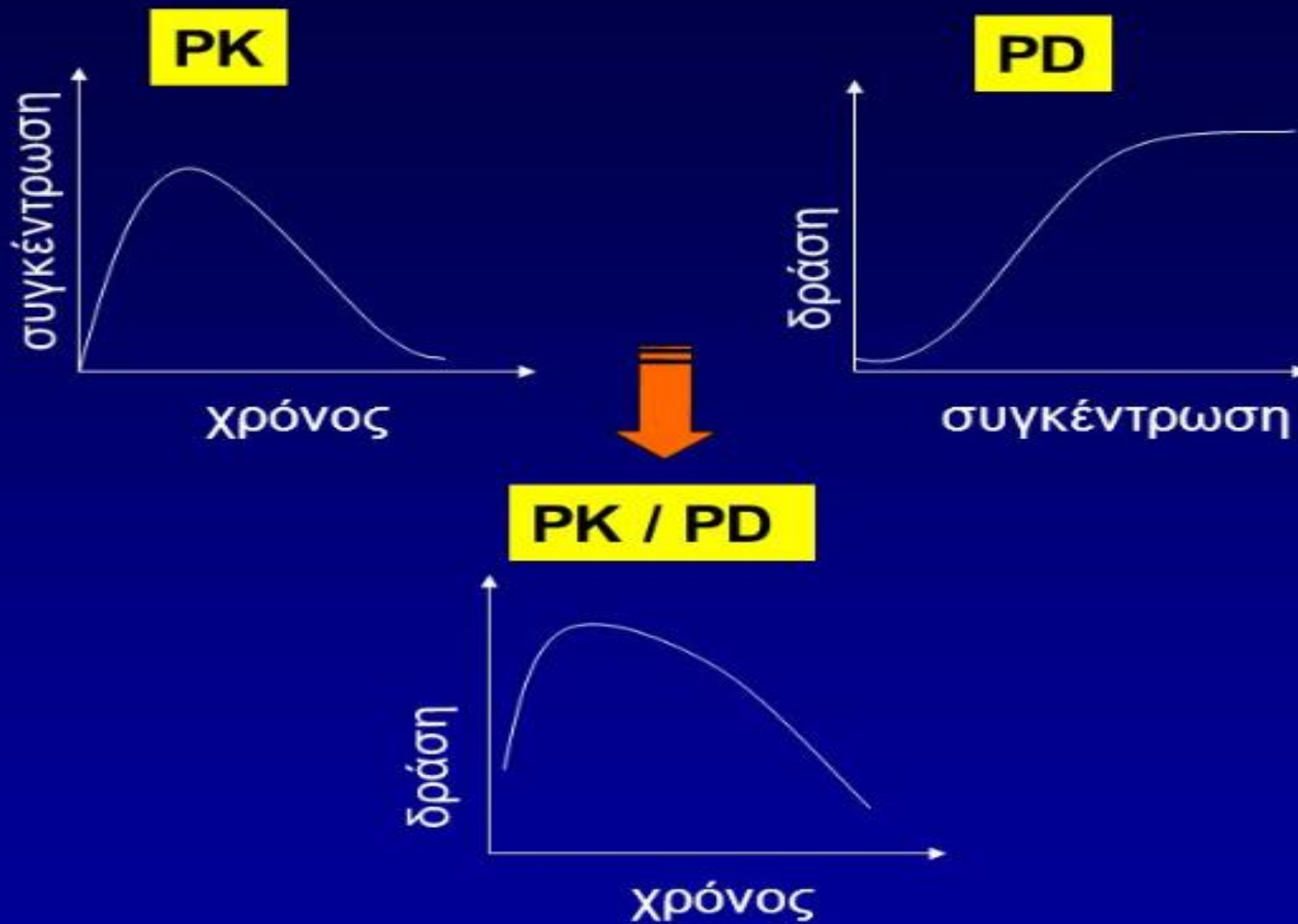
PK κατανομή
σε 10.000 ασθενείς

Προσδιορισμός του ποσοστού των ασθενών που πληρούν τον PK/PD στόχο για μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα

MONTE CARLO SIMULATION



Distribution of gatifloxacin free-drug area under the concentration-time curve (AUC)0-24 (g · h/mL) ratio in the patient population.



Φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι **PK/PD** παράμετροι

- Χρησιμεύουν στην αποτελεσματικότερη επιλογή της δόσης και της συχνότητας χορήγησης του αντιμικροβιακού
- Μεγιστοποιούν την δράση του
- Αυξάνουν την ταχύτητα κλινικής ανταπόκρισης
- Μειώνουν την πιθανότητα επικράτησης ανθεκτικών στελεχών
- Είναι οι καλύτεροι δείκτες της έκβασης