

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

HELENA PONIŽ

VREDNOTENJE UČINKOVITOSTI ZDRAVLJENJA OKUŽB
ORTOPEDSKIH VSADKOV Z VANKOMICINOM IN VPLIV
BIOKEMIČNIH PARAMETROV NA NJEGOVE
FARMAKOKINETIČNE LASTNOSTI

EVALUATION OF VANCOMYCIN EFFECTIVENESS IN
PERIPROSTHETIC JOINT INFECTIONS AND THE INFLUENCE OF
BIOCHEMICAL PARAMETERS ON ITS PHARMACOKINETIC
PROFILE

MAGISTRSKI ŠTUDIJ LABORATORIJSKE BIOMEDICINE

Ljubljana, 2013

Magistrsko nalogo sem opravljala v Ortopedski bolnišnici Valdoltra pod mentorstvomizr. prof. dr. Iztoka Grabnarja, mag. farm.. Serumske koncentracije vankomicina so v letih 2009 - 2011 opravili v Biokemičnem in hematološkem laboratoriju Splošne bolnišnice Izola. Povzročitelje okužb ortopedskih vsadkov so določili v Mikrobiološkem laboratoriju Inštituta za varovanje zdravja Koper.

Zahvaljujem se Nataši Faganeli, mag. farm., spec. klin. farm. za pomoč pri zbiranju in interpretaciji podatkov s področja klinične farmacije. Zahvaljujem se tudi vsem zaposlenim v Medicinskem laboratoriju OBV, ki so me spodbujali in bili razumevajoči tekom študija.

Izjava

Izjavljam, da sem magistrsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvomizr. prof. dr. Iztoka Grabnarja, mag. farm.

Helena Poniž

Kazalo vsebine

1	POVZETEK.....	5
2	SEZNAM OKRAJŠAV.....	6
3	UVOD.....	8
3.1	Vankomicin.....	8
3.1.1	Značilnosti zdravila.....	9
3.1.2	Posebna opozorila.....	9
3.1.3	Medsebojno delovanje z drugimi zdravili.....	10
3.1.4	Neželeni učinki.....	10
3.1.5	Farmakološke lastnosti.....	11
3.1.6	Spremljanje in določanje serumske koncentracije vankomicina.....	13
3.2	Biokemični parametri.....	16
3.2.1	Sečnina.....	17
3.2.2	Kreatinin.....	17
3.2.3	Ocena hitrosti glomerulne filtracije (oGFR).....	18
3.2.4	Bilirubin.....	20
3.2.5	Aspartat aminotransferaza (AST).....	21
3.2.6	Alanin aminotransferaza (ALT).....	22
3.2.7	Gama glutamil transferaza (γ GT).....	23
3.2.8	Laktat dehidrogenaza (LDH).....	23
3.2.9	C – reaktivni protein (CRP).....	24
4	NAMEN DELA.....	26
5	METODE.....	27
5.1	Bolniki.....	27
5.2	Populacijsko farmakokinetično modeliranje.....	28
5.2.1	Priprava vhodnih podatkov.....	28
5.2.2	Razvoj populacijskega farmakokinetičnega modela.....	29
5.3	Analiza učinkovitosti zdravljenja.....	32
6	REZULTATI.....	39
6.1	Bolniki.....	39
6.2	Populacijski farmakokinetični model.....	45
6.3	Analiza učinkovitosti zdravljenja.....	57
7	RAZPRAVA.....	63
8	SKLEPI.....	67
9	LITERATURA.....	68
10	PRILOGE.....	71

Kazalo tabel

Tabela 5.1: Kratek opis končnih PPK modelov	30
Tabela 6.1: Povzročitelji okužb ortopedskih vsadkov	39
Tabela 6.2: Demografski podatki celotne populacije \pm standardni odklon (SD)	39
Tabela 6.3: Povprečne vrednosti izmerjenih koncentracij vankomicina \pm standardni odklon	40
Tabela 6.4: Izmerjene in interpolirane vrednosti biokemičnih parametrov v populaciji \pm standardni odklon.....	41
Tabela 6.5: Izmerjene in interpolirane vrednosti biokemičnih parametrov bolnikov \pm standardni odklon.....	42
Tabela 6.6: Parametri osnovnega modela	46
Tabela 6.7: Redukcija polnega modela	47
Tabela 6.8: OFV vrednosti končnih modelov	48
Tabela 6.9: Parametri končnega modela 1	48
Tabela 6.10: Parametri končnega modela 2	50
Tabela 6.11: Parametri končnega modela 3	52
Tabela 6.12: Parametri končnega modela 4	54
Tabela 6.13: Parametri končnega modela 5	56
Tabela 6.14: PTA intervali pri okužbi s <i>Staphylococcus capitis</i>	59

Kazalo slik

Slika 3.1: Kemijska struktura vankomicina	8
Slika 5.1: Primer prikaza površine pod krivuljo serumske koncentracije / čas	33
Slika 5.2: Primer MIK distribucije mikroorganizma, izražen kot delež mikroorganizmov pri določeni koncentraciji.....	33
Slika 5.3: MIK distribucija MRSE.....	34
Slika 5.4: MIK distribucija MRSA.....	34
Slika 5.5: MIK distribucija <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	34
Slika 5.6: MIK distribucija <i>Staphylococcus capitis</i>	35
Slika 5.7: MIK distribucija <i>Staphylococcus hominis</i>	35
Slika 5.8: MIK distribucija <i>Streptococcus agalactiae</i>	35
Slika 5.9: MIK distribucija <i>Enterococcus faecalis</i>	36
Slika 5.10: MIK distribucija <i>Enterococcus faecium</i>	36
Slika 5.11: MIK distribucija <i>Corynebacterium</i> spp.	36
Slika 5.12: MIK distribucija <i>Corynebacterium amycolatum</i>	37
Slika 5.13: Primer prikaza razmerij AUC_{24} / MIK	37
Slika 5.14: Primer prikaza Probability of target attainment – PTA	38
Slika 6.1: Osnovni model - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti absolutni vrednosti ocene rezidualne variabilnosti	46
Slika 6.2: Osnovni model - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina.....	46
Slika 6.3: Osnovni model - Napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina	47
Slika 6.4: Končni model 1 - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti absolutni vrednosti ocene rezidualne variabilnosti	49
Slika 6.5: Končni model 1 - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina.....	49
Slika 6.6: Končni model 1 - Napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina	49

Slika 6.7: Korelacija med očistkom vankomicina, izračunanim s pomočjo končnega modela 1 in očistkom kreatinina, izračunanim s Cockroft – Gaultovo formulo upoštevajoč LBW.....	50
Slika 6.8: Končni model 2 - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti absolutni vrednosti ocene rezidualne variabilnosti	51
Slika 6.9: Končni model 2 - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina.....	51
Slika 6.10: Končni model 2 - Napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina	51
Slika 6.11: Končni model 3 - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti absolutni vrednosti ocene rezidualne variabilnosti	52
Slika 6.12: Končni model 3 - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina.....	53
Slika 6.13: Končni model 3 - Napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina	53
Slika 6.14: Končni model 4 - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti absolutni vrednosti ocene rezidualne variabilnosti	54
Slika 6.15: Končni model 4 - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina.....	55
Slika 6.16: Končni model 4 - Napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina	55
Slika 6.17: Končni model 5 - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti absolutni vrednosti ocene rezidualne variabilnosti	56
Slika 6.18: Končni model 5 - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina.....	57
Slika 6.19: Končni model 5 - Napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina	57
Slika 6.20: Porazdelitev PTA intervalov pri bolnikih z dokazano okužbo z MRSE	58
Slika 6.21: PTA interval MRSE pri bolniku z zaporedno številko 14	58
Slika 6.22: PTA interval Staphylococcus capitis pri bolniku z zaporedno številko 4.....	59
Slika 6.23: PTA interval MRSA pri bolniku z zaporedno številko 2	60
Slika 6.24: PTA interval Staphylococcus hominis pri bolniku z zaporedno številko 24	60
Slika 6.25: PTA interval Staphylococcus haemolyticus pri bolniku z zaporedno številko 10	61
Slika 6.26: PTA interval Streptococcus agalactiae pri bolniku z zaporedno številko 13.....	61
Slika 6.27: PTA interval Enterococcus faecalis pri bolniku z zaporedno številko 26	62

1 POVZETEK

V Ortopedski bolnišnici Valdoltra je uporaba glikopeptidnega antibiotika vankomicin omejena na zdravljenje zapletenih okužb ortopedskih vsadkov, katerih povzročitelji so sevi proti met icilinu odpornih stafilokokov in visoko odporni enterokoki ter pri ostalih vrstah okužb, pri katerih je to strokovno opravičljivo.

V nalogi smo proučili biokemične parametre, ki opisujejo ledvično in jetrno funkcijo ter CRP pri 37 bolnikih, ki so bili zdravljeni z vankomicinom v obdobju 2009 – 2012. Ocenili smo dinamiko gibanja laboratorijskih rezultatov in njihov vpliv na farmakokinetične parametre vankomicina z metodo nelinearnega modeliranja mešanih učinkov. S programskim paketom NONMEM smo izdelali 5 končnih modelov, s katerimi smo ocenili očistek in volumen porazdelitve vankomicina ter vpliv intra- in interindividualne variabilnosti na njune vrednosti. V nadaljevanju smo ovrednotili učinkovitost zdravljenja z vankomicinom z izračunom verjetnosti (PTA), da je razmerje med površino pod koncentracijsko krivuljo v 24. urah in minimalno inhibitorno koncentracijo (AUC_{24}/MIK) večje od 400. Razmerje smo računali glede na povzročitelja okužbe in za vsak dan trajanja zdravljenja.

Glede na priporočene minimalne serumske koncentracije vankomicina v ravnotežnem stanju, ki so v veljavi od leta 2009, pri sedmih bolnikih nismo dosegli območja 10 – 14 $\mu\text{mol/L}$ (15 – 20 mg/L). Serumske koncentracije kreatinina so bile večinoma stabilne, z izjemo treh bolnikov, ravno tako je bila stabilna jetrna funkcija bolnikov. Kljub vsemu se priporoča laboratorijsko spremljanje proučevanih biokemičnih parametrov, kakor tudi minimalne serumske koncentracije vankomicina v ravnotežnem stanju.

Izdelali smo enoprostorni farmakokinetični populacijski model in ugotovili, da ima statistično značilen vpliv na očistek vankomicina le očistek kreatinina, ki smo ga izračunali s Cockcroft – Gaultovo metodo tako, da smo odšteli maso telesne maščobe. Ocenjeni očistek vankomicina je bil 135 mL/min in volumen porazdelitve vankomicina 1,9 L/kg .

Dobljene vrednosti PTA smo primerjali s kliničnim izidom zdravljenja po 6-ih, 12-ih in 24-ih mesecih, vendar nismo potrdili povezave med AUC_{24}/MIK in kliničnim izidom zdravljenja.

2 SEZNAM OKRAJŠAV

95% CI	95% interval zaupanja
AE	akridinijev ester
ALT	alanin aminotransferaza
AST	aspartat aminotransferaza
AUC	površina pod krivuljo koncentracija / čas
AUC ₂₄	površina pod krivuljo koncentracija / čas v 24. urah
BIL	bilirubin
CL	očistek
Cl _{Cr}	očistek kreatinina izračunan z Cockroft – Gaultovo metodo, upoštevajoč telesno maso z odšteto maso maščobnega tkiva
CRP	C – reaktivni protein
DBIL	direktni bilirubin
EIA	encimska imunska metoda
EQAS	external quality assurance services
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FPIA	fluorescenčna polarizacijska imunska metoda
GLDH	glutamat dehidrogenaza
HPLC	visokoločljivostna tekočinska kromatografija
IDMS	izotopska dilucijska masna spektrometrija
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine
IIV	interindividualna variabilnost
INSTAND	Gesellschaft zur Förderung der Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien e.V. (Society for Advancement of Quality Assurance in Medical Laboratories)
LBW	telesna masa, kateri je odšteta masa maščobnega tkiva (lean body weight)
LDH	laktat dehidrogenaza
LiH	litijev heparinat
MIK	minimalna inhibitorna koncentracija
MRSA	meticilin rezistentni <i>Staphylococcus Aureus</i>
MRSE	meticilin rezistentni <i>Staphylococcus Epidermidis</i>

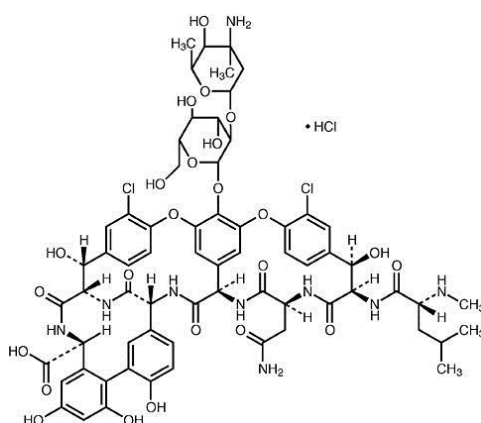
OBV	Ortopedska bolnišnica Valdoltra
OFV	ciljna funkcijska vrednost (objective function value)
oGFR	ocenjena hitrost glomerulne filtracije
PPK	populacijski farmakokinetični model
PTA	verjetnost, da smo dosegli ciljno vrednost (probability of target attainment)
RLUs	relativne svetlobne enote (relative lights units)
RSE	relativna standardna napaka
SI	Systeme International d'Unites, mednarodni sistem enot
SNEQAS	slovenski nacionalni program zunanje ocene kakovosti laboratorijskih rezultatov
SZKK	Slovensko združenje za klinično kemijo
$t_{1/2}$	razpolovna doba
TBIL	celokupni bilirubin
TDM	spremljanje koncentracije zdravila (therapeutic drug monitoring)
TVCL	tipična vrednost očistka
TVV	tipična vrednost volumna porazdelitve
V_d	volumen porazdelitve
VISA	vancomycin intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>
VRE	vancomycin resistant enterococci
VRSA	vancomycin resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
WT	telesna masa
γ GT	gama glutamil transferaza
ε	intraindividualna (rezidualna) napaka
η	interindividualna variabilnost
Θ	tipična vrednost farmakokinetičnega parametra
σ^2	varianca intraindividualne variabilnosti
ω^2	varianca interindividualne variabilnosti

3 UVOD

V Ortopedski bolnišnici Valdoltra je uporaba antibiotika vankomicin omejena primarno na zdravljenje okužb ortopedskih vsadkov, katerih povzročitelji so sevi proti meticilinu odpornih stafilokokov oz. so bolniki kolonizirani s proti meticilinu odpornim *Staphylococcus aureus* (MRSA) oz. proti meticilinu odpornim *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) ali so imeli predhodno mikrobiološko dokazano okužbo s temi sevi. Vankomicin se uporablja tudi v primerih okužb ortopedskih vsadkov z visoko odpornimi enterokoki ter ostalih vrstah okužb, pri katerih je to strokovno opravičljivo. Zdravljenje z vankomicinom spremlja specialist klinične farmacije, ki na podlagi izmerjenih serumskih koncentracij prilagaja odmerke ter interval odmerjanja. Na spremembe v odmerjanju vpliva tudi klinična slika bolnika ter njegova spremljajoča terapija.

3.1 Vankomicin

Vankomicin (slika 3.1) je glikopeptidni antibiotik in je v klinični uporabi skoraj 50 let. V Ortopedski bolnišnici Valdoltra uporabljamo zdravilo Edicin® proizvajalca Lek in Vankomicin® proizvajalca PharmaSwiss. Vankomicin, v obliki vankomicinijevega klorida, je prašek za raztopino za infundiranje. Vankomicin se ne absorbira iz prebavil, zato ga moramo za zdravljenje sistemskih okužb vnašati intravensko. Ker se vankomicin preko 90% izloča nespremenjen preko ledvic, ledvična funkcija posameznega bolnika neposredno vpliva na dosežene serumske koncentracije vankomicina.



Slika 3.1: Kemijska struktura vankomicina (1)

Vankomicin apliciramo v obliki kratkotrajne intravenske infuzije. Čas trajanja infuzije je 1 – 2 uri, odvisno od odmerka. Volumen razredčitve je odvisen od volumna industrijsko

pripravljenih raztopin za infundiranje (100, 250 in 500 mL) in od stanja bolnikovih žil (flebitis), saj se pri flebitisu praviloma uporabljajo večji volumni redčitve. Kot raztopino za infundiranje se običajno uporablja fiziološka raztopina (0,9% NaCl).

3.1.1 Značilnosti zdravila

Vankomicin je primeren za zdravljenje hudih okužb, ki jih povzročajo po Gramu pozitivni mikroorganizmi, ki niso občutljivi na druga protimikrobna zdravila, in pri bolnikih z znano alergijo na peniciline in cefalosporine (2):

- endokarditis,
- sepsa,
- osteomielitis,
- okužbe osrednjega živčevja,
- okužbe spodnjega dela dihal,
- okužbe kože in mehkih tkiv.

Vankomicin uporabljamo peroralno le za zdravljenje stafilokoknega enterokolitisa in psevdomembranskega kolitisa, medtem ko za zdravljenje sistemskih okužb uporabljamo intravensko aplikacijo.

Običajni intravenski dnevni odmerek za odrasle je 2 g, razdeljen na dva odmerka (15 – 20 mg/kg telesne mase) vsakih 12 ur. Intermitentna infuzija mora trajati najmanj 1 uro, hitrost infuzije je lahko največ 10 mg/min. Pri bolnikih s hudimi okužbami uporabljamo višji začetni odmerek (25 – 30 mg/kg telesne mase), da hitreje dosežemo želene najnižje serumske koncentracije v stacionarnem stanju (ang. trough concentration). Pri bolnikih z motenim delovanjem ledvic moramo odmerek in/ali presledek med dvema odmerkoma prilagoditi stopnji okvare, priporočljivo je tudi spremljanje serumske koncentracije vankomicina. Odmerek je linearno odvisen od očistka kreatinina.

3.1.2 Posebna opozorila

Vankomicin moramo aplicirati počasi. Hitra, nekajminutna aplikacija (v bolusu) lahko povzroči hipotenzijo, sindrom rdečega možja, redko pa tudi šok in srčni zastoj (2).

Vankomicin zelo draži tkivo, ker ima kisel pH, zato ga ne smemo aplicirati intramuskularno. Pogostost flebitisa pri intravenski uporabi zmanjšamo s pravilnim

redčenjem učinkovine z glukozo ali fiziološko raztopino in s spreminjanjem mesta aplikacije.

Rutinsko spremljanje serumske koncentracije vankomicina je priporočljivo pri bolnikih s slušno ali ledvično okvaro, pri majhnih otrocih in starejših od 60 let.

Pri dolgotrajni uporabi lahko pride do superinfekcije z odpornimi mikroorganizmi, zato je potrebno takšne bolnike redno spremljati.

3.1.3 Medsebojno delovanje z drugimi zdravili

Sočasna uporaba nevrotoksičnih in/ali nefrotoksičnih učinkovin (etakrinska kislina, aminoglikozidni antibiotiki, amfotericin B, bacitracin, polimiksin B, kolistin, viomicin, zaviralci živčno – mišičnega prenosa in cisplatin), zahteva skrben nadzor bolnika (2). Sočasna uporaba anestetikov zveča možnost pojava hipotenzije, rdečice, koprivnice in srbečice. Povzroči lahko tudi anafilaktoidno reakcijo.

Sočasna uporaba kortikosteroidov, meticilina, heparina, aminofilina, cefalosporinskih antibiotikov in fenobarbitona ni priporočljiva.

3.1.4 Neželeni učinki

V preteklosti je imel vankomicin več neželenih učinkov, kot so z infuzijo povezana toksičnost, nefrotoksičnost in ototoksičnost, vendar se je v nadaljnjih raziskavah ugotovilo, da so ti neželeni učinki večinoma posledica nečistot v zgodnjih formulacijah vankomicina (2, 3, 4). V priporočenih odmerkih ima vankomicin nizko toksičnost. Med najpomembnejše neželene učinke vankomicina sodi *sindrom rdečega moža*, ki se pojavlja pri 5 – 11 % bolnikov (2). Zdravljenje je potrebno prekiniti, če se pojavijo preobčutljivost, anafilaktični šok, akutni nefritis ali kožne spremembe.

Motnje imunskega sistema: pri hitri intravenski infuziji se lahko pojavi anafilaktoidna reakcija s hipotenzijo, težkim dihanjem, urtikarijo in srbenjem, ki jo lahko spremljajo kožni izpuščaji. Hitra infuzija lahko povzroči tudi *sindrom rdečega moža*, za katerega so značilni srbenje kože, rdečica zgornjega dela telesa, angioedem, hipotenzija, tahikardija in bolečine v mišicah prsnega koša in hrbta. Simptomi so posledica neposrednega sproščanja histamina, morda pa tudi drugih mediatorjev vnetja. Intenzivnost in pogostost sta odvisni od odmerka in hitrosti aplikacije. Pri pojavu *sindroma rdečega moža* podaljšamo čas aplikacije in bolniku damo antihistaminike.

Slušne in ravnotežnostne motnje: ototoksičnost se pojavlja redko. Slušne okvare so ireverzibilne in nastanejo predvsem pri bolnikih z ledvično okvaro, z že obstoječo okvaro sluha ali pri sočasnem zdravljenju z drugim ototoksičnim zdravilom.

Ledvična obolenja: hujša ledvična okvara je redka. Diagnosticiramo jo z zvečano serumsko koncentracijo sečnine in kreatinina ter ocenjeno hitrostjo glomerulne filtracije (oGFR). Pojavi se lahko pri bolnikih, ki prejemajo višje odmerke vankomicina. Delovanje ledvic se običajno normalizira po prenehanju zdravljenja z vankomicinom.

Spremembe v diferencialni krvni sliki: pojavi se lahko reverzibilna nevtropenija, ki se pojavi en teden ali več po začetku zdravljenja in izzveni nekaj dni po koncu zdravljenja. Redko se pojavlja eozinofilija, izjemoma trombocitopenija in agranulocitoza.

3.1.5 Farmakološke lastnosti

Farmakodinamične lastnosti

Vankomicin deluje tako, da zavira nastajanje bakterijske celične stene. Veže se na C-terminalni konec *D*-alanil-*D*-alaninovih ostankov prekursorja peptidoglikana UDP-N-acetilmuramilpentapeptida na zunanji površini citoplazemske membrane. Zavira tudi delovanje transpeptidaz in karboksipeptidaz, ki povezujejo priležne verige peptidoglikana s pentaglicinskimi stranskimi verigami. Sledi liza celice, ki je verjetno posledica delovanja avtolitičnih encimov. Verjetno zavira tudi nastajanje ribonukleinskih kislin, vendar je ta mehanizem delovanja manj pomemben. Na številne po Gramu pozitivne bakterije deluje baktericidno, na enterokoke pa bakteriostatično.

Za vankomicin so občutljivi stafilokoki (tudi *Staphylococcus aureus*, *haemolyticus* in *epidermidis*, ki so odporni proti meticilinu), streptokoki (*Streptococcus pyogenes*, *pneumoniae*, *agalactiae* in drugi, ne glede na občutljivost na penicilin), enterokoki (*Enterococcus faecalis*, *faecium*), *Listeria monocytogenes*, korinebakterije (*Corynebacterium diphtheriae*, *jeikeium*), *Bacillus* spp., *Clostridium* spp., *Propionibacterium acnes*, *Actinomyces* spp., redki sevi *Lactobacillus* spp. in *Rhodococcus equi*. Vse po Gramu negativne aerobne in anaerobne bakterije so odporne na vankomicin zaradi neprepustnosti zunanje celične membrane.

Med zdravljenjem z vankomicinom lahko postanejo stafilokoki slabše občutljivi (vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* – VISA) ali odporni proti njemu (vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* – VRSA). Odpornost koagulaze negativnih

stafilokokov je lahko reverzibilna ali stabilna. Mehanizem odpornosti se kaže s pridobitvijo genskih kompleksov *van*, odkritih pri *Staphylococcus aureus*. Za pojav na vankomicin odpornih enterokokov (vancomycin resistant enterococci – VRE) je poleg uporabe vankomicina pomembna tudi uporaba drugih antibiotikov, ki delujejo na črevesne anaerobe. V Sloveniji so bili do sedaj osamljeni le posamezni sevi VRE (2).

Minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) je najnižja koncentracija nekega antibiotika, ki še zavira rast preiskovanega mikroorganizma. MIK za na vankomicin občutljive bakterije je nižja od 1,38 $\mu\text{mol/L}$, MIK za intermediarno občutljive stafilokoke (VISA) je 2,76 – 5,52 $\mu\text{mol/L}$, MIK za na vankomicin odporen *Staphylococcus aureus* (VRSA) pa je večja ali enaka 11,04 $\mu\text{mol/L}$. Za preprečevanje razvoja odpornih sevov je potrebno vzdrževati najnižje serumske koncentracije $\geq 6,9 \mu\text{mol/L}$. Za okužbe z bakterijo MRSA in MIK za vankomicin 0,69 $\mu\text{mol/L}$ (mikrodilucija) ter pri zapletenih okužbah (endokarditis, osteomielitis, meningitis in bolnišnična pljučnica) morajo znašati najnižje serumske vrednosti vankomicina 10 – 14 $\mu\text{mol/L}$, da dosežemo tarčno razmerje $\text{AUC}_{24}/\text{MIK} \geq 400$ (3, 4).

Farmakokinetične lastnosti

Serumski profil (koncentracija/čas) vankomicina je zelo zapleten in ga predstavljamo z eno-, dvo- in triprostornimi farmakokinetičnimi modeli. Pri bolnikih z normalnim delovanjem ledvic traja faza porazdelitve 30 – 60 minut, tej sledi faza izločanja z razpolovnim časom ($t_{1/2}$) 6 – 12 ur (3, 4, 5, 6), pri starejših se čas podaljša. Volumen porazdelitve (V_d) je 0,4 – 1 L/kg (3, 4, 5, 6).

Porazdelitev: 30 – 55 % vankomicina se veže na plazemske beljakovine (3, 4, 5, 6), predvsem na albumin in imunoglobuline razreda A (IgA). Vankomicin večinoma dobro prehaja v tkiva (ledvica, jetra, pljuča, srce, žilne stene, abscesna votlina), telesne tekočine (sinovialna, plevralna, perikardialna, ascites) in izločke (urin, blato). Slabo prehaja v žolč in likvor. Prehajanje v tkiva je spremenljivo, odvisno je od vnetja in bolezenskega stanja (3, 4).

Presnova: ni poznana in je verjetno neznatna. Morda nekoliko prispeva k izločanju vankomicina ob ledvični okvari, opazili pa so tudi manjše podaljšanje razpolovnega časa pri bolnikih z motenim delovanjem jeter. Pod vplivom povišane temperature (vključno pri povišani telesni temperaturi) in pri bolnikih z ledvično okvaro lahko nastane psevdo

metabolit vankomicina (7, 8, 9). Gre za neaktivni kristalinični razgradni produkt (CDP - 1), ki zaradi izrazito podobne molekularne strukture z vankomicinom lahko vodi v lažno povišane vrednosti serumskih koncentracij vankomicina pri določanju koncentracije z imunokemijskimi tehnikami, pri katerih se uporabljajo poliklonska protitelesa (FPIA, RIA). Z uporabo imunokemijskih tehnik, ki temeljijo na vezavi z monoklonskimi protitelesi (EMIT, CLIA) močno zmanjšamo vpliv navzkrižne reakcije, ki jo tvori CDP -1.

Izločanje: vankomicin se skoraj v celoti izloča skozi ledvice z glomerulno filtracijo. 80 – 90 % odmerka se dnevno izloči v nespremenjeni obliki. Majhen delež se izloča z žolčem. Skupni očistek vankomicina znaša 42 – 186 mL/min.

Farmakokinetične lastnosti vankomicina so ob ledvični okvari močno spremenjene in nepredvidljive. Ledvična okvara upočasni izločanje, zato je potrebno odmerek in/ali čas med dvema odmerkoma ustrezno prilagoditi stopnji okvare. Izločanje je upočasnjeno tudi pri novorojenčkih in starostnikih, pri teh starostnih skupinah je prav tako potrebno prilagoditi odmerek in/ali časovni interval.

Pri bolnikih s prekomerno telesno maso so ugotovili manjši volumen porazdelitve in krajšo razpolovno dobo, zato je pri tej skupini potrebno znižati odmerek ali spremeniti dozirni interval.

Dosedanje raziskave so pokazale, da je zdravljenje z vankomicinom učinkovito, če vzdržujemo razmerje med površino pod 24-urno koncentracijsko krivuljo in minimalno inhibitorno koncentracijo (AUC_{24}/MIK) nad 400 (3, 4). AUC_{24}/MIK je dober indeks antibiotične učinkovitosti za vankomicin, kar so pokazale raziskave na živalih in maloštevilni podatki o farmakokinetiki pri človeku.

3.1.6 Spremljanje in določanje serumske koncentracije vankomicina

Za spremljanje koncentracije vankomicina (ang. therapeutic drug monitoring – TDM) določamo najnižjo serumsko koncentracijo v stanju dinamičnega ravnovesja (ang. trough concentration). Odvzem krvi se izvrši v vakuumsko epruveto brez gela in antikoagulantov (rdeč zamašek), tik pred aplikacijo naslednjega odmerka. Vzdrževanje serumske koncentracije nad 7 $\mu\text{mol/L}$ preprečuje nastanek odpornosti bakterij. Ciljna koncentracija za primerno klinično učinkovitost pri hudih okužbah je med 10 in 14 $\mu\text{mol/L}$ (3, 4).

TDM je priporočljiv pri bolnikih, ki:

- prejemajo visoke odmerke vankomicina,

- se dolgotrajno zdravijo z vankomicinom (več kot en teden),
- imajo visoko tveganje za razvoj nefrotoksičnosti zaradi sočasne uporabe drugih zdravil,
- imajo nestabilno ledvično funkcijo (oslABLjeno ali pospešeno izločanje) (3).

S pomočjo TDM lahko ustrezno prilagajamo višino odmerka ter interval odmerjanja. Za večino bolnikov nastopi po vpeljavi ali spremembi novo ravnotežno stanje po 5 razpolovnih dobah, pri čemer pa se pri zelo ogroženih bolnikih odločamo tudi za pogostejše intervale spremljanja serumskih koncentracij.

Vankomicin lahko določamo s fluorescenčno polarizacijsko imunsko metodo (FPIA), encimsko – imunskimi metodami (EIA) in kemiluminiscenčnimi metodami. Referenčna metoda določanja je visokoločljivostna tekočinska kromatografija (HPLC).

Koncentracije vankomicina v naši nalogi so bile določane z metodo direktne kemiluminiscence na aparatu Siemens ADVIA Centaur® CP, ki jo bomo predstavili v nadaljevanju.

Kemiluminiscenca je kemijska reakcija, pri kateri nastane energija v obliki svetlobe. V kombinaciji z imunskimi metodami, nam nastala svetloba nakazuje količino analita v vzorcu. Direktna kemiluminiscenca nam omogoča merjenje oddane svetlobe brez dodatnih korakov ali uporabe označevalnih molekul. ADVIA Centaur® uporablja kot kemiluminiscenčni označevalec akridinijev ester (AE), pri katerem ni potreben dodatek katalizatorja ali substrata. AE se z vodikovim peroksidom (H_2O_2) oksidira in pri tem nastane svetloba, ki je ojačana s spremembo reakcijskega okolja iz kislega v bazično (10). Največja emisija svetlobe nastane v 1 sekundi. Direktna kemiluminiscenca z uporabo AE je avtomatizirana in ima veliko prednosti: dolgo obstojnost reagentov, hiter reakcijski čas, zelo majhen vpliv matriksa vzorca in dobro občutljivost.

Vankomicin določamo s kompetitivno imunološko tehniko. V reagenčni kiveti se bolnikovemu vzorcu dodata z AE označeni vankomicin (Lite Reagent) in mišja monoklonska anti-vankomicin protitelesa, ki so kovalentno vezana na paramagnetne delce (kristali železovega oksida, Solid Phase). Z AE označeni vankomicin in vankomicin iz bolnikovega vzorca tekmujeta za omejeno število vezalnih mest na protitelesih. Reagenčna kiveta se avtomatsko prenese in izpostavi magnetnemu polju, ki privlači paramagnetne delce, medtem pa pride do spiranja nevezanega vzorca in reagenta. Nato

se v kiveto dodata še kislilni in bazični reagent, ki sprožita kemiluminiscenčno reakcijo. Količina emitirane svetlobe se meri v relative light units (RLUs), programska oprema pa preračuna RLUs v koncentracijo vankomicina v bolnikovem serumu (11). Več kot je vankomicina v bolnikovem serumu, manj označenega vankomicina se veže na protitelesa (nižje vrednosti RLUs) in obratno, manj kot je vankomicina v bolnikovem serumu, več označenega vankomicina se veže na protitelesa (višje vrednosti RLUs). Torej obstaja obratno sorazmerje med koncentracijo vankomicina v bolnikovem serumu in količino emitirane svetlobe, ki jo zazna detekcijski sistem.

Za določanje koncentracije vankomicina na sistemu Centaur® uporabljamo serum, ki je vzorec izbora za določanje serumske koncentracije zdravil v naši ustanovi. Proizvajalec dopušča možnost uporabe EDTA plazme ali plazme odvzete z litijevim heparinatom (viola (EDTA) ali zelen (LiH) zamašek). Dobljene vrednosti so v povprečju nižje za 4,6 % (EDTA) oz. 10,5 % (LiH) glede na koncentracije določene v serumu (11).

Pred analizo preverimo kvaliteto vzorca (hemoliziranost, ikteričnost, lipemičnost) in morebitno prisotnost fibrina, zračnih mehurčkov ali pene. Hemolizirani (< 5 g/L hemoglobina), lipemični (< 11,29 mmol/L trigliceridov) in ikterični (< 342 µmol/L bilirubina) vzorci imajo manj kot 5 % vpliva na rezultate (11).

Vzorci za določitev koncentracije vankomicina analiziramo čimprej in jih nato shranjujemo pri temperaturi 2° – 8° C, zato da se izognemo *in vitro* razgradnji vankomicina. V vzorcih, ki stojijo na sobni temperaturi več kot 8 ur, lahko dobimo napačne rezultate. V kolikor analize ne opravimo v 48. urah, vzorec zamrznemo na – 20°C. Določanje koncentracije vankomicina motijo heterofilna protitelesa, ki se lahko pojavijo v krvi bolnikov, ki so bili večkrat izpostavljeni živalim ali izdelkom iz živalskega seruma. Aparat podaja rezultate v µg/mL. Faktor za pretvorbo v SI enote je 1 µg/mL = 0,690 µmol/L. Meja zaznave (analitična občutljivost) je 0,67 µg/mL (0,46 µmol/L). Najvišja izmerjena koncentracija je 90 µg/mL (62 µmol/L). Vpliv navzkrižne reaktivnosti kristaliničnega razgradnega produkta vankomicina CDP – 1 je 1,5 %, pri koncentraciji CDP – 1 400 µg/mL (276 µmol/L). Natančnost metode definiramo s koeficientom variacije (% KV) in je s strani proizvajalca podana z naslednjimi povprečnimi vrednostmi: znotraj serije 3%, med serijami 5% in celokupno 6% (11).

Analitski sistem kalibriramo s priloženim kalibracijskim materialom in v časovnih intervalih, ki jih določa proizvajalec oz. ponovno kalibriramo v kolikor kontrolni vzorci 2x zaporedoma odstopajo za več kot ± 2 standardna odklona od ciljne srednje vrednosti. Večnivojsko (ang. multilevel) notranjo kontrolo kakovosti izvajamo 2x tedensko in po kalibraciji s kontrolnimi liofiliziranimi serumi proizvajalca Randox. Analit je vključen v zunanjo presojo kakovosti Instand.

3.2 Biokemični parametri

Opazovani biokemični parametri so endogene snovi, ki nam, glede na svojo koncentracijo, pomagajo prepoznati motnje v delovanju določenih organov. Poznamo specifične (izločajo se le v določenem tkivu, organu) in nespecifične (opisujejo sistemske spremembe) biokemične parametre.

V naši nalogi smo ocenjevali ledvično funkcijo z določanjem sečnine in kreatinina ter ocenjeno hitrostjo glomerulne filtracije (oGFR), jetrno funkcijo pa z naslednjimi parametri: celokupni in direktni bilirubin, alanin aminotransferaza (ALT), aspartat aminotransferaza (AST), γ – glutamil transferaza (γ GT) in laktat dehidrogenaza (LDH). Potek okužbe smo spremljali s C – reaktivnim proteinom (CRP).

Biokemične parametre smo določali iz seruma ali plazme odvzete z litijevim heparinatom. Metoda določanja je spektrofotometrična, na analizatorju Olympus AU400: po dodatku reagenta vzorcu, aparat izmeri absorbanco, ki nastane med reakcijo. V nadaljevanju bomo opisali reakcije, ki potečejo, glede na posamezen biokemični parameter. Aparat meri absorbanco pri dveh valovnih dolžinah, s čimer se zmanjša vpliv matriksa vzorca. Iz absorbance, ki se ji odšteje absorbanca matriksa, se nato preračuna optična gostota vzorca in koncentracija določenega analita (12).

Sistem kalibriramo s priporočenim kalibracijskim materialom (proizvajalec Beckman Coulter) in v časovnih intervalih, ki jih določa proizvajalec oz. ponovno kalibriramo v kolikor kontrolni vzorci 2x zaporedoma odstopajo za več kot ± 2 standardna odklona od ciljne srednje vrednosti. Dvonivojsko notranjo kontrolo kakovosti izvajamo vsak dan in po kalibraciji s kontrolnimi liofiliziranimi serumi proizvajalca Beckman Coulter. Vsi opazovani biokemični parametri so vključeni tudi v zunanje presoje kakovosti SNEQAS, EQAS in Instand.

3.2.1 Sečnina

Sečnina nastaja v jetrih v ciklusu sečnine iz CO₂ in amonijaka, ki je glavna pot izločanja slednjega. Sečnina je glavni produkt presnove beljakovin, saj predstavlja 75% neproteinskega dušika. 90 % sečnine se nespremenjene izloča v urin, kjer se prosto filtrira skozi glomerul, se ne izloča aktivno, v 50 % pa se pasivno reabsorbira v tubulih (13). Okvara glomerulov povzroči zvečano koncentracijo sečnine šele, ko se hitrost glomerulne filtracije zniža za 75%. Koncentracija sečnine je odvisna od prehrane, sinteze v jetrih in izločanja skozi ledvice. Zvečano koncentracijo določimo pri: akutnem ali kroničnem ledvičnem popuščanju, prehrani bogati z beljakovinami, dehidraciji, povečanem katabolizmu beljakovin, stradanju, krvavitvah v gastrointestinalnem traktu, obstrukciji pretoka seča ter nekaterih zdravilih. Znižano koncentracijo zasledimo pri: jetrnih boleznih (zmanjšana sinteza sečnine), prirojenih napakah v ciklusu sečnine in daljšem stradanju. Referenčna vrednost: 2,8 – 7,5 mmol/L.

Princip določanja

Po encimski hidrolizi sečnine z ureazo se določa sproščeni amonijak s pomočjo indikatorske reakcije z encimom glutamat dehidrogenaza (GLDH). Meri se padec absorbance pri 340 nm, ki je sorazmeren s koncentracijo sečnine v vzorcu (14).

Reakcija hidrolize: sečnina + H₂O-ureaza → 2NH₄⁺ + CO₂

Indikatorska reakcija:



Pred analizo preverimo kvaliteto vzorca. Obstojnost seruma ali plazme na sobni temperaturi je 2 dni, v hladilniku 1 teden in na – 20° C 2 meseca. Analizo motijo hemoliza (lažno zvečani rezultati), močno lipemični vzorci, amonijak in težke kovine.

3.2.2 Kreatinin

Kreatinin je anhidrid kreatina in z neencimsko reakcijo nastaja v mišicah iz kreatina in kreatin fosfata. Je dušikov odpadni produkt in se izloča preko ledvic skoraj izključno z glomerulno filtracijo (13), v zelo majhnem obsegu pa tudi s tubulno sekrecijo. Koncentracija kreatinina je prvenstveno odvisna od glomerulne filtracije, relativno neodvisna je od vnosa beljakovin, zato je dober pokazatelj ledvične funkcije. Plazemska koncentracija kreatinina je obratno sorazmerna s hitrostjo glomerulne filtracije, torej višja kot je koncentracija kreatinina, nižja je hitrost glomerulne filtracije. Kreatinin nastaja in se

izloča v konstantni meri, ki je sorazmerna mišični masi. Koncentracija kreatinina z leti narašča, odvisna je tudi od mišične in telesne mase. Zvečana koncentracija kreatinina je pokazatelj akutnega ali kroničnega ledvičnega popuščanja in ledvične odpovedi. Znižano koncentracijo pa določimo pri ljudeh z relativno majhno mišično maso, pri starejših ter kahektičnih bolnikih. Referenčne vrednosti: moški 62 – 106 $\mu\text{mol/L}$, ženske: 44 – 97 $\mu\text{mol/L}$.

Princip določanja

Za določanje kreatinina uporabljamo kompenzirani kinetični kolorimetrični test z alkalnim pikratom (Jaffe-jeva reakcija), ki je sledljiv do IDMS (izotopska dilucijska masna spektrometrija, referenčna metoda). Metoda vključuje matematični popravek izmerjene koncentracije kreatinina v celotnem merilnem območju, ki pomeni razliko med Jaffejevo in encimsko metodo. Kreatinin tvori rumeno – oranžno obarvan kompleks s pikrinsko kislino v alkalnem mediju. Spremembo v absorbanco se meri kinetično in je sorazmerna koncentraciji kreatinina v vzorcu (14). Analitične metode na principu Jaffejeve reakcije niso specifične za določanje kreatinina. Z alkalnim pikratom reagirajo tudi proteini, glukoza, askorbat, piruvat, acetoacetat, cefalosporini. Te snovi reagirajo bodisi pred kreatininom ali kasneje, zato je metoda prirejena tako, da zmanjšuje interference psevdokreatininov. Meritev se izvrši v določenem časovnem intervalu, kjer psevdokreatinini ne reagirajo z alkalnim pikratom.

Pred analizo preverimo kvaliteto vzorca. Obstojnost seruma ali plazme v hladilniku je 1 teden in na -20°C 2 meseca. Analizo motijo močno lipemični vzorci, hemolizirani vzorci pa dajo lažno zvečane rezultate. Visoke koncentracije bilirubina in reducirajočih snovi lažno znižujejo dobljene rezultate.

3.2.3 Ocena hitrosti glomerulne filtracije (oGFR)

Hitrost glomerulne filtracije določamo z očistkom endo- ali eksogenih snovi, ki se filtrirajo skozi glomerule in se ne reabsorbirajo ali secernirajo v tubulih. V vsakodnevni laboratorijski praksi uporabljamo za oGFR koncentracijo kreatinina v serumu ali plazmi. oGFR služi, poleg ostalih laboratorijskih kazalcev in kazalcev okvare ledvic, odkritimi s slikovnimi tehnikami, za oceno stopnje okvare ledvic pri akutni in kronični ledvični bolezni. Odvisna je od prehrane, aktivnosti, položaja telesa, sprememb v krvnem tlaku, fizioloških stanj (nosečnost), zdravljenj in mnogih drugih dejavnikov.

Po priporočilih Slovenskega združenja za klinično kemijo (SZKK) iz leta 2009 je formula MDRD za izračun oGFR vnesena v laboratorijski informacijski sistem in velja za bolnike stare od 18 do 75 let (15). oGFR se avtomatično izračuna iz podatkov serumske koncentracije kreatinina, spola in starosti, ob upoštevanju faktorja 175 za metodo, sledljivo do IDMS. Referenčna vrednost: > 60 mL/min/1,73 m².

Formula MDRD:

$$\text{oGFR [mL/min/1,73m}^2] = 175 * (\text{S-krea IDMS } [\mu\text{mol/L}] / 88,4)^{-1,154} * \text{starost [leta]}^{-0,203}$$

pri ženskah pomnožimo še s faktorjem 0,742, v primeru bolnika črne rase pa še s faktorjem 1,212.

Prednost MDRD formule je, da ne potrebujemo podatka o telesni masi bolnika, saj je za izračun potrebna le koncentracija serumskega kreatinina (16). MDRD formula ni primerna za otroke pod 18 let ter starostnike, bolnike z masnim indeksom > 30 kg/m² ter bolnike z normalno ledvično funkcijo (oGFR >90 mL/min/1,73m²), saj v teh primerih daje precenjene vrednosti GFR (17, 18, 19).

CKD-EPI formula:

Formulo so razvili leta 2009, da bi izboljšali natančnost MDRD formule pri vrednostih >60 mL/min/1,73m² in s tem zmanjšali število postavljenih diagnoz ledvičnih obolenj, ki so posledica napačno izračunanih oGFR z MDRD formulo. Uporabljamo štiri različne formule za belo raso in štiri za črnsko raso. Formule za predstavnike bele rase so naslednje (16):

$$\text{ženske s S-krea } < 62 \mu\text{mol/L: oGFR [mL/min/1,73m}^2] = 144 * (\text{S-krea}/61,6)^{-0,329} * (0,993)^{\text{starost}}$$

$$\text{ženske s S-krea } > 62 \mu\text{mol/L: oGFR [mL/min/1,73m}^2] = 144 * (\text{S-krea}/61,6)^{-1,209} * (0,993)^{\text{starost}}$$

$$\text{moški s S-krea } < 80 \mu\text{mol/L: oGFR [mL/min/1,73m}^2] = 141 * (\text{S-krea}/79,2)^{-0,411} * (0,993)^{\text{starost}}$$

$$\text{moški s S-krea } > 80 \mu\text{mol/L: oGFR [mL/min/1,73m}^2] = 141 * (\text{S-krea}/79,2)^{-1,209} * (0,993)^{\text{starost}}$$

Cockcroft – Gaultova formula:

$$\text{oGFR [mL/min/1,73m}^2] = (140 - \text{starost [leta]}) * (\text{telesna masa [kg]}) / (0,815 * \text{S-krea } [\mu\text{mol/L}])$$

pri ženskah pomnožimo še s faktorjem 0,85.

Cockcroft – Gaultova formula upošteva predpostavko, da se sinteza kreatinina s starostjo zmanjšuje ter da je višja pri bolnikih s povišano telesno težo. Po drugi strani pa je formula zastavljena za bolnike s stabilnimi vrednostmi serumskega kreatinina. Za razliko od MDRD in CKD-EPI formule je v klinični praksi Cockcroft – Gaultova formula uveljavljena kot praktična metoda za prilagajanje dozirnih režimov določenih zdravil s pomočjo

nomogramov, ki določajo začetni odmerek in/ali odmerni interval na podlagi očistka kreatinina (19).

V naši bolnišnici se glede na specialnost (ortopedska kirurgija) rutinsko ne poslužujemo ocenjene vrednosti očistka kreatinina za namen diagnosticiranja stopnje okvare ledvične funkcije, temveč za prilagajanje režima odmerjanja zdravil, ki se izločajo pretežno ali izključno preko ledvic. Za ta namen klinični farmacevt praviloma uporablja izračun očistka kreatinina s pomočjo Cockcroft – Gaultove formule.

3.2.4 Bilirubin

Bilirubin je končni produkt razgradnje hema, ki izvira iz hemoglobina, mioglobina in encimov, ki vsebujejo hem (citokromi, peroksidaze, ...). Je lipofilni pigment, ki je v visokih koncentracijah toksičen. Celokupni bilirubin v serumu je sestavljen iz štirih frakcij: nekonjugirani (lipofilen, vezan na albumin), nekonjugirani prosti bilirubin, konjugirani (hidrofilen, prehaja skozi membrane) in δ -bilirubin (hidrofilen, kovalentno vezan na albumin). Nekonjugirani bilirubin se, vezan na albumin, prenese v jetra, kjer se s pomočjo encima uridin-difosfat-glukuronil-transferaze (UDP-GT) konjugira z glukuronsko kislino v 80% do diglukuronida in se nato preko žolčnih izvodil izloča v prebavni trakt (20). Konjugirani bilirubin se ne absorbira v prebavnem traktu, v kolonu ga bakterije ponovno dekonjugirajo do urobilinogena, ki se večinoma oksidira do sterkobilina. Ta daje blatu temno barvo. Manjši delež (cca. 20%) urobilinogena pa se preko enterohepatičnega obtoka vrne v jetra, nekaj pa se ga izloči z urinom, tako da je ta v urinu normalno prisoten. Povečana koncentracija bilirubina se lahko kaže kot zlatenica ($> 43 \mu\text{mol/L}$), ki nastane zaradi naslednjih vzrokov: prehepatičnega (prevladuje nekonjugirani bilirubin zaradi razpada eritrocitov), hepatičnega (prevladuje konjugirani bilirubin zaradi jetrnih bolezni) ali pohepatičnega (prevladuje konjugirani bilirubin zaradi delne ali popolne zapore žolčevoda). Referenčna vrednost: celokupni bilirubin $< 17 \mu\text{mol/L}$; direktni bilirubin $< 5 \mu\text{mol/L}$.

Princip določanja

Za določanje bilirubina uporabljamo modificirano Jendrassik - Grofovo diazo reakcijo z DPD (3,5-diklorfenil diazonijev tetrafluoroborat): DPD reagira s konjugiranim bilirubinom (direktna reakcija) in z nekonjugiranim bilirubinom, ki se s pomočjo pospeševalca v reagentu sprosti iz albumina (indirektna reakcija). Z indirektno reakcijo določimo skupni

bilirubin (BIL): osnovni BIL, vezan na albumin, prosti BIL (ni konjugiran, ni vezan na albumin), konjugirani BIL mono- in diglukuronid, δ -BIL in fotoizomere. Z direktno reakcijo določimo topne oblike bilirubina: prosti BIL, konjugirani BIL (mono in diglukuronid), δ -BIL in fotoizomere (20).

Direktna reakcija: bilirubin + DPD \rightarrow azobilirubin

Indirektna reakcija: bilirubin + DPD $\xrightarrow{\text{kofein}}$ azobilirubin

Nastane obarvan azo bilirubin, katerega absorbanco meri aparat pri 540 nm in je sorazmerna koncentraciji bilirubina v vzorcu (14). Istočasno se izmeri še slepa vzorca, s čimer zmanjšamo vpliv interferenc v vzorcu.

Pred analizo preverimo kvaliteto vzorca. Obstočnost seruma ali plazme na sobni temperaturi je 1 dan, v hladilniku 1 teden in na -20°C 2 meseca. Vzorec mora biti zaščiten pred svetlobo. Lažno znižane rezultate dobimo pri močno lipemičnih vzorcih in ob prisotnosti visoke koncentracije askorbata ter metildope. Lažno zvečane rezultate pa dobimo pri hemoliziranih vzorcih in ob prisotnosti visokih koncentracij kreatinina, indola in sečnine.

3.2.5 Aspartat aminotransferaza (AST)

AST katalizira prenos amino skupine iz aspartata na α -ketoglutarat, pri čemer nastane glutamat. Nahaja se v večini tkiv, predvsem pa v srcu, jetrih, skeletnih mišicah in ledvicah. Največ AST se nahaja v jetrih in skeletnih mišicah. Intracelularno ga je 30 % v citosolu, preostanek pa v mitohondrijih. Ob manjših poškodbah celice, prehaja v ekstracelularno tekočino citosolni AST, ob večjih poškodbah pa tudi mitohondrijski. Aktivnost AST je zvečana pri ekstrahepatični holestazi, cirozi, progresivni mišični distrofiji, poškodbi mišic, pljučni emboliji, angini pectoris, hemolitični anemiji in akutnem miokardnem infarktu. Referenčne vrednosti: moški do 0,58 $\mu\text{kat/L}$; ženske do 0,52 $\mu\text{kat/L}$.

Princip določanja

AST določamo s kinetičnim UV optičnim testom z aktivatorjem piridoksal fosfatom, v skladu s standardizacijo po International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC).

Osnovna reakcija: α -ketoglutarat + L-aspartat $\xrightarrow{\text{AST}}$ L-glutamat + oksaloacetat

Indikatorska reakcija: MDH
oksaloacetat + NADH + H⁺ → L-malat + NAD⁺; MDH: malat dehidrogenaza

Koencim NADH se oksidira v NAD⁺, kar zaznamo kot padec absorbance pri 340 nm, ker NAD⁺ ne absorbira svetlobe pri tej valovni dolžini. Padec absorbance je sorazmeren koncentraciji oksaloacetata in s tem aktivnosti AST v vzorcu (14).

Pred analizo preverimo kvaliteto vzorca. Obstočnost seruma ali plazme na sobni temperaturi je 4 dni, v hladilniku 1 teden in na – 20° C 2 meseca. Hemolizirani vzorci dajejo lažno zvečane rezultate zaradi prisotnosti AST v eritrocitih. Močno lipemični vzorci motijo analizo, ker zvišujejo maksimalno absorbance.

3.2.6 Alanin aminotransferaza (ALT)

ALT katalizira prenos amino skupine iz alanina na α-ketoglutarat, pri čemer nastane glutamat in piruvat. Nahaja se pretežno v jetrih, vendar je prisoten tudi v drugih tkivih, predvsem v srcu, skeletnih mišicah, ledvicah, pljučih, trebušni slinavki in eritrocitih ter levkocitih. Je citoplazemski encim in se sprošča v ekstracelularni prostor ob poškodbi celične membrane. Povečana aktivnost ALT se pojavi pred zlatenico. Osamljen porast ALT je znak zamaščenosti jeter. Referenčne vrednosti: moški do 0,75 μkat/L; ženske do 0,56 μkat/L.

Sočasen porast AST in ALT nakazuje na poškodbo hepatocitov zaradi ciroze, ekstrahepatične holestaze, obstrukcije ali zaradi vpliva zdravil. Zelo visoke vrednosti najdemo pri akutnem virusnem hepatitisu, pri toksični poškodbi jeter in nekrozi.

Princip določanja

ALT določamo s kinetičnim UV optičnim testom z aktivatorjem piridoksal fosfatom, v skladu s standardizacijo po IFCC.

Osnovna reakcija: ALT
α-ketoglutarat + L-alanin → L-glutamat + piruvat

Indikatorska reakcija: LDH
piruvat + NADH + H⁺ → L-laktat + NAD⁺

Koencim NADH se oksidira v NAD⁺, kar zaznamo kot padec absorbance pri 340 nm, ker NAD⁺ ne absorbira svetlobe pri tej valovni dolžini. Padec absorbance je sorazmeren koncentraciji piruvata in s tem aktivnosti ALT v vzorcu (14). Priporočila glede stabilnosti seruma in motečih dejavnikov so enaka kot pri AST.

3.2.7 Gama glutamil transferaza (γ GT)

γ GT uvrščamo med peptidaze, ki delujejo na peptide in peptidom sorodne snovi, ki vsebujejo terminalni glutaminski ostanek. γ GT je membranski encim, ki se nahaja v večini tkiv, kjer pa je različno porazdeljen. Najdemo ga v celicah s sekretorno in absorpcijsko funkcijo. γ GT je specifičen encim jeter in žolčnih izvodil. Pomembno vlogo ima tudi pri regeneraciji glutaciona, ki sodeluje proti oksidativnem stresu. Zvečana aktivnost γ GT nakazuje na poškodbo celične membrane (zaradi toksičnih snovi, ishemije, poškodb zaradi vnetja in holestaze) ali povečano sintezo zaradi indukcije z alkoholom in zdravili (fenitoin, fenobarbital, heparin, eritromicin, barbiturati, oralni kontraceptivi z visoko vsebnostjo estrogena). Aktivnost γ GT je zvečana pri hepatitisu, zamaščenih jetrih, alkoholni cirozi jeter, akutnem pankreatitisu. Referenčne vrednosti: moški do 0,92 μ kat/L; ženske do 0,63 μ kat/L.

Princip določanja

γ GT katalizira prenos γ -glutaminske skupine iz substrata γ -glutamil-3-karboksi-4-nitroanilid na glicilglicin. Med reakcijo se iz substrata sprosti kromogen 4-nitroanilin (NA), katerega absorbanco kontinuirano meri aparat pri 410/480 nm (14). Sprememba porasta absorbanca je sorazmerna z aktivnostjo encima v vzorcu.

Reakcija:



Pred analizo preverimo kvaliteto vzorca. Obstojnost seruma ali plazme v hladilniku je 1 teden in na -20°C 6 mesecev. Interference zaradi hemolize, ikteričnosti ali lipemičnosti vzorca so zelo majhne. Močno hemolizirani vzorci dajejo lažno znižano aktivnost γ GT.

3.2.8 Laktat dehidrogenaza (LDH)

LDH je glikolitični encim in ga uvrščamo med NAD oksidoreduktaze. Sodeluje v končni reakciji glikolize, kjer katalizira reverzibilno reakcijo oksidacije laktata v piruvat. LDH je citoplazemski encim, ki se nahaja v vseh celicah, kjer poteka glikoliza. Največ ga je v skeletnih mišicah, jetrih, srcu, pljučih, ledvicah in krvnih celicah. Zaradi nespecifičnosti ima omejeno diagnostično uporabo. Pomemben je pri diagnostiki jetrnih bolezni (za diferenciacijo zlatenice), hemolitične anemije in bolezni eritropoetskega sistema ter bolezni mišic in srca. Celotni LDH v serumu je skupek 5 izoencimov, sestavljenih iz 4 podenot. Poznamo dva tipa podenot M (mišični) in H (srčni). Obstaja tudi na

imunoglobuline vezani makro LDH. Referenčne vrednosti: moški do 4,13 μ kat/L; ženske do 4,12 μ kat/L.

Princip določanja

LDH katalizira reakcijo oksidacije laktata v piruvat pri pH 9,4, pri čemer se koencim NAD reducira v NADH. Porast absorbance se meri kontinuirano pri 340 nm, porast je sorazmeren katalitični aktivnosti LDH v vzorcu (14).

Reakcija: LDH
laktat + NAD \rightarrow piruvat + NADH + H

Pred analizo preverimo kvaliteto vzorca. Obstočnost seruma ali plazme na sobni temperaturi je 4 dni, v hladilniku 1 teden in na -20°C 2 meseca. Za analizo LDH moramo serum ločiti od celic čim prej, najkasneje v 1 uri. Pri hemolizi dobimo lažno zvečane rezultate. Zvečane aktivnosti LDH povzročajo tudi nekatera zdravila: alopurinol, amiodaron, kaptopril, salicilati, naproksen, paracetamol, ranitidin, metildopa, barbiturati in penicilamin. Povečana aktivnost LDH nastane tudi zaradi močno povečanega števila levkocitov in trombocitov.

3.2.9 C – reaktivni protein (CRP)

CRP je beljakovina (pentaksin) akutne faze, ki se sintetizira v jetrih kot odgovor na sproščanje vnetnih citokinov (predvsem interleukina 6) in se določa kot nespecifičen pokazatelj okužbe oz. vnetnega procesa. Porast koncentracije v krvi zaznamo že 6 – 12 ur po okužbi, vnetni reakciji, operativnem posegu, nekrozi tkiva ali poškodbi. Vrh doseže v 48 – 72 urah. Z okrevanjem in ustrezno antibiotično terapijo začne koncentracija padati po 1 – 4 dneh in se normalizira v 2 – 3 tednih. Povečana koncentracija CRP je vedno povezana s patološkimi spremembami v organizmu, dvig in padec vrednosti pa tesno sledi poteku bolezni. CRP ni odločujoč pokazatelj bakterijske okužbe, zato moramo rezultate interpretirati skupaj s klinično sliko in ostalimi laboratorijskimi testi. Referenčna vrednost: do 5 mg/L.

Princip določanja

CRP določamo z imuno turbidimetrično lateks metodo. CRP v vzorcu reagira s protitelesi vezanimi na lateks delce v glicinskem pufru. V reakciji nastanejo agregati, ki povečajo motnost zmesi, zaradi česar pade intenziteta vpadne svetlobe in povečanja absorbance. Aparat meri motnost kot absorbanco pri 340 nm in poda koncentracijo v mg/L, glede na

nelinearno kalibracijsko krivuljo (14). Absorbanca je sorazmerna koncentraciji CRP v vzorcu.

Pred analizo preverimo kvaliteto vzorca. Obstočnost seruma ali plazme na sobni temperaturi je 11 dni, v hladilniku 2 meseca in na -20°C 3 mesece. Močno lipemični in hemolizirani vzorci motijo analizo zaradi motnosti. Lipemični vzorci dajejo lažno zvečane rezultate. Ravno tako povzročajo lažno zvečane rezultate vzorci, ki vsebujejo heterofilna protitelesa.

4 NAMEN DELA

Z namenom ugotavljanja vpliva ledvične in jetrne funkcije bolnikov na farmakološke lastnosti vankomicina bomo izvedli retrospektivno raziskavo, s katero bomo zajeli podatke bolnikov, ki so bili zdravljeni z vankomicinom v Ortopedski bolnišnici Valdoltra v obdobju 2009 – 2012. V raziskavo bomo vključili bolnike, ki so bili zdravljeni z vankomicinom zaradi okužbe ortopedskega vsadka, s sevi na meticilin odpornih stafilokokov oz. so bolniki kolonizirani z MRSA oz. MRSE ali so imeli predhodno mikrobiološko dokazano okužbo s temi sevi.

Proučili bomo odnos med serumsko koncentracijo vankomicina (odvisna spremenljivka) in koncentracijami sečnine, kreatinina, očistka kreatinina, bilirubina, AST, ALT, γ GT, LDH, CRP ter telesne mase (sočasne spremenljivke). Opazovali bomo dinamiko gibanja laboratorijskih analitov in nato podatke uporabili za postopen razvoj populacijskega farmakokinetičnega modela z metodo NONMEM. Dobljeni model bomo validirali in ga uporabili za oceno farmakokinetičnih parametrov pri posameznem bolniku. Na podlagi mikrobiološkega izvida in podatkov o porazdelitvi vrednosti minimalne inhibitorne koncentracije iz baze EUCAST bomo nato izračunali verjetnost, da je AUC_{24}/MIK večji od 400. S pomočjo izračunane verjetnosti ustrezne vrednosti indeksa antibiotične učinkovitosti bomo analizirali učinkovitost terapije z vankomicinom.

5 METODE

5.1 Bolniki

V raziskavo smo vključili 37 bolnikov (18 žensk in 19 moških) starih od 23 do 84 let, ki so se zdravili v OBV zaradi okužbe ortopedskega vsadka. Podatke, ki smo jih vključili v raziskavo, smo pridobili iz popisov bolnikov, laboratorijskega informacijskega sistema in bolnišničnega informacijskega sistema. V raziskavo smo vključili le tiste bolnike, ki so imeli v popisu in laboratorijskem informacijskem sistemu zadostno količino podatkov za nadaljnjo obdelavo. Podatki o bolnikih, ki smo jih pridobili so: časovni interval zdravljenja, režim odmerjanja, spol, starost, teža, višina, povzročitelj okužbe, serumska koncentracija vankomicina in serumske koncentracije biokemičnih parametrov (sečnina, kreatinin, bilirubin, AST, ALT, γ GT, LDH, CRP). Serumske koncentracije vankomicina, sečnine in kreatinina so bile določane pri vseh bolnikih. Bilirubina nismo določali pri osmih bolnikih, LDH nismo določali pri sedmih bolnikih. AST, ALT in γ GT nismo določali pri šestih bolnikih in pri enem bolniku ni bil določen CRP.

Trajanje zdravljenja z vankomicinom je bilo od 5 do 45 dni. Vankomicin je bil apliciran v obliki kratkotrajne intermitentne infuzije v 12, 18 ali 24 urnih intervalih, v posameznih odmerkih 0,25 – 2,5 g. Vankomicin smo razredčili s fiziološko raztopino in raztopino infundirali 1 – 2 uri, odvisno od odmerka. Za določanje serumske koncentracije vankomicina uporabljamo minimalno koncentracijo v krvi v ravnotežnem stanju (*trough* koncentracija). V naši ustanovi uporabimo za obravnavo bolnika, ki prejema antibiotično zdravljenje, timski pristop pri katerem sodelujejo specialist ortoped, specialist klinične farmacije ter specialist medicinske biokemije. Vzorec krvi za določitev minimalne koncentracije moramo odvzeti pred aplikacijo odmerka v ravnotežnem stanju. Po dajanju začetnega režima odmerjanja vankomicina ravnotežno stanje za večino bolnikov nastopi pred aplikacijo 4. ali 5. odmerka (3, 4). Po dogovoru določi interval določanja serumskih koncentracij vankomicina specialist klinične farmacije, ki tudi prilagaja odmerke glede na izmerjene serumske koncentracije. Intervali so vsaj v začetnem obdobju po uvedbi zdravljenja z vankomicinom krajši od intervala 4 – 5 odmerkov. V večini primerov je namreč šlo za bolnike, katerim je bilo zdravljenje z vankomicinom vpeljeno takoj po obsežnem operativnem posegu in so bili praviloma hemodinamsko in elektrolitsko nestabilni. Prav tako je nujno potrebno zaradi prisotnosti umetnega vsadka in značilnosti

pri tvorbi stafilokoknega biofilma čim prej doseči terapevtske serumske koncentracije. Vse to je zahtevalo individualni pristop pri odločitvi o pogostnosti določanja serumskih koncentracij vankomicina.

Biokemični parametri so bili določani nekajkrat tedensko, odvisno od kliničnega stanja bolnika in od presoje zdravnika in/ali specialista klinične farmacije. Biokemične parametre smo določali spektrofotometrično v Medicinskem laboratoriju OBV. Serumske koncentracije vankomicina smo določali z direktno kemiluminiscenčno metodo. V letih 2009 – 2011 so analize opravili v Biokemičnem in hematološkem laboratoriju Splošne bolnišnice Izola, od januarja 2012 pa v Medicinskem laboratoriju OBV. Povzročitelje okužb so iz tkivnih vzorcev določili v Mikrobiološkem laboratoriju Inštituta za varovanje zdravja Koper z disk – difuzijsko metodo v agarju.

5.2 Populacijsko farmakokinetično modeliranje

Podatke smo modelirali z uporabo računalniškega programa NONMEM, ki uporablja nelinearen model mešanih učinkov (20). Program omogoča izdelavo populacijskega farmakokinetičnega modela, ki vključuje izračun farmakokinetičnih parametrov (očistka in volumna porazdelitve), vpliv sočasnih spremenljivk in intraindividualno (rezidualno) ter interindividualno variabilnost. Program sočasno analizira podatke vseh bolnikov in oceni vpliv sočasnih spremenljivk, zaradi česar je uporaben za analizo razpršenih in navidezno nepovezanih podatkov (21). V NONMEM se interindividualna variabilnost označuje s spremenljivko η in njena varianca z ω^2 . Rezidualna variabilnost se označuje s spremenljivko ϵ in opisuje razliko med napovedano in opazovano vrednostjo spremenljivke pri istem osebk. Varianca rezidualnih razlik je σ^2 .

5.2.1 Priprava vhodnih podatkov

Pri bolnikih, pri katerih so bili določani vsi proučevani biokemični parametri v obdobju zdravljenja z vankomicinom, smo, v kolikor ni bila dejansko izmerjena, privzeli ali ocenili kot začetno in/ali končno vrednost nekega parametra določitev, ki je bila najbližje iskanemu datumu. Vrednosti med dejanskimi določitvami pa smo linearno interpolirali z algoritmom v MS Excell, ki smo ga razvili za potrebe naše naloge (priloga 1). Korelacijo med interpoliranimi in izmerjenimi vrednostmi smo ocenili s koeficientom korelacije R^2 .

Bolnikom, katerim nismo spremljali jetrne funkcije in pri bolniku, pri katerem ni bil določen CRP, smo privzeli, da so vrednosti manjkajočih biokemičnih parametrov srednje vrednosti vseh bolnikov naše proučevane populacije. Teh vrednosti nismo interpolirali in se niso spreminjale v obdobju zdravljenja z vankomicinom.

Pri vrednostih CRP pod 5,0 mg/L smo privzeli, da je vrednost 5,0 mg/L. Nobena izmerjena vrednost ni bila točno 5,0 mg/L.

5.2.2 Razvoj populacijskega farmakokinetičnega modela

Končni populacijski farmakokinetični model smo razvijali postopoma. V prvi stopnji smo oblikovali osnovni model (ang. Base model). Preskusili smo enoprostorni in dvoprostorni osnovni model, vendar smo se v nadaljevanju odločili za enoprostorni model, ker med njima ni bilo statistično pomembne razlike.

Struktura osnovnega modela, kjer je $\Theta_1 = Cl = 3,80$ in $\Theta_2 = V = 144$:

$$TVCL = \theta_1$$

$$TVV = \theta_2$$

Interindividualno variabilnost (IIV) smo opisovali z naslednjima enačbama, kjer je $\eta_1 = 3,8$ in $\eta_2 = 0,467$:

$$CL = TVCL \times e^{\eta_1}$$

$$V = TVV \times e^{\eta_2}$$

V nadaljevanju smo osnovni model postopno razvijali s postopnim uvajanjem sočasnih spremenljivk (ang. Stepwise covariate modeling): sečnina, kreatinin, ocena očistka kreatinina, celokupni in direktni bilirubin, AST, ALT, γ GT, LDH, CRP in telesna masa.

Očistek kreatinina smo izračunali s Cockcroft – Gaultovo metodo, kjer smo v prvem primeru upoštevali dejansko telesno maso bolnikov, v drugem primeru pa smo uporabili formulo po James-u, s katero smo odšteli maso telesne maščobe in za izračun očistka kreatinina uporabili telesno maso brez maščob (ang. lean body weight – LBW). Pri razvoju polnega in končnih modelov smo uporabili očistek kreatinina, izračunan z LBW (v nadaljevanju označen kot Cl_{Cr}).

$$LBW \text{ (moški)} = 1,10 * \text{telesna masa} - 128 * (\text{telesna masa}/\text{višina})^2$$

$$LBW \text{ (ženske)} = 1,07 * \text{telesna masa} - 148 * (\text{telesna masa}/\text{višina})^2$$

Odnos med sočasnimi spremenljivkami in farmakokinetičnimi parametri vankomicina smo opisovali z linearnim in potenčnim modelom. Značilnost vpliva sočasne spremenljivke smo ocenjevali z znižanjem vrednosti objektivne funkcije (ang. objective function value – OFV) in nepojasnjene interindividualne (ω^2) in rezidualne (σ^2) variabilnosti. Razlika OFV se porazdeljuje skladno s χ^2 porazdelitvijo. Za statistično pomembne vplive sočasnih spremenljivk smo privzeli tiste, ki so povzročile spremembo OFV, ki je bila večja kot 3,84, kar ustreza stopnji značilnosti $p < 0,05$ pri 1 stopinji prostosti. Polni model (ang. Full model) smo razvili z vključitvijo vseh statistično pomembnih sočasnih spremenljivk v osnovni model. Struktura polnega modela:

$$TVCL = \theta_1 \times (1 + \theta_7 \times (DBIL - 1,6)) \times (1 + \theta_5 \times (AST - 0,37)) \\ \times (1 + \theta_4 \times (CLC2 - 120))$$

$$TVV = \theta_2 \times (1 + \theta_9 \times (AST - 0,37)) \times \left(\frac{TBIL}{9}\right)^{\theta_8} \times \left(\frac{WT}{70}\right)^{\theta_6}$$

Opomba: TVCL = tipična vrednost očistka vankomicina, TVV = tipična vrednost volumna porazdelitve vankomicina, WT = telesna masa, $\theta_1=Cl=3,91$ $\theta_2=V=164$ $\theta_4=CLC2=0,0081$ $\theta_5=AST=-0,491$ $\theta_6=WT=1$ $\theta_7=BILD=0,001$ $\theta_8=BILT=0,001$ $\theta_9=AST=0,001$

V naslednji stopnji smo polni model reducirali tako, da smo sočasne spremenljivke postopoma izločali. Za statistično pomembne sočasne spremenljivke smo privzeli tiste, ki so povzročile spremembo OFV za več kot 10,83, kar ustreza stopnji značilnosti $p < 0,001$ pri 1 stopinji prostosti. Po redukciji smo dobili končni populacijski farmakokinetični model (ang. Final model), ki smo ga v nadaljevanju še dodatno izboljšali, kar smo ocenili s primerjavo vrednosti OFV. Nižjo vrednost OFV kot ima model, bolje opisuje farmakokinetične lastnosti učinkovine v populaciji. Razvili smo 5 končnih modelov, ki so opisani v tabeli 5.1.

Tabela 5.1: Kratak opis končnih PPK modelov

model	opis modela
1	vzratna interpolacija očistka kreatinina (Cl_{Cr}) pri kateri se kot vrednost Cl_{Cr} med dvema realnima meritvama, upošteva naslednja poznana meritva
2	linearna interpolacija Cl_{Cr} pri kateri se vrednosti med dvema realnima meritvama linearno interpolirajo
3	ločitev vpliva intraindividualne in interindividualne variabilnosti Cl_{Cr} na očistek vankomicina
4	interindividualna variabilnost v odnosu med Cl_{Cr} in očistkom vankomicina
5	kombinacija modela 3 in 4

Končni model 1: vrednosti Cl_{Cr} smo interpolirali tako, da smo za vrednosti Cl_{Cr} med dvema znanima vrednostma privzeli naslednjo znano vrednost. Struktura (priloga 2) končnega modela 1:

$$TVCL = \theta_1 \times (1 + \theta_4 \times (CLC2 - 120))$$

$$TVV = \theta_2$$

Opomba: TVCL = tipična vrednost očistka vankomicina, TVV = tipična vrednost volumna porazdelitve vankomicina, $\theta_1=Cl=3,91$ $\theta_2=V=164$ $\theta_4=CLC2=0,00812$

V nadaljevanju smo razvijali parameter TVCL, TVV se ni spreminjal.

Končni model 2: vrednosti Cl_{Cr} smo interpolirali tako, da smo vrednosti Cl_{Cr} med dvema znanima vrednostma linearno interpolirali z računanjem naklona premice. Struktura (priloga 3) končnega modela 2 je enaka končnemu modelu 1.

Končni model 3: ker je očistek kreatinina časovno spremenljiva sočasna spremenljivka PPK modela, smo vpeljali smo dve novi spremenljivki BCOV in DCOV, ki sta definirani z naslednjima enačbama:

$$BCOV = CLC2$$

$$DCOV = CLC2 - BCOV$$

Za izračun BCOV se za vrednost Cl_{Cr} upošteva začetna vrednost očistka kreatinina za posameznega bolnika. Pri izračunu DCOV se za vrednost Cl_{Cr} upošteva vrednost očistka kreatinina ob določenem času za posameznega bolnika (22).

Struktura (priloga 4) končnega modela 3:

$$TVCL = \theta_1 \times (1 + \theta_4 \times (BCOV - 120) + \theta_5 \times DCOV)$$

Opomba: TVCL = tipična vrednost očistka vankomicina, $\theta_1=Cl=3,91$ $\theta_4=BCOV=0,00812$ $\theta_5=DCOV=0,00812$

V enačbi opisuje θ_4 vpliv interindividualne variabilnosti, θ_5 pa vpliv intraindividualne variabilnosti Cl_{Cr} .

Končni model 4: z modelom smo ocenjevali vpliv interindividualne variabilnosti (η_3) Cl_{Cr} na očistek vankomicina, saj lahko sprememba Cl_{Cr} za 1 enoto povzroči veliko spremembo v očistku vankomicina pri eni osebi, medtem ko pri drugi osebi lahko povzroči manjšo ali neznatno spremembo očistka vankomicina. Struktura (priloga 5) končnega modela 4:

$$TVCL = \theta_1 \times (1 + \theta_4 \times \exp(\eta_3) \times (CLC2 - 120))$$

Opomba: TVCL = tipična vrednost očistka vankomicina, $\theta_1=Cl=3,91$ $\theta_4=CLC2=0,00812$ $\eta_3=0,336$.

Končni model 5: sestavljen je iz končnih modelov 3 in 4. Ocenjevali smo vpliv interindividualne ter intraindividualne variabilnosti Cl_{Cr} in interindividualno variabilnost vpliva Cl_{Cr} na očistek vankomicina. Struktura (priloga 6) končnega modela 5:

$$TVCL = \theta_1 \times (1 + \theta_4 \times (BCOV - 120)) + \theta_5 \times \exp(\eta_3) \times DCOV$$

Opomba: TVCL = tipična vrednost očistka vankomicina, $\theta_1=Cl=3,91$ $\theta_4=BCOV=0,00812$ $\theta_5=DCOV=0,00812$ $\eta_3=0,336$

Dobljena modela 1 in 4 smo validirali z metodo večkrat ponovljenega vzorčenja (ang. bootstrap). Generirali smo 1000 naborov podatkov, ki so bili po svoji strukturi enaki realnim pridobljenim podatkom, in na njih ocenili vrednosti parametrov modela. Te ocene smo nato uporabili za oceno točnosti (ang. bias) in natančnosti modela. Točnost modela smo podali kot relativne razlike med povprečjem rezultatov bootstrap (metoda večkrat ponovljenega vzorčenja) in rezultatom končnega modela. Natančnost modela pa kot relativno standardno napako (RSE) bootstrap ocen. RSE smo izračunali s sledečo formulo:

$$RSE (\%) = \frac{\text{standardna napaka (SE)}}{\text{ocenjena srednja vrednost v populaciji}} \times 100\%$$

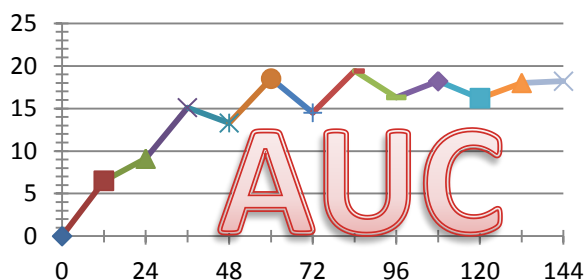
Za razvoj modelov smo uporabili programsko subrutino ADVAN1 TRANS2 za intravensko aplikacijo vankomicina, ki je vključena v podatkovno knjižnico programa NONMEM v.7.2. Model smo ocenjevali z metodo FOCE INTER (ang. first order conitional estimation with interaction), ki je ravno tako del programa NONMEM.

5.3 Analiza učinkovitosti zdravljenja

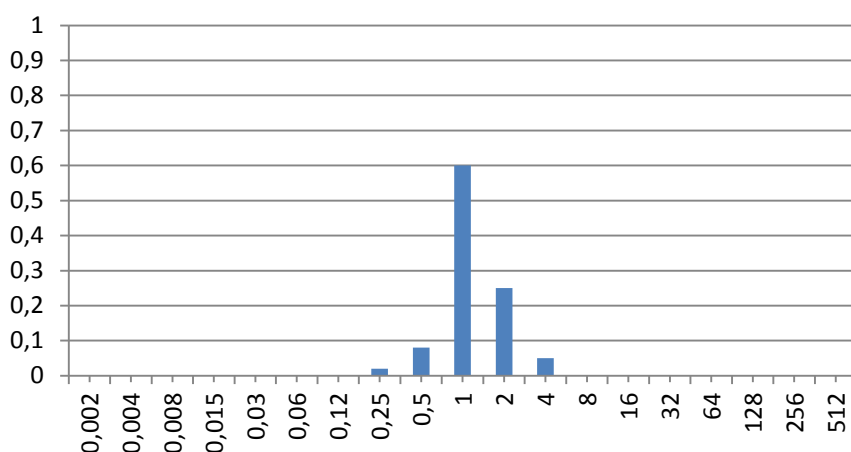
V klinični praksi se za ugotavljanje učinkovitosti antibiotičnega zdravljenja uporabljajo naslednji kriteriji: serumske koncentracije CRP, število levkocitov in diferencialna krvna slika ter klinična slika bolnika. Pri bolnikih, ki smo jih vključili v analizo, so bile vrednosti CRP značilno povečane tudi zaradi operativnega posega in ne zgolj okužbe ortopedskega vsadka, zaradi česar so imele vrednosti CRP pri ugotavljanju kliničnega izida manjši pomen, večji poudarek smo namenili dinamiki padanja vrednosti CRP in klinični sliki bolnika.

Po ameriških priporočilih, se za ocenjevanje učinkovitosti zdravljenja z vankomicinom uporablja razmerje AUC_{24}/MIK (24 – urna površina pod plazemsko krivuljo / minimalna

inhibitorna koncentracija) (3, 4). Minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) je najnižja koncentracija nekega antibiotika, ki še zavira rast preiskovanega mikroorganizma. Vrednost AUC_{24}/MIK mora biti večja od 400. Na sliki 5.1 je predstavljen primer površine pod krivuljo koncentracije (plazemskim profilom) učinkovine (AUC). X – os prikazuje čas v dnevih, y – os pa serumsko koncentracijo učinkovine. Na sliki 5.2 so prikazane MIK distribucije, izražene kot delež mikroorganizmov, pri katerih je bila določena MIK.



Slika 5.1: Primer prikaza površine pod krivuljo serumске koncentracije / čas



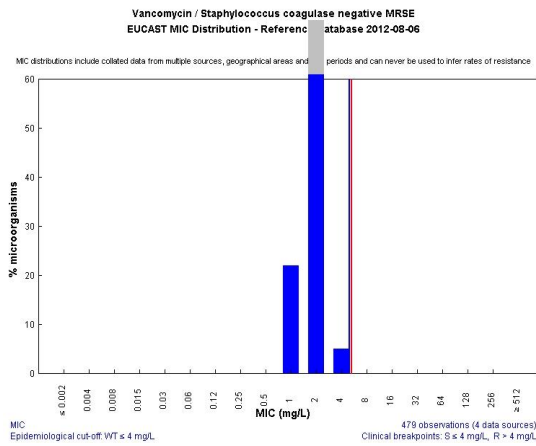
Slika 5.2: Primer MIK distribucije mikroorganizma, izražen kot delež mikroorganizmov pri določeni koncentraciji

Kumulativni AUC za posamezne bolnike smo pridobili s pomočjo programa NONMEM, nato smo izračunali AUC_{24} po naslednji formuli:

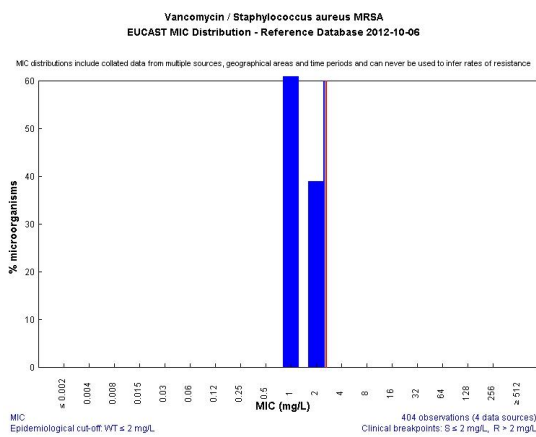
$$AUC_{24} = AUC_{n+1} - AUC_n \quad (n = \text{dan trajanja zdravljenja})$$

MIK distribucije za posamezne povzročitelje okužb smo pridobili iz spletne zbirke podatkov European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (23). Na naslednjih slikah so prikazane MIK distribucije za mikroorganizme, ki so povzročili okužbo

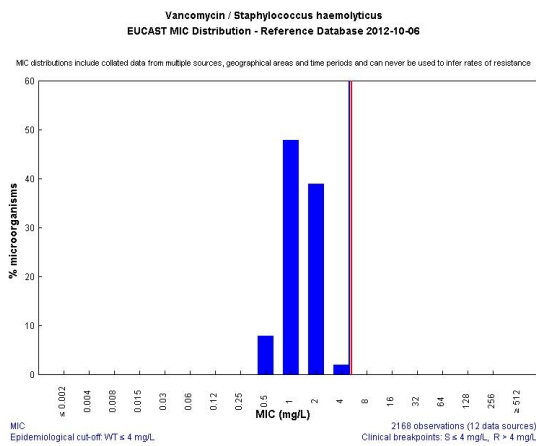
pri proučevanih bolnikih (23). Za povzročitelja *Kocuria rosea* in *Staphylococcus spp.* histogram MIK distribucij ni poznan, zato nismo analizirali učinkovitosti zdravljenja.



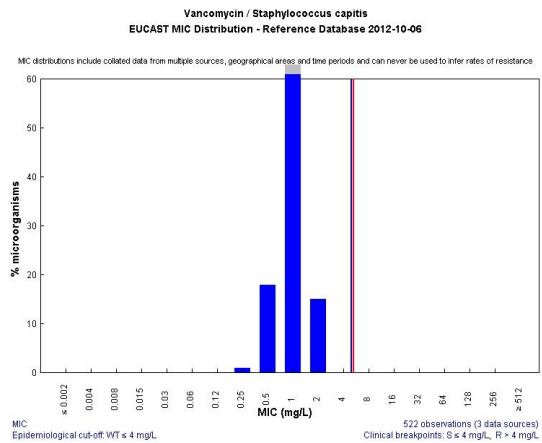
Slika 5.3: MIK distribucija MRSE



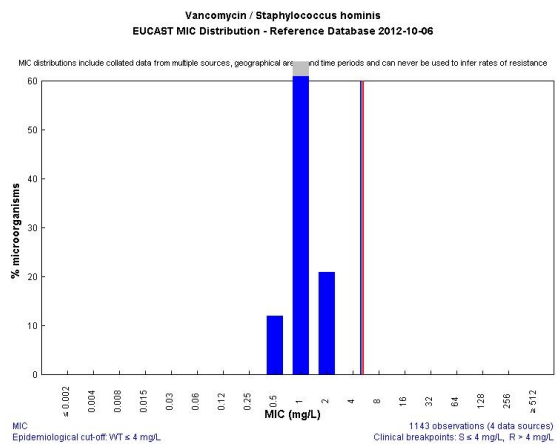
Slika 5.4: MIK distribucija MRSA



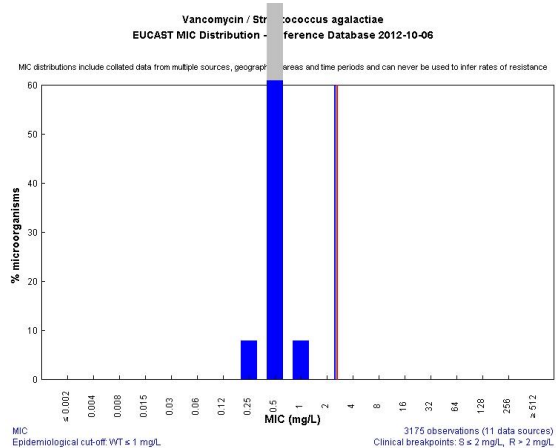
Slika 5.5: MIK distribucija *Staphylococcus haemolyticus*



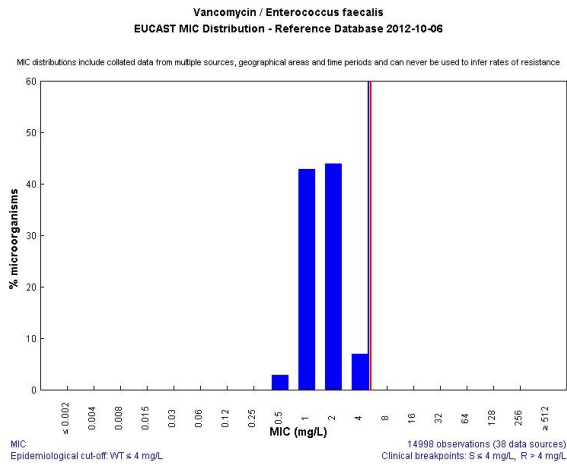
Slika 5.6: MIK distribucija *Staphylococcus capitis*



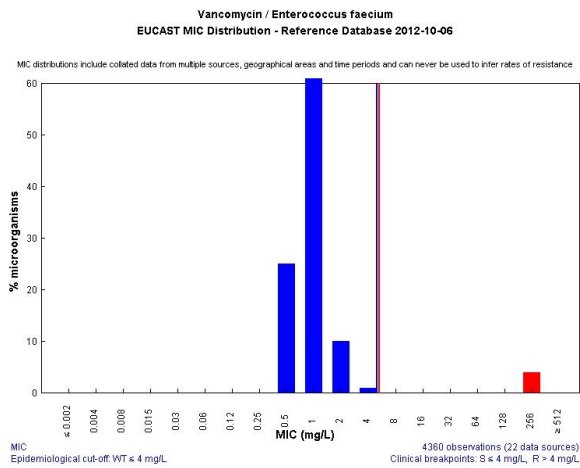
Slika 5.7: MIK distribucija *Staphylococcus hominis*



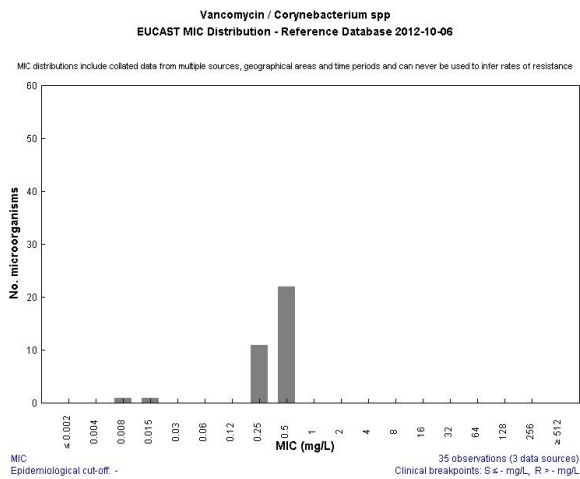
Slika 5.8: MIK distribucija *Streptococcus agalactiae*



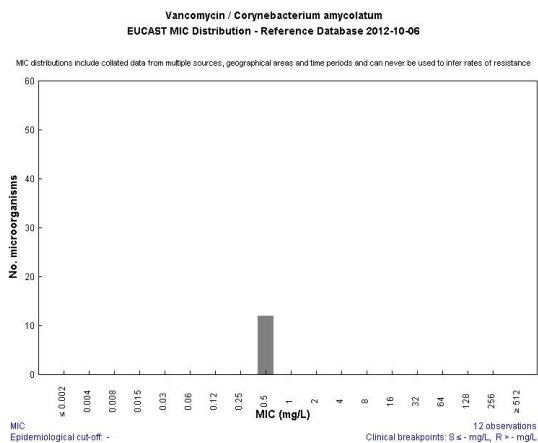
Slika 5.9: MIK distribucija Enterococcus faecalis



Slika 5.10: MIK distribucija Enterococcus faecium

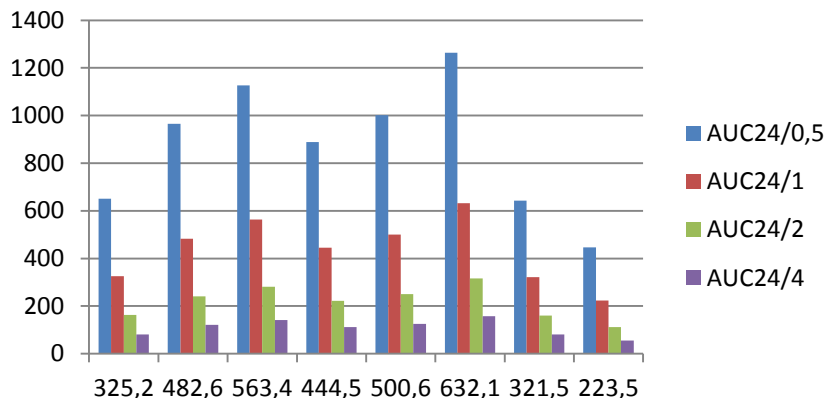


Slika 5.11: MIK distribucija Corynebacterium spp.

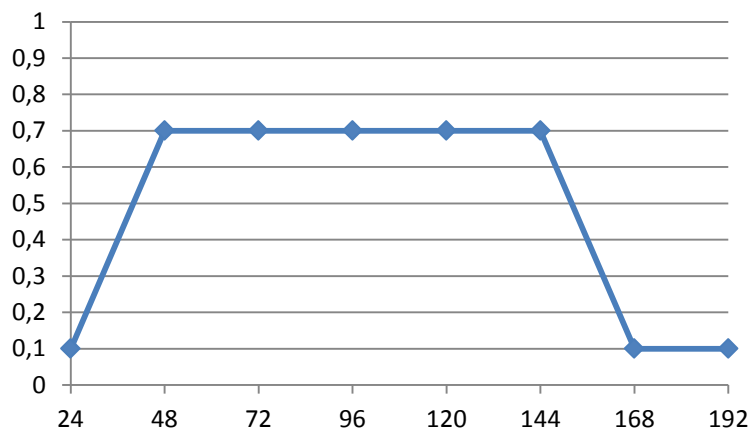


Slika 5.12: MIK distribucija *Corynebacterium amycolatum*

Iz dobljenih podatkov smo izračunali razmerje AUC_{24}/MIK in verjetnost, da je to razmerje večje od 400 (ang. Probability of target attainment – PTA) tekom trajanja terapije z vankomicinom. PTA smo izrazili kot vsoto deležev MIK distribucij, pri katerih je bil $AUC_{24}/MIK > 400$. Na sliki 5.13 je grafično prikazan primer AUC_{24}/MIK v območju MIK 0,5 – 4 mg/L (na x osi so podani namišljeni AUC_{24} , na y osi pa vrednosti AUC_{24}/MIK) in na sliki 5.14 PTA (izražen v deležih) izračunan iz podatkov slike 5.13 (na x osi je predstavljen čas v urah od začetka aplikacije vankomicina, na y osi pa vsota deležev MIK distribucij, pri katerih je bil $AUC_{24}/MIK > 400$).



Slika 5.13: Primer prikaza razmerij AUC_{24} / MIK



Slika 5.14: Primer prikaza Probability of target attainment – PTA

Dobljene rezultate smo primerjali s kliničnim izidom zdravljenja z vankomicinom, ki smo ga pridobili iz bolnišničnega in laboratorijskega informacijskega sistema.

6 REZULTATI

6.1 Bolniki

V nalogo smo vključili bolnike, ki so bili zdravljeni v Ortopedski bolnišnici Valdoltra v letih 2009 – 2012. V nalogo smo vključili 19 moških in 18 žensk. Bolnike smo zdravili z vankomicinom v primeru okužbe ortopedskega vsadka s proti metilicinu odpornimi stafilokoki ter enterokoki in mikrokokki, glede na njihovo občutljivost. Pri dveh bolnikih sta okužbo povzročila 2 različna povzročitelja. Povzročitelji okužb so prikazani v tabeli 6.1.

Tabela 6.1: Povzročitelji okužb ortopedskih vsadkov

povzročitelj	št. bolnikov
MRSE	22
<i>Staphylococcus capitis</i>	4
MRSA	2
<i>Staphylococcus hominis</i>	2
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2
<i>Streptococcus agalactiae</i> (skupina B)	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	1
<i>Kocuria rosea</i>	1
<u>2 različna povzročitelja:</u>	
<i>Enterococcus faecium</i> in <i>Corynebacterium amycolatum</i>	1
<i>Staphylococcus spp.</i> in <i>Corynebacterium spp.</i>	1

Starost bolnikov je bila med 23 – 84 let, 68 ± 12 let (aritmetična sredina \pm SD), višina 148 – 182 cm, 168 ± 10 cm in telesna masa 54 – 130 kg, 85 ± 19 kg. Telesno maso smo korigirali s formulo po James-u (LBW), povprečna vrednost LBW v populaciji je bila 56 ± 11 kg. Demografski podatki celotne populacije so predstavljeni v tabeli 6.2.

Tabela 6.2: Demografski podatki celotne populacije \pm standardni odklon (SD)

	starost [leta]	višina [cm]	telesna masa [kg]
povprečna vrednost \pm SD	68 ± 12	168 ± 10	85 ± 19

Skupno smo določili 242 koncentracij vankomicina, pri posameznih bolnikih od 1x do 15x, najpogosteje 6x. Pri sedmih bolnikih so bile koncentracije vankomicina pri vseh meritvah izven priporočenega območja. Pri treh bolnikih (ID 1, 20 in 22) nismo dosegli minimalnega priporočenega nivoja $10 \mu\text{mol/L}$, pri dveh bolnikih (ID 17 in 31) so bile koncentracije tekom zdravljenja vedno višje od $14 \mu\text{mol/L}$ in pri dveh bolnikih (ID 12 in 21) pa so nihale

pod in nad priporočenim območjem koncentracije vankomicina. V tabeli 6.3 so predstavljene povprečne vrednosti izmerjenih koncentracij vankomicina v $\mu\text{mol/L} \pm$ standardni odklon ter število meritev koncentracije vankomicina pri posameznem bolniku.

Tabela 6.3: Povprečne vrednosti izmerjenih koncentracij vankomicina \pm standardni odklon

ID	št. meritev	vanko [$\mu\text{mol/L}$] \pm SD	ID	št. meritev	vanko [$\mu\text{mol/L}$] \pm SD
1	1	6	20	6	9 ± 1
2	6	14 ± 3	21	5	14 ± 7
3	8	12 ± 3	22	9	6 ± 1
4	11	10 ± 4	23	5	14 ± 3
5	6	13 ± 5	24	8	11 ± 2
6	11	13 ± 4	25	4	14 ± 1
7	15	13 ± 4	26	14	13 ± 4
8	6	17 ± 5	27	9	13 ± 4
9	7	11 ± 2	28	9	9 ± 4
10	11	14 ± 4	29	7	9 ± 4
11	4	10 ± 3	30	5	15 ± 2
12	3	13 ± 3	31	6	17 ± 2
13	6	15 ± 7	32	8	13 ± 4
14	5	12 ± 3	33	4	14 ± 3
15	8	13 ± 3	34	3	13 ± 8
16	8	9 ± 2	35	5	12 ± 3
17	2	18 ± 1	36	7	12 ± 2
18	2	11 ± 3	37	5	11 ± 3
19	3	13 ± 2			

Skupno smo določili 361 koncentracij sečnine, 362 koncentracij kreatinina, 154 koncentracij celokupnega in direktnega bilirubina, 187 aktivnosti AST in ALT, 186 aktivnosti γGT , 145 aktivnosti LDH in 316 koncentracij CRP. Biokemičnim parametrom, ki smo jih uporabili pri populacijskem farmakokinetičnem modeliranju, smo interpolirali manjkajoče vrednosti z algoritmom v programu Microsoft Excell. Za oceno ustreznosti

interpolacije smo izračunali koeficient korelacije R^2 med povprečnimi vrednostmi izmerjenega (M) in interpoliranega (I) parametra v populaciji. Srednje vrednosti biokemičnih parametrov in standardni odkloni so predstavljeni v tabeli 6.4. Serumske koncentracije so podane v SI enotah opisanih v uvodu, kjer so podane tudi referenčne vrednosti biokemičnih parametrov.

Tabela 6.4: Izmerjene in interpolirane vrednosti biokemičnih parametrov v populaciji \pm standardni odklon

	UREA	KREA	TBIL	DBIL	AST	ALT	γ GT	LDH	CRP
M	5,9 $\pm 2,7$	85 ± 37	9,0 $\pm 1,7$	1,6 $\pm 0,6$	0,37 $\pm 0,09$	0,42 $\pm 0,20$	1,35 $\pm 0,96$	3,77 $\pm 0,66$	57,2 $\pm 30,0$
I	5,9 $\pm 2,7$	85 ± 37	9,0 $\pm 1,8$	1,6 $\pm 0,6$	0,38 $\pm 0,08$	0,44 $\pm 0,24$	1,40 $\pm 1,02$	3,86 $\pm 0,70$	52,1 $\pm 30,0$
R^2	0,999	0,998	0,944	0,954	0,927	0,937	0,949	0,963	0,954

Opomba: UREA = sečnina, KREA = kreatinin, TBIL = celokupni bilirubin, DBIL = direktni bilirubin, M = izmerjene vrednosti, I = interpolirane vrednosti, R^2 = koeficient korelacije

Korelacijska koeficienta R^2 za sečnino in kreatinin sta visoka, ker sta bila ta dva parametra najbolj pogosto določana, pri bolnikih z moteno ledvično funkcijo običajno vsakodnevno, zato smo potrebovali manj interpoliranih vrednosti.

Bolniki pod zaporednimi številkami 2, 8, 10, 25 in 31 so imeli povišane koncentracije kreatinina.

- Pri bolniku št. 2 je zdravljenje z vankomicinom trajalo 30 dni, začetna koncentracija kreatinina je bila 138 $\mu\text{mol/L}$, končna koncentracija pa 148 $\mu\text{mol/L}$, najnižja koncentracija pa 105 $\mu\text{mol/L}$, največja pa 157 $\mu\text{mol/L}$.
- Pri bolniku št. 8 je bilo prisotno ledvično obolenje. Zdravljenje z vankomicinom je trajalo 23 dni, začetna koncentracija kreatinina je bila 242 $\mu\text{mol/L}$, v nekaj dneh je padla na 187 $\mu\text{mol/L}$ in potem 17. dan ponovno začela naraščati do končne koncentracije 398 $\mu\text{mol/L}$ (pri bolniku je bil v nadaljevanju potreben ponoven operativni poseg zaradi recidiva okužbe).
- Pri bolniku št. 10 je zdravljenje trajalo 31 dni, začetna koncentracija kreatinina je bila 370 $\mu\text{mol/L}$ in je med zdravljenjem padala do končne vrednosti 112 $\mu\text{mol/L}$.
- Pri bolniku št. 25 je zdravljenje z vankomicinom trajalo 19 dni, začetna koncentracija kreatinina je bila 122 $\mu\text{mol/L}$, končna koncentracija pa 130 $\mu\text{mol/L}$, najnižja koncentracija pa 109 $\mu\text{mol/L}$.

- Pri bolniku št. 31 je zdravljenje trajalo 11 dni, začetna koncentracija kreatinina je bila 85 $\mu\text{mol/L}$ in je med zdravljenjem naraščala do končne vrednosti 214 $\mu\text{mol/L}$.

18 od 31 bolnikov, katerim smo merili aktivnost γGT , je imelo povečano aktivnost γGT . Bolnikom 13, 18 in 23 se je aktivnost povečevala. Bolnikom 2, 6, 8, 9, 10, 22, 24 se je aktivnost zmanjševala. Pri bolnikih 3, 25, 26, 28, 30, 36 smo opazili dinamično povečevanje in zmanjševanje aktivnosti γGT . Bolnikoma 12 in 27 se povečana aktivnost γGT ni značilno spreminjala.

Pri bolnikih so bile vrednosti CRP značilno povišane tudi zaradi operativnega posega in ne zgolj okužbe ortopedskega vsadka, zaradi česar smo namenili poudarek le dinamiki padanja vrednosti CRP. Koncentracijo CRP < 5 mg/L smo na koncu zdravljenja z vankomicinom dosegli pri petih bolnikih. Pri enem bolniku koncentracije CRP nismo spremljali in je zato nismo ocenili.

Ostali proučevani biokemični parametri niso kazali večjih odstopanj. Srednje vrednosti biokemičnih parametrov in standardni odkloni za posameznega bolnika so predstavljeni v tabeli 6.5.

Tabela 6.5: Izmerjene in interpolirane vrednosti biokemičnih parametrov bolnikov \pm standardni odklon

ID		UREA	KREA	TBIL	DBIL	AST	ALT	γGT	LDH	CRP
1	M	6,7 \pm 1,4	73 \pm 3							11,7 \pm 5,3
	I	6,7 \pm 1,3	72 \pm 2							11,4 \pm 4,6
2	M	8,1 \pm 1,2	135 \pm 18	11,8 \pm 2,2	2,8 \pm 0,8	0,38 \pm 0,05	0,46 \pm 0,10	3,06 \pm 0,65	3,82 \pm 0,46	61,6 \pm 39,0
	I	8,1 \pm 1,0	135 \pm 17	12,1 \pm 2,1	2,7 \pm 0,5	0,38 \pm 0,04	0,46 \pm 0,10	2,82 \pm 0,65	3,88 \pm 0,35	54,1 \pm 33,8
3	M	4,7 \pm 1,1	46 \pm 4	5,8 \pm 0,7	0,9 \pm 0,3	0,36 \pm 0,09	0,37 \pm 0,13	1,32 \pm 0,50	3,04 \pm 0,82	42,6 \pm 36,7
	I	4,8 \pm 0,9	46 \pm 4	5,8 \pm 0,5	1,0 \pm 0,2	0,37 \pm 0,07	0,37 \pm 0,12	1,37 \pm 0,42	3,17 \pm 0,62	32,4 \pm 40,0
4	M	5,4 \pm 1,5	69 \pm 9	9,4 \pm 2,7	1,7 \pm 1,1	0,31 \pm 0,18	0,32 \pm 0,22	0,55 \pm 0,05	4,65 \pm 1,11	91,9 \pm 74,7
	I	5,4 \pm 1,2	69 \pm 7	9,5 \pm 2,2	1,6 \pm 0,7	0,34 \pm 0,13	0,34 \pm 0,15	0,54 \pm 0,08	4,75 \pm 1,08	83,8 \pm 64,0
5	M	4,7 \pm 0,8	62 \pm 6	11,8 \pm 1,5	1,9 \pm 1,3	0,37 \pm 0,07	0,42 \pm 0,06	0,84 \pm 0,06	5,21 \pm 0,77	72,7 \pm 47,8
	I	4,8 \pm 0,6	61 \pm 4	11,2 \pm 1,5	1,5 \pm 0,5	0,39 \pm 0,03	0,45 \pm 0,10	0,86 \pm 0,04	5,23 \pm 0,93	68,7 \pm 38,1
6	M	5,5 \pm 1,3	70 \pm 14	8,6 \pm 1,4	0,9 \pm 0,4	0,37 \pm 0,12	0,36 \pm 0,19	1,19 \pm 0,72	3,33 \pm 0,38	54,2 \pm 29,2
	I	5,6 \pm 1,1	70 \pm 13	8,5 \pm 1,2	1,0 \pm 0,3	0,37 \pm 0,11	0,35 \pm 0,17	1,16 \pm 0,65	3,48 \pm 0,27	47,5 \pm 24,5

ID		UREA	KREA	TBIL	DBIL	AST	ALT	γGT	LDH	CRP
7	M	6,3 ±1,0	71 ±7	10,3 ±1,1	1,5 ±0,6	0,35 ±0,06	0,15 ±0,02	0,38 ±0,08	4,59 ±0,99	46,6 ±30,7
	I	6,3 ±0,9	72 ±6	9,5 ±0,9	1,4 ±0,3	0,34 ±0,04	0,14 ±0,01	0,34 ±0,07	4,79 ±0,55	40,7 ±27,1
8	M	17,6 ±2,7	229 ±61	12,1 ±2,4	3,0 ±1,0	0,45 ±0,22	0,70 ±0,43	2,82 ±2,63	3,90 ±1,66	102,0 ±73,4
	I	17,8 ±2,5	233 ±65	13,5 ±1,5	3,3 ±0,7	0,53 ±0,13	0,85 ±0,28	3,88 ±1,77	3,51 ±0,77	98,6 ±56,1
9	M	6,9 ±0,7	89 ±4	7,4 ±0,6	1,2 ±0,4	0,42 ±0,06	0,66 ±0,27	1,06 ±0,45	2,73 ±0,15	33,9 ±15,7
	I	6,9 ±0,5	89 ±3	7,3 ±0,4	1,4 ±0,3	0,40 ±0,04	0,56 ±0,17	0,86 ±0,31	2,76 ±0,08	31,7 ±13,6
10	M	11,1 ±3,6	166 ±72	8,5 ±1,9	1,6 ±1,1	0,34 ±0,06	0,55 ±0,11	1,89 ±0,89	2,42 ±0,25	91,4 ±34,1
	I	11,0 ±3,4	167 ±62	8,2 ±1,4	1,4 ±0,8	0,34 ±0,05	0,56 ±0,11	1,70 ±0,76	2,40 ±0,20	80,9 ±30,3
11	M	6,1 ±0,7	74 ±6	9,1 ±2,6	1,3 ±0,8	0,29 ±0,09	0,26 ±0,10	0,54 ±0,12	3,56 ±0,57	42,8 ±42,6
	I	6,2 ±0,5	74 ±4	9,5 ±2,8	1,5 ±0,7	0,32 ±0,08	0,30 ±0,09	0,58 ±0,10	3,68 ±0,43	33,7 ±33,7
12	M	4,9 ±0,4	83 ±4	8,2 ±2,1	1,4 ±0,6	0,57 ±0,12	0,53 ±0,13	3,54 ±0,57	4,37 ±0,90	72,9 ±38,7
	I	4,8 ±0,3	83 ±3	8,6 ±1,3	1,5 ±0,5	0,57 ±0,11	0,54 ±0,08	3,60 ±0,38	4,64 ±0,60	71,7 ±23,9
13	M	6,8 ±1,0	93 ±6	7,5 ±0,9	0,9 ±0,2	0,290 ±0,11	0,32 ±0,15	1,37 ±0,78	3,86 ±1,03	48,8 ±35,9
	I	6,8 ±0,8	93 ±6	7,1 ±0,6	0,9 ±0,2	0,33 ±0,10	0,38 ±0,13	1,61 ±0,71	4,15 ±0,91	32,7 ±25,5
14	M	5,5 ±0,9	42 ±3	6,0 ±0,1	0,8 ±0,3	0,53 ±0,09	0,50 ±0,16	0,41 ±0,06	4,03 ±0,34	9,3 ±8,2
	I	5,5 ±0,6	42 ±2	6,0 ±0,1	0,8 ±0,1	0,54 ±0,04	0,51 ±0,08	0,41 ±0,04	4,04 ±0,27	11,9 ±5,6
15	M	3,9 ±0,6	60 ±5	12,0 ±1,6	2,5 ±0,7	0,25 ±0,06	0,20 ±0,11	0,54 ±0,19	3,66 ±0,40	84,8 ±29,0
	I	3,9 ±0,5	60 ±4	11,9 ±1,2	2,5 ±0,5	0,25 ±0,04	0,19 ±0,09	0,53 ±0,17	3,68 ±0,33	84,7 ±25,4
16	M	4,0 ±0,9	68 ±5	8,5 ±2,6	1,6 ±0,2	0,24 ±0,05	0,23 ±0,07	0,41 ±0,02	2,76 ±0,50	39,3 ±50,9
	I	4,1 ±0,7	68 ±3	8,5 ±1,5	1,6 ±0,1	0,24 ±0,03	0,21 ±0,04	0,40 ±0,01	2,96 ±0,23	30,1 ±36,8
17	M	7,0 ±0,8	110 ±5	6,6 ±0,4	0,8 ±0,1	0,32 ±0,06	0,28 ±0,03	0,66 ±0,20	2,97 ±0,09	36,8 ±17,5
	I	7,0 ±0,6	109 ±4	6,6 ±0,2	0,8 ±0,1	0,33 ±0,03	0,28 ±0,01	0,68 ±0,10	2,98 ±0,08	43,3 ±14,8
18	M	4,3 ±1,7	50 ±9	10,2 ±0,5	1,6 ±0,2	0,39 ±0,06	1,07 ±1,10	1,07 ±0,05	3,95 ±0,10	75,5 ±31,2
	I	4,2 ±1,4	50 ±8	10,0 ±0,4	1,6 ±0,1	0,43 ±0,07	1,36 ±0,56	1,27 ±0,40	3,94 ±0,12	72,5 ±30,7

ID		UREA	KREA	TBIL	DBIL	AST	ALT	γGT	LDH	CRP
19	M	8,5 ±2,7	110 ±9	8,9 ±1,2	1,7 ±0,4	0,35 ±0,06	0,33 ±0,07	0,46 ±0,12	4,31 ±0,40	116,8 ±35,8
	I	8,4 ±2,5	110 ±7	8,7 ±1,0	1,6 ±0,3	0,36 ±0,05	0,35 ±0,07	0,51 ±0,12	4,42 ±0,31	118,0 ±29,3
20	M	4,6 ±0,8	57 ±2			0,41 ±0,05	0,60 ±0,11	0,76 ±0,05		22,3 ±29,2
	I	4,7 ±0,7	57 ±2			0,41 ±0,03	0,61 ±0,11	0,76 ±0,04		17,4 ±19,3
21	M	4,1 ±0,6	99 ±17							40,9 ±18,5
	I	4,0 ±0,4	99 ±12							32,9 ±16,8
22	M	3,2 ±0,8	62 ±5	9,8 ±2,4	1,7 ±0,7	0,55 ±0,16	0,87 ±0,28	2,42 ±1,12	4,82 ±1,15	54,0 ±67,8
	I	3,1 ±0,7	62 ±3	9,1 ±2,3	1,6 ±0,6	0,52 ±0,17	0,79 ±0,27	2,10 ±1,05	5,04 ±0,97	35,6 ±50,5
23	M	4,8 ±1,3	89 ±16	9,3 ±1,0	1,6 ±0,8	0,58 ±0,24	0,50 ±0,19	1,22 ±0,62	3,49 ±0,57	30,4 ±23,7
	I	4,7 ±1,1	89 ±13	9,4 ±0,5	1,7 ±0,3	0,52 ±0,17	0,47 ±0,13	1,55 ±0,55	3,79 ±0,47	26,3 ±21,1
24	M	3,9 ±0,8	57 ±3	8,1 ±1,7	1,7 ±0,5	0,32 ±0,06	0,52 ±0,11	1,65 ±0,20	3,28 ±0,28	26,2 ±12,5
	I	3,9 ±0,6	57 ±2	8,8 ±1,2	1,8 ±0,3	0,32 ±0,05	0,50 ±0,10	1,58 ±0,19	3,23 ±0,35	23,1 ±17,6
25	M	7,6 ±1,2	118 ±7	7,8 ±0,7	1,6 ±0,1	0,30 ±0,03	0,19 ±0,02	1,41 ±0,14	3,49 ±0,39	13,6 ±7,8
	I	7,7 ±0,8	118 ±6	7,9 ±0,6	1,6 ±0,1	0,30 ±0,02	0,18 ±0,01	1,46 ±0,12	3,56 ±0,30	15,1 ±7,4
26	M	5,7 ±0,6	90 ±7	6,3 ±1,1	1,2 ±0,6	0,38 ±0,12	0,44 ±0,12	3,83 ±0,39	3,25 ±1,10	97,7 ±59,5
	I	5,7 ±0,4	90 ±7	6,5 ±0,8	1,2 ±0,4	0,39 ±0,11	0,46 ±0,10	3,78 ±0,41	3,41 ±1,13	81,2 ±57,7
27	M	5,0 ±2,0	84 ±22	8,6 ±0,0	1,9 ±0,6	0,38 ±0,06	0,26 ±0,08	0,99 ±0,07	4,18 ±0,06	70,7 ±36,1
	I	5,1 ±1,6	85 ±20	8,8 ±0,2	1,8 ±0,2	0,36 ±0,03	0,24 ±0,03	1,02 ±0,05	4,13 ±0,45	69,8 ±28,5
28	M	5,3 ±1,1	70 ±5	8,9 ±0,7	1,5 ±0,5	0,27 ±0,03	0,33 ±0,08	1,61 ±0,14	3,78 ±0,62	28,7 ±25,7
	I	5,3 ±0,9	70 ±4	8,8 ±0,9	1,4 ±0,3	0,28 ±0,03	0,33 ±0,07	1,61 ±0,16	3,93 ±0,53	29,4 ±22,9
29	M	2,4 ±0,8	39 ±1							42,0 ±49,7
	I	2,4 ±0,6	39 ±1							20,7 ±30,3
30	M	2,6 ±0,8	67 ±5	9,5 ±0,7	2,3 ±0,4	0,44 ±0,09	0,37 ±0,08	1,37 ±0,22	3,47 ±0,22	79,5 ±56,1
	I	2,6 ±0,6	67 ±4	9,3 ±1,3	2,3 ±0,4	0,42 ±0,10	0,35 ±0,10	1,35 ±0,17	3,46 ±0,33	80,7 ±40,9

ID		UREA	KREA	TBIL	DBIL	AST	ALT	γGT	LDH	CRP
3 1	M	6,1 ±2,8	138 ±66							105,3 ±10,3
	I	5,8 ±2,1	130 ±48							108,9 ±18,8
3 2	M	7,7 ±2,2	98 ±42	10,2 ±0,8	2,3 ±0,2	0,27 ±0,06	0,23 ±0,10	0,44 ±0,09	4,08 ±0,34	58,4 ±47,4
	I	7,7 ±1,7	98 ±28	10,1 ±0,7	2,3 ±0,2	0,29 ±0,03	0,24 ±0,06	0,46 ±0,05	4,15 ±0,33	45,8 ±48,9
3 3	M	7,1 ±1,6	98 ±7	10,2 ±2,1	1,7 ±0,5	0,41 ±0,16	0,43 ±0,09	0,64 ±0,16	3,75 ±0,85	18,8 ±12,2
	I	7,3 ±1,4	99 ±4	10,1 ±1,8	1,7 ±0,4	0,42 ±0,09	0,44 ±0,07	0,66 ±0,10	3,87 ±0,52	19,7 ±11,3
3 4	M	3,7 ±1,2	80 ±19							111,9 ±49,2
	I	3,8 ±0,9	81 ±13							104,5 ±49,8
3 5	M	4,4 ±0,8	44 ±3							
	I	4,4 ±0,5	44 ±2							
3 6	M	7,9 ±1,1	82 ±6			0,34 ±0,07	0,27 ±0,04	2,62 ±0,96	4,71 ±0,69	47,9 ±22,5
	I	8,0 ±1,0	83 ±5			0,36 ±0,03	0,27 ±0,02	2,97 ±0,54	5,00 ±0,39	48,5 ±21,6
3 7	M	4,3 ±0,5	74 ±5	8,6 ±2,8	1,4 ±0,7	0,34 ±0,03	0,40 ±0,08	0,81 ±0,04	3,58 ±0,06	76,0 ±31,7
	I	4,2 ±0,5	74 ±3	8,4 ±1,4	1,3 ±0,3	0,35 ±0,04	0,43 ±0,08	0,85 ±0,17	3,66 ±0,26	67,1 ±22,0

Opomba: UREA = sečnina, KREA = kreatinin, TBIL = celokupni bilirubin, DBIL = direktni bilirubin, M = izmerjene vrednosti, I = interpolirane vrednosti

6.2 Populacijski farmakokinetični model

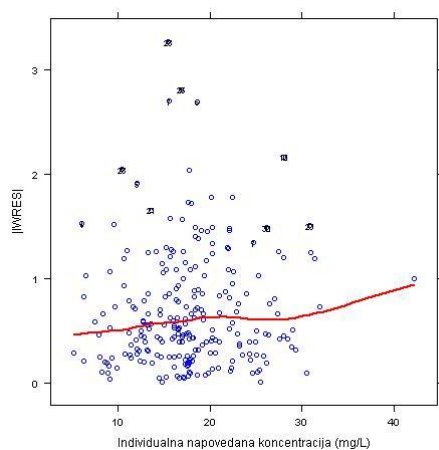
S programsko subrutino ADVAN1 TRANS2 za intravensko aplikacijo vankomicina smo v programskem paketu NONMEM razvili osnovni enoprostorni populacijski farmakokinetični (PPK) model, na podlagi katerega smo ocenili tipično vrednost volumna porazdelitve (TVV), tipično vrednost očistka vankomicina (TVCL), interindividualno in rezidualno variabilnost. Razvili smo enoprostorni in dvoprostorni osnovni model, vendar smo se v nadaljevanju odločili za enoprostorni model, ker med njima ni bilo statistično pomembne razlike. OFV vrednost osnovnega modela je bila 1012,24. Parametri modela so opisani v tabeli 6.6..

Tabela 6.6: Parametri osnovnega modela

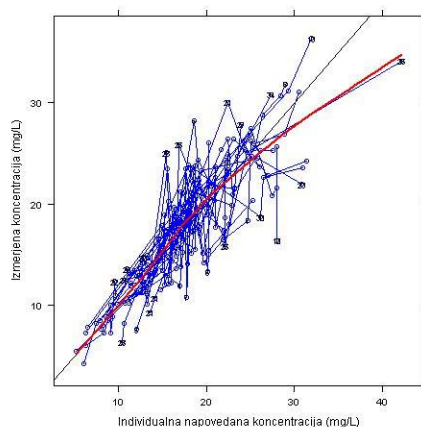
Parameter	Aritmetična sredina (RSE%)
Cl [L/h]	3,91 (9,7)
V [L]	164 (15,4)
Interindividualna variabilnost (IIV)	
% IIV _{Cl}	58,0 (12,8) [0,20]
% IIV _V	71,3 (21,7) [13,2]
korelacija Cl – V	0,456 (17,4)
Rezidualna variabilnost (%)	19,2 (6,7) [12,2]

Opomba: interindividualna variabilnost je podana kot IIV (%), RSE (%), zmanjšanje η (%); rezidualna variabilnost je podana kot rezidualna variabilnost (%), RSE (%), zmanjšanje (ang. shrinkage) η in ϵ [%]. Cl: 3,91 L/h = 65 mL/min. V_d: 164 L = 2,3 L/kg.

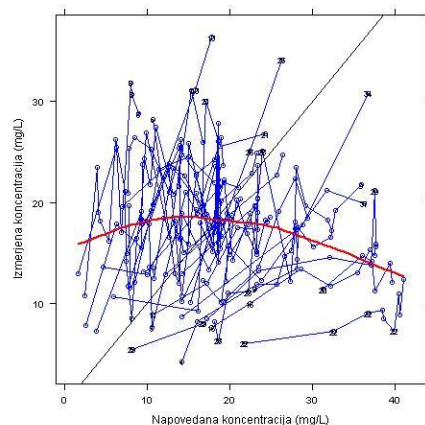
Na naslednjih slikah so prikazani diagnostični diagrami osnovnega modela.



Slika 6.1: Osnovni model - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti absolutni vrednosti ocene rezidualne variabilnosti



Slika 6.2: Osnovni model - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina



Slika 6.3: Osnovni model - Napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina

V nadaljevanju smo v osnovni model postopoma uvajali sočasne spremenljivke (ang. Stepwise covariate modeling). Za statistično pomembne sočasne spremenljivke smo privzeli tiste, ki so povzročile spremembo OFV za več kot 3,84, kar ustreza stopnji značilnosti $p < 0,05$ pri 1 stopinji prostosti. OFV vrednost polnega modela je bila 898,20. Na volumen porazdelitve so imeli vpliv AST (Θ_9), TBIL (Θ_8) in telesna masa (Θ_6), na očistek vankomicina pa AST (Θ_5), DBIL (Θ_7) in očistek kreatina (CLC2) izračunan s Cockroft – Gaultovo formulo, upoštevajoč telesno maso brez maščobnega tkiva (Θ_4). Polni model smo nato reducirali s ponastavljanjem parametrov, ki opisujejo vplive sočasnih spremenljivk na vrednost nič. Za statistično pomembne sočasne spremenljivke smo privzeli tiste, ki so povzročile spremembo OFV za več kot 10,83, kar ustreza stopnji značilnosti $p < 0,001$ pri 1 stopinji prostosti. V tabeli 6.7. so prikazane OFV vrednosti reduciranih modelov, sprememba OFV glede na vrednost polnega modela in stopnja značilnosti.

Tabela 6.7: Redukcija polnega modela

model	OFV	Δ OFV	p
Polni	898.20		
$\Theta_9 = \text{AST} / V_d = 0$	902.33	4.13	0.0423
$\Theta_8 = \text{TBIL} / V_d = 0$	906.76	4.43	0.0353
$\Theta_5 = \text{AST} / \text{CL} = 0$	914.16	7.40	0.0065
$\Theta_6 = \text{WT} / V_d = 0$	924.22	10.07	0.0015
$\Theta_7 = \text{DBIL} / \text{CL} = 0$	933.91	9.69	0.0019
$\Theta_4 = \text{CLC2} / \text{CL} = 0$	1012.24	78.34	$< 10^{-18}$

Z redukcijo polnega modela smo razvili končni model, ki pa smo ga nato dopolnjevali in tako razvili 5 končnih modelov, katerih OFV vrednosti so opisane v tabeli 6.8.

Tabela 6.8: OFV vrednosti končnih modelov

Model	OFV
1	933,91
2	937,03
3	929,96
4	924,96
5	927,92

V nadaljevanju bomo podrobneje predstavili končne modele. Končna modela 1 in 4 smo validirali z generiranjem 1000 naborov podatkov, na katerih smo preverili točnost in natančnost končnega modela.

Končni model 1

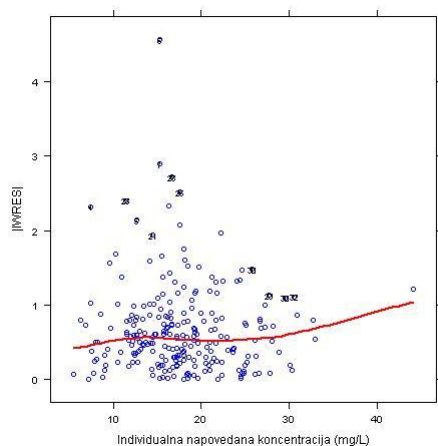
V tabeli 6.9 je predstavljena ocena modela z relativno standardno napako ter rezultati validacije, podani z aritmetično sredino in 95% intervalom zaupanja (95% CI).

Tabela 6.9: Parametri končnega modela 1

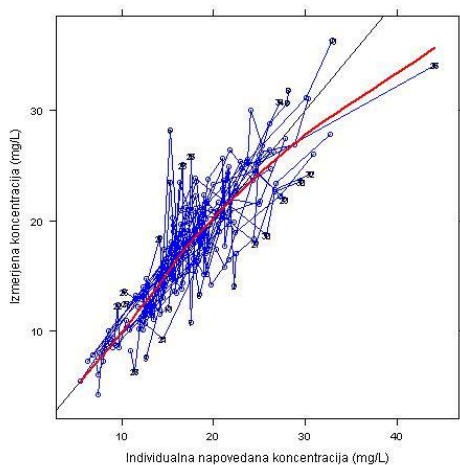
Parameter	Ocena, (RSE%)	Bootstrap Aritmetična sredina, (RSE), (95% CI)
Cl [L/h]	7,73 (8,5)	7,77 (8,7) (6,47 – 9,15)
V [L]	136 (13,0)	136 (13,2) (102 – 172)
Cl _{Cr} [1/(mL/min)]	0,0081 (5,9)	0,0081 (6,0) (0,0071 – 0,0090)
Interindividualna variabilnost (IIV)		
% IIV _{Cl}	28,7 (7,9) [6,1]	28,2 (7,8) (19,5 – 35,3)
% IIV _V	55,5 (20,7) [22,2]	53,5 (21,9) (29,0 – 74,3)
korelacija Cl – V	0,535 (7,3)	0,543 (36,3) (0,188 – 0,861)
Rezidualna variabilnost (%)	18,6 (7,0) [10,7]	18,5 (7,2) (15,7 – 21,0)

Opomba: interindividualna variabilnost je podana kot IIV (%), RSE (%), zmanjšanje η (%); rezidualna variabilnost je podana kot rezidualna variabilnost (%), RSE (%), zmanjšanje (ang. shrinkage) η in ϵ [%]. Bootstrap: iz končnega izračuna aritmetične sredine je bilo izključenih 13 generiranih naborov podatkov (2 zaradi končane minimizacije in 11 z ocenami blizu mejnih vrednosti). Cl: 7,73 L/h = 129 mL/min. V_d: 136 L = 1,9 L/kg. Cl_{Cr} je očistek kreatinina izračunan s Cockroft – Gaultovo formulo, upoštevajoč LBW.

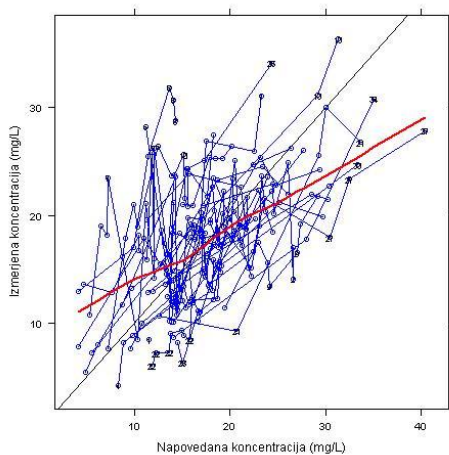
Diagnostični diagrami končnega modela 1 so prikazani na naslednjih slikah.



Slika 6.4: Končni model 1 - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti absolutni vrednosti ocene rezidualne variabilnosti



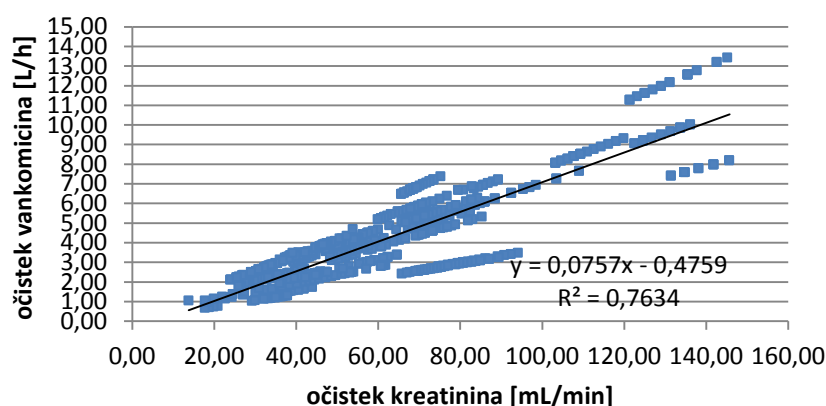
Slika 6.5: Končni model 1 - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina



Slika 6.6: Končni model 1 - Napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina

Iz primerjave slik 6.3 in 6.6 lahko zaključimo, da je pri končnem modelu 1 opazno boljše ujemanje med napovedanimi in izmerjenimi vrednostmi vankomicina kot pri osnovnem modelu.

Iz končnega modela 1 smo izračunali korelacijo med očiščkom vankomicina in očiščkom kreatinina, upoštevajoč telesno maso brez maščob. Korelacijska premica je predstavljena sliki 6.7, kjer so na x osi vrednosti Cl_{Cr} , na y osi pa vrednosti očiščka vankomicina. Enačba dobljene korelacijske premice je $y = 0,0757x - 0,4759$ in korelacijski koeficient R^2 je 0,7634.



Slika 6.7: Korelacija med očiščkom vankomicina, izračunanim s pomočjo končnega modela 1 in očiščkom kreatinina, izračunanim s Cockroft – Gaultovo formulo upoštevajoč LBW

Končni model 2

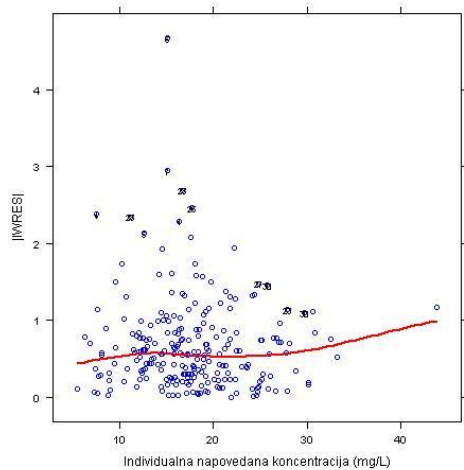
Parametri končnega modela 2 so predstavljeni v tabeli 6.10 kot ocena modela in relativna standardna napaka.

Tabela 6.10: Parametri končnega modela 2

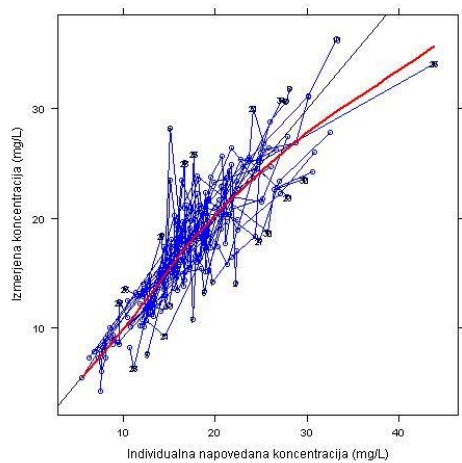
Parameter	Ocena, (RSE%)
Cl [L/h]	7,69 (8,9)
V [L]	136 (13,2)
Cl_{Cr} [1/(mL/min)]	0,0081 (6,3)
Interindividualna variabilnost (IIV)	
% IIV _{Cl}	28,8 (8,1) [6,1]
% IIV _V	55,6 (21,2) [22,4]
korelacija Cl – V	0,531 (7,5)
Rezidualna variabilnost	18,7 (7,3) [10,7]

Opomba: interindividualna variabilnost je podana kot IIV (%), RSE (%), zmanjšanje η (%); rezidualna variabilnost je podana kot rezidualna variabilnost (%), RSE (%), zmanjšanje (ang. shrinkage) η in ϵ [%]. Cl: 7,69 L/h = 128 mL/min. V_d : 136 L = 1,9 L/kg. Cl_{Cr} je očišček kreatinina izračunan s Cockroft – Gaultovo formulo, upoštevajoč LBW.

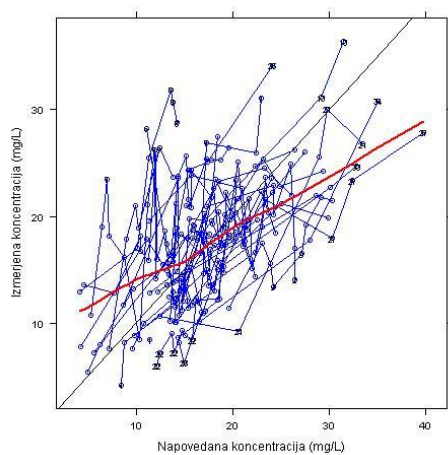
Diagnostični diagrami končnega modela 2 so prikazani na naslednjih slikah.



Slika 6.8: Končni model 2 - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti absolutni vrednosti ocene rezidualne variabilnosti



Slika 6.9: Končni model 2 - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina



Slika 6.10: Končni model 2 - Napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina

Končni model 3

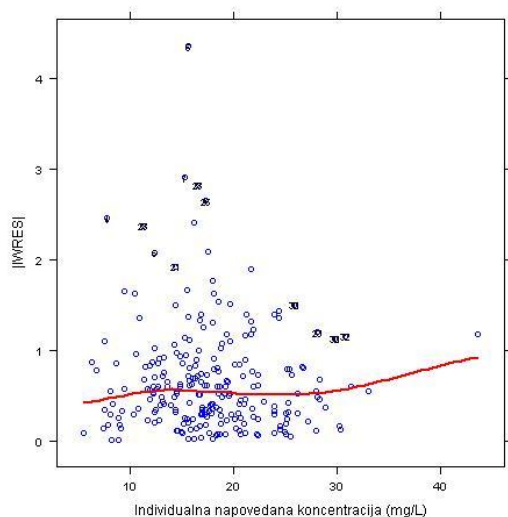
Parametri končnega modela 3 so predstavljeni v tabeli 6.11 kot ocena modela in relativna standardna napaka. V model smo vpeljali dve novi spremenljivki BCOV in DCOV: BCOV označuje začetno vrednost očistka kreatinina za posameznega bolnika in DCOV vrednost očistka kreatinina ob določenem času za posameznega bolnika.

Tabela 6.11: Parametri končnega modela 3

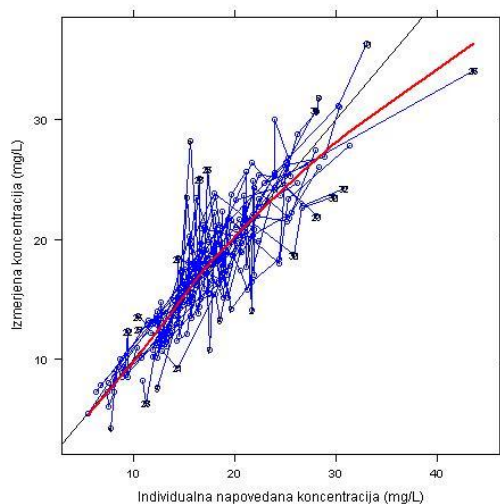
Parameter	Ocena (RSE%)
Cl [L/h]	8,12 (6,9)
V [L]	136 (12,6)
BCOV [1/(mL/min)]	0,0085 (3,8)
DCOV [1/(mL/min)]	0,0066 (14,7)
Interindividualna variabilnost (IIV)	
% IIV _{Cl}	28,1 (7,5) [6,4]
% IIV _V	55,9 (16,7) [20,7]
korelacija Cl – V	0,523 (7,5)
Rezidualna variabilnost	18,4 (6,8) [10,9]

Opomba: interindividualna variabilnost je podana kot IIV (%), RSE (%), zmanjšanje η (%); rezidualna variabilnost je podana kot rezidualna variabilnost (%), RSE (%), zmanjšanje (ang. shrinkage) η in ϵ [%]. Cl: 8,12 L/h = 135 mL/min. V_d: 136 L = 1,9 L/kg.

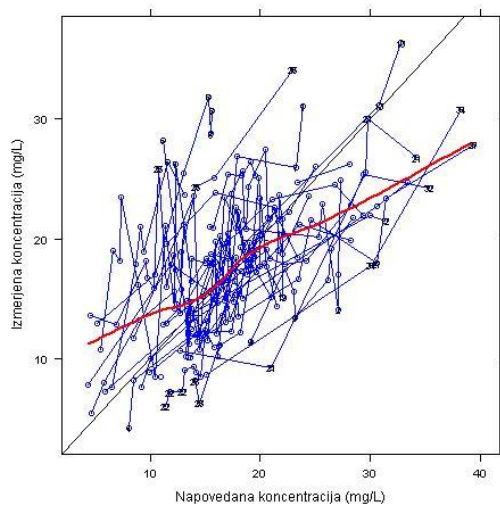
Diagnostični diagrami končnega modela 3 so prikazani na naslednjih slikah.



Slika 6.11: Končni model 3 - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti absolutni vrednosti ocene rezidualne variabilnosti



Slika 6.12: Končni model 3 - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina



Slika 6.13: Končni model 3 - Napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina

Končni model 4

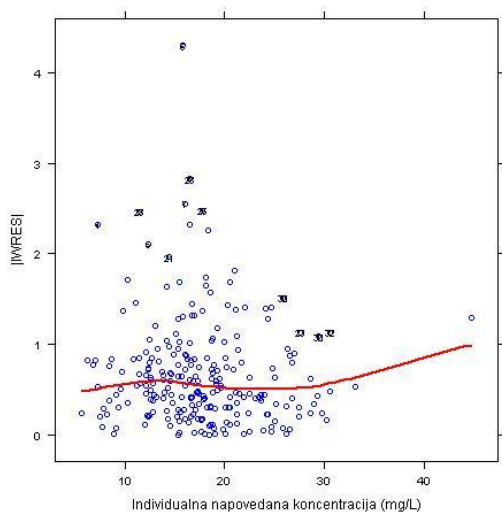
V tabeli 6.12 je predstavljena ocena modela z relativno standardno napako ter rezultati validacije, podani z aritmetično sredino in 95% intervalom zaupanja (95% CI).

Tabela 6.12: Parametri končnega modela 4

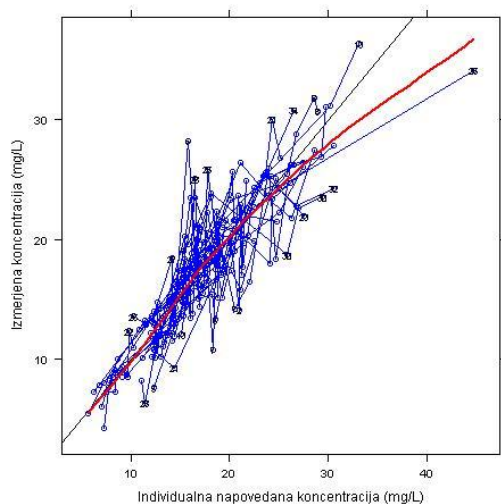
Parameter	Ocena (RSE%)	Bootstrap Aritmetična sredina, (RSE), (95% CI)
Cl [L/h]	8,07 (7,4)	7,88 (6,7) (6,89 – 8,90)
V [L]	136 (12,9)	137 (12,7) (106 – 172)
Cl _{Cr} [1/(mL/min)]	0,0082 (5,3)	0,0081 (4,9) (0,0073 – 0,0089)
Interindividualna variabilnost (IIV)		
% Cl _{Cr} (η_3)	11,2 (5,8)	11,2 (6,4) (3,7 – 17,7)
% IIV _{Cl}	25,7 (9,2) [12,7]	25,8 (8,4) (16,2 – 33,8)
% IIV _V	53,4 (22,1) [17,9]	54,3 (21,2) (30,7 – 73,6)
korelacija Cl – V	0,333 (15,6)	0,813 (5,9) (0,356 – 1,036)
Rezidualna variabilnost	18,3 (6,9) [10,7]	18,3 (6,8) (15,7 – 20,8)

Opomba: interindividualna variabilnost je podana kot IIV (%), RSE (%), zmanjšanje η (%); rezidualna variabilnost je podana kot rezidualna variabilnost (%), RSE (%), zmanjšanje (ang. shrinkage) η in ϵ [%]. Bootstrap: iz končnega izračuna aritmetične sredine je bilo izključenih 368 generiranih naborov podatkov (248 zaradi končane minimizacije in 120 z ocenami blizu mejnih vrednosti). Cl: 8,07 L/h = 135 mL/min. V_d: 136 L = 1,9 L/kg. Cl_{Cr} je očistek kreatinina izračunan s Cockroft – Gaultovo formulo, upoštevajoč LBW.

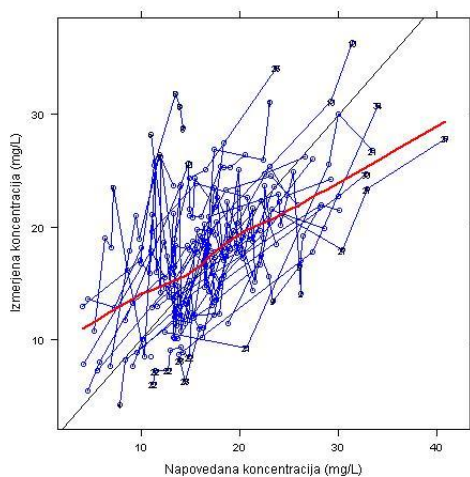
Diagnostični diagrami končnega modela 4 so prikazani na spodnjih slikah.



Slika 6.14: Končni model 4 - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti absolutni vrednosti ocene rezidualne variabilnosti



Slika 6.15: Končni model 4 - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina



Slika 6.16: Končni model 4 - Napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina

Končni model 5

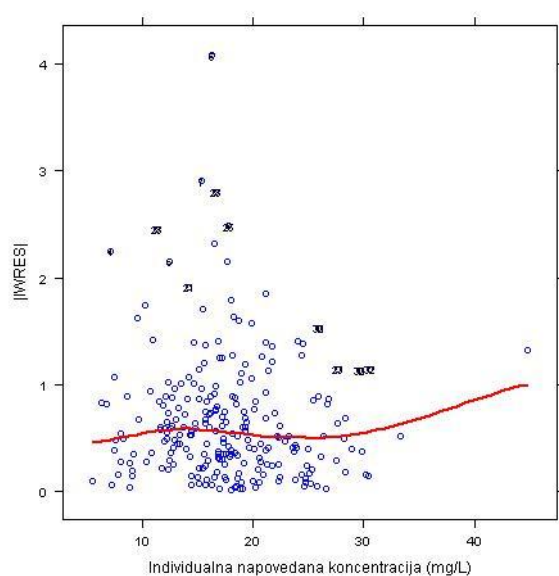
Parametri končnega modela 5 so predstavljeni v tabeli 6.13 kot ocena modela in relativna standardna napaka. V model smo vpeljali dve novi spremenljivki BCOV in DCOV: BCOV označuje začetno vrednost očistka kreatinina za posameznega bolnika in DCOV vrednost očistka kreatinina ob določenem času za posameznega bolnika.

Tabela 6.13: Parametri končnega modela 5

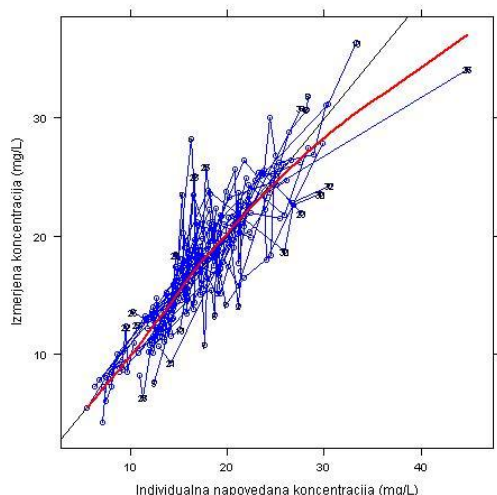
Parameter	Ocena (RSE%)
Cl [L/h]	8,29 (7,1)
V [L]	137 (13,1)
BCOV [1/(mL/min)]	0,0086 (4,1)
DCOV [1/(mL/min)]	0,0072 (15,3)
Interindividualna variabilnost (IIV)	
% Cl _{Cr} (η_3)	30,9 (18,8)
% IIV _{Cl}	27,9 (7,8) [8,2]
% IIV _V	56,9 (22,1) [20,7]
korelacija Cl – V	0,561 (7,9)
Rezidualna variabilnost	18,1 (6,9) [11,7]

Opomba: interindividualna variabilnost je podana kot IIV (%), RSE (%), zmanjšanje η (%); rezidualna variabilnost je podana kot rezidualna variabilnost (%), RSE (%), zmanjšanje (ang. shrinkage) η in ϵ [%]. Cl: 3,91 L/h = 65 mL/min. V_d: 164 L = 2,3 L/kg.

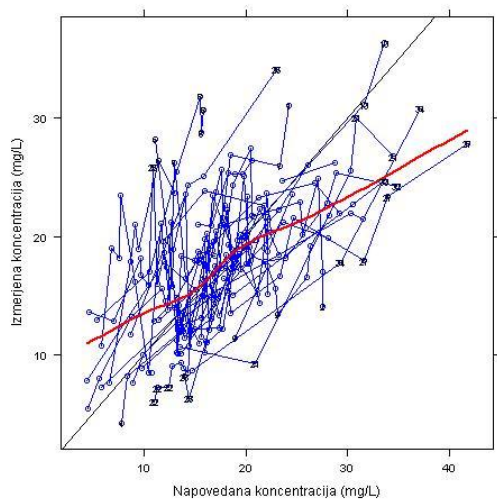
Diagnostični diagrami končnega modela 5 so prikazani na naslednjih slikah.



Slika 6.17: Končni model 5 - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti absolutni vrednosti ocene rezidualne variabilnosti



Slika 6.18: Končni model 5 - Individualna napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina



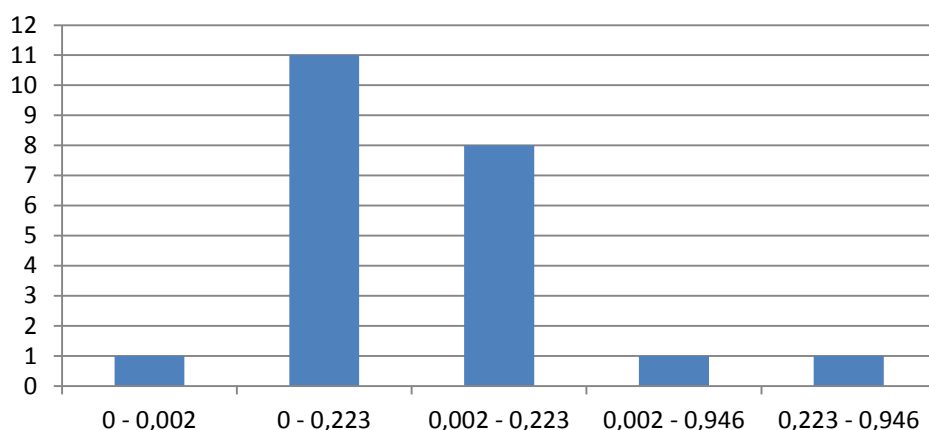
Slika 6.19: Končni model 5 - Napovedana koncentracija vankomicina proti izmerjeni koncentraciji vankomicina

6.3 Analiza učinkovitosti zdravljenja

Iz podatkov, pridobljenih z NONMEM, smo izračunali razmerje AUC_{24}/MIK in verjetnost, da je to razmerje večje od 400 (ang. Probability of target attainment – PTA) tekom trajanja terapije z vankomicinom. PTA smo izrazili kot vsoto deležev MIK distribucij, pri katerih je bil $AUC_{24}/MIK > 400$. MIK distribucije za posamezne povzročitelje okužb smo pridobili iz spletne zbirke podatkov European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Podatke bomo predstavili glede na povzročitelja okužb, saj smo med analizo ugotovili podobnosti glede intervala PTA pri posameznih mikroorganizmih.

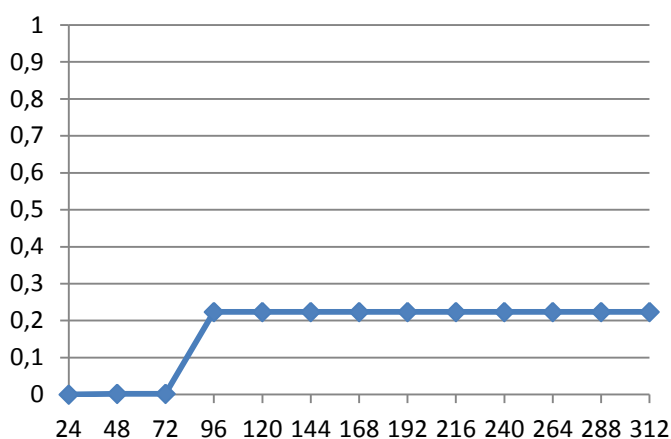
Proti met icilinu odporni *Staphylococcus epidermidis* (MRSE)

22 bolnikov se je zdravilo zaradi okužbe z MRSE. PTA interval je bil 0 – 0,946, najpogosteje 0 – 0,223. Na histogramu 6.20 so predstavljeni PTA intervali in na y – osi število bolnikov, pri katerih smo dosegli posamezni interval.



Slika 6.20: Porazdelitev PTA intervalov pri bolnikih z dokazano okužbo z MRSE

Na sliki 6.21 je grafično predstavljen primer bolnikovega PTA intervala med zdravljenjem z vankomicinom. Na x osi je trajanje terapije z vankomicinom v urah, na y osi pa vrednost PTA.



Slika 6.21: PTA interval MRSE pri bolniku z zaporedno številko 14

Trije bolniki, pri katerih je okužbo povzročil MRSE, niso dosegli ugodnega kliničnega izida v šestih mesecih po začetku zdravljenja z vankomicinom (pri enem bolniku se ponovno zveča vrednost CRP, opravili so ponoven operativni poseg, pri drugem bolniku je prišlo do

ponovitve bolezni in pri tretjem do kožnega defekta). Pri vseh treh smo dosegli ugoden klinični izid po enem letu od začetka zdravljenja.

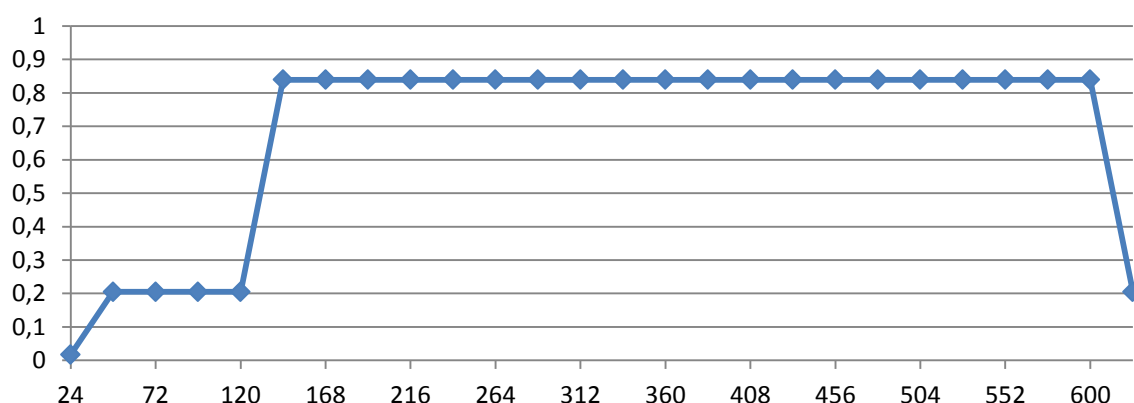
Proti meticilinu odporni *Staphylococcus capitis*

Okužba s *Staphylococcus capitis* je bila dokazana pri štirih bolnikih. PTA interval je bil 0,017 – 0,996. V tabeli 6.14 so predstavljeni PTA intervali za posamezne bolnike. Pri vseh bolnikih smo dosegli ugoden klinični izid.

Tabela 6.14: PTA intervali pri okužbi s *Staphylococcus capitis*

	PTA interval
1	0,017 - 0,205
2	0,017 - 0,839
3	0,205 - 0,839
4	0,205 - 0,996

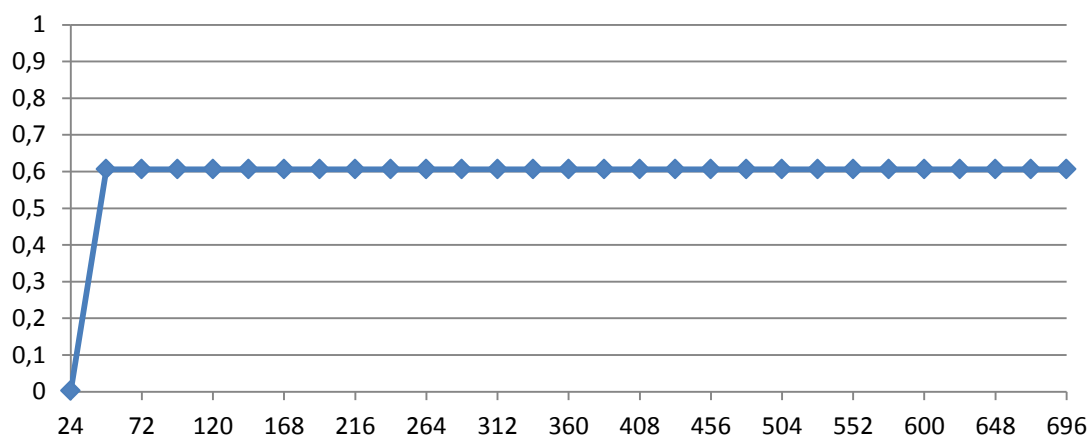
Na sliki 6.22 je grafično predstavljen primer bolnikovega PTA intervala med zdravljenjem z vankomicinom. Na x osi je trajanje terapije z vankomicinom v urah, na y osi pa vrednost PTA.



Slika 6.22: PTA interval *Staphylococcus capitis* pri bolniku z zaporedno številko 4

Proti meticilinu odporni *Staphylococcus aureus* (MRSA)

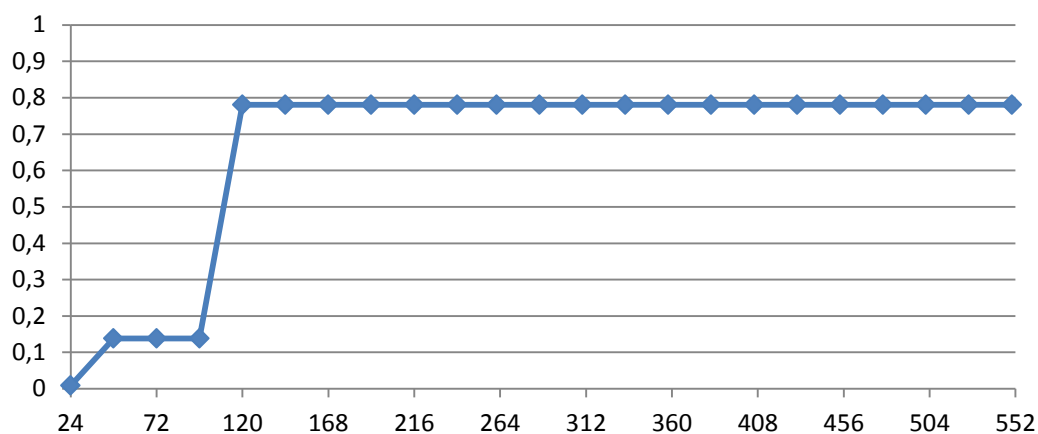
Okužba z MRSA je bila dokazana pri dveh bolnikih. PTA intervala sta bila 0 – 0,606 in 0,002 – 0,606. Bolnika sta dosegla ugoden klinični izid. Na sliki 6.23 je grafično predstavljen primer bolnikovega PTA intervala med zdravljenjem z vankomicinom. Na x osi je trajanje terapije z vankomicinom v urah, na y osi pa vrednost PTA.



Slika 6.23: PTA interval MRSA pri bolniku z zaporedno številko 2

Proti meticilinu odporni *Staphylococcus hominis*

Okužba s *Staphylococcus hominis* je bila dokazana pri dveh bolnikih. PTA intervala sta bila 0,009 – 0,780 in 0,138 – 0,780. Pri enem bolniku smo dosegli ugoden klinični izid, pri drugem je bila po šestih mesecih od začetka zdravljenja prisotna bolečina, ki je izzvenela do naslednjega pregleda (1 leto po začetku zdravljenja). Na sliki 6.24 je grafično predstavljen primer bolnikovega PTA intervala med zdravljenjem z vankomicinom. Na x osi je trajanje terapije z vankomicinom v urah, na y osi pa vrednost PTA.

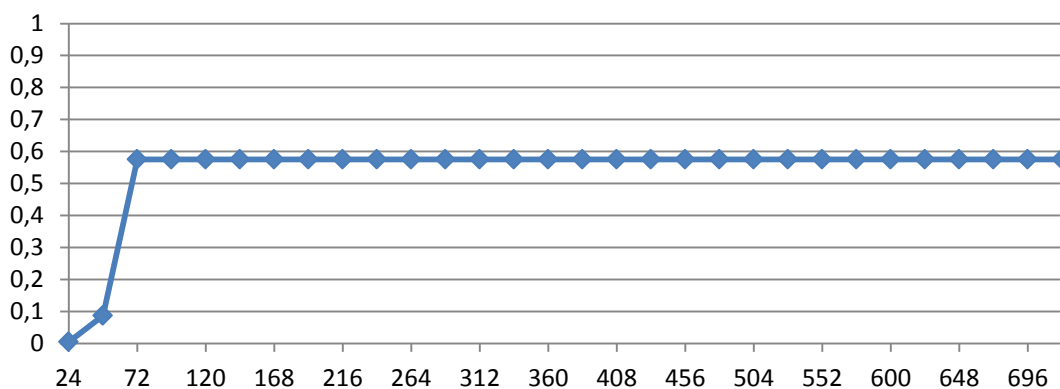


Slika 6.24: PTA interval *Staphylococcus hominis* pri bolniku z zaporedno številko 24

Proti meticilinu odporni *Staphylococcus haemolyticus*

Okužba s *Staphylococcus haemolyticus* je bila dokazana pri dveh bolnikih. PTA intervala sta bila 0 – 0,576 in 0,005 – 0,576. Pri enem bolniku smo dosegli ugoden klinični izid, pri drugem bolniku pa je prišlo do ponovitve bolezni, ki je bila uspešno pozdravljena v

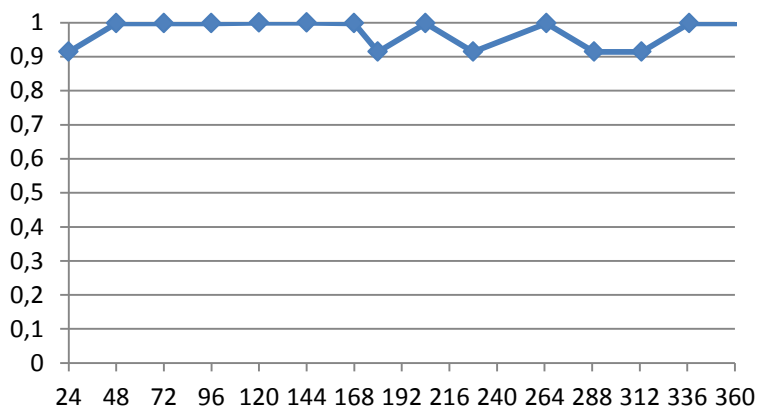
naslednjih šestih mesecih. Na sliki 6.25 je grafično predstavljen primer bolnikovega PTA intervala med zdravljenjem z vankomicinom. Na x osi je trajanje terapije z vankomicinom v urah, na y osi pa vrednost PTA.



Slika 6.25: PTA interval *Staphylococcus haemolyticus* pri bolniku z zaporedno številko 10

Streptococcus agalactiae

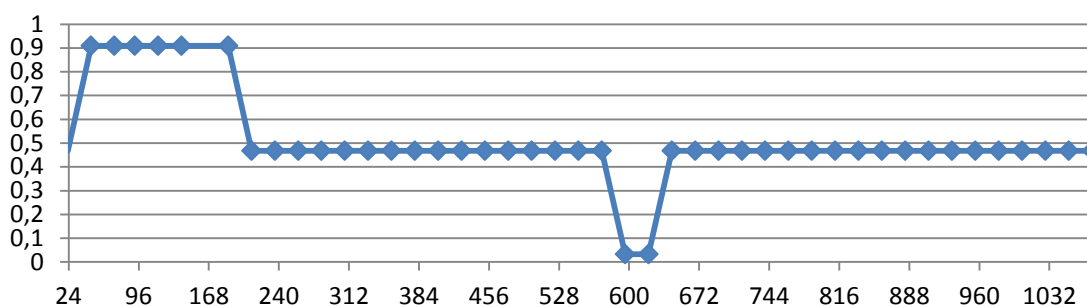
Okužba s *Streptococcus agalactiae* (skupina B) je bila dokazana pri enem bolniku. Zaradi prisotnosti alergije na penicilin tipa I je bil kljub normalni občutljivosti na peniciline vpeljan za zdravljenje vankomicin. PTA interval je bil 0,914 – 0,999. Pri bolniku smo dosegli ugoden klinični izid. Na sliki 6.26 je grafično predstavljen bolnikov PTA interval med zdravljenjem z vankomicinom. Na x osi je trajanje terapije z vankomicinom v urah, na y osi pa vrednost PTA.



Slika 6.26: PTA interval *Streptococcus agalactiae* pri bolniku z zaporedno številko 13

Proti penicilinu odporen *Enterococcus faecalis*

Okužba z *Enterococcus faecalis* je bila dokazana pri enem bolniku. PTA interval je bil 0,033 – 0,909. Pri bolniku nismo dosegli ugodnega kliničnega izida, saj so se ponovno povečale vrednosti CRP in je bil potreben ponoven operativni poseg, ugoden klinični izid smo dosegli po enem letu od začetka zdravljenja. Na sliki 6.27 je grafično predstavljen bolnikov PTA interval med zdravljenjem z vankomicinom. Na x osi je trajanje terapije z vankomicinom v urah, na y osi pa vrednost PTA.



Slika 6.27: PTA interval *Enterococcus faecalis* pri bolniku z zaporedno številko 26

Za povzročitelja *Kocuria rosea* in *Staphylococcus spp.* histogram MIK distribucij ni poznan, zato nismo ovrednotili učinkovitosti zdravljenja.

Okužba z dvema različnima povzročiteljema

Pri dveh bolnikih je bila dokazana okužba z dvema različnima povzročiteljema. Pri enem bolniku je bila dokazana okužba z *Enterococcus faecium* in *Corynebacterium amycolatum*. PTA interval za *Enterococcus faecium* je bil 0,010 – 0,818 in za *Corynebacterium amycolatum* 0,298 – 0,909. Pri bolniku smo dosegli ugoden klinični izid.

Pri drugem bolniku je bila dokazana okužba s *Staphylococcus spp.* in *Corynebacterium spp.* Histogram MIK distribucij za *Staphylococcus spp.* ni poznan, zato za tega povzročitelja nismo mogli izračunati PTA. Če pa bi kot MIK distribucijo privzeli povprečno vrednost za poznane stafilokoke, bi bil PTA interval 0,130 – 0,783. PTA za *Corynebacterium spp.* je bil 1 tekom celotnega zdravljenja z vankomicinom. Pri bolniku smo dosegli ugoden klinični izid.

7 RAZPRAVA

V nalogi smo proučevali vpliv biokemičnih parametrov, očistka kreatinina in telesne mase na farmakokinetične lastnosti vankomicina ter iz podatkov, pridobljenih iz naše populacije, razvili populacijski farmakokinetični model s programom NONMEM. Ocenili smo gibanje biokemičnih parametrov ter ovrednotili učinkovitost zdravljenja z vankomicinom tako, da smo izračunali verjetnost, da je vrednost AUC_{24}/MIK večja od 400. V nalogo smo vključili 37 bolnikov, ki smo jih zdravili z vankomicinom v primeru okužbe ortopedskega vsadka s proti meticilinu odpornimi stafilokoki ter enterokoki in mikrokoki, glede na njihovo občutljivost. Vankomicin je bil apliciran v obliki kratkotrajne intermitentne infuzije v 12, 18 ali 24 urnih intervalih, v posameznih odmerkih 0,25 – 2,5 g, čas infundiranja je bil 1 – 2 uri, odvisno od odmerka. Odvzem krvi za določanje koncentracije vankomicina smo izvršili tik pred aplikacijo naslednjega odmerka zdravila. Pri sedmih bolnikih nismo dosegli optimalnega območja (10 – 14 $\mu\text{mol/L}$) serumske koncentracije vankomicina. Razlogi, ki vplivajo na doseganje stacionarnega stanja pri posameznem bolniku, so različni: hemodinamično stanje bolnika, spremenjena prepustnost za vankomicin pri posamezni vrsti tkiva zaradi vnetnega procesa, spremljajoče bolezni (sladkorna bolezen). Ključnega pomena je tudi pravilen postopek odvzema in obdelave vzorcev: čas odvzema vzorca, točnost priprave in apliciranja odmerkov, umerjenost in točnost aparata, s katerim določamo koncentracijo zdravila. Pri bolniku z ID 31 so bile visoke serumske koncentracije vankomicina verjetno vzrok nefrotoksičnosti, ki je nastala tekom zdravljenja z vankomicinom, saj so se bolniku povečale serumske koncentracije kreatinina, ki so se po prenehanju zdravljenja ponovno normalizirale. Po drugi strani pa je malo dokazov, ki bi podpirali neposredni odnos med specifično serumsko koncentracijo vankomicina ter njegovo toksičnostjo (24). Med izdelavo naloge smo ugotovili, da je prišlo tudi do napak pri telefonskem sporočanju oz. beleženju rezultatov serumskih koncentracij vankomicina v letih, ko so analize opravili v zunanji ustanovi, kar bi lahko vodilo do napačnega prilagajanja odmerkov vankomicina. Z vpeljavo določanja serumske koncentracije vankomicina v OBV smo se izognili napakam pri sporočanju rezultatov, saj so potrjeni rezultati takoj na vpogled v bolnišničnem informacijskem sistemu, skrajšali smo čas in pocenili stroške analize, saj transport vzorca

do Splošne bolnišnice Izola ni več potreben. Prav tako smo ugotovili, da je v posamičnih primerih prišlo do napak pri časovnem intervalu odvzema vzorcev.

Zaradi vzpostavitve hitre obdelave nujnih vzorcev je sedaj možno sprotno in ažurno prilagajanje odmerkov vankomicina tako glede izmerjenih koncentracij zdravila kot tudi samega stanja bolnika in njegovih laboratorijskih izvidov. Pri prilaganju odmerkov vankomicina glede na izmerjene serumske koncentracije je možno spreminjati odmerek in/ali interval odmerjanja. Zaradi značilnosti okužb ortopedskih vsadkov, ki zahtevajo visoke koncentracije antibiotika, se praviloma prilagajajo odmerki, ne pa intervali odmerjanja. Rezultati izmerjenih serumskih koncentracij kot klinični izidi zdravljenja potrjujejo tak pristop, ki je postal rutinski.

Pri bolnikih s serumskimi koncentracijami kreatinina v mejah referenčnega območja, je bila koncentracija kreatinina tekom zdravljenja stabilna, ravno tako pri dveh bolnikih (ID 2 in 25), ki sta imela zmerno povečane koncentracije kreatinina. Pri bolniku z ID 8 je bilo prisotno ledvično obolenje, zaradi česar sta bila višina odmerkov in dozirni interval vankomicina prilagojena glede na izmerjene serumske koncentracije vankomicina kot tudi glede na izmerjene koncentracije kreatinina in sečnine (3, 25). Zmanjšana ledvična funkcija je povezana z nižjim celokupnim in ledvičnim očistkom vankomicina (26). Bolniku z ID 10 se je koncentracija kreatinina tekom zdravljenja z vankomicinom vrnila v meje referenčnega območja. Upoštevati je namreč potrebno, da je pri bolnikih s težko obliko bakterijske okužbe pogosto vrednost serumskega kreatinina izrazito povišana in lahko vodi do akutne ledvične odpovedi (27). V našem primeru smo z zdravljenjem hude okužbe dosegli tudi normalizacijo ledvične funkcije. Ugotovili smo tudi, da povečane koncentracije kreatinina ne napovedujejo vedno tudi povečanih serumskih koncentracij vankomicina oz. da povečane koncentracije enega ali drugega analita časovno ne sovpadajo, kar lahko razložimo s tem, da kreatinin ni ravno najboljši pokazatelj ledvične funkcije, saj začne njegova koncentracija v plazmi strmo naraščati šele, ko je oGFR nižji od 30 mL/min, do takrat zasledimo pa le počasno naraščanje serumske koncentracije kreatinina. Priporočljivo je spremljanje tako serumske koncentracije vankomicina kot kreatinina.

Aktivnost encimov, ki opisujejo jetrno funkcijo, se v večini primerov ni pomembno spreminjala. Ugotovili smo, da je bila aktivnost γ GT povišana pri 18 od 31 bolnikov, vendar

iz različne dinamike gibanja rezultatov ne moremo zaključiti, da je to posledica zdravljenja z vankomicinom. Aktivnost γ GT je lahko povišana tudi zaradi vpliva drugih zdravil, saj so bolniki med zdravljenjem v OBV prejeli več različnih zdravil, ki bi lahko vplivala na aktivnost γ GT. Dosedanje raziskave so pokazale, da je med zdravljenjem z vankomicinom prišlo do blage ali zmerno povišane aktivnosti transaminaz, ni pa dokazov, da bi zdravljenje z vankomicinom povzročilo z zdravili inducirano poškodbo jeter, vendar se vseeno priporoča rutinsko spremljanje jetrne funkcije pri bolnikih, ki se zdravijo z vankomicinom (28).

V laboratoriju OBV izvajamo rutinski nabor preiskav, ki zagotavlja nemoteno obravnavo naših bolnikov, in zagotavljamo točnost ter pravilnost izdanih izvidov v najkrajšem možnem času glede na določeno stopnjo nujnosti. Preiskave, ki jih sami ne izvajamo in se naročajo občasno, pošiljamo v zunanje ustanove.

S programsko subrutino ADVAN1 TRANS2 za intravensko aplikacijo vankomicina smo z nelinearno metodo mešanih učinkov v programskem paketu NONMEM razvili enoprostorni in dvoprostorni PPK osnovni model, vendar smo se v nadaljevanju odločili za enoprostorni model, ker med njima ni bilo statistično pomembne razlike. Odnos med sočasnimi spremenljivkami in farmakokinetičnimi parametri vankomicina smo opisovali z linearnim in potenčnim modelom. Značilnost vpliva sočasne spremenljivke smo ocenjevali z znižanjem OFV in nepojasnjene interindividualne (ω^2) in rezidualne (σ^2) variabilnosti.

Pri izračunu očistka kreatinina po Cockcroft – Gaultovi metodi smo za izračun telesne mase uporabili formulo po James-u (LBW) in s tem odšteli maso maščobnega tkiva, saj je imela večina proučevanih bolnikov povečano telesno maso, s čemer smo izboljšali napovedane vrednosti farmakokinetičnih parametrov.

Med razvojem polnega modela smo potrdili šibek vpliv jetrne funkcije na očistek in volumen porazdelitve vankomicina (29), vendar smo v nadaljevanju zmanjšali stopnjo značilnosti in med razvojem končnega modela potrdili, da ima le očistek kreatinina statistično pomemben vpliv na očistek vankomicina, ostali proučevani biokemični parametri pa nimajo vpliva na farmakokinetične lastnosti vankomicina, kar so potrdile tudi nekatere druge raziskave (26, 30, 31).

Razvili smo pet končnih modelov in primerjali OFV vrednosti dobljenih modelov. Najnižjo vrednost OFV smo dobili pri končnem modelu 4 s katerim smo ocenjevali vpliv

interindividualne variabilnosti (η_3) Cl_{Cr} na očistek vankomicina. Model smo uporabili za odvisno spremenljivko, ki se časovno spreminja (Cl_{Cr}) in s tem izboljšali prileganje vsem preiskovanim podatkom (22). Ocenjeni farmakokinetični parametri končnega modela 4 za povprečnega bolnika (70 kg) z normalno ledvično funkcijo ($Cl_{Cr} = 120$ mL/min) so podani kot ocena (RSE%): $CL = 135$ mL/min (7,4%), $V_d = 1,9$ L/kg (12,9%), $Cl_{Cr} = 0,0082$ (mL/min)⁻¹ (5,3%). Podatki v literaturi (31), kjer so proučevali kritično bolne s slabšo ledvično funkcijo, podajajo $CL = 2,08$ L/h (35 mL/min) in $V_d = 85,8$ L (1,2 L/kg). V naši nalogi smo dobili višje vrednosti tako očistka kot volumna porazdelitve vankomicina. V predhodni raziskavi (32) so ugotovili, da je pri dolgotrajnem zdravljenju z vankomicinom (več kot 29 dni) očistek vankomicina za 50% nižji kot pri kratkotrajnem zdravljenju (do 7 dni), kljub enakemu očistku kreatinina.

Interindividualna variabilnost očistka vankomicina je bila 25,7%, volumna porazdelitve pa 54,3%. Intraindividualna variabilnost je bila 18,3%. Interindividualna variabilnost vpliva Cl_{Cr} na očistek vankomicina (η_3) je bila 11,2%. Končna modela 1 in 4 smo validirali z generiranjem 1000 naborov podatkov (bootstrap) in tako preverili točnost in natančnost dobljenih modelov.

Za oceno učinkovitosti zdravljenja z vankomicinom uporabljamo razmerje AUC_{24}/MIK , ki mora biti večje od 400, če je MIK manjši ali enak 1 mg/L (3, 4, 24, 30). Iz razmerja smo preračunali verjetnost (PTA, izraženo v deležih), da je AUC_{24}/MIK večji od 400 in podatke grafično predstavili glede na povzročitelja okužbe ortopedskega vsadka, saj smo ugotovili podobnosti v PTA intervalih. Dobljene vrednosti PTA smo primerjali s kliničnim izidom zdravljenja po 6-ih, 12-ih in 24-ih mesecih. Ugodnega kliničnega izida nismo dosegli pri treh bolnikih, vendar se vrednosti PTA niso bistveno razlikovale od vrednosti PTA pri bolnikih, ki so bili okuženi z istim povzročiteljem in pri katerih smo dosegli ugoden klinični izid. V enem primeru, pri katerem tudi nismo dosegli ugodnega kliničnega izida, pa vrednosti PTA nismo mogli primerjati z ostalimi, ker je bil dani povzročitelj prisoten le pri tem bolniku; med zdravljenjem smo zabeležili padeč vrednosti PTA, vendar časovno ne sovпада z poslabšanjem klinične slike bolnika. Rezultati tako nakazujejo, da pri okužbah ortopedskih vsadkov s proti meticilinu odpornimi sevi stafilokokov razmerje $AUC_{24}/MIK > 400$ ni zadostno merilo za oceno učinkovitosti zdravljenja z vankomicinom. Potrebna bi bila podrobnejša raziskava za potrditev naše trditve.

8 SKLEPI

Hitra obdelava nujnih vzorcev omogoča sprotno in ažurno prilagajanje odmerkov vankomicina, tako glede izmerjenih koncentracij, kot tudi samega stanja bolnika.

Pri bolnikih s serumskimi koncentracijami kreatinina v mejah referenčnega območja, je bila koncentracija kreatinina tekom zdravljenja stabilna, ravno tako so bile stabilne aktivnosti jetrnih encimov, vendar se vseeno priporoča spremljanje ledvične in jetrne funkcije ter serumskih koncentracij vankomicina.

Izdelali smo enoprostorni farmakokinetični populacijski model in ugotovili, da ima statistično značilen vpliv na očistek vankomicina le očistek kreatinina. Ocenjeni očistek vankomicina je bil 135 mL/min in volumen porazdelitve vankomicina 1,9 L/kg. Interindividualna variabilnost očistka vankomicina je bila 25,7%, volumna porazdelitve pa 54,3%. Intraindividualna variabilnost je bila 18,3%. Interindividualna variabilnost vpliva Cl_{Cr} na očistek vankomicina (η_3) je bila 11,2%. Končni model smo validirali z generiranjem 1000 naborov podatkov in tako preverili točnost in natančnost dobljenega modela.

Dobljeni rezultati nakazujejo, da zagotavljanje razmerja $AUC_{24}/MIK > 400$ ni zadostno merilo za učinkovitost zdravljenja z vankomicinom. Potrebne so nadaljnje raziskave na večjem številu bolnikov za potrditev dobljenih rezultatov, zlasti z vidika ali omenjeni sklepi veljajo le pri ortopedskih bolnikih.

Z našo raziskavo smo vpeljali in ovrednotili novo rutinsko preiskavo v naši bolnišnici. Določanje serumskih vrednosti vankomicina kot rutinske laboratorijske preiskave je značilno prispevala k učinkovitejšemu in predvsem tudi varnejšemu zdravljenju okužb ortopedskih vsadkov. Sevi proti meticilin odpornih stafilokokov so namreč eni izmed najpogostejših povzročiteljev tovrstni okužb. Ker je omenjena preiskava sedaj v naši bolnišnici rutinsko dostopna, je možno na podlagi klinične presoje strogo individualno prilagajati režim odmerjanja vankomicina vsakemu posameznemu bolniku. Na ta način delo laboratorija pomembno prispeva k multidisciplinarni obravnavi naših bolnikov.

9 LITERATURA

1. <http://sitemaker.umich.edu/mc13/vancomycin> (dostopano: 10.01.2013)
2. Povzetek temeljnih značilnosti zdravila Edicin. Lek farmacevtska družba d.d.. 2010
3. Rybak M. Lomaestro B. Rotschafer J. C. Moellering R. Craig W. Billeter M. Dalovisio J. R. Levine D. P. Therapeutic monitoring of vancomycin in adult patients: A consensus review of the American Society of Health-System Pharmacists, the Infectious Diseases Society of America, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Am J Health-Syst Pharm.* 2009; 66:82-98
4. Nadrah K. Novosti pri terapevtskem spremljanju koncentracij vankomicina. *Zdrav Vestn* 2011; 80: 571-7
5. Rybak JM. The Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties of Vancomycin. *Clin Infect Dis.* (2006) 42 (Supplement 1): S35-S39.
6. Estes KS, Derendor H. Comparison of the pharmacokinetic properties of vancomycin, linezolid, tigecyclin, and daptomycin. *European Journal of Medical Research* 2010, 15:533-543.
7. <http://www.medscape.com/viewarticle/409560> (dostopano 19.01.2013)
8. Anne L, Hu M, Chan K, Colin L, Gottwald K. Potential problem with fluorescence polarization immunoassay cross-reactivity to vancomycin degradation product CDP-1: its detection in sera of renally impaired patients. *Ther Drug Monit.* 1989 Sep;11(5):585-91.
9. Smith PF, Morse GD. Accuracy of measured vancomycin serum concentrations in patients with end-stage renal disease. *AnnPharmacother.* 1999 Dec;33(12):1329-35.
10. ADVIA Centaur® CP Immunoassay System Operator's Guide, Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
11. ADVIA Centaur® CP system – Vancomycin, Siemens Healthcare Diagnostics Inc. 2008
12. Olympus® Automated Chemistry Analyzer AU400 Users Guide, Olympus Diagnostica GmbH. 2002
13. Laker M. F. The Kidney. In: *Clinical biochemistry for Medical Students.* W.B. Saunders Company Ltd. 1996; 116-133
14. Olympus System reagents Method manual, Olympus Diagnostica GmbH. 2002
15. Gorenjak M. Določitev kreatinina in ocena glomerularne filtracije. SZKK. 2009

16. Florkowski C. Chew-Harris JSC. Methods of Estimating GFR – Different Equations Including CKD-EPI. *Clin Biochem Rev.* 2011; 32: 75-9
17. Levy SA. A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. *Ann Intern Med.* 2009 May 5; 150(9): 604–612.
18. Rule DA. The CKD-EPI Equation for Estimating GFR from Serum Creatinine: Real Improvement or More of the Same? *CJASN* June 2010 vol. 5 no. 6 951-953.
19. Nyman HA. Comparative Evaluation of the Cockcroft-Gault Equation and the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study Equation for Drug Dosing. *Pharmacotherapy.* 2011;31(11):1130-1144
20. Furlan D. Bilirubin – presnovna pot in metode za določanje. In: Seminar za tehnike laboratorijske medicine, Zbornik predavanj. SZKK, 2005
20. Bauer R. J. NONMEM users guide, introduction to NONMEM 7. Version 7.1.2. Icon development solutions. Ellicott City, Maryland. 2010
21. Germovšek E. Defining the optimal infusion time for meropenem in neonates. *Diplomska naloga.* UL FFA, 2012
22. Wählby U. et al. Models for time-varying covariates in population pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis. *Br J Clin Pharmacol.* 2004; 58:4. 367-377
23. <http://mic.eucast.org/Eucast2/SearchController/search.jsp?action=performSearch&BeginIndex=0&Micdif=mic&NumberIndex=50&Antib=38&Specium=-1> (dostop: 20.07.2012)
24. Rybak M. J. The pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of vancomycin. *Clinical Infectious Diseases.* 2006; 42: S35-9. Dostopno na: <http://cid.oxfordjournals.org/> (24.07.2012)
25. Ladino M. et al. Acute and reversible vancomycin nephrotoxicity: Case reports. *Journal of Nephrology and Renal Transplantation.* 2008; 1(1). 4 - 10
26. Rodvold K. A. et al. Vancomycin pharmacokinetics in patients with various degrees of renal function. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 1988; 32:6. 848 – 852
27. Bagshaw S.M. et al. Septic Acute Kidney Injury in Critically Ill Patients: Clinical Characteristics and Outcomes. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2007; 2: 431-439
28. Chen Y. et al. Risk of hepatic events in patients treated with vancomycin in clinical studies: a systematic review and meta-analysis. *Drug Saf.* 2011; 34(1). 73 – 82

29. Martí R. et al. Influence of biochemical parameters of liver function on vancomycin pharmacokinetics. *Pharmacol Toxicol.* 1996; 79(2). 55 – 9
30. Revilla N. et al. Vancomycin dosing assessment in intensive care unit patients based on a population pharmacokinetic/pharmacodynamic simulation. *Br J Clin Pharmacol.* 2010; 70:2. 201 – 212
31. Mavsar-Najdenov B. et al. Analiza učinkovitosti in varnosti zdravljenja z vankomicinom. *Zdrav Vestn.* 2007; 76. 695 – 700
32. Nakayama H. et al. Reduced vancomycin clearance despite unchanged creatinine clearance in patients treated with vancomycin for longer than 4 weeks. *Ther Drug Monit.* 2008; 30(1). 103 – 7

10 PRILOGE

Priloga 1: algoritem za linearno interpolacijo vrednosti v MS Excell

```
Sub Fill_Mising_Values()
'Neodvisna spremenljivka je v koloni "B". Zapolnimo manjkajoce vrednosti odvisne
spremenljivke v koloni "A".
Dim current_row As Long
Dim start_block As Range, end_block As Range
Dim time_range As Double, cov_range As Double
Dim slope As Double
Dim row_to_fill As Long

With ActiveSheet
' From the first row of data in columnB to the last row in columnB
For current_row = 2 To .Cells(.Rows.Count, "B").End(xlUp).Row
If .Cells(current_row, "A") = "" Then
' No weight
' Find the previous weight
Set start_block = .Cells(current_row, "A").End(xlUp)
Set end_block = .Cells(current_row, "A").End(xlDown)
' As long as both are in the data range then calculate the values
If start_block.Row > 1 And end_block.Value <> "" Then
' The number of days missed is calculated by subtracting the day numbers either
side of the missing data
time_range = end_block.Offset(columnoffset:=1).Value -
start_block.Offset(columnoffset:=1).Value
' The weight lost over that period is calculated by subtracting the weights either
side of the missing data
cov_range = end_block.Value - start_block.Value
' The weight per day can now be calculated by dividing the weight by the days
slope = cov_range / time_range

' Now fill in the 'missed' cells, (we'll also colour the text grey to indicate they are
'calculated' values)
For row_to_fill = start_block.Row + 1 To end_block.Row - 1
' Each cell is equal to the cell above it plus the 'weight per day' figure
.Cells(row_to_fill, "A").Value = .Cells(row_to_fill - 1, "A").Value + slope *
(.Cells(row_to_fill, "A").Offset(0, 1).Value - .Cells(row_to_fill - 1, "A").Offset(0, 1).Value)
' Colour it grey
.Cells(row_to_fill, "A").Font.ColorIndex = 48
Next
' Skip all the cells we just filled in. There is no point in the macro checking if they
are blank!
current_row = end_block.Row
End If
End If
```


Next
End With
End Sub

Priloga 2: zapis končnega modela 1

\$PROBLEM Vankomicin multiple dose i.v infusion
\$INPUT ID DAT1=DROP TIME DV EVID MDV AMT RATE
AGE WT HT UREA SCR MDRD BILT BILD AST ALT GGT=DROP LDH=DROP CRP=DROP SX

\$SUBROUTINE ADVAN1 TRANS2 ;A one compartment model from PREDPP library

\$PK

; Lean Body Weight (James)

$LBW = (1.10 * WT - 128 * (WT/HT)^{**2}) * SX + (1.07 * WT - 148 * (WT/HT)^{**2}) * (1 - SX)$

; Cockcroft-Gault

$CLC1 = (140 - AGE) * WT * 0.85^{**}(1 - SX) * 88.4 / (72 * SCR)$

$CLC2 = (140 - AGE) * LBW * 0.85^{**}(1 - SX) * 88.4 / (72 * SCR)$

$TVCL = THETA(1) * (1 + THETA(7) * (BILD - 1.6)) * (1 + THETA(5) * (AST - 0.37)) * (1 + THETA(4) * (CLC2 - 120))$

CL = TVCL * EXP(ETA(1)) ; Clearance in L/hr

$TVV = THETA(2) * (1 + THETA(9) * (AST - 0.37)) * (BILT / 9.0)^{**} THETA(8) * (WT / 70)^{**} THETA(6)$

V = TVV * EXP(ETA(2)) ; Volume of distribution in L

WP = THETA(3) ; Proportional error

S1 = V/1000 ; scaling factor to match concentration in mg/L

\$ERROR

IPRED = F

W = WP * IPRED

IRES = IPRED - DV

IWRES = IRES / W

Y = IPRED + EPS(1) * W

\$THETA 3.910000 ; CL

164.0000 ; V

(0,0.192000) ; Wp

0.00812 ; CLC2

0 FIX ; AST

0 FIX ; WT

0 FIX ; BILD

0 FIX ; BILT

0 FIX ; AST

\$OMEGA BLOCK(2) 0.336000 ; EtaCL

0.208000

0.509000 ; EtaV

\$SIGMA 1.000000 FIX

\$EST

SIGDIGITS=3

```

MAXEVALS=9999
METHOD=1
INTERACTION
PRINT=5
NOABORT
$COV
  PRINT=E
$TABLE ID TIME EVID MDV IPRED IWRES PRED ONEHEADER
NOPRINT FILE = sdtab28
$TABLE ID TIME EVID MDV CL V ETA(1) ETA(2) ONEHEADER
NOPRINT FILE = patab28
$TABLE ID TIME EVID MDV AGE WT HT UREA SCR BILT BILD AST ALT CLC1 CLC2 LBW
ONEHEADER NOPRINT FILE = cotab28
$TABLE ID TIME EVID MDV SX ONEHEADER NOPRINT
FILE = catab28

```

Priloga 3: zapis končnega modela 2

```

$PROBLEM Vankomicin Linear interpolation of CLC2
$INPUT ID DAT1=DROP TIME DV EVID MDV AMT RATE
      AGE WT HT UREA SCR MDRD BILT BILD AST ALT GGT=DROP LDH=DROP CRP=DROP SX

```

```

$SUBROUTINE ADVAN6 TOL=5
$MODEL
  COMP = (CENTRAL) ; 1
  COMP = (COVT) ; 2
$PK
; Lean Body Weight (James)
LBW=(1.10*WT-128*(WT/HT)**2)*SX + (1.07*WT-148*(WT/HT)**2)*(1-SX)
; Cockcroft-Gault
CLC1=(140-AGE)*WT*0.85**(1-SX)*88.4/(72*SCR)
CLC2=(140-AGE)*LBW*0.85**(1-SX)*88.4/(72*SCR) ; CG estimate z LBW

IF(NEWIND.NE.2) OTIM=0
IF(NEWIND.NE.2) OCOV=CLC2
IF(A_0FLG.EQ.1) A_0(2) = OCOV

SL = 0
IF(TIME.GT.OTIM) THEN
SL= (CLC2-OCOV)/(TIME-OTIM)
ENDIF

TVCL = THETA(1)
GFR = THETA(4)
CL = TVCL*EXP(ETA(1)) ; Clearance in L/hr
TVV = THETA(2)

```

$V = TVV * \exp(\text{ETA}(2))$;Volume of distribution in L
 $WP = \text{THETA}(3)$; Proportional error
 $S1 = V/1000$;scaling factor to match concentration in mg/L
 \$DES
 $\text{DADT}(1) = -(\text{CL} * (1 + \text{GFR} * (\text{A}(2) - 120)) / V) * \text{A}(1)$
 $\text{DADT}(2) = \text{SL}$
 $\text{CP} = \text{A}(1) / V * 1000$
 $\text{COV} = \text{A}(2)$
 \$ERROR
 $\text{OCOV} = \text{CLC}2$
 $\text{OTIM} = \text{TIME}$
 $\text{IPRED} = \text{F}$
 $W = \text{WP} * \text{IPRED}$
 $\text{IRES} = \text{IPRED} - \text{DV}$
 $\text{IWRES} = \text{IRES} / W$
 $Y = \text{IPRED} + \text{EPS}(1) * W$
 \$THETA 3.910000 ; CL
 164.0000 ; V
 (0,0.192000) ; Wp
 0.00812 ; CLC2
 \$OMEGA BLOCK(2) 0.336000 ; EtaCL
 0.208000
 0.509000 ; EtaV
 \$SIGMA 1.000000 FIX
 \$EST
 SIGDIGITS=3
 MAXEVALS=9999
 METHOD=1
 INTERACTION
 PRINT=5
 NOABORT
 \$COV
 PRINT=E
 \$TABLE ID TIME EVID MDV IPRED IWRES PRED CP COV OCOV SL ONEHEADER
 NOPRINT FILE = sdtab1
 \$TABLE ID TIME EVID MDV CL V ETA(1) ETA(2) ONEHEADER
 NOPRINT FILE = patab1
 \$TABLE ID TIME EVID MDV AGE WT HT UREA SCR BILT BILD AST ALT CLC1 CLC2 CP COV
 OCOV SL LBW ONEHEADER NOPRINT FILE = cotab1
 \$TABLE ID TIME EVID MDV SX ONEHEADER
 NOPRINT FILE = catab1

Priloga 4: zapis končnega modela 3

\$PROBLEM Vankomicin multiple dose i.v infusion
 \$INPUT ID DAT1=DROP TIME DV EVID MDV AMT RATE

AGE WT HT UREA SCR MDRD BILT BILD AST ALT GGT=DROP LDH=DROP CRP=DROP SX

\$SUBROUTINE ADVAN1 TRANS2 ;A one compartment model from PREDPP library
\$PK

; Lean Body Weight (James)

$LBW = (1.10 * WT - 128 * (WT/HT)^2) * SX + (1.07 * WT - 148 * (WT/HT)^2) * (1 - SX)$

; Cockcroft-Gault

$CLC1 = (140 - AGE) * WT * 0.85^{**}(1 - SX) * 88.4 / (72 * SCR)$

$CLC2 = (140 - AGE) * LBW * 0.85^{**}(1 - SX) * 88.4 / (72 * SCR)$

IF(NEWIND.NE.2) BCOV=CLC2

DCOV=CLC2-BCOV

$TVCL = THETA(1) * (1 + THETA(4) * (BCOV - 120) + THETA(5) * DCOV)$

CL = TVCL * EXP(ETA(1)) ; Clearance in L/hr

TVV = THETA(2)

V = TVV * EXP(ETA(2)) ; Volume of distribution in L

WP = THETA(3) ; Proportional error

S1 = V/1000 ; scaling factor to match concentration in mg/L

\$ERROR

IPRED = F

W = WP * IPRED

IRES = IPRED - DV

IWRES = IRES / W

Y = IPRED + EPS(1) * W

\$THETA 3.910000 ; CL

164.0000 ; V

(0,0.192000) ; Wp

0.00812 ; bcov

0.00812 ; dcov

\$OMEGA BLOCK(2) 0.336000 ; EtaCL

0.208000

0.509000 ; EtaV

\$SIGMA 1.000000 FIX

\$EST

SIGDIGITS=3

MAXEVALS=9999

METHOD=1

INTERACTION

PRINT=5

NOABORT

\$COV

PRINT=E

\$TABLE ID TIME EVID MDV IPRED IWRES PRED

ONEHEADER

NOPRINT FILE = sdtab1

```

$TABLE ID TIME EVID MDV CL V ETA(1) ETA(2) ONEHEADER
NOPRINT FILE = patab1
$TABLE ID TIME EVID MDV AGE WT HT UREA SCR BILT BILD AST ALT CLC1 CLC2 LBW
ONEHEADER NOPRINT FILE = cotab1
$TABLE ID TIME EVID MDV SX ONEHEADER NOPRINT
FILE = catab1

```

Priloga 5: zapis končnega modela 4

```

$PROBLEM Vankomicin multiple dose i.v infusion
$INPUT ID DAT1=DROP TIME DV EVID MDV AMT RATE
AGE WT HT UREA SCR MDRD BILT BILD AST ALT GGT=DROP LDH=DROP CRP=DROP SX

```

```

$SUBROUTINE ADVAN1 TRANS2 ;A one compartment model from PREDPP library
$PK
; Lean Body Weight (James)
LBW=(1.10*WT-128*(WT/HT)**2)*SX + (1.07*WT-148*(WT/HT)**2)*(1-SX)
; Cockcroft-Gault
CLC1=(140-AGE)*WT*0.85**(1-SX)*88.4/(72*SCR)
CLC2=(140-AGE)*LBW*0.85**(1-SX)*88.4/(72*SCR)

```

```

TVCL = THETA(1)*(1+THETA(4)*EXP(ETA(3))*(CLC2-120))
CL = TVCL*EXP(ETA(1)) ;Clearance in L/hr
TVV = THETA(2)
V = TVV*EXP(ETA(2)) ;Volume of distribution in L
WP = THETA(3) ; Proportional error
S1 = V/1000 ;scaling factor to match concentration in mg/L
$ERROR
IPRED = F
W = WP*IPRED
IRES = IPRED-DV
IWRES = IRES/W
Y = IPRED+EPS(1)*W
$THETA 3.910000 ; CL
164.0000 ; V
(0,0.192000) ; Wp
0.00812 ; clc2
$OMEGA BLOCK(2) 0.336000 ; EtaCL
0.208000
0.509000 ; EtaV
$OMEGA BLOCK(1) 0.01
$SIGMA 1.000000 FIX
$EST
SIGDIGITS=3
MAXEVALS=9999

```

```

METHOD=1
INTERACTION
PRINT=5
NOABORT
$COV
PRINT=E
$TABLE ID TIME EVID MDV IPRED IWRES PRED ONEHEADER
NOPRINT FILE = sdtab1
$TABLE ID TIME EVID MDV CL V ETA(1) ETA(2) ONEHEADER
NOPRINT FILE = patab1
$TABLE ID TIME EVID MDV AGE WT HT UREA SCR BILT BILD AST ALT CLC1 CLC2 LBW
ONEHEADER NOPRINT FILE = cotab1
$TABLE ID TIME EVID MDV SX ONEHEADER NOPRINT
FILE = catab1

```

Priloga 6: zapis končnega modela 5

```

$PROBLEM Vankomicin multiple dose i.v infusion
$INPUT ID DAT1=DROP TIME DV EVID MDV AMT RATE
AGE WT HT UREA SCR MDRD BILT BILD AST ALT GGT=DROP LDH=DROP CRP=DROP SX

```

```

$SUBROUTINE ADVAN1 TRANS2 ;A one compartment model from PREDPP library
$PK

```

```

; Lean Body Weight (James)

```

```

LBW=(1.10*WT-128*(WT/HT)**2)*SX + (1.07*WT-148*(WT/HT)**2)*(1-SX)

```

```

; Cockcroft-Gault

```

```

CLC1=(140-AGE)*WT*0.85**(1-SX)*88.4/(72*SCR)

```

```

CLC2=(140-AGE)*LBW*0.85**(1-SX)*88.4/(72*SCR)

```

```

IF(NEWIND.NE.2) BCOV=CLC2

```

```

DCOV=CLC2-BCOV

```

```

TVCL = THETA(1)*(1+THETA(4)*(BCOV-120)+THETA(5)*EXP(ETA(3))*DCOV)

```

```

CL = TVCL*EXP(ETA(1)) ;Clearance in L/hr

```

```

TVV = THETA(2)

```

```

V = TVV*EXP(ETA(2)) ;Volume of distribution in L

```

```

WP = THETA(3) ; Proportional error

```

```

S1 = V/1000 ;scaling factor to match concentration in mg/L

```

```

$ERROR

```

```

IPRED = F

```

```

W = WP*IPRED

```

```

IRES = IPRED-DV

```

```

IWRES = IRES/W

```

```

Y = IPRED+EPS(1)*W

```

```

$THETA 3.910000 ; CL

```

```

164.0000 ; V

```

```

(0,0.192000) ; Wp
0.00812 ; bcov
0.00812 ; dcov
$OMEGA BLOCK(2) 0.336000 ; EtaCL
0.208000
0.509000 ; EtaV
$OMEGA BLOCK(1) 0.01000
$SIGMA 1.000000 FIX
$EST
SIGDIGITS=3
MAXEVALS=9999
METHOD=1
INTERACTION
PRINT=5
NOABORT
$COV
PRINT=E
$TABLE ID TIME EVID MDV IPRED IWRES PRED ONEHEADER
NOPRINT FILE = sdtab1
$TABLE ID TIME EVID MDV CL V ETA(1) ETA(2) ONEHEADER
NOPRINT FILE = patab1
$TABLE ID TIME EVID MDV AGE WT HT UREA SCR BILT BILD AST ALT CLC1 CLC2 LBW
ONEHEADER NOPRINT FILE = cotab1
$TABLE ID TIME EVID MDV SX ONEHEADER NOPRINT
FILE = catab1

```