

**M A S A R Y K O V A  
U N I V E R Z I T A**

LÉKAŘSKÁ FAKULTA

# **Klinická farmakologie kolistinu u kriticky nemocných**

Habilitační práce

JITKA RYCHLÍČKOVÁ

Farmakologický ústav

Brno



MUNI  
MED

## Bibliografický záznam

**Autor:** Jitka Rychlíčková  
Lékařská fakulta  
Masarykova univerzita  
Farmakologický ústav

**Název práce:** Klinická farmakologie kolistinu u kriticky nemocných

**Rok:** 2025

**Počet stran:** 140

**Klíčová slova:** kolistin, farmakokinetika, kriticky nemocní, terapeutické monitorování léčiv, stabilita, dávkování, extrakorporální membránová oxygenace

## Bibliographic record

**Author:** Jitka Rychlíčková  
Faculty of Medicine  
Masaryk University

**Title of thesis:** Clinical pharmacology of colistin in critically ill

**Year:** 2025

**Number of Pages:** 140

**Keywords:** colistin, pharmacokinetics, critically ill, therapeutic drug monitoring, stability, posology, extracorporeal membrane oxygenation

## Anotace

Kolistin představuje jedno ze záložních antibiotik, jehož použití je dnes izolované pro infekce způsobené multirezistentními gram-negativními patogeny. S ohledem na vývoj rezistence a finanční nákladnost či nedostupnost nových antibiotik ale stále představuje cennou alternativu. Charakteristická je pro něj komplexní a vysoce inter- a intraindividuálně variabilní farmakokinetika a úzké terapeutické okno. Terapeutické monitorování léčiv tak především u kriticky nemocných pacientů představuje jediný způsob zajištění bezpečné a účinné léčby kolistinem. Praktické provedení terapeutického monitorování léčiv je ale komplikováno omezenou dostupností metody pro stanovení kolistinu a jeho proléčiva současně, omezenými údaji o stabilitě a degradací obou substrátů *in vitro*, absencí populačního modelu pro kriticky nemocné pacienty. Předložená habilitační práce shrnuje aktuální poznatky ve výše uvedených oblastech a staví tak základ pro terapeutické monitorování kolistinu v klinické praxi a personalizaci jeho dávkování.

## Annotation

Colistin is one of the reserve antibiotics currently isolated for use in infections caused by multidrug-resistant gram-negative pathogens. Nevertheless, given the development of resistance and the financial cost or unavailability of new antibiotics, it remains a valuable therapeutic alternative. It is characterised by complex and highly inter- and intra-individually variable pharmacokinetics and a narrow therapeutic window. Therefore, the only way to ensure safe and effective treatment with colistin in critically ill is therapeutic drug monitoring. The implementation of therapeutic drug monitoring is, however, complicated by the limited availability of a method for the simultaneous determination of colistin and its prodrug, limited *in vitro* stability and degradation data for both substrates, and the absence of a population model for critically ill patients. The present habilitation thesis summarizes current knowledge in the above areas and lays the foundation for therapeutic monitoring of colistin in routine clinical practice and its personalized dosage.



## Poděkování

Ráda bych poděkovala své rodině za trpělivost a oporu. Děkuji také prof. MUDr. Vladimíru Šrámkovi, Ph.D., doc. MUDr. Karlu Urbánkovi, Ph.D., doc. MUDr. Pavlu Sukovi, Ph.D, a doc. MUDr. Regině Demlové, Ph.D. za vedení, cenné rady a vytvoření příznivých pracovních podmínek. Děkuji všem svým kolegům za vynikající spolupráci.



## Obsah

|                                                                                                                                                                                                                    |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Seznam obrázků</b>                                                                                                                                                                                              | <b>11</b> |
| <b>Seznam tabulek</b>                                                                                                                                                                                              | <b>12</b> |
| <b>Seznam pojmů a zkratk</b>                                                                                                                                                                                       | <b>13</b> |
| <b>Seznam příloh</b>                                                                                                                                                                                               | <b>15</b> |
| <b>1 Úvod</b>                                                                                                                                                                                                      | <b>17</b> |
| <b>2 Teoretické podklady</b>                                                                                                                                                                                       | <b>18</b> |
| 2.1 Farmakologický profil kolistinu .....                                                                                                                                                                          | 18        |
| 2.1.1 Chemická struktura, fyzikálně-chemické vlastnosti.....                                                                                                                                                       | 18        |
| 2.1.2 Mechanismus účinku kolistinu, bakteriální spektrum, indikace .....                                                                                                                                           | 19        |
| 2.1.3 Farmakokinetika CMS a kolistinu, PK/PD cíle .....                                                                                                                                                            | 20        |
| 2.1.4 Doporučené dávkování, modifikace dávkování u kriticky nemocných .....                                                                                                                                        | 22        |
| 2.1.5 Nežádoucí účinky .....                                                                                                                                                                                       | 24        |
| 2.2 Změny farmakokinetiky léčiv u kriticky nemocných .....                                                                                                                                                         | 26        |
| 2.3 Terapeutické monitorování léčiv v intenzivní medicíně, populační farmakokinetické modely .....                                                                                                                 | 33        |
| 2.3.1 Terapeutické monitorování léčiv v intenzivní medicíně .....                                                                                                                                                  | 35        |
| 2.3.2 Populační farmakokinetické modelování .....                                                                                                                                                                  | 37        |
| 2.4 Interference léčiv a okruhů extrakorporální membránové oxygenace .....                                                                                                                                         | 40        |
| <b>3 Komentované práce</b>                                                                                                                                                                                         | <b>49</b> |
| 3.1 Farmakokinetika kolistinu při extrakorporální membránové oxygenaci ..                                                                                                                                          | 50        |
| 3.2 Úskalí používání kolistinu v intenzivní medicíně a jeho terapeutického monitorování: přehled literatury. ....                                                                                                  | 54        |
| 3.3 Stanovení kolistinu A, B a kolistin-methanesulfonátu v lidské plazmě pomocí LC-MS/MS a jejich krátkodobá stabilita v plazmě .....                                                                              | 73        |
| 3.4 Změny farmakokinetiky kolistinu u kriticky nemocných vlivem extrakorporální membránové oxygenace: protokol studie COL-ECMO2022 – prospektivní, nerandomizované, otevřené farmakokinetické studie fáze IV ..... | 78        |

|          |                                                                                                                                      |            |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.5      | Změny farmakokinetiky kolistinu u kriticky nemocných vlivem extrakorporální membránové oxygenace: výsledky studie COL-ECMO2022 ..... | 88         |
| <b>4</b> | <b>Závěr</b>                                                                                                                         | <b>110</b> |
|          | <b>Použité zdroje</b>                                                                                                                | <b>112</b> |
|          | <b>Přílohy</b>                                                                                                                       | <b>128</b> |

## Seznam obrázků

Obrázek 1: Chemická struktura kolistin methansulfonátu (CMS)

Obrázek 2: Schéma bioaktivace a hlavních cest exkrece CMS a kolistinu

Obrázek 3: Schéma vztahu farmakodynamické odpovědi a farmakokinetiky léčiva (PK/PD vlastností léčiva)

Obrázek 4: Souhrn patofyziologických změn u kriticky nemocných a jejich potenciální vliv na farmakokinetiku léčiv.

## Seznam tabulek

Tabulka 1: Souhrn *ex vivo* studií pro ověření a kvantifikaci sekvestrace léčiv okruhy ECMO

Tabulka 2: Hodnoty fyzikálně-chemických a farmakokinetických vlastností vybraných léčiv významných pro sekvestraci na ECMO

Tabulka 3: Rozdělení léčiv dle rizika sekvestrace na základě klasifikačního systému publikovaného Ha a kol.

## Seznam pojmů a zkratk

|                       |                                                                                                                |
|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| AKI                   | – akutní selhání ledvin (acute kidney injury)                                                                  |
| AKIN                  | – klasifikační systém pro akutní renální selhání (Acute Kidney Injury Network)                                 |
| ARC                   | – augmentovaná renální clearance (augmented renal clearance)                                                   |
| AUC                   | – plocha pod křivkou plazmatických koncentrací (area under the plasma drug concentration-time curve)           |
| AUC <sub>SS,24h</sub> | – 24hodinová plocha pod křivkou plazmatických koncentrací v ustáleném stavu                                    |
| CBA                   | – kolistin (colistin base activity)                                                                            |
| CMS                   | – kolistin methansulfonát, kolistimethát sodný                                                                 |
| CRAB                  | – karbapenem-rezistentní <i>Acinetobacter baumannii</i> (carbapenem-resistant <i>Acinetobacter baumannii</i> ) |
| CRRT                  | – kontinuální náhrada funkce ledvin (continuous renal replacement therapy)                                     |
| CSS,AVG               | – průměrná plazmatická koncentrace v ustáleném stavu (average concentration in a steady state)                 |
| C <sub>MAX</sub>      | – maximální plazmatická koncentrace                                                                            |
| C <sub>MIN</sub>      | – minimální plazmatická koncentrace                                                                            |
| ECMO                  | – extrakorporální membránová oxygenace (extracorporeal membrane oxygenation)                                   |
| EUCAST                | – European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing                                                   |
| KDIGO                 | – klasifikační systém pro akutní renální selhání (Kidney Disease: Improving Global Outcomes)                   |
| logP                  | – rozdělovací koeficient oktanol/voda                                                                          |
| MIC                   | – minimální inhibiční koncentrace (minimum inhibitory concentration)                                           |
| MIPD                  | – model-informed precision dosing                                                                              |
| MIU                   | – milion mezinárodních jednotek (million international units)                                                  |

|                  |                                                                                                                     |
|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| MLE              | – odhad metodou maximální věrohodnosti (maximum likelihood estimation)                                              |
| NLME             | – nelineární modelování smíšených efektů (nonlinear mixed-effects)                                                  |
| PK/PD            | – farmakokineticko/farmakodynamické                                                                                 |
| pKa              | – disociační konstanta léčiva                                                                                       |
| RIFLE            | – klasifikační systém pro akutní renální selhání (Risk, Injury, Failure, Loss of function, End stage renal disease) |
| RRT              | – náhrada funkce ledvin (renal replacement therapy)                                                                 |
| SLED             | – sustained low-efficiency dialysis                                                                                 |
| SPC              | – souhrn údajů o přípravku (summary of product characteristics)                                                     |
| TDM              | – terapeutické monitorování léčiv (therapeutic drug monitoring)                                                     |
| T <sub>MAX</sub> | – čas dosažení maximální plazmatické koncentrace                                                                    |
| VA-ECMO          | – veno-arteriální extrakorporální membránová oxygenace (veno-arterial extracorporeal membrane oxygenation)          |
| V <sub>D</sub>   | – distribuční objem léčiva                                                                                          |
| VV-ECMO          | – veno-venózní extrakorporální membránová oxygenace (veno-venous extracorporeal membrane oxygenation)               |

## Seznam příloh

Příloha 1 Rychlíčková J, Suk P. Pět nejvýznamnějších lékových interakcí v intenzivní medicíně. *Anest. Intensiv. Med.* 2023;34(4):152–156.

128

Příloha 2 Rychlíčková J, Součková L. Biologické účinky pomocných látek používaných u intravenózně podávaných léčiv. *Klin Farmakol Farm.* 2024;38(3):112–117.

133

Příloha 3 Příloha 3: Metodika pro ověření adsorpce CMS a kolistinu na materiál okruhu ECMO *ex vivo*

139



## 1 Úvod

Kolistin (polymyxin E) patří mezi lipopeptidová antibiotika. Počátek jeho vývoje spadá do 40. let 20. století. Pro použití v terapii gram-negativních infekcí byl poprvé schválen v roce 1959, o jedenáct let později získalo registraci jeho proléčivo – kolistin methansulfonát (CMS). CMS byl vyvíjen za účelem redukce nežádoucích účinků kolistinu. Z klinické praxe ale kolistin i tak vymizel. Od 80. let 20. století byl s výjimkou léčby cystické fibrózy prakticky zcela nahrazen novějšími, bezpečnějšími antibiotiky. Nicméně dnes se kolistin kvůli nárůstu bakteriální rezistence znovu vrací do klinické praxe.

Problémem ale zůstává jeho toxicita na jedné straně a snaha využívat maximální dávky s ohledem na rostoucí rezistenci na straně druhé. Právě malý rozdíl mezi terapeutickou koncentrací a koncentrací, při které jsou pozorovány nežádoucí účinky, dělá z kolistinu léčivo s úzkým terapeutickým rozmezím. Terapeutické monitorování léčiv je tak jediným způsobem, který umožní najít rovnováhu mezi bezpečností a účinností terapie, a to i v populaci kriticky nemocných, pro které je inter- a intraindividuální variabilita farmakokinetiky více než charakteristická.

Praktické provedení terapeutického monitorování kolistinu je limitováno řadou neznámých. Jednak je to nedostupnost metody pro souběžné stanovení kolistinu a CMS v ČR, jednak omezené množství stabilitních dat kolistinu a CMS v podmínkách reflektujících běžné preanalytické zpracování vzorku. Třetím limitem je absence populačního farmakokinetického modelu pro kriticky nemocné, s jehož pomocí by bylo možné predikovat vývoj plazmatických koncentrací kolistinu při omezeném počtu odběrů, případně včas provést úpravu dávky. Adekvátní dávkování kolistinu u kriticky nemocných ztěžuje i možná interference kolistinu s použitými instrumentálními metodami (extrakorporální membránová oxygenace, ECMO, a metody náhradní funkce ledvin, RRT). Situaci neusnadňuje ani omezená přenositelnost dříve publikovaných dat; stabilitní i farmakokinetické údaje jsou totiž produktově specifické.

Habilitační práce je předkládána jako komentovaný soubor pěti publikací doplněných úvodem, který shrnuje aktuální poznatky v klíčových oblastech (farmakologický profil kolistinu, změny farmakokinetiky léčiv u kriticky nemocných pacientů, terapeutické monitorování léčiv v intenzivní medicíně a populační farmakokinetické modely, interference léčiv s okruhy extrakorporální membránové oxygenace), jichž se tato práce dotýká. Cílem práce je tak podpořit zavedení spolehlivého terapeutického monitorování kolistinu do rutinní klinické praxe a společně s antibiotickým stewardshipem zajistit racionálnější použití tohoto rezervního antibiotika.

## 2 Teoretické podklady

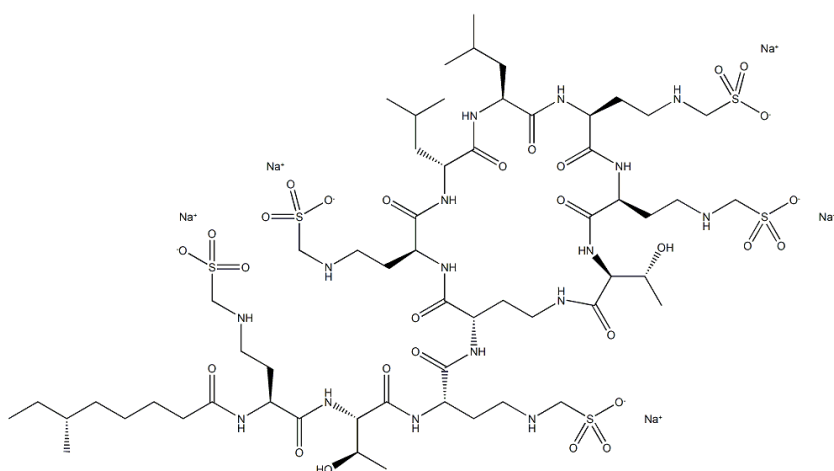
### 2.1 Farmakologický profil kolistinu

#### 2.1.1 Chemická struktura, fyzikálně-chemické vlastnosti

Kolistin (polymyxin E) je klasifikován jako lipopeptidové (někdy polypeptidové) antibiotikum. Základ jeho molekuly tvoří deka-peptid; sedm z těchto deseti aminokyselinových zbytků vytváří cyklickou formaci a přes tripeptidový můstek je k ní připojena mastná kyselina.<sup>1,2</sup> Pět zbytků diaminomáselné kyseliny představuje volné aminy, které jsou za fyziologického pH ionizované a dávají molekule kolistinu kladný náboj.<sup>1,2</sup> Molekula kolistinu má amfifilní charakter.<sup>3</sup>

Kolistin je fermentačním produktem *Paenibacillus polymyxa*.<sup>2-5</sup> Není jednoznačně chemicky definovaný; jde o směs více než třiceti derivátů, které nejsou v konstantním poměru. To se promítá do rozdílných fyzikálně-chemických, farmakokinetických a teoretických i farmakodynamických vlastností produktů jednotlivých výrobců. Hlavními složkami, které tvoří přibližně 85 % směsi, jsou kolistin A a kolistin B – rozdíl mezi nimi je v délce řetězce mastné kyseliny. Molekulová hmotnost v obou případech přesahuje 1100 Da.<sup>2,4,6-8</sup> Další deriváty se odlišují nejen v délce řetězce mastné kyseliny, ale i v typu aminokyselin. Množství kolistinu se udává jak v obvyklých SI jednotkách (mg), tak v mezinárodních jednotkách (international units, IU).

Dnes se v České republice i v Evropě v rámci systémového (nikoli topického) podání setkáváme prakticky výhradně s použitím proléčiva kolistinu – kolistin methansulfonátem, neboli kolistimethátem sodným. Proléčivo vzniká chemickou modifikací kolistinu, kdy jsou k pěti volným aminům připojeny prostřednictvím kovalentních vazeb sulfomethylové skupiny. Chemická struktura CMS je znázorněna na Obrázku 1.



**Obrázek 1: Chemická struktura kolistinu methansulfonátu (CMS)**

Některé primární aminy však nemusejí být derivatizované, zatímco jiné mohou mít připojené dvě sulfomethylové skupiny. CMS je tak komplexní směsí methansulfonovaných derivátů kolistinu, hlavně CMS A a CMS B.<sup>6</sup> CMS je antimikrobiálně zcela neaktivní, na rozdíl od kolistinu má totiž celkově negativní povrchový náboj.<sup>1,2</sup> Spontánní hydrolýzou *in vitro* i *in vivo* vznikají kladněji nabitě parciálně sulfomethylované metabolity, které ale stále nemají vlastní antimikrobiální účinek.<sup>1,6</sup> Až po odštěpení všech sulfomethylových skupin je získán antimikrobiálně účinný kolistin.

Rychlost spontánní hydrolýzy CMS na kolistin je ovlivněna složením a pH nosného roztoku, teplotou prostředí, případně i materiálem obalu. Dalším faktorem je koncentrace CMS – čím je koncentrace vyšší, tím stabilnější roztok je. Souvisí to pravděpodobně s amfifilním charakterem CMS i kolistinu. Při překročení kritické micelární koncentrace mohou molekuly vytvářet micely a koloidální agregáty a snižovat tak náchylnost k hydrolýze.<sup>6,9-14</sup> V kontextu koncentrace je třeba brát v potaz, v jakém roztoku je stabilita měřena – koncentrace roztoků pro nebulizaci se mohou pohybovat v desítkách mg/ml, koncentrace infuzních roztoků pak v jednotkách, maximálně v desítkách mg/ml, plazmatické koncentrace CMS jsou v mg/l (přibližně do 50 mg/l). Stabilitní data nejsou přenositelná. Přenositelnost je limitována i rozdílností produktů jednotlivých výrobců, ev. i šarží.

### 2.1.2 Mechanismus účinku kolistinu, bakteriální spektrum, indikace

Mechanismus účinku kolistinu stále není zcela objasněn. Jednou z hypotéz je nábojem zprostředkovaná interakce pozitivně nabitého kolistinu s negativně nabitými fosfáty lipopolysacharidu vnější membrány gram-negativních bakterií.<sup>2,5,15</sup> V druhém kroku dochází ke kompetitivní dislokaci vápenatých a hořečnatých iontů z vazby na fosfáty. Tím je destabilizována trojrozměrná struktura lipopolysacharidu a vnější membrány. V dalším kroku dochází k interakci membrány a hydrofobního řetězce mastné kyseliny jako jedné z integrálních součástí molekuly kolistinu a formují se struktury podobné pórům.<sup>3,15</sup> Tím roste prostupnost vnější membrány oběma směry; membrána ztrácí schopnost limitovat průnik hydrofobních antibiotik a antibiotik s velkou molekulovou hmotností. Podobným detergenčním účinkem působí kolistin i na úrovni vnitřní membrány.<sup>2,3,5,15,16</sup> Změna její integrity vede k úniku intracelulárního obsahu a lýze buňky.

Další hypotézy pracují s fúzí vnější a vnitřní membrány, výměnou fosfolipidů a osmotickou nerovnováhou a lýzou buňky<sup>15</sup>, anti-endotoxinovým efektem kolistinu<sup>3,17</sup>, nekompetitivní inhibicí enzymů bakteriálního dýchacího řetězce<sup>16,18</sup>, oxidačním stresem<sup>16,19</sup>. Obecně lze říci, že mechanismus účinku úzce souvisí s fyzikálně-chemickými vlastnostmi kolistinu a efekt kolistinu je baktericidní, velmi rychlý a nezávislý na metabolické aktivitě bakterie.<sup>2,5</sup>

Kolistin je úzkospektré antibiotikum. *In vitro* vykazuje účinnost vůči multirezistentním gram-negativním bakteriím, včetně *A. baumannii*, *P. aeruginosa* a většině zástupců *Enterobacteriaceae*. Přirozeně rezistentní jsou *Proteus spp.*, *Burkholderia pseudomallei*, *Serratia spp.*, *Morganella morganii*, *Providentia spp.* Dále jsou typicky rezistentní gram-pozitivní bakterie, anaeroby a eukaryota.<sup>2,3</sup>

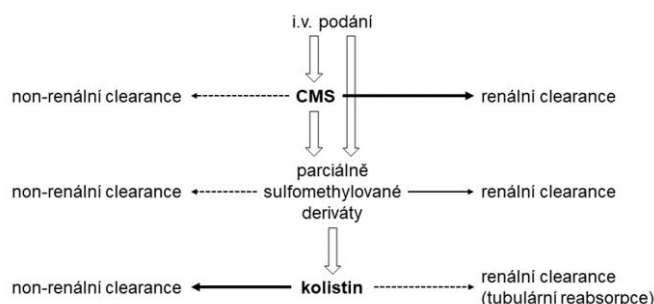
S ohledem na dosavadní vývoj rezistencí vůči karbapenemům, fluorochinolonům a aminoglykosidům se kolistin opět dostává do klinického použití. Stále si zachovává svou účinnost vůči karbapenem-rezistentním patogenům. Je tak obvykle poslední volbou v terapii těžkých infekcí způsobených multirezistentními gram-negativními patogeny (především *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*), a to především tam, kde nejsou na trhu či finančně dostupná novější a bezpečnější antibiotika (ceftazidim/avibaktam, meropenem/vaborbaktam, plazomicin).<sup>2,20,21</sup> Za zmínku ale jistě stojí fakt, že tato antibiotika nejsou účinná vůči infekcím způsobeným karbapenem-rezistentním *A. baumannii* (CRAB).

Aktuální doporučené postupy zmiňují kolistin jako preferované léčivo do kombinace v terapii středně těžkých, těžkých a invazivních infekcí způsobených CRAB a invazivních infekcí způsobených karbapenem-rezistentními *P. aeruginosa* a *Enterobacteriaceae*.<sup>22,23</sup>

The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) stanovila minimální inhibiční koncentraci (MIC) 4 mg/l pro *P. aeruginosa* a 2 mg/l pro *A. baumannii* za hranice citlivosti.<sup>24</sup>

### 2.1.3 Farmakokinetika CMS a kolistinu, PK/PD cíle

Kolistin je podáván ve formě CMS, neaktivního proléčiva. Každá z látek má zcela rozdílnou farmakokinetiku – především hlavní exkreční cestu. Schéma bioaktivace a hlavních cest exkrece CMS a kolistinu shrnuje Obrázek 2 (převzato z Rychlíčková J, Kubíčková V<sup>25</sup>).



**Obrázek 2: Schéma bioaktivace a hlavních cest exkrece CMS a kolistinu**

Charakter šipek reflektuje rozsah clearance danou cestou při normálních renálních funkcích. Převzato z Rychlíčková J, Kubíčková V.<sup>25</sup>

S ohledem na přítomnost náboje musí být CMS pro dosažení systémového efektu podáván intravenózně. Biologická dostupnost je tedy 100 % a maximální plazmatické koncentrace je dosaženo prakticky v čase ukončení infuze. Vazba na plazmatické bílkoviny je nevýznamná.<sup>26</sup> Distribuční objem ( $V_D$ ) odpovídá objemu extracelulární tekutiny.<sup>27</sup> V populaci kriticky nemocných ale může dosahovat širokého rozmezí 10–30 litrů.<sup>28</sup> CMS je hydrolyzován na kolistin. Spontánní hydrolýza představuje jednu z non-renálních cest eliminace CMS. Hlavní eliminační cestou CMS jsou ledviny, glomerulární filtrace a tubulární sekrece. Plazmatický poločas CMS se pohybuje v rozmezí 1,5–2 hodin. Mezi renální funkcí a bioaktivací CMS na kolistin existuje inverzní vztah. U pacientů s augmentovanou renální clearance (augmented renal clearance, ARC) je riziko selhání terapie v důsledku eliminace CMS ještě před jeho konverzí na kolistin. U pacientů s renální dysfunkcí je clearance CMS pomalejší, čas pro konverzi na kolistin je tak delší.<sup>29,30</sup> Obecně uváděný rozsah konverze 30–60 % je třeba brát s opatrností, jde o data od zdravých dobrovolníků a při nejmenším renální dysfunkce může procento významně modifikovat.<sup>27,31</sup>

Antimikrobiálně účinný kolistin vzniká až hydrolýzou *in vivo*. S ohledem na produktově, inter- a intraindividuálně variabilní rozsah a rychlost konverze CMS dosahuje čas jeho maximální plazmatické koncentrace ( $T_{MAX}$ ) širokého rozmezí. U zdravých dobrovolníků 3–5 hodin, v populaci kriticky nemocných 1–8 hodin, resp. až 18,5 hodiny.<sup>27,31–38</sup> Podobně se v širokém rozmezí pohybují i maximální plazmatické koncentrace ( $C_{MAX}$ ) kolistinu. U kriticky nemocných pacientů 0,6–13 mg/l.<sup>32–35,37,39</sup> Řada prací ale  $C_{MAX}$  neuvádí vůbec nebo uvádí pouze průměrnou hodnotu studované populace. Zkreslení  $C_{MAX}$  může vycházet z pragmatické strategie samplingu při vysoké variabilitě  $T_{MAX}$ ; nemusíme totiž zachytit vrcholovou koncentraci. Výše  $C_{MAX}$  je pochopitelně ovlivněna i podanou dávkou CMS a použitím nasycovací dávky; režimy v publikovaných pracích se významně liší.

Kolistin se přibližně z 50 % váže na plazmatické bílkoviny, u kriticky nemocných byla reportována vazba vyšší (až 74 %).<sup>26,38</sup>  $V_D$  odpovídá objemu extracelulární tekutiny.<sup>27</sup> V populaci kriticky nemocných byl ale velmi variabilní a dosahoval i až téměř 240 litrů.<sup>28</sup> Metabolismus a eliminace kolistinu nejsou zcela popsány. Na rozdíl od CMS je u kolistinu dominantní non-renální cesta. S ohledem na jeho peptidovou povahu připadá v úvahu proteolytická degradace. Konkrétní enzymy ale nebyly doposud popsány. Renální clearance kolistinu je minimální, především díky významné tubulární reabsorpci (pravděpodobně cestou transportéru pro organické kationty OCTN1, transportéru pro peptidy PEPT2, megalinu).<sup>27</sup>

Za zmínku jistě stojí i fakt, že jednotlivé deriváty kolistinu se budou ve své farmakokinetice mírně odlišovat. Popsána byla například rozdílná vazba kolistinu A a kolistinu B na plazmatické bílkoviny při jejich různých plazmatických koncentracích u kriticky nemocných.<sup>38</sup> Klinická významnost takových rozdílů je ale nebyla doposud prokázána.

Z hlediska farmakokineticko-farmakodynamických parametrů (PK/PD parametrů) spadá kolistin do kategorie antibiotik s efektem závislým na expozici. Klíčovým farmakokinetickým parametrem je tak plocha pod křivkou jeho plazmatických koncentrací (area under the plasma drug concentration-time curve, AUC), farmakodynamickým parametrem je pak MIC konkrétní bakterie. Cílová hodnota AUC/MIC je pro terapii infekcí způsobených *P. aeruginosa* nejméně 60 mg·h/l. Tsuji a kol. pak za cíl uvádí 24hodinovou AUC v ustáleném stavu ( $AUC_{SS,24h}$ ) 50 mg·h/l resp. průměrnou plazmatickou koncentraci kolistinu v ustáleném stavu ( $c_{SS,AVG}$ ) 2 mg/l (1 mg/l volného kolistinu, při úvaze 50 % vazby na plazmatické proteiny); bez rozdílu pro etiologická agens.<sup>22</sup> Na druhé straně uvádí, že tyto hodnoty v sobě reflektují rozdíly ve vazbě na plazmatické bílkoviny, resp. výši volné frakce léčiva i nepřesnosti při určování MIC a rozdíly v účinnosti *in vitro* a *in vivo*. Hodnoty jsou platné pro monoterapii. Abdul-Aziz a kol. pak uvádí cílový PK/PD parametr 24hodinovou AUC volné frakce kolistinu vztaženou k MIC ( $fAUC_{0-24}/MIC$ ) s hodnotou 10,9–13,7 mg·h/l pro *P. aeruginosa* a 3,5–9 mg·h/l pro *A. baumannii*.<sup>40</sup> Při úvaze epidemiologických cut-off hodnot MIC dle EUCAST a 50% vazbě na plazmatické bílkoviny by  $c_{SS,AVG}$  odpovídala přibližně 4 mg/l resp. 0,6–1,5 mg/l. Autoři tohoto Position Paper k terapeutickému monitorování (therapeutic drug monitoring, TDM) antimikrobiálních léčiv u kriticky nemocných ale dále specifikují  $fAUC_{0-24}/MIC$  na přibližně 12 mg·h/l pro patogeny s MIC  $\leq 2$  mg/l, což koresponduje s výše uvedenými  $c_{SS,AVG}$  2 mg/l celkového kolistinu.<sup>40</sup>

Stále je třeba mít na paměti, že PK/PD parametry jsou pouhými zástupnými parametry. Systematické review zaměřené na odhad klinického výsledku léčby ve vztahu k různým parametrům neprokázalo statisticky signifikantní rozdíl  $c_{SS,AVG}$  mezi skupinou vyléčených kriticky nemocných pacientů a skupinou, u které terapie selhala.<sup>28</sup>

#### 2.1.4 Doporučené dávkování, modifikace dávkování u kriticky nemocných

V údajích o dávkování kolistinu může panovat řada nejasností díky použití dvou jednotek – množství kolistinu je udáváno jak v miligramech, tak mezinárodních jednotkách (international units, IU). Dalším zdrojem nejasností mohou být používaná synonyma – kolistin, colistin base activity (CBA) jako synonyma pro vlastní účinné léčivo a kolistin methansulfonát, kolistimethát sodný, CMS jako synonyma pro proléčivo. Preferované jednotky a názvy se liší geograficky a promítají se i do doporučených postupů. Obecně platí následující vztahy: 1 milion mezinárodních jednotek CMS (million international units, MIU) je přibližně ekvivalentní 80 mg CMS a 30 mg, ev. 33 mg kolistinu nebo CBA.<sup>22,41</sup>

Dávkování kolistinu navíc zaznamenalo významný vývoj směrem k vyšším dávkám díky pozornosti věnované minimalizaci zkreslení *in vitro* formovaným kolistinem, zpřesnění metod pro stanovení plazmatických koncentrací a pokroku

mikrobiologických testů citlivosti a stanovení MIC.<sup>41</sup> Z těchto důvodů je třeba s opatrností interpretovat dříve publikovaná data, případně data v dříve publikovaných verzích souhrnu údajů o přípravku (summary of product characteristics, SPC). V úvahu je třeba brát fakt, že do roku 1995 byly léčivé přípravky v Evropě registrovány národně a každá země tak mohla používat jiné dávkování. Tyto rozdíly částečně přetrvávaly ještě v roce 2013.<sup>42</sup> Aktuální stav harmonizace SPC není k dispozici. Každopádně ještě v roce 2013 většina z analyzovaných SPC uváděla maximum 6 MIU/den pro pacienty nad 60 kg a přibližně pouze třetina zmiňovala možnost vyšších dávek (do 9–12 MIU/den).<sup>42</sup>

V České republice je v roce 2025 pro systémové podání držitelem rozhodnutí o registraci doporučena denní dávka 9 MIU (720 mg) CMS rozdělená do dvou až třech jednotlivých dávek. U kriticky nemocných doporučené dávkování zahrnuje použití nasycovací dávky 9 MIU (720 mg) CMS. U pacientů s dobrou renální funkcí je pak zmíněno zvýšení nasycovací i udržovací denní dávky na 12 MIU (960 mg). Naopak u pacientů se sníženou funkcí ledvin je doporučena redukce – při clearance kreatininu 30–49 ml/min má být denní dávka snížena na 5,5–7,5 MIU (440–600 mg), při clearance kreatininu 10–29 ml/min na 4,5–5,5 MIU/den (360–440 mg/den) a při clearance kreatininu <10 ml/min je doporučena denní dávka 3,5 MIU CMS (280 mg).<sup>43</sup> Publikovaná doporučení pro kriticky nemocné se významně neodlišují.<sup>22,30</sup> Délka odstupu mezi nasycovací a první udržovací dávkou je dle doporučených postupů 12–24 hodin.<sup>22</sup>

V otázce optimálního dávkování kolistinu ale řada rozporů přetrvává: přínosnost nasycovací dávky, bezpečnost nasycovací dávky, individualizovaná výše nasycovací dávky, délka odstupu mezi nasycovací a první udržovací dávkou, dávkování kolistinu za přítomnosti orgánových podpor v intenzivní medicíně.

S nasycovací dávkou se typicky setkáváme u léčiv s krátkým biologickým poločasem v situacích, kdy potřebujeme rychle dosáhnout maximálního účinku, ale i u léčiv s dlouhým biologickým poločasem, u kterých dochází k opožděnému dosažení ustáleného stavu. Více méně to platí i pro CMS. Účelem nasycovací dávky je rychlejší dosažení účinných koncentrací kolistinu, rychlejší eradikace patogenu a prevence rozvoje rezistence. To vše v kontextu prodlouženého  $T_{MAX}$ . S ohledem na klinické podmínky, kdy je kolistin nasazován, se použití nasycovacích dávek jeví jako racionální. Doporučení držitele rozhodnutí o registraci, doporučené postupy, ani zažité konvence výšku nasycovací dávky kolistinu (ale typicky ani jiných antibiotik) neindividualizují. Otázkou ale zůstává, zda právě individualizace dávky zohledňující především renální funkce by nevedla k lepší shodě v tom, zda jsou nasycovací dávky opodstatněné, či nikoli. Jak už bylo uvedeno výše, mezi mírou konverze CMS na kolistin a renálními funkcemi pacienta existuje inverzní vztah. Určení výše nasycovací dávky nejen na základě velikosti  $V_D$  a cílové plazmatické koncentrace, ale i se zohledněním rychlosti glomerulární filtrace by mohlo vést ke zvýšení bezpečnosti terapie. Tuto myšlenku podporuje i Gontijo a kol., který pomocí matematického modelu navrhuje jednak individualizaci výše nasycovací dávky, jednak délky intervalu mezi nasycovací a první udržovací dávkou

pro různé úrovně renální funkce následujícím způsobem: při clearance kreatininu 20 ml/min navrhuje nasycovací dávku 3 MIU a interval mezi nasycovací a první udržovací dávkou 16 hodin, pro clearance kreatininu 80 ml/min je to 8 MIU a 9 hodin, pro 150 ml/min pak 12,5 MIU a pouze 6 hodin.<sup>41,44</sup> Rizikovost nasycovací dávky ve smyslu nefrotoxicity a rizika rozvoje akutního renálního selhání nebyla doposud jednoznačně prokázána. Tuto myšlenku otevírá v diskuzi jedné z komentovaných prací v druhé části této habilitační práce.

Specifikem populace kriticky nemocných jsou různé formy přístrojové podpory, především RRT a ECMO, ale i hemoperfuze či CPFA (coupled plasmafiltration adsorption). CMS i kolistin jsou RRT efektivně odstraňovány, konkrétní rozsah extrakorpórní clearance závisí na typu a konkrétním nastavení metody; v případě CMS je třeba přičíst i případnou zbytkovou diurézu.<sup>34,45–51</sup> V úvahu je třeba brát i potenciální adsorpci kolistinu na hemodialyzační membránu. Taková data publikoval Menna a kol.<sup>39</sup> Tsuji a kol. pro pacienty na kontinuální RRT (continuous renal replacement therapy, CRRT) doporučuje dávku 13 MIU CMS za den, tedy dávku o téměř o polovinu vyšší než je dávka pro pacienta s normální funkcí ledvin.<sup>22</sup> Podrobnosti nejsou zmíněné, nicméně lze předpokládat, že dávka zohledňuje jak potenciální adsorpci, tak absenci tubulární resorpce kolistinu. U kriticky nemocných pacientů ale toto dávkování vedlo k vyšší než doporučené  $_{CSS,AVG}$ .<sup>52</sup>

Interferenci kolistinu a ECMO a dávkování zde se věnuji v komentované práci, která je součástí této habilitační práce.

### 2.1.5 Nežádoucí účinky

Nejvýznamnějším nežádoucím účinkem kolistinu je nefrotoxicita. Právě tento nežádoucí účinek byl důvodem pro syntézu CMS a, navzdory zavedení CMS do praxe, i k vyřazení kolistinu z použití v 80. letech 20. století, kdy byl nahrazen bezpečnějšími alternativami. Mechanismus nefrotoxicity je dáván do souvislosti s tubulární resorpcí kolistinu, kdy dochází k indukci změn mitochondriální morfologie a membránového potenciálu a následně k apoptóze a akutní tubulární nekróze.<sup>41</sup>

Obecně se incidence nefrotoxicity, resp. akutního renálního selhání (acute kidney injury, AKI) v publikované literatuře pohybuje mezi 0–60 %.<sup>16,53–58</sup> Tato data nesou jistou míru kontroverze. Výsledky jsou závislé na tom, zda jsou data sbírána retrospektivně, či prospektivně – při prospektivním sběru je incidence nižší.<sup>59</sup> Rozdíly jsou tak zřejmé mezi randomizovanými klinickými studiemi a observačními studiemi reflektujícími běžnou klinickou praxi. Dále závisí, jakým způsobem je nefrotoxicita definována. Definice AKI dle klasifikace RIFLE (Risk, Injury, Failure, Loss, and End-stage renal disease) zavedeného v roce 2004 je jiná než dle systému KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) užívaného od roku 2012. V kohortových studiích je s použitím KDIGO incidence nižší. Do třetice je zde zřejmý vztah data publikace a reportované

incidence nefrotoxicity.<sup>53,54,56,59</sup> To může jít ruku v ruce s vývojem kritérií pro hodnocení nefrotoxicity, ale i s používanými dávkami (viz výše), potažmo s vyššími dosahovanými plazmatickými koncentracemi kolistinu a potenciálem k vyšší intrarenální konverzi CMS na kolistin. Opačný vliv mohou představovat s časem dokonalejší purifikační techniky výrobců kolistinu.<sup>54</sup> Podíl pacientů s AKI, kteří potřebovali RRT, se pohyboval níže, v rozmezí 0–28 %.<sup>53,57</sup>

Jako rizikový faktor nefrotoxicity je často identifikována velikost dávky. V tomto kontextu je zpochybňována bezpečnost nasycovacích dávek. Z dříve publikované retrospektivní analýzy vychází rozdílný medián denní dávky kolistinu u pacientů s manifestovanou nefrotoxitou a bez ní; konkrétně 5,48 vs. 3,85 mg/kg ideální tělesné hmotnosti (tj. přibližně 13 vs. 9 MIU CMS/den).<sup>57</sup> Odtud plyne rizikovost populace obézních pacientů; při zohlednění celkové, ale i adjustované tělesné hmotnosti se snadno dostaneme přes uvedenou hranici vycházející z ideální tělesné hmotnosti. Almutairy a kol. dospěl k závěru, že každý 1 mg/kg/den kolistinu (odpovídá přibližně 30 000 IU/kg/den CMS) zvyšuje riziko AKI 1,6×.<sup>55</sup> Chien a kol. ovšem vztah mezi vysoko-dávkovaným kolistinem a AKI nepotvrdil.<sup>59</sup> V prospektivní observační studii a s pomocí klasifikace RIFLE byla identifikována údolní koncentrace ( $C_{MIN}$ ) jako nezávislý prediktor AKI, a to ve výši 3,33 mg/l sedmý den terapie a 2,42 mg/l na konci léčby kolistinem (šlo o celkovou koncentraci, nikoli volnou frakci).<sup>58</sup> Druhá uvedená hranice byla později validována v prospektivní studii.<sup>60</sup> Průkaz vztahu mezi dávkou CMS, dávkou kolistinu a jeho toxicitou je pochopitelně komplikován inter- a intraindividuálně rozdílným rozsahem přeměny CMS a potažmo dosaženými plazmatickými koncentracemi kolistinu.

Dalšími rizikovými faktory nefrotoxicity kolistinu jsou celková kumulativní dávka, preexistující renální dysfunkce, věk, hypoalbuminémie, obezita, souběžné podání dalších nefrotoxických léčiv; vyšší riziko je i v populaci kriticky nemocných.<sup>53–55,58,61,62</sup>

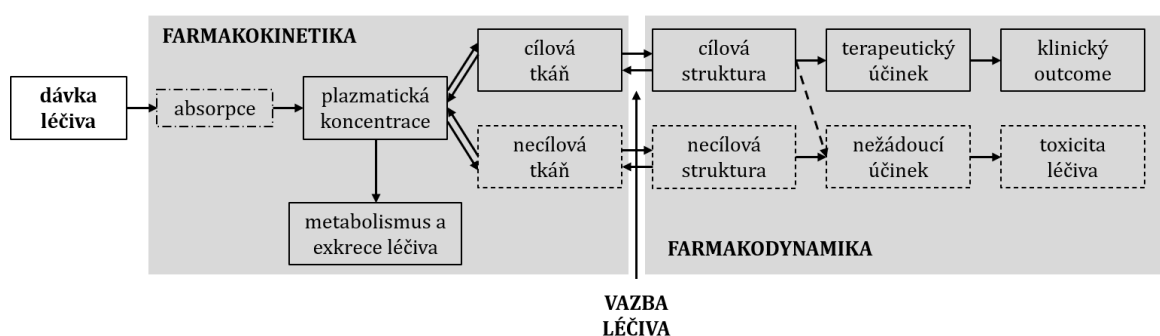
Nefrotoxicita spojená s kolistinem se nejčastěji manifestuje v prvních dnech terapie.<sup>53,55,57,63,64</sup> Kumulativní dávka kolistinu tak jako rizikový faktor pro nefrotoxickou zůstává předmětem dalšího výzkumu. Nefrotoxicita je obvykle reverzibilní nežádoucí účinek, který ustupuje po vysazení léčiva a jen zřídka vyústí v trvalé poškození ledvin. Z dosavadních dat nevyplývá rozdíl v mortalitě pacientů s nefrotoxitou/AKI a bez nefrotoxicity/AKI navzdory faktu, že nefrotoxicita je známým prediktorem mortality.<sup>59</sup> Stejně tak nebyl identifikován rozdíl v dosažených plazmatických koncentracích mezi pacienty s AKI a bez AKI.<sup>28</sup> Jinými slovy, dodržení bezpečnostního limitu nutně neznamená bezpečnou léčbu.

Obecně je srovnání publikovaných dat k nefrotoxicitě kolistinu obtížné s ohledem na jejich vysokou heterogenitu. Klinická významnost nefrotoxicity kolistinu nicméně nemusí být tak vysoká, jak se původně předpokládalo. Protektivním faktorem se zdá být kombinace kolistinu s dalšími antibiotiky, především karbapenemy.<sup>59,65</sup> Výše uvedená data zároveň dobře ilustrují úzké terapeutické rozmezí kolistinu, kdy prakticky dochází k překryvu hranice bezpečnosti a účinnosti.

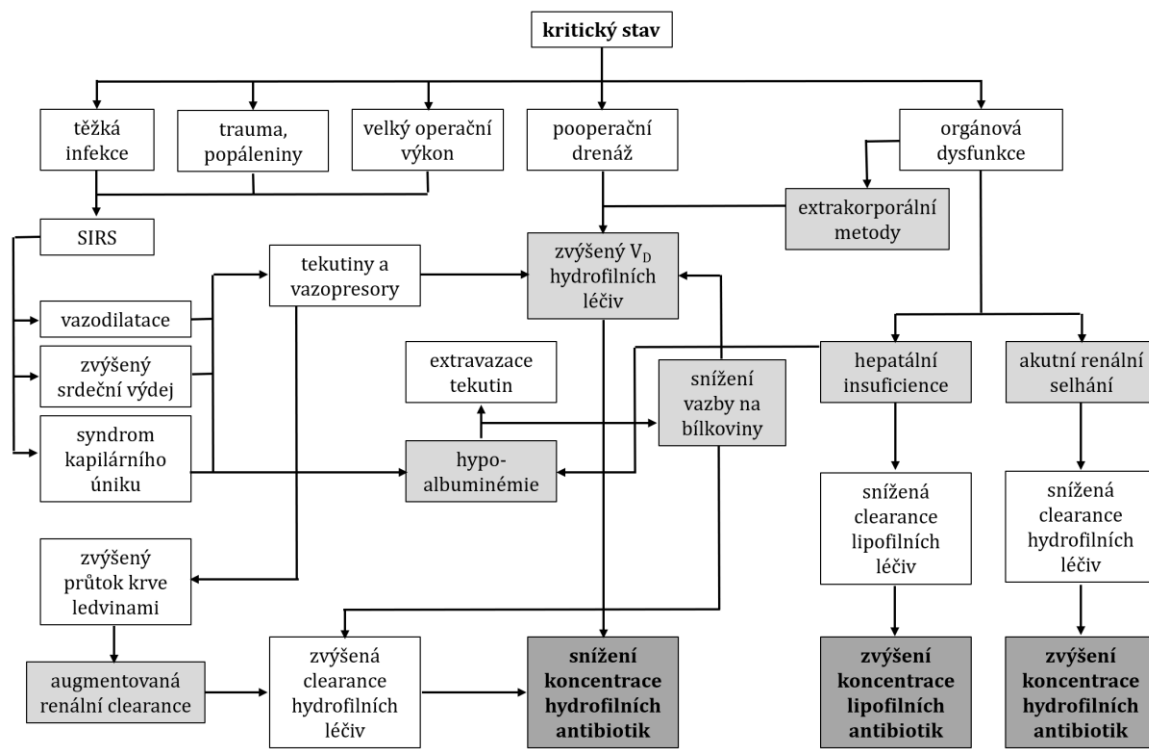
Druhým typickým nežádoucím účinkem kolistinu je neurotoxicita. V porovnání s nefrotoxicitou jde o minoritní nežádoucí účinek. Incidence je uváděna pouze v jednotkách procent. Vyšší incidence je uváděna v dříve publikovaných studiích, ve studiích, kde byl kolistin aplikován intramuskulárně, nebo ve studiích aplikujících vyšší dávky, případně po delší dobu. Rizikovými faktory se jeví být renální insuficience, myastenia gravis a současná aplikace léčiv způsobujících svalovou relaxaci. To souvisí s předpokládanými mechanismy neurotoxicity kolistinu – interakce s neurony díky lipofilní povaze kolistinu, interference s uvolněním acetylcholinu, kompetitivní blokáda a prolongovaná depolarizace neuronů vedoucí k poklesu intracelulárního kalcia a mitochondriální dysfunkci. Klinickými projevy jsou parestezie, nevolnost, zvracení, myopatie, neuropatie, ataxie, zmatenost, psychóza, halucinace, křeče, respirační selhání. U kriticky nemocných je odlišení neurotoxicity kolistinu od polyneuropatie problematické. Podobně jako v případě nefrototoxicity jde o nežádoucí účinek objevující se v prvních dnech terapie. Stejně jako nefrotoxicita je neurotoxicita reverzibilní.<sup>53,54,66–68</sup>

## 2.2 Změny farmakokinetiky léčiv u kriticky nemocných

Účinek léčiva je typicky závislý na dosažení cílové tkáně, cílové struktury, a na lokální koncentraci, případně koncentraci v čase. Nežádoucí účinky léčiva se pak odvíjí od expozice necílových tkání. Tento koncept shrnuje Obrázek 3. Farmakodynamická odpověď na podané léčivo tak jde ruku v ruce s jeho farmakokinetikou.<sup>69</sup> Subterapeutické koncentrace jsou rizikové z důvodu selhání terapie, případně rozvoje nežádoucích účinků nezávislých na dávce; v případě antibiotik lze připočíst i riziko rozvoje bakteriální rezistence. Dopady supratherapeutických koncentrací pak nejpravděpodobněji budou nežádoucí účinky závislé na dávce.



**Obrázek 3: Schéma vztahu farmakodynamické odpovědi a farmakokinetiky léčiva (PK/PD vlastností léčiva)**



Upraveno dle Blot a kol.<sup>71</sup>

Za změnou  $V_D$  typicky stojí vazodilatace, zvýšená vaskulární permeabilita a únik tekutin (a proteinů) do třetího prostoru (tzv. capillary leak syndrome).<sup>40,69,71,73,75</sup> Onkotický tlak proteinů v intersticiu extravazální přesun tekutin dále podporuje. Vliv na  $V_D$  má i kumulace tekutin ve specifických kompartmentech (např. ascites, pleurální výpotek, plicní edém), nebo přímý únik plazmy extravazálně (např. u popálenin, traumat).<sup>71,74</sup> Vliv na výši  $V_D$  mají ovšem i extrakorporální okruhy (v kapitole 2.4 se zmiňují o změnách  $V_D$  u ECMO).<sup>70,71</sup> Absolutní i relativní pokles intravazální náplně vyžaduje podání tekutin, které dále přispívají k nárůstu  $V_D$  pro hydrofilní léčiva.<sup>40,71,74,75</sup> Nárůst  $V_D$  se odvíjí od tíže onemocnění, zvýšení tak bude v širokém rozmezí; oproti zdravým dobrovolníkům ale může být u kriticky nemocných zvýšen až téměř na dvojnásobek.<sup>40,71,72</sup> Odtud tedy doporučení pro použití vyšší úvodní (nasycovací) dávky u řady  $\beta$ -laktamových antibiotik, aminoglykosidů, vankomycinu, nebo právě CMS. Stále totiž platí základní vztah pro určení výše jednotlivé dávky v jednokompartmentovém modelu při 100% biologické dostupnosti a použití aktivního léčiva, nikoli proléčiva:

$$\text{dávka (mg)} = V_D(l) \times \text{cílová koncentrace (mg/l)}$$

Výši nasycovací dávky mohou na druhé straně limitovat dávkově závislé nežádoucí účinky. Ty mohou být potenciálně významnější, započteme-li efekt vazopresorů a centralizaci oběhu, omezenou tkáňovou distribuci a penetraci hydrofilních léčiv do tkání a současně vyšší expozici perfundovaných tkání léčivu.<sup>69,71,72,74</sup> V tomto kontextu může být významná i změna prostupnosti hematoencefalické bariéry a downregulace/inhibice P-glykoproteinu jako hlavní effluxní pumpy.<sup>69,74</sup> Na druhé straně distribuce lipofilních léčiv těmito mechanismy významně změněna není.<sup>71</sup>

U kriticky nemocných dochází rovněž ke změně koncentrace plazmatických bílkovin, především albuminu a kyselého  $\alpha$ -1 glykoproteinu.<sup>40,69,72-74</sup> Často viditelný pokles koncentrace albuminu (více 40 % pacientů v intenzivní péči má koncentraci albuminu  $\leq 25$  g/l) přispívá k poklesu onkotického tlaku krve a k nárůstu  $V_D$ , sám o sobě má ale také vliv na farmakokinetiku léčiv.<sup>40,70,71,74,75</sup> A to především těch, která jsou na albumin vysoce vázaná (>85–90 %; z antibiotik např. oxacilin, flukloxacilin, ceftriaxon, ertapenem, daptomycin, teikoplanin).<sup>40,70,71</sup> Při hypoalbuminémii se zvyšuje jejich volná frakce a tím i dostupnost pro eliminaci.<sup>71,73</sup> Hypoalbuminémie tak má komplexní vliv na farmakokinetiku léčiv a jejich dávkování – potřeba vyšší nasycovací dávky v kontextu změny  $V_D$ , vyšší volná a účinná frakce léčiva a riziko poklesu plazmatických koncentrací v průběhu dávkovacího intervalu pod stanovenou hranici. Toto riziko může být důvodem pro zkrácení intervalu mezi dávkami.<sup>71</sup> Klinický význam snížené vazebné kapacity albuminu pro dávkování antibiotik je ale nejasný.<sup>74</sup>

Kyselý  $\alpha$ -1 glykoprotein je na rozdíl od albuminu pozitivní reaktant akutní fáze. U kriticky nemocných pozorujeme jeho zvýšení.<sup>74</sup> Díky svému pozitivnímu náboji váže především bazická léčiva (z antibiotik např. právě kolistin).<sup>74,76</sup> Pro terapeutický účinek tak může být teoreticky třeba dosažení vyšší celkové koncentrace léčiva.

Zatímco  $V_D$  hraje majoritní roli v úvodu terapie a určení nasycovací dávky, clearance se odráží především v určení udržovacích dávek, resp. intervalu mezi nimi. Clearance může být u kriticky nemocných ovlivněna oběma směry: v případě renální clearance se může rozvinout glomerulární hyperfiltrace (augmentovaná renální clearance, ARC), nebo naopak AKI; v případě jaterní clearance může být metabolismus léčiv zvýšen vlivem enzymových induktorů či zvýšeným průtokem játry.<sup>71</sup> Jaterní clearance může být snížena v důsledku hepatocelulárního poškození, hypoperfuze, cholestázy, systémové zánětlivé odpovědi (spojené s produkcí prozánětlivých cytokinů působících inhibici enzymů CYP450) či vlivem léčiv působících jako enzymové inhibitory.<sup>69,71,74</sup> Clearance může být ovlivněna i asociovanými stavy (např. vytěsnění léčiv z vazby na plazmatické bílkoviny vlivem hyperbilirubinémie, zvýšení volné frakce léčiva při snížené plazmatické koncentraci albuminu).<sup>70</sup> Vliv na clearance mají také instrumentální metody (RRT, ECMO).

- *Augmentovaná renální clearance (ARC)*, nejčastěji definovaná jako rychlost glomerulární filtrace vyšší než 130 ml/min/1,73m<sup>2</sup> (dle některých zdrojů až 160 ml/min/1,73m<sup>2</sup> u mužů, resp. 150 ml/min/1,73m<sup>2</sup> u žen), se u kriticky nemocných pacientů rozvíjí pravděpodobně jako důsledek uvolnění prozánětlivých cytokinů, systémové vazodilatace, zvýšeného srdečního výdeje a zvýšeného průtoku krve ledvinou.<sup>40,70–72,74,77</sup> Roli pravděpodobně hraje také tzv. renální funkční rezerva.<sup>70</sup> Spojována bývá s pacienty s traumatickým poraněním mozku, meningitidou, polytraumaty, popáleninami, sepsí a s pacienty podstupujícími velké chirurgické výkony (tedy stavy současně vedoucími ke zvýšení  $V_D$ ).<sup>70–72,77,78</sup> Rizikovým faktorem je i mužské pohlaví, nižší věk a nižší závažnost onemocnění.<sup>40,70,77,78</sup> Tyto faktory vycházejí z observačních dat, stejně jako prevalence, která je u kriticky nemocných udávána mezi 20 a 65 %; ve výše uvedených rizikových populacích je ovšem vyšší.<sup>40,70</sup> V klinické praxi není tento fenomén stále často rozpoznán.<sup>77</sup> Použití rovnic pro odhad glomerulární filtrace v diagnostice ARC selhává, proto je, přes své limity, preferovanou cestou stanovení clearance kreatininu z 8–24hodinového sběru moči.<sup>40,70,77,78</sup> Stanovení by s mělo probíhat opakovaně v průběhu hospitalizace – ARC se typicky rozvíjí v prvních dnech hospitalizace, její přetrvání je ale velmi variabilní.<sup>77</sup> Přestože je primárně spojována se zvýšenou glomerulární filtrací, některé zdroje zmiňují i vztah k tubulárním funkcím.<sup>78</sup>

ARC je spojena s poklesem plazmatické koncentrace léčiv vylučovaných dominantně v nezměněné formě renálně (např.  $\beta$ -laktamová antibiotika, vancomycin, ale i antikoagulanty) a následně s rizikem selhání terapie.<sup>70–74,77</sup> Horší klinický outcome pacientů s augmentovanou renální clearance byl ovšem v dostupné literatuře reportován v minimu případů.<sup>70</sup> Praktická úprava dávkování antibiotik se pak liší dle PK/PD parametrů; v případě časově a expozičně závislých antibiotik může být užitečné zkrácení dávkovacího intervalu, či prodloužení infuze; v případě antibiotik s efektem závislým

na koncentraci je to zkrácení intervalu mezi dávkami.<sup>71</sup> Úprava dávek při ARC se dnes již postupně dostává i do doporučených postupů.<sup>70</sup>

- *Akutní renální selhání (AKI)*, typicky definované pomocí změny sérového kreatininu a/nebo poklesu výdeje moči v čase (např. pomocí klasifikace RIFLE, AKIN či KDIGO), je častou komplikací kriticky nemocných pacientů spojenou s vyšší mortalitou, prodloužením pobytu na jednotce intenzivní péče a rizikem přechodu do chronické renální insuficience.<sup>71,79,80</sup> Jde o heterogenní syndrom ve vztahu ke své etiologii, patofyziologii či klinické prezentaci; může se rozvíjet na podkladě změny systémové či lokální hemodynamiky, zánětu, ischemie, vlivem nežádoucích účinků léčiv.<sup>79,80</sup> Prevalence AKI se u kriticky nemocných pacientů pohybuje v rozmezí 30–60 %.<sup>69,72,73,79–81</sup>

Podobně jako v případě ARC jsou při AKI změnou farmakokinetiky ohrožena léčiva eliminovaná především renálně v nezměněné formě či ve formě aktivních metabolitů.<sup>71,73,81</sup> Při AKI je hlavní obavou jejich kumulace. Principiálně by se AKI mělo promítat hlavně do výše udržovací dávky, resp. její redukce (nebo změny intervalu mezi dávkami v závislosti na PK/PD parametrech). Na druhé straně asociované změny  $V_D$  při AKI ovlivní i výši nasycovací dávky, která by především v případě hydrofilních léčiv měla být použita a případně i zvýšena.<sup>71,81,82</sup> Včasné nasazení antibiotik u kriticky nemocných a prvních 48 hodin terapie jsou totiž klíčové z hlediska celkového výsledku léčby.<sup>83</sup> Přílišná redukce dávek v kontextu obav z kumulace antibiotik může mít naopak negativní dopady.<sup>83</sup> Dalším důvodem pro konzervativnější přístup v redukcí dávkování antibiotik může být non-renální clearance léčiv a případná zástupná eliminace, opožděná kinetika sérového kreatininu oproti glomerulární filtraci, potažmo problematický odhad aktuální glomerulární filtrace, a také možná časná reparace renálních funkcí (v závislosti na etiologii AKI).<sup>71,75,81,82</sup> Je tudíž doporučeno antibiotickou terapii zahájit standardními dávkami a úpravu provést až s odstupem, a to především u léčiv s širokým terapeutickým oknem.<sup>81–83</sup> S reparací renálních funkcí je na místě dávku antibiotik opět navýšit. Otázkou zůstává dávkování léčiv s významným podílem tubulární sekrece či resorpce.<sup>81</sup>

V kontextu tubulárních funkcí, diagnostiky AKI pomocí sérového kreatininu, ev. pseudonefrotoxicity, je významná i kompetice léčiv o transportér kreatininu (recentně byl tento jev popsán v kontextu souběžné terapie piperacilin/tazobaktamem a vankomycinem).<sup>84</sup>

- *Metody náhradní funkce ledvin* (RRT), intermitentní, kontinuální i hybridní metody jako SLED (sustained low-efficiency dialysis) či PIRRT (prolonged intermittent renal replacement therapy), jsou běžnou součástí péče o kriticky nemocné.<sup>75,85</sup> Vyžadují je jednotky procent pacientů hospitalizovaných na jednotkách intenzivní péče, nejčastěji za účelem korekce tekutinové bilance, iontové dysbalance, urémie či acidobazické rovnováhy.<sup>72,75,80,81,85</sup> Kontinuální

metody jsou běžnější u hemodynamicky nestabilních pacientů.<sup>75,80,82,85</sup> Všechny metody jsou efektivní v clearance hydrofilních léčiv s malou molekulovou hmotností.<sup>82</sup> Léčiva s molekulovou hmotností <500 Da jsou odstraňována po koncentračním gradientu difuzí, středně-molekulární léčiva s molekulovou hmotností 500–5000 Da jsou odstraňována konvekci (při nejmenším v případě low-flux membrán).<sup>40,69,72,75,81</sup> Účinně jsou dále odstraňována léčiva s nízkou vazbou na plazmatické bílkoviny, nízkým distribučním objemem a obecně vysokou renální clearance.<sup>40,69,71,75,81,82</sup> Konkrétní clearance se ale liší dle typu RRT.<sup>40,71,82</sup> Metody využívající konvekci (kontinuální veno-venózní hemofiltrace, CVVHF; kontinuální veno-venózní hemodiafiltrace, CVVHDF) zajišťují obecně vyšší clearance léčiva než metody založené na difuzi (intermitentní hemodialýza, IHD; SLED; kontinuální veno-venózní hemodialýza, CVVHD).<sup>69,81</sup> Roli hraje i materiál, plocha a porozita dialyzátoru (velikost a distribuce velikosti pórů) – dialyzátory jsou klasifikovány jako tzv. low-flux, medium-flux a high-flux.<sup>40,69,71,72,75,81,82</sup> V této řadě roste propustnost pro vodu i schopnost odstraňovat středně-molekulární látky, a to i v případě použití metod založených na difuzi.<sup>72</sup> Clearance léčiva ovlivňuje i rychlost průtoku krve a dávka dialýzy.<sup>40,69,71,72,75,81,82</sup> Dalším faktorem ovlivňujícím clearance léčiva je jeho potenciální adsorpce na materiál dialyzátoru a v případě kontinuálních metod založených na konvekci způsob substituce tekutin (pre-diluce, post-diluce).<sup>75,81</sup>

Intermitentní metody jsou sice účinnější v clearance léčiv, probíhají ale pouze po dobu několika hodin.<sup>75,81</sup> Po ukončení procedury je na místě použití dosycovací dávky dialyzovatelných léčiv.<sup>81</sup> Zároveň zde ale není zcela přenositelné dávkování léčiv doporučené pro chronicky intermitentně dialyzované pacienty na intermitentně dialyzované kriticky nemocné.<sup>75,81</sup>

Kontinuální metody navyšují přirozenou clearance (renální, non-renální); v prevenci poddávkování vyžadují navýšení dávky antibiotika oproti dávce použité před zahájením CRRT.<sup>75,81</sup> Díky absenci tubulární resorpce a možné interferenci léčiv s materiálem hemofiltru se u některých léčiv dokonce setkáváme s vyšším dávkováním při CRRT než u pacienta s normálními renálními funkcemi.<sup>82,86,87</sup> V každém případě je po ukončení CRRT třeba dávku opět přizpůsobit aktuálním renálním funkcím pacienta.<sup>81</sup>

S ohledem na vývoj a zdokonalování metod v čase mohou starší publikovaná data clearance léčiv podhodnocovat.<sup>81,82</sup> Dávkování antibiotik při RRT je s ohledem na heterogenitu metod, postupů a pacientů převážně empirické.<sup>40</sup>

- *Hepatální dysfunkce* je široký pojem zastřešující selhávání jedné nebo více jaterních funkcí. V závislosti na definici postihuje 11–54 % kriticky nemocných.<sup>88</sup> Příčinami hepatální dysfunkce u kriticky nemocných mohou být

infekce, hypoperfúze, autoimunitní či onkologická onemocnění, hemolýza, alkohol či nežádoucí účinky léčiv.<sup>71,88</sup>

Kvantifikace hepatálních funkcí a následná úprava dávek léčiv je obtížná. Neexistuje jednoduchý zástupný parametr či výpočet, pomocí kterého by bylo možné jaterní clearance odhadnout.<sup>88</sup> Držitelé rozhodnutí o registraci v rámci SPC typicky doporučují úpravu dávky léčiva dle Child-Pugh skóre.<sup>71</sup> Tento systém je ale určen pro hodnocení prognózy pacientů s chronickým onemocněním jater, především cirhózou. Ve vztahu k dávkování léčiv nenabízí ani základní kvantifikaci míry selhávání jednotlivých funkcí jater, ani míry ovlivnění jednotlivých farmakokinetických parametrů léčiv. S ohledem na jeho kompozitní charakter tak budou nápomocnější jeho jednotlivé složky.<sup>88</sup>

Obecně je jaterní clearance závislá na průtoku krve játry, vnitřní metabolické aktivitě (vnitřní jaterní clearance), ev. výši volné frakce léčiva. Clearance léčiv s vysokým extrakčním poměrem bude majoritně závislá na průtoku krve (snížena při hypoperfuzi, ale i vlivem umělé plicní ventilace a vazopresorů, zvýšena při hyperdynamické cirkulaci), clearance léčiv s nízkým extrakčním poměrem pak bude limitována dostupností a aktivitou konkrétních enzymů (a snížena vlivem prozánětlivých cytokinů, urémie).<sup>69,71,73,74,88</sup> Mezi mírou jaterní dysfunkce a dysfunkce jednotlivých enzymů první a druhé fáze biotransformace neexistuje lineární vztah.<sup>71</sup> Zároveň výše popsané mechanismy napovídají významnou variabilitu metabolismus léčiv v čase.

Úprava dávek antibiotik při hepatální dysfunkci není obvykle nutná s ohledem na jejich majoritně renální eliminaci v nezměněné formě; dávkování antibiotik tak reflektuje spíše obecné změny farmakokinetiky u kriticky nemocných.<sup>40,73,88</sup>

- *Lékové interakce* na úrovni jaterních enzymů cytochromu P450, případně enzymů fáze II biotransformace, mohou rovněž významně ovlivnit metabolismus a plazmatické koncentrace léčiv.<sup>69</sup> Farmakoterapie v intenzivní péči bývá velmi komplexní, prostor pro vznik lékových interakcí různé úrovně klinické významnosti je široký.<sup>69</sup> Původci nejvýznamnějších lékových interakcí ale budou klarithromycin, erythromycin (používaný jako prokinetikum) a flukonazol jako inhibitory CYP 3A4, které zvyšují plazmatické koncentrace substrátů tohoto izoenzymu; nejvýznamnějšími induktory jsou pak rifampicin, fenytoin, případně fenobarbital.<sup>69</sup> Tématu nejvýznamnějších lékových interakcí v intenzivní medicíně jsem se věnovala v přehledovém článku, jehož součástí je i podrobnější rozbor interakcí výše zmíněných léčiv (celé znění v Příloze 1).<sup>89</sup>

Další úrovní lékových interakcí může být vazba na plazmatické bílkoviny, případně kompetice o vazbu s uremickými toxiny.<sup>69</sup> Lékovým interakcím na úrovni absorpce se věnuji níže.

Vedle vlivu patofyziologických změn na  $V_D$  a clearance může být u kriticky nemocných významně pozměněna i absorpce léčiv z gastrointestinálního traktu, subkutánního prostoru či svalů.<sup>71</sup> Ve všech případech hraje roli perfuze a/nebo otok daného místa; kvantifikace vlivu těchto modalit je komplikovaná.<sup>69,73,74,90,91</sup> V případě gastrointestinálního traktu je třeba uvažovat i o vlivu poruch motility, změn pH žaludku a střeva, rozsahu absorpční plochy a permeability stěny.<sup>69,73,74,82,91</sup> A to v kontextu fyzikálně-chemických a farmakologických vlastností léčiva, které má být absorbováno (molekulová hmotnost; disociační konstanta; rozpustnost; přítomnost first-pass efektu).<sup>71,74</sup> Nepřímý vliv mohou mít chirurgické výkony, minerálové dysbalance, hyperglykémie, zvýšený intrakraniální tlak nebo léky – hypoperfuze v důsledku vazopresorické podpory, snížená motilita v důsledku podávání opioidních analgetik a sedativ, hypoacidita v důsledku podání inhibitorů protonové pumpy.<sup>74,82,91</sup> Absorpce léčiv může být snížena i v důsledku lékových interakcí; interakci léčiv s enterální výživou jsem identifikovala v přehledovém článku jako jednu z pěti nejvýznamnějších interakcí v intenzivní medicíně (celé znění v Příloze 1).<sup>74,89</sup> Dalším místem lékových interakcí na úrovni absorpce, ale i vlivu systémové zánětlivé odpovědi, může být střevní P-glykoprotein.<sup>74</sup> K interakci může docházet i na úrovni nasogastrické či nasojejunální sondy (adsorpce léčiv na plastový povrch sond).<sup>91</sup> Rizikem je nezávisle na cestě podání opožděná absorpce, snížená biologická dostupnost léčiva, snížená farmakodynamická odpověď.<sup>69,71,73</sup>

Kvantifikace absorpce je u kriticky nemocných pacientů obtížná, především u léčiv bez přímo měřitelného klinického efektu. V mnoha případech nicméně můžeme změnit cestu podání na intravenózní a potenciálně problematické místo tak eliminovat. Je ovšem třeba mít na paměti rozdíly v dávkování dané rozdílnou biodostupností a rizika některých pomocných látek přítomných pouze v intravenózních lékových formách (propylenglykol, polysorbát-80, sulfobutylether- $\beta$ -cyklodextrin) – podrobnosti lze nalézt v článku, který jsem na toto téma publikovala (celé znění v Příloze 2).<sup>91,92</sup>

Ke všem výše uvedeným změnám farmakokinetiky v kritickém stavu je třeba připočítat věk, preexistující onemocnění, orgánové dysfunkce, obezitu, těhotenství a vliv dosavadní terapie, které přístup k dávkování léčiv budou dále modifikovat.<sup>40,74</sup>

### 2.3 Terapeutické monitorování léčiv v intenzivní medicíně, populační farmakokinetické modely

Terapeutické monitorování léčiv (TDM) je metoda optimalizace a individualizace dávků léčiva za účelem maximalizace jeho účinku a minimalizace toxicity. To vše na základě jeho koncentrace v biologickém materiálu. A také na základě známého vztahu expozice a odpovědi, či expozice a bezpečnosti. Tato metoda byla do klinické praxe zavedena na přelomu 60. a 70. let 20. století.<sup>93</sup> Dnešní praxe už ale spíše stojí na propojení TDM s populačními farmakokinetickými modely a tzv. model-informed precision

dosing (MIPD). Jinými slovy jako kliničtí farmakologové či farmaceuti využíváme populační farmakokinetické modely a v nich integrované matematické a statistické predikce k přesnějšímu a flexibilnějšímu odhadu vývoje koncentrací léčiva u konkrétního pacienta na základě minimálně jedné stanovené koncentrace léčiva (*a posteriori* odhad), nebo dokonce i k určení úvodního dávkování na základě individuálních dat pacienta bez známé koncentrace léčiva (*a priori* predikce).<sup>94–96</sup> Důležitým faktem je kritické zhodnocení populačního farmakokinetického modelu, na jehož základě je predikce a úprava dávky prováděna.<sup>96–98</sup> O to důležitější je to v případě jeho použití u populací typicky opomíjených v klinickém výzkumu. Ideální je použít model vycházející z co nejpodobnější cílové populace.<sup>96</sup> Součástí kritického zhodnocení zvoleného modelu by mělo být i zhodnocení, zda byl vůbec konstruován se záměrem použití v běžné klinické praxi (viz kapitola 2.3.2 Populační farmakokinetické modelování).

Z původního konceptu TDM ale stále pochopitelně zachováváme prvky interpretace změřené koncentrace léčiva, záměr jejího udržení poblíž individuální cílové hodnoty, návrh nové dávky léčiva a plán dalšího monitoringu.<sup>93,95</sup>

Stále také platí, že TDM/MIPD je interdisciplinárním přístupem spoléhajícím na přesné, správné, reprodukovatelné analytické metody splňující validační parametry pro laboratorní analytické metody ve zdravotnictví. Součástí validace metody je tedy i ověření, že preanalytické zpracování vzorku (např. odstranění proteinů) nevede ke ztrátám či degradaci analytu. Součástí validace jsou i stabilitní testy, včetně ověření efektu opakovaného zmrazení vzorku (freeze-thaw stability). Z praktického hlediska by metody navíc měly být rychlé, ekonomické, dostupné a poskytující výsledek v klinicky relevantním čase.<sup>40,93</sup>

V kontextu personalizace dávkování léčiv se vedle zmíněných TDM a MIPD objevuje tzv. target concentration intervention (TCI). TDM vychází ze změřené plazmatické koncentrace v konkrétním čase v ustáleném stavu, kterou cílí do terapeutického rozmezí. Změřené hodnoty kategorizuje jako subterapeutické, terapeutické a supratherapeutické; současně považuje hodnoty na dolní a na horní hranici terapeutického rozmezí za ekvivalentní a zamítá hypotézu, že i terapeutické koncentrace mohou být suboptimální z hlediska klinického výsledku pro pacienta.<sup>96,97</sup> S tím souvisí omezená možnost skutečně personalizované dávky. TDM samo o sobě také nedává návod na úpravu dávky na základě změřené koncentrace. MIPD a TCI naproti tomu využívají populační farmakokinetické (ev. i farmakodynamické) modely a predikce. Mohou zohlednit i jiné parametry než jen plazmatickou koncentraci léčiva.<sup>95,96</sup> Jinými slovy zohledňují individuální faktory pacienta, onemocnění i léčiva. Díky tomu představují modernější přístup k personalizaci terapie.<sup>96</sup> MIPD lze oproti TCI považovat za inkluzivnější pojem.

S ohledem na fakt, že se pojem MIPD začal šířeji používat až v novém tisíciletí a pojem TDM je zatím užší i širší odborné veřejnosti bližší, budu v následujícím textu preferovat pojem TDM, ač s vědomím jeho faktické nepřesnosti.

### 2.3.1 Terapeutické monitorování léčiv v intenzivní medicíně

TDM je v intenzivní medicíně tradičně spojeno především s antibiotiky, a to především ve smyslu zajištění jejich bezpečnosti. U kriticky nemocných pacientů je včasné zahájení antibiotické léčby správně zvoleným antibiotikem ve správné dávce klíčové pro to, abychom dosáhli zamýšlené účinnosti, zabránili rozvoji rezistence a podpořili bezpečnost léčby. Řada antibiotik nicméně spadá do skupiny léčiv s relativně úzkým terapeutickým oknem, ale především spadá do skupiny léčiv, jejichž farmakokinetika i farmakodynamika je u kriticky nemocných pacientů významně pozměněná. Určení správné dávky se tak stává skutečnou výzvou s vlivem mnoha modalit. Dnešní TDM se tak rozšiřuje i na antibiotika s širokým terapeutickým oknem a cílem se více orientuje na prevenci poddávkování, selhání léčby s rizikem nárůstu bakteriální rezistence než na prevenci toxicity.<sup>40,96</sup>

Již výše jsem zmínila, že TDM vychází z předpokladu korelace dávky léčiva s plazmatickou koncentrací a korelace plazmatické koncentrace léčiva s jeho efektem. V případě antibiotik jsou prediktory účinnosti právě PK/PD parametry. Bohužel jak farmakokinetická, tak farmakodynamická složka PK/PD parametrů je zatížena značnou variabilitou a zkreslením.

- Změnám farmakokinetiky u kriticky nemocných je věnována kapitola 2.2 této habilitační práce. K nim je třeba připočíst fakt, že je typicky stanovována plazmatická koncentrace antibiotika, zatímco infekce je lokalizovaná mimo centrální kompartment. Dosažená tkáňová koncentrace se od té plazmatické může diametrálně lišit.<sup>40</sup> Dalším zdrojem variability může být vazba na plazmatické bílkoviny, resp. výše volné, na bílkoviny nevázané frakce ( $f$ ).
- Farmakodynamickou složkou je v tomto případě citlivost konkrétního patogenu k účinku antibiotika, tedy MIC. Nejen, že jsou kriticky nemocní pacienti dominantně ohroženi infekcemi, jsou ohroženi infekcemi způsobenými méně citlivými patogeny.<sup>40,96</sup> S tím úzce souvisí problematika obecné spolehlivosti parametru MIC. Jedná se pouze o zástupný parametr účinnosti. MIC vychází z *in vitro* podmínek s nefyziologicky stacionární koncentrací antibiotika a její odečet probíhá v jednom časovém bodě. Její stanovení je zatíženo omezenou přesností a reprodukovatelností. Mnohdy také není hodnota MIC dostupná, nebo není dostupná v čase potřeby, a je tudíž nutné, ale mnohdy i v kontextu výše uvedeného preferované, vycházet z epidemiologických dat EUCAST či Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).<sup>40,94,96,98</sup> Pakliže MIC determinuje dávkování antibiotik, je třeba její hodnoty interpretovat s opatrností. O to více, pokud je lokálně stanovená MIC pod epidemiologickou cut-off hodnotou a hrozí poddávkování antibiotika.

Z pohledu PK/PD parametrů jsou antibiotika klasifikována do třech kategorií:

- antibiotika s koncentračně závislým účinkem ( $C_{MAX}/MIC$ , resp.  $fC_{MAX}/MIC$ ),
- antibiotika s expozičně závislým účinkem ( $AUC/MIC$ , resp.  $fAUC/MIC$ ),

- antibiotika s časově závislým účinkem ( $T > MIC$ , resp.  $fT > MIC$ ).

Většina antibiotik má dnes cílové hodnoty PK/PD parametrů stanovené.<sup>40</sup> Odvíjí se od nich obecná dávkovací strategie, včetně různých nomogramů úprav dávkování, i strategie vedoucí k dosažení PK/PD parametrů – použití nasycovací dávky a následné prodloužené či kontinuální infuze za účelem prodloužení času nad MIC, zkrácení infuze u koncentračně závislých antibiotik apod. Nicméně jde o hodnoty iniciálně stanovené v *in vitro* a preklinických studiích, případně ve studiích na zdravých dobrovolnících; PK/PD cílů definovaných na základě klinických endpointů je minimum.<sup>94,96</sup> Jde o hodnoty, které se liší podle citlivosti patogenů, typů infekce, celkového klinického stavu pacienta a charakteru terapie.<sup>96,98</sup> PK/PD parametry se navíc vztahují k ustáleném stavu. PK/PD parametry tak představují značně zjednodušující prvek.

Na podobném principu stojí i vztahy farmakokinetiky a toxicity s vlastními, ne nutně stejnými, parametry.<sup>40,98</sup>

TDM je v klinické praxi typicky prováděno na základě odběru dvou vzorků (v odůvodněných případech i jen jednoho vzorku), standardně se jedná o údolní koncentraci ( $C_{MIN}$ ), na jejímž základě jsou pomocí populačního farmakokinetického modelu vypočteny odpovídající farmakokinetické parametry. V případě nedostupnosti či nespolehlivosti populačního modelu je možné jejich odhad vystavět na několika odběrech v průběhu jednoho dávkovacího intervalu, nicméně vždy je žádoucí volit pragmatickou strategii vzorkování odlišnou od čistě farmakokinetických studií. Na druhé straně může právě pragmatická strategie odběru vzorků vést k zavádějícím výsledkům. Například provádíme-li pouze odběr  $C_{MIN}$ , spoléhá se odhad AUC,  $C_{MAX}$  i  $T > MIC$  na skutečnost, že má léčivo farmakokinetiku 1. řádu a pohybujeme se v jednokompartmentovém modelu. Zvláště v populaci kriticky nemocných je ale třeba korelaci  $C_{MIN}$  a ostatních parametrů validovat. Údolní koncentrace odráží především clearance léčiva; výpočet  $V_D$  umožňuje dominantně  $C_{MAX}$ .<sup>40</sup> Situace je komplikovanější v případě léčiv, která jsou podávána ve formě biologicky neaktivních proléčiv (jako v případě kolistinu, resp. CMS), nebo pokud mají aktivní metabolity (aktivní metabolit má klindamycin, metronidazol, zde ale ani v jednom případě není TDM v klinické praxi prováděno).

TDM je ekonomicky náročnou metodou (strukturálně, procesně). Vyvážení nákladů benefitů je problematické, zvláště v případě, kdy jsou přínosy TDM a optimalizace plazmatické koncentrace léčiva ve smyslu klinických výsledků nejasné (mikrobiologická eradikace patogenu, vyléčení pacienta, pokles mortality, změny v incidenci nežádoucích účinků).<sup>40,93,94,96</sup> Každopádně je to metoda, která není a ani nemá být implementována plošně a v jejímž případě stratifikace pacientů a adaptivní zpětná vazba může přispět k zefektivnění investic. V běžné klinické praxi se dnes u kriticky nemocných pacientů setkáváme s TDM vankomycinu, aminoglykosidů (prokázaný klinický benefit i prevence nežádoucích účinků); na řadě pracovišť v ČR jsou k dispozici metody pro stanovení vybraných  $\beta$ -laktamových antibiotik a linezolidu. Metody pro stanovení koncentrací kolistinu a jeho TDM jsou v České republice omezené, v roce 2025 je ve standardním režimu nenabízí žádná laboratoř. Současně již v roce 2015 byla

absence TDM kolistinu označena jako faktor negativně ovlivňující bezpečnost a účinnost polymyxinů.<sup>41</sup> Mezinárodní doporučené postupy k optimálnímu použití polymyxinů z roku 2019 TDM podporují.<sup>22</sup> Position Paper k TDM antimikrobiálních léčiv u kriticky nemocných z roku 2020 zaujímá k TDM kolistinu neutrální stanovisko.<sup>40</sup> Praktickým aspektům TDM kolistinu se věnuji v komentovaných pracích v další části své habilitační práce.

Za problémy současného TDM, a potažmo dávkování antibiotik u kriticky nemocných, můžeme označit:

- nutnost spoléhat se na zástupné, mnohdy klinicky nevalidované, parametry, či parametry nevalidované na extrémních populacích (např. kromě kriticky nemocných pacientů pacienti morbidně obézní apod.),
- stanovení koncentrace léčiva dominantně v plazmě či séru při nejasné distribuci do cílového místa především v počátku terapie,
- minimální využití modernějších a méně invazivních technik odběrů (např. stanovení léčiva metodou suché kapky, využití biosenzorů),
- stanovení celkové koncentrace léčiva s omezenou možností stanovení volné, na bílkoviny nevázané frakce,
- nepřesnost analytických metod, kdy analytická chyba by měla optimálně odpovídat reziduální chybě modelu,
- absenci analytických metod pro některá antibiotika,
- nedostupnost metod v režimu 24/7 v běžné klinické praxi s dodáním výsledku v řádu hodin,
- omezené možnosti adaptability farmakokinetických modelů v čase,
- nejasný reálný benefit TDM v každodenní péči o kriticky nemocné, nebo nejasné charakteristiky pacientů, kteří by z TDM s největší pravděpodobností mohli profitovat.<sup>40,94,96,98</sup>

### 2.3.2 Populační farmakokinetické modelování

Interpretace plazmatické koncentrace léčiva je možná několika postupy. Prvním z nich je pouhé posouzení, zda koncentrace spadá do stanoveného rozmezí. Nevýhody tohoto přístupu (absence zahrnutí kovariát do úvahy, nutnost odebrat vzorek v ustáleném stavu a v konkrétní části dávkovacího intervalu, omezená aplikovatelnost na léčiva s nelineární farmakokinetikou a fakt, že minimální a maximální koncentrace definující terapeutické rozmezí je stavěna na roveň) jsem komentovala výše.<sup>98,99</sup> Pokročilejší, ač pro kriticky nemocné stále omezeně aplikovatelnou, metodou jsou dávkovací nomogramy. Nomogramy ale pořád neumožňují zohledňovat více než jednu kovariátu a neumožňují rozlišit zdroj variability farmakokinetiky.<sup>98</sup> Populační farmakokinetické modely jako pokročilá metoda interpretace farmakokinetických dat tuto nevýhodu

překlenují a MIPD integrující tyto modely představuje moderní přístup k individualizaci dávkování léčiv.<sup>99</sup>

Populační farmakokinetické modelování si klade za cíl popsat vývoj koncentrací léčiva v čase na úrovni populace (odhaduje populační farmakokinetické parametry) a odhalit, ověřit a kvantifikovat zdroje variability. S dostatečnou znalostí kovariát je s jejich pomocí možné predikovat typický farmakokinetický profil jednotlivého pacienta a podpořit personalizaci léčby, zde především individualizaci dávkování a optimalizaci poměru benefitů a rizik.<sup>99,100</sup> Dnešní populační farmakokinetické modelování majoritně pracuje s principem nelineárního modelování smíšených efektů (NLME, non-linear mixed-effects models). „Nelineární“ odkazuje na fakt, že závislá proměnná (typicky plazmatická koncentrace) je nelineárně závislá na parametrech modelu a nezávislých proměnných (typicky čas).<sup>101,102</sup> Pojem „smíšené efekty“ (mixed effects) pak popisuje jak přítomnost fixních efektů, tedy parametrů, které se nemění a jde o zprůměrované farmakokinetické parametry populace (typicky clearance léčiva,  $V_D$ ), tak přítomnost náhodných efektů, tedy parametrů, které jsou u každého subjektu jiné.<sup>100,101</sup> Právě NLME modelování umožňuje analyzovat i kvantitativně omezená či variabilní data.<sup>99–102</sup> Jsme tudíž schopni využít nesourodá data například z různě designovaných klinických studií nebo poměrně kusá a heterogenní data reálných pacientů. Zásadní pro správnou funkčnost modelu, přesnost a správnost odhadů je ale přesnost a čistota vstupních dat.<sup>98–101</sup> Pro kvantifikaci farmakokinetických parametrů a variability většina NLME modelů pracuje s metodou maximální věrohodnosti (maximum likelihood estimation, MLE). Tento princip pak integrují různé algoritmy (např. first order, FO; first-order conditional estimation, FOCE; stochastic approximation expectation-maximization, SAEM; Markov Chain Monte Carlo, MCMC). Jednotlivé softwarové nástroje populačního farmakokinetického modelování se liší v používaném algoritmu, resp. ve spektru integrovaných algoritmů.<sup>100,102,103</sup> Každý algoritmus má své výhody a nevýhody a je vhodný pro určitý charakter vstupních dat. Nicméně proces konstrukce modelu je ve všech případech stejný.

Na základě standardizovaně sbíraných a zpracovávaných farmakokinetických dat je provedena iniciální exploratorní analýza a vystavěn *strukturální model*, který popisuje ideální průběh koncentrací v jednom či více kompartmentech v čase formou algebraické či diferenciální rovnice.<sup>102</sup> Strukturální model popisuje průměr celé populace. Náhodnou variabilitu a případnou korelaci jejích parametrů vysvětluje *model statistický*. Zdrojem náhodné variability je interindividuální variabilita (neboli „between-subject variability“), reziduální variabilita (neboli „residual unexplained variability“; například chyby v dávkování, odběru vzorků, analytické chyby, nedostatky modelu). Máme-li k dispozici více dat od jedné osoby, je zdrojem i intraindividuální variabilita (včetně „inter-occasion variability“, „between-occasion variability“).

*Kovariátní model* pak pracuje s individuálními charakteristikami, které plazmatické koncentrace a potažmo dávkování léčiva ovlivňují.<sup>98,101,102</sup> Kovariátní model tak napovídá, co je zdrojem variability (minimálně vysvětlitelné interindividuální

variability), umožňuje stratifikovat pacienty a zlepšit *a priori* predikční schopnost modelu. Identifikace kovariát vychází z fyziologie a profilu léčiva. Některé kovariáty jsou součástí strukturálního modelu, jiné jsou přidány až v rámci konstrukce modelu kovariátního. Výsledkem populačního farmakokinetického modelování je model kombinující všechny tři zmíněné modely. Má formu matematické funkce, která popisuje teoretický časový průběh koncentrací léčiva v dávkovém rozmezí hodnoceném v klinických studiích, variabilitu danou kovariáty a přirozenou náhodnost dat.<sup>102</sup>

Nedílnou součástí populačního farmakokinetického modelování je testování modelů za účelem zlepšení jejich kvality. Testování je zaměřuje na základní interní zhodnocení, jak adekvátně model reprezentuje pozorovaná data a zda chyba mezi modelem a realitou je skutečně náhodná a bez struktury. Dále se testuje, zda je model důvěryhodný (testování spolehlivosti; cílem je minimální nejistota modelových parametrů) a zda jsou všechny kovariáty v modelu zabudované adekvátní a mají být ponechány (testování stability). Testujeme i prediktivní schopnosti modelu, resp. validujeme přesnost modelu v predikci farmakokinetických parametrů. Setkáváme se tak s testy jako goodness-of-fit a analýza reziduí (porovnávají predikované a pozorované hodnoty, rezidua a vážená rezidua s predikovanými hodnotami a vážená rezidua s kovariáty), bootstrap analýzou či cross-validací (interní validace převzorkováním), analýzou pomocí diagnostického nástroje visual predictive check (VPC), nebo metriky normalized prediction distribution errors (NPDE), resp. vynesení NPDE do grafu v závislosti na čase a populačních predikcích.<sup>99,101,103</sup> Při hodnocení (či porovnávání) modelů je sledován pokles tzv. objective function value (OFV), nízká hodnota relative standard errors (RSE), adekvátnost goodness-of-fit, VPC a NPDE grafů, případně fyziologická věrohodnost získaných parametrů a zjištěných kovariát.

Populační farmakokinetické modely umožňují identifikovat a popsat faktory ovlivňující farmakokinetiku léčiva. Mohou ale umožnit i zhodnocení interakce léčiva a onemocnění, případně lékové interakce. S integrací Monte Carlo simulací a Bayesovské predikce umožňují simulovat a porovnávat různá dávkovací schémata, odhadovat velikost personalizované první dávky a určit délku dávkovacího intervalu (*a priori* predikce), ale i odhadnout vývoj plazmatických koncentrací léčiva na základě známé plazmatické koncentrace (*a posteriori* predikce).<sup>40,98–100,102</sup> Pomáhají odhadnout dávkování v populacích, které jsou jen těžko zařaditelné do tradičních farmakokinetických studií z etických i čistě praktických důvodů a publikovaných dat k nim není mnoho (např. děti, těhotné ženy, kriticky nemocní pacienti, pacienti s těžkou renální insuficiencí).<sup>99,100</sup> Populační farmakokinetické modely mohou umožnit i testování různých designů klinické studie. Jsou tak obecně využitelné ve všech fázích životního cyklu léčiva – od preklinického vývoje, klinických studií až po postmarketingové sledování a každodenní individualizaci dávky v klinické praxi.<sup>100</sup>

Každý model je ale konstruovaný za určitým účelem, ne všechny modely jsou schopné všech výše uvedených odhadů.<sup>102</sup> Přenositelnost mimo původní účel použití je s otazníkem v kontextu faktu, že modely jsou pouhým zjednodušením, a tvrzení

britského statistika George Boxe: „Všechny modely jsou špatné, ale některé jsou užitečné.“ („All models are wrong, some are useful.“). Nevýhodou a hlavním limitem klasických populačních farmakokinetických modelů také je, že nejsou schopné pracovat s dynamickým vývojem pacienta v čase (typickým pro kriticky nemocné), a to ve chvíli, kdy víme, že pro Bayesovskou predikci jsou nejdůležitější nejnovější koncentrace.<sup>98,99</sup> Dalším limitem je zatížení *a priori* predikce založené na populačních modelech vysokou mírou nespolehlivosti, a to navzdory všem snahám o optimalizaci modelu.<sup>99</sup>

Populační farmakokinetické modely musí pro využití v registračním procesu či pro použití v klinické praxi splňovat určité standardy vývoje a validace.<sup>98,99</sup> Konkrétní pokyny k provádění a reportování populační farmakokinetické analýzy publikovala jak European Medicines Agency, tak Food and Drug Administration.<sup>104,105</sup> Primárně jsou pokyny cílené pro průmysl a registraci léčiv, nicméně usnadňují adaptaci publikovaných modelů do MIPD a běžné klinické praxe.<sup>99</sup> V odborné literatuře je publikovaná řada populačních farmakokinetických modelů pro různá léčiva pro různé populace. Je to tedy zdroj dat, který může software pro MIPD značně obohatit. Na druhé straně většina modelů není původně designována pro klinické použití. A reflektuje to i současná evropská legislativa, kdy je zodpovědností vývojáře software pro MIPD zhodnotit kvalitu modelu před jeho integrací do nástroje využívaného pro *a priori* či *a posteriori* predikce dávek v klinické praxi.<sup>106</sup> Kritické zhodnocení modelu integrovaného do softwarového nástroje pro MIPD pro konkrétní rozhodnutí má být provedeno i hlavním koncovým uživatelem (klinickým farmakologem). Kritické zhodnocení nespočívá v rozhodnutí, zda je model správný, pravdivý, nebo ne, ale zda je vhodný pro zodpovězení položené otázky.

## 2.4 Interference léčiv a okruhů extrakorporální membránové oxygenace

ECMO je formou mechanické podpory životních funkcí. V závislosti na konfiguraci slouží jako náhrada respiračních funkcí a výměny krevních plynů, a to především tam, kde není umělá plicní ventilace schopna tuto funkci zajistit (veno-venózní, VV-ECMO, sériové zapojení k srdci, plicím). Může sloužit i jako náhrada respiračních a kardiálních funkcí současně (veno-arteriální, VA-ECMO, paralelní zapojení k srdci a plicím).<sup>107</sup> Vedle těchto základních existují i další možnosti zapojení. ECMO okruhy mají několik základních komponent – krevní pumpa, oxygenátor, hadice, tepelný výměník, směšovač plynů, řídicí jednotka. Z hlediska interference s léčivy a změn farmakokinetiky léčiv, jsou pochopitelně nejpodstatnější první tři.

Farmakokinetika léčiv je u pacientů na ECMO ovlivněna faktory na straně pacienta, okruhu a léčiva.<sup>107–111</sup> Na straně pacienta jsou to změny kinetiky typické pro kritický stav (viz kapitola 2.2). V krátkosti jsou to změny  $V_D$ , změny koncentrace plazmatických bílkovin, změny acidobazické rovnováhy, orgánové dysfunkce. Významná

je i proměnlivost těchto změn v čase.<sup>110,112</sup> Okruh ECMO pak sám o sobě představuje další kompartment, přímo zvyšuje  $V_D$  a ovlivňuje clearance léčiva.<sup>107,108,111,112</sup> Absolutní zvýšení  $V_D$  je pochopitelně výraznější u novorozenců a dětských pacientů než u dospělých.<sup>111</sup> Na nárůstu  $V_D$ , a potažmo i změně clearance, se ale mohou podílet i fyziologické změny indukované ECMO (např. syndrom systémové zánětlivé odpovědi, hemodiluce, změny pH, absence pulzatilního toku při použití VA-ECMO a následná aktivace renin-angiotenzin-aldosteronového systému a pokles glomerulární filtrace, hypoperfuze orgánů) a sekvestrace léčiva, neboli vychytávání léčiva přítomného v krvi, na materiály ECMO okruhu.<sup>107,108,111,112</sup> Jednotlivé komponenty okruhu jsou vyrobené z různých plastů – oxygenátor ze silikonu, polypropylenu a dnes nejčastěji polymethylpentenu, hadice jsou typicky z polyvinylchloridu, liší se ale přítomností a charakterem povrchové úpravy. Jednotlivé materiály tak v různé míře přispívají k sekvestraci léčiv.<sup>107,108,110,111</sup> Dále se předpokládá, že vliv má i roztok, kterým byl okruh primován, a stáří okruhu ve smyslu potenciálního vysycení vazebných míst pro léčivo.<sup>108</sup> Z fyzikálně-chemických a farmakologických vlastností léčiva se jako nejvýznamnější z hlediska adsorpce na materiály okruhu a sekvestrace jeví rozpustnost, vazba na plazmatické bílkoviny, stupeň ionizace a molekulová hmotnost.<sup>108</sup>

- Rozpustnost je typicky vyjadřovaná pomocí rozdělovacího koeficientu oktanol/voda (logP). Lipofilnější léčiva (látky s vysoce pozitivním logP) mají vyšší sklon k sekvestraci než léčiva hydrofilnější.<sup>108,109,111,113</sup>
- Vyšší sklon k sekvestraci mají také léčiva s vyšší vazbou na plazmatické bílkoviny, a to i při podobné lipofilitě.<sup>108,109,111</sup>
- Stupeň ionizace je závislý na pH prostředí a disociační konstanta léčiva (pKa).<sup>108,111</sup> Podstatou sekvestrace může být interakce nabitého léčiva a opačně nabité látky, která je například součástí povrchové úpravy hadic. Sekvestrace v tom případě probíhá na čistě fyzikálním principu.<sup>111</sup>

V kontextu sekvestrace léčiva na materiál ECMO okruhu se nabízí několik dalších otázek, na které publikovaná literatura poskytuje jen omezené odpovědi – zpětné uvolňování léčiva do krve při poklesu jeho plazmatické koncentrace nebo kapacita vazebných míst v návaznosti na možnosti jejich vysycení (možnost dosažení stropové hodnoty, nebo neomezená kapacita), možnost zobecnění dříve publikovaných dat.<sup>107,108,111</sup>

Pro hodnocení sekvestrace léčiva jsou řešením *ex vivo* metody, kdy v okruhu cirkuluje krev bez napojení na pacienta; kontrolní vzorek stejného složení je umístěn ve stejných podmínkách mimo okruh. Jediným rozdílem je pak kontakt s materiály ECMO okruhu, nebo jeho jednotlivými komponentami separátně. Porovnáním vývoje koncentrací v čase ve vzorcích z ECMO okruhu a kontrolních lze kvantifikovat vliv ECMO a odlišit jej od degradace léčiva v čase.

Přehled metodik *ex vivo* studií pro různá léčiva nabízí Tabulka 1. Tento přehled byl vytvářen za účelem přípravy metodiky pokusu *ex vivo* pro ověření adsorpce kolistinu a CMS na materiály ECMO okruhu (viz Příloha 3). Nejedná se o systematické

review všech *ex vivo* studií, studie byly vyhledávány pomocí klíčových slov a jejich kombinací, následně snowball metodou; současně nebyla aplikována selekční kritéria ve smyslu testovaných léčiv, omezením byla dostupnost plného znění publikace v angličtině. V přehledu tedy chybí práce následujících autorských kolektivů: Leven a kol., Cies a kol., Park a kol.<sup>114–116</sup>

Z přehledu je zřejmá variabilita sledovaných a korigovaných faktorů (typicky kontrolováno pH a teplota, které mají pravděpodobně největší vliv na změny adsorpce léčiva), často chybí specifikace plochy oxygenátoru a materiálu rezervoáru, který může k sekvestraci léčiva také přispívat. Pro kontrolní vzorky jsou majoritně používány obaly z různých plastů, a ne z chemicky inertního skla, které opět mohou být zdrojem zkreslení. Z hlediska interpretace je podstatný fakt, že se většina těchto studií zaměřovala na testování jednotlivých léčiv či jednotek léčiv současně a že léčivo je do okruhu typicky aplikováno jednorázovým bolusem, po kterém je sledován vývoj koncentrací v čase. Opakované podání či podání kontinuální infuzí bylo v tomto souboru použito pouze v jednotkách případů.<sup>117–119</sup> Přímá translace výsledků z *ex vivo* experimentů do klinické praxe je limitována i krátkým trváním experimentu v porovnání s délkou použití ECMO okruhů v praxi, délkou okruhu, primingem, potenciálně odlišným složením materiálů okruhu v *ex vivo* experimentu a v praxi, a také v kontextu technologického vývoje (jedná se o práce publikované ve více než 30letém horizontu).<sup>110,111</sup>

Tabulka 1: Souhrn ex vivo studií pro ověření a kvantifikaci sekvestrace léčiv okruhy ECMO (část 1) 113,118–137

| rok publikace | první autor | priming                                                                                                                               | objem primingu [ml]      | bloková primingová ovladač | material               | plocha [m <sup>2</sup> ] | rezervoár material     | rezervoár objem [ml] | pH   | tepłota [°C]                    | flow rate [l/min] | pO2 [mmHg] | post-oxygenator [mmHg] | ekvivalentní brzoce [min] | kontrolní medium | kontrolní ořad       | sampling [h]                                                                                                  | centrifugace [min] | skladování [°C] |
|---------------|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------------|--------------------------|------------------------|----------------------|------|---------------------------------|-------------------|------------|------------------------|---------------------------|------------------|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|-----------------|
| 1990          | Rosen       | Normosol                                                                                                                              | 225<br>315               | 1                          | silikon, PP            | NS                       | PVC                    | NS                   | NS   | 7.4                             | 22                | 2          | NS                     | NS                        | NS               | NS                   | 0.05; 0.10; 0.20; 0.30; 0.40; 0.50; 1.00                                                                      | NS                 | NS              |
| 2000          | Mulla       | NS                                                                                                                                    | NS                       | NS                         | silikon                | 0.4                      | PVC                    | NS                   | NS   | NS                              | NS                | 0.35       | NS                     | NS                        | NS               | NS                   | 0.0; 0.05; 0.20; 0.40; 2.00                                                                                   | NS                 | NS              |
| 2005          | Blanc-Mehi  | ERB + FFP + NaHCO3 8.4% + THAM + CaCl2                                                                                                | 400                      | 2                          | ECMO0600               | 0.8                      | PVC                    | NS                   | NS   | kontrola                        | kontrola          | 0.48       | NS                     | NS                        | 5-10             | NS                   | 0.0; 0.30; 1.00; 2.00; 3.00; 4.00; 6.00                                                                       | NS                 | -80             |
| 2007          | Mehi        | krev nebo lysolizát + UPH + THAM + Ca glu                                                                                             | NS                       | 3                          | silikon                | 1.5                      | PVC                    | superTygon           | NS   | kontrola                        | 37                | 0.5        | NS                     | NS                        | NS               | ditto                | 0.30; 3.00; 24.00                                                                                             | NS                 | NS              |
| 2010          | Wildshut    | ERB + NaHCO3 8.4% + THAM                                                                                                              | 200-<br>900              | 2-3                        | silikon, PP            | 1.5-2.5                  | Medtronic, Intercept   | NS                   | 50   | kontrola                        | kontrola          | 0.35       | 1                      | NS                        | NS               | NS                   | 0.02; 0.04; 0.06; 0.08; 0.10; 0.30; 1.00; 3.00                                                                | 6×3000             | -80             |
| 2012          | Shikar      | krev                                                                                                                                  | 420±<br>52               | 3                          | PLS Quadrox D          | NS                       | Bioline                | NS                   | R38  | 7.25-<br>7.55                   | 37                | 4-5        | 150-200                | 230-250                   | NS               | PVC křemík           | 0.02; 0.05; 0.15; 0.30; 1.00; 2.00; 6.00; 12.00; 24.00                                                        | 10×3000            | -80             |
| 2013          | Wagner      | RBC 2 jednotky + UPH 100 + THAM 50 ml + CaCl2 400 mg + NaHCO3 8.4% 10ml + FFP 50 ml + O2 300ml/min                                    | 930                      | 2                          | Quadrox-1 (PMP)        | NS                       | NS                     | NS                   | NS   | 7.45                            | 37                | 0.3        | NS                     | NS                        | 5-10             | NS                   | 0.05; 1.00; 6.00; 24.00                                                                                       | 12-15×2700         | -80             |
| 2014          | Harthan     | krev 400 ml + ALB 25% 20 ml + UPH 500 + NaHCO3 8.4% 15 ml + CaCl2 100 mg                                                              | 250                      | 1                          | PMP                    | 1.8                      | PVC                    | HEP                  | PVC  | NS                              | 37                | 1          | NS                     | NS                        | 15               | ditto                | 0.15; 24.00; 48.00                                                                                            | NS                 | 2-8; -20        |
| 2014          | Etemsen     | krev 532 nebo 535 ml + CaCl2 10 ml + O2 6 L/min                                                                                       | 810±<br>82               | 2                          | PLS Quadrox D          | NS                       | Bioline (UPH+ALB)      | R38                  | NS   | 7.25-<br>7.55                   | 37                | 4-5        | 150-200                | 230-250                   | 3                | NS                   | 0.0; 0.1; 0.30; 1.00; 6.00; 12.00; 24.00                                                                      | NS                 | NS              |
| 2015          | Shikar      | krev 420±52 ml + UPH 5000                                                                                                             | 668±<br>1.7              | 3                          | Quadrox-1 (PMP)        | NS                       | PVC                    | Bioline (UPH+ALB)    | R38  | 7.20-<br>7.55                   | 37                | 4-5        | 150-200                | NS                        | NS               | krev + UPH PP křemík | 0.0; 0.02; 0.05; 0.15; 0.30; 1.00; 2.00; 6.00; 12.00; 24.00                                                   | 10×3000            | -80             |
| 2015          | Lenaitre    | krev 800 ml                                                                                                                           | NS                       | 1                          | Quadrox-1 (PMP)        | NS                       | PVC                    | Bioline (UPH+ALB)    | NS   | NS                              | 37                | 4.5        | NS                     | NS                        | NS               | NS                   | 0.30; 1.00; 2.00; 3.00; 4.00; 5.00; 24.00; 48.00                                                              | NS                 | -20             |
| 2016          | Tron        | krev                                                                                                                                  | NS                       | 1                          | NS                     | NS                       | PVC                    | Bioline (UPH+ALB)    | NS   | NS                              | 37                | NS         | NS                     | NS                        | NS               | ditto                | 0.05; 0.15; 0.30; 1.00; 2.00; 4.00                                                                            | NS                 | NS              |
| 2017          | Wagner      | RBC 350 ml + UPH 100 + CaCl2 400 mg + THAM 50 ml + NaHCO3 8.4% 10 ml + FFP 50 ml + O2/CO2 95:5 0.5 L/min                              | 450                      | 1                          | Quadrox-1 (PMP)        | NS                       | PVC                    | NS                   | NS   | >7.25                           | NS                | 0.5        | NS                     | NS                        | 2-5              | NS                   | 0.05; 1.00; 6.00; 24.00                                                                                       | 10×1200            | -80             |
| 2017          | Watt        | RBC 350 ml + FFP 175 ml + Plasmalyte 500 ml + UPH 100 + NaHCO3 8.4% 30 ml + Ca glu 6.5 mg                                             | NS                       | 1                          | PMP                    | 1.8<br>0.8               | PVC                    | fosforyl-<br>cholin  | NS   | 7.20-<br>7.50                   | 36                | 1          | NS                     | NS                        | 5                | ditto                | 0.01; 0.05; 0.15; 0.30; 1.00; 2.00; 3.00; 4.00; 6.00; 12.00; 24.00                                            | NS                 | -80             |
| 2018          | Oles        | krev + UPH + THAM + Ca glu                                                                                                            | 750<br>1500              | 3                          | Quadrox-1 (PMP)        | NS                       | PVC                    | superTygon           | vak  | 7.35-<br>7.45                   | 22                | 0.5        | NS                     | NS                        | 0-5              | NS                   | 0.00-0.05; 1.00; 2.00; 3.00; 4.00; 5.00; 6.00; 24.00                                                          | 15×3000            | -80             |
| 2018          | Raffaelli   | krev + UPH 500 j                                                                                                                      | 225<br>280<br>360<br>400 | 2                          | IL-A, ActivakMini Lung | NS                       | IL-A, ActivakMini Lung | vak                  | 100  | 7.25-<br>7.50<br>36-37.9<br>3.5 | 37.5              | 0.7        | NS                     | NS                        | NS               | EDTA žluzavka        | 0.02; 0.10; 0.30; 3.00; 6.00; 24.00                                                                           | 6×3000             | -80             |
| 2019          | Heith       | krev 300 ml + UPH 500 j                                                                                                               | 800                      | 2                          | Quadrox-1 (PMP)        | NS                       | PVC                    | Cortiva (HEP)        | sldo | 7.20-<br>7.50                   | 36-37             | 0.5-0.6    | 100-200                | NS                        | NS               | NS                   | 0.15; 0.30; 1.00; 2.00; 4.00; 6.00; 12.00                                                                     | 10×3500            | NS              |
| 2019          | ilda        | FR                                                                                                                                    | 500                      | 1                          | silikon/PP             | 2.3                      | PVC                    | HEP                  | vak  | NS                              | 37                | 2          | NS                     | NS                        | NS               | NS                   | 0.30; 1.00; 3.00; 6.00; 12.00; 24.00                                                                          | NS                 | -84             |
| 2019          | Dallefeld   | RBC 300 ml + FFP 150 ml + Plasmalyte 500 ml + UPH 500 j + NaHCO3 8.4% 60 ml + Ca glu 6.5 mg + ALB 12.5 g                              | NS                       | 1                          | PMP                    | NS                       | PVC                    | fosforyl-<br>cholin  | vak  | 7.20-<br>7.50                   | 37                | 1          | NS                     | NS                        | 5                | ditto                | 0.01; 0.05; 0.15; 0.30; 1.00; 2.00; 3.00; 4.00; 6.00; 12.00; 24.00                                            | 10×NS              | -80             |
| 2020          | Chevalier   | krev 600-635 ml + FFP 280-330 ml + Plasmalyte 300 ml + UPH 500 j + NaHCO3 8.4% 7 ml + Ca glu 650 mg + ALB 25% 12.5 g + THAM 2-4 g     | NS                       | 1                          | Quadrox-1 (PMP)        | NS                       | PVC                    | Cortiva              | PVC  | 7.20-<br>7.45                   | 37                | 1          | NS                     | NS                        | NS               | ditto                | 0.01; 0.05; 0.15; 0.30; 1.00; 2.00; 3.00; 4.00; 6.00                                                          | 10×3000            | -80             |
|               |             | krev 340-372 ml + FFP 140-148 ml + Plasmalyte 100 ml + UPH 250 j + NaHCO3 8.4% 3.5 ml + Ca glu 10% 325 mg + ALB 25% 6.25 g + THAM 1 g | NS                       | 1                          | Quadrox-1 (PMP)        | NS                       | PVC                    | Cortiva              | PVC  | 7.20-<br>7.45                   | 37                | 1          | NS                     | NS                        | NS               | ditto                | 0.01; 0.05; 0.15; 0.30; 1.00; 2.00; 3.00; 4.00; 6.00                                                          | 10×3000            | -80             |
| 2020          | Mané        | FFP + UPH                                                                                                                             | NS                       | 2                          | EOS-ECMO Sorin         | NS                       | PVC                    | NS                   | NS   | 7.20-<br>7.50                   | 37                | 2.5-3      | NS                     | NS                        | NS               | krev žluzavka        | 0.0; 0.30; 1.00; 2.00; 3.00; 4.00; 6.00; 12.00; 14.00; 16.00; 16.30; 17.00; 18.00; 19.00; 20.00; 22.00; 24.00 | NS                 | NS              |

Tabulka 1: Souhrn *ex vivo* studií pro ověření a kvantifikaci sekvestrace léčiv okruhy ECMO (část 2) <sup>117,138-151</sup>

| rok publikace | první autor | priming                                                                                                                                 | objem priming [ml] | krční priming | materiál oxygenátoru     | plocha okruhu [m <sup>2</sup> ] | materiál okruhu | coating             | rezervoar materiálu | rezervoar objemu [ml] | pH            | teplota [°C] | flow rate [l/min] | pO <sub>2</sub> [mmHg] | post-oxygenator pressure [mmHg] | eksterní brzo [min] | kontrolní médium | kontrolní obal | sampling [h]                                                      | centrifugace [min]                                                                                                | skladování [°C]                                  |         |
|---------------|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|---------------|--------------------------|---------------------------------|-----------------|---------------------|---------------------|-----------------------|---------------|--------------|-------------------|------------------------|---------------------------------|---------------------|------------------|----------------|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|---------|
| 2020          | Cles        | krev + NaHCO <sub>3</sub> 8.4% + UFH + ALB + Ca glu                                                                                     | 750<br>1500        | 2             | Quadrox-1 (PMP)          | NS                              | PVC             | superTygon          | vak                 | NS                    | 7.35-<br>7.45 | NS           | 1<br>2            | NS                     | NS                              | NS                  | NS               | NS             | 0:00-0:05; 1:00; 2:00; 3:00; 4:00; 5:00; 6:00; 24:00              | 15-3000                                                                                                           | -80                                              |         |
| 2020          | Raffaelli   | krev + UFH 500 j                                                                                                                        | 235-<br>400        | 1             | IL-A-<br>ActiveMini Lung | NS                              | IL-A-<br>Lung   | NS                  | NS                  | 100                   | NS            | NS           | 0.5-3.5           | NS                     | NS                              | NS                  | ditto            | EDTA zkumarka  | 0:00:02; 0:10; 0:30; 3:00; 6:00; 24:00                            | 6-3000                                                                                                            | -80                                              |         |
| 2021          | Zhang       | krev 800 ml + UFH 5000j                                                                                                                 | 818±1              | 1             | PMP                      | NS                              | PVC             | Bioline (UFH+ALB)   | NS                  | 30                    | 7.25-<br>7.55 | 37           | 4-5               | NS                     | NS                              | NS                  | ano              | ditto          | zkumarka                                                          | 0:05; 0:15; 0:30; 1:00; 3:00; 6:00; 12:00; 24:00                                                                  | 10-3000                                          | -80     |
|               |             |                                                                                                                                         | 525±1              | 1             | PMP                      | NS                              | PVC             | fosforyl-<br>cholin | NS                  | 30                    | 7.25-<br>7.55 | 37           | 4-5               | NS                     | NS                              | NS                  | NS               | ano            | ditto                                                             | zkumarka                                                                                                          | 0:05; 0:15; 0:30; 1:00; 3:00; 6:00; 12:00; 24:00 | 10-3000 |
| 2021          | Imlungia    | RBC 600 ml + FFP 300 ml + Plasmalyte 300 ml + UFH 500j + NaHCO <sub>3</sub> 8.4% 7 ml + THAM 2 g + Ca glu 650 mg + ALB 12.5 g           | NS                 | 1             | Quadrox-1 (PMP)          | NS                              | PVC             | Smart-X             | PVC                 | 1000                  | 7.20-<br>7.50 | 37           | 1<br>2            | NS                     | NS                              | NS                  | NS               | ditto          | PVC zkumarka                                                      | 0:01; 0:05; 0:15; 0:30; 1:00; 2:00; 3:00; 4:00; 5:00; 5:58; 6:00; 7:00; 8:00; 9:00; 10:00; 11:00; 12:00           | 10-3000                                          | NS      |
| 2021          | McDaniel    | RBC 350 ml + FFP 175 ml + Plasmalyte 500 ml + UFH 500j + NaHCO <sub>3</sub> 8.4% 7 ml + THAM 2 g + Ca glu 650 mg + ALB 12.5 g           | NS                 | 1             | Quadrox-1 (PMP)          | NS                              | PVC             | fosforyl-<br>cholin | vak                 | NS                    | 7.20-<br>7.50 | 37           | 1                 | NS                     | NS                              | NS                  | 5                | ditto          | PVC zkumarka                                                      | 0:01; 0:05; 0:15; 0:30; 1:00; 2:00; 3:00; 4:00; 5:00; 6:00; 8:00; 12:00; 24:00                                    | 10-3000                                          | -80     |
| 2022          | Kalaria     | krev nebo FR 400 ml + UFH 300 j + NaHCO <sub>3</sub> 30 ml + CaCl <sub>2</sub> 600 mg                                                   | " 470              | 3             | Quadrox-1 (PMP)          | NS                              | PVC             | NS                  | vak                 | NS                    | 7.35-<br>7.45 | 37           | 1.5               | 150- 200               | NS                              | NS                  | 5                | ekvi kelimek   | 0; 0:15; 0:30; 1:00; 6:00; 12:00; 24:00                           | 15                                                                                                                | -80                                              |         |
| 2022          | Green       | RBC 400-500 ml + FFP 150 ml + Plasmalyte 300-400 ml + UFH 500 j + NaHCO <sub>3</sub> 8.4% 7 ml + THAM 2 g + Ca glu 650 mg + ALB 12.5 g  | NS                 | 1             | Quadrox-1 (PMP)          | NS                              | PVC             | Smart-X*            | vak                 |                       | 7.20-<br>7.50 | 37           | 1                 | NS                     | NS                              | NS                  | 5                | ditto          | PP zkumarka                                                       | 0:01; 0:05; 0:15; 0:30; 1:00; 2:00; 3:00; 4:00; 5:00; 6:00; 10:00; 24:00                                          | 10-3000                                          | -80     |
| 2022          | Lesroart    | Dulbecco Phosphate Buffered Saline                                                                                                      | 770                | 1             | PLS-1                    | NS                              | NS              | NS                  | NS                  | NS                    | 7.4           | 37           | 3.5               | MS                     | NS                              | NS                  | ditto            | NS             | 0:02; 0:10; 0:30; 1:00; 2:00; 3:00; 4:00; 5:00; 6:00; 24:00       | NS                                                                                                                | NS                                               |         |
| 2022          | Cles        | RBC + FFP + NaHCO <sub>3</sub> 8.4% + UFH + Ca glu                                                                                      | 750                | 3             | Quadrox-1 (PMP)          | NS                              | PVC             | superTygon          | vak                 | NS                    | 7.35-<br>7.45 | NS           | 1<br>2            | NS                     | NS                              | NS                  | FR               | slož vialka    | 0:00-0:05; 1:00; 2:00; 3:00; 4:00; 5:00; 6:00; 8:00; 12:00; 24:00 | 15-3000                                                                                                           | -80                                              |         |
| 2023          | Berry       | krev + UFH 5000 j/300 ml krev                                                                                                           | NS                 | 2             | Quadrox-1 (PMP)          | NS                              | PVC             | Cortiva             | NS                  | NS                    | NS            | 37           | 4.5               | NS                     | NS                              | NS                  | ditto            | slož           | 0; 0:15; 0:30; 1:00; 2:00; 4:00; 6:00; 12:00; 24:00               | 10-1500                                                                                                           | -80                                              |         |
| 2023          | Honeycutt   | RBC 350 ml + FFP 175 ml + Plasmalyte 500 ml + UFH 500j + NaHCO <sub>3</sub> 8.4% 7 ml + THAM 2g/25 ml + Ca glu 650 mg + ALB 12.5g/50 ml | NS                 | 1             | Quadrox-1 (PMP)          | NS                              | PVC             | fosforyl-<br>cholin | NS                  | NS                    | 7.20-<br>7.50 | 37           | 1                 | NS                     | NS                              | NS                  | 5                | ditto          | PP zkumarka                                                       | 0:01; 0:05; 0:15; 0:30; 1:00; 2:00; 3:00; 4:00; 5:00; 6:00; 10:00; 24:00                                          | 10-3000                                          | -80     |
| 2023          | Khurana     | RBC 330 ml + FFP 150 ml + Plasmalyte 100 ml + UFH 250j + NaHCO <sub>3</sub> 8.4% 3.5 ml + THAM 2 g + Ca glu 325 mg + ALB 6.25 g         | NS                 | 1             | Quadrox-1 (PMP)          | NS                              | PVC             | Bioline (UFH+ALB)   | vak                 | NS                    | NS            | NS           | 1                 | NS                     | NS                              | NS                  | NS               | ditto          | zkumarka                                                          | 0:01; 0:05; 0:15; 0:30; 1:00; 2:00; 3:00; 4:00; 4:15; 4:30; 5:00; 6:00; 6:01; 6:05; 6:15; 6:30; 7:00; 8:00; 10:00 | NS-3000                                          | -80     |
| 2023          | Cles        | RBC + NaHCO <sub>3</sub> + UFH + Ca glu                                                                                                 | 400<br>700         | 3             | Quadrox-1 (PMP)          | NS                              | PVC             | superTygon          | vak                 | NS                    | NS            | NS           | 1<br>2            | NS                     | NS                              | NS                  | NS               | NS             | 0:00-0:05; 1:00; 2:00; 3:00; 4:00; 5:00; 6:00; 8:00; 12:00; 24:00 | 15-3000                                                                                                           | -80                                              |         |
| 2024          | Booke       | krytalyoid 16l + ALB 20 % 4 l                                                                                                           | 20000              | 1             | PMP                      | NS                              | PVC             | HEP                 | slož                | 25000                 | NS            | 37           | 5                 | NS                     | NS                              | NS                  | ditto            | slož sklenice  | 0; 0:05; 0:15; 0:45; 1:00; 2:00; 3:00; 4:00                       | NS                                                                                                                | -80                                              |         |
| 2024          | Whelan      | RBC 600 ml + FFP 350-300 ml + Plasmalyte 200-300 ml + UFH 500 j + NaHCO <sub>3</sub> 8.4% 7 ml + THAM 2 g + Ca glu 650 mg + ALB 12.5    | 1300               | 1             | Quadrox-1 (PMP)          | NS                              | NS              | Sorin Smart         | vak                 | 1000                  | 7.20-<br>7.50 | 37           | 1                 | NS                     | NS                              | NS                  | ditto            | PP zkumarka    | 0:01; 0:05; 0:15; 0:30; 1:00; 2:00; 3:00; 4:00; 6:00              | NS                                                                                                                | NS                                               |         |

Zkratky: \* SMART-X – složení polycaprolacton-polydimethylsiloxan-polycaprolacton; ALB – albumin; Ca glu – kalcium glukonát; dtto – roztok stejného složení jako v okruhu ECMO; EDTA – ethylenediaminetetraoctová kyselina; FFP – fresh frozen plasma, čerstvá mražená plazma; FR – 0,9% chlorid sodný, fyziologický roztok; NaHCO3 – hydrogenuhličitán sodný; NS – not specified, neuvedeno; PMP – polymethylpenten; PP – polypropylen; PVC – polyvinylchlorid; RBC – red blood cells, koncentrát erytrocytů; rpm – revolutions per minute, počet otáček za minutu; THAM – trometamin, tris(hydroxymethyl)aminomethan; UFH – unfractionated heparin, nefrakcionovaný heparin

Významná sekvestrace byla v *ex vivo* studiích opakovaně pozorována v případě některých sedativ a anestetik (midazolam, dexmedetomidin, propofol), opioidů (fentanyl), antiarytmik (amiodaron), antibiotik (ceftriaxon), antimykotik (vorikonazol, caspofungin).<sup>117,119,120,123–125,127,135,138,140,142,152</sup> Navzdory očekáváním založeným na lipofilitě a vazebnosti na plazmatické bílkoviny nebyla významná sekvestrace *ex vivo* pozorována u takrolimu, mykofenolové kyseliny, anidulafunginu; u fenytoinu byl zaznamenán pouze přibližně 30% pokles.<sup>135,143,150</sup> Naopak hydrofilní testované látky (např. morfin, hydromorfon,  $\beta$ -laktamová antibiotika, vankomycin, gentamicin, daptomycin, linezolid, levetiracetam, lakosamid) vykazovaly vysokou míru návratnosti.<sup>118,122–125,127,130,133,135,143,144,147,150,152,153</sup> Pro ilustraci doplňuji tabulku s údaji o lipofilitě, velikosti  $V_D$  a vazebnosti na plazmatické bílkoviny látek testovaných ve zmíněných publikacích (Tabulka 2).

**Tabulka 2: Hodnoty fyzikálně-chemických a farmakokinetických vlastností vybraných léčiv významných pro sekvestraci na ECMO<sup>154–157</sup>**

|                                   | molekulová<br>hmotnost<br>(Da) | $V_D$<br>(l/kg)    | log P          | vazba na plazmatické<br>bílkoviny<br>(%) |
|-----------------------------------|--------------------------------|--------------------|----------------|------------------------------------------|
| <b>fentanyl</b>                   | 336,5                          | 4                  | 4,05           | 80–85                                    |
| <b>hydromorfon</b>                | 321,8                          | 0,99–1,45          | 1,06           | 7,1                                      |
| <b>morfin</b>                     | 285,3                          | 3–5                | 0,87           | 20–35                                    |
| <b>propofol</b>                   | 178,3                          | 8–19               | 3,79           | >95                                      |
| <b>midazolam</b>                  | 325,8                          | 0,7–1,2            | 2,73           | 96–98                                    |
| <b>dexmedetomidin</b>             | 200,3                          | 118*               | 2,80           | 94                                       |
| <b>amiodaron</b>                  | 645,3                          | 60                 | 7,20           | 96                                       |
| <b>ampicilin</b>                  | 349,4                          | 0,17–0,31          | 1,35           | 20                                       |
| <b>cefazolin</b>                  | 454,5                          | 11*                | –0,58          | 74–86                                    |
| <b>cefepim</b>                    | 480,6                          | 18*                | –0,37          | 20                                       |
| <b>cefiderokol</b>                | 752,2                          | 18*                | –2,23          | 40–60                                    |
| <b>cefotaxim</b>                  | 455,5                          | 0,15–0,55          | –0,50          | 40                                       |
| <b>ceftazidim</b>                 | 546,6                          | 15–20*             | –1,60          | 5–23                                     |
| <b>ceftolozan/<br/>tazobaktam</b> | 666,7<br>320,3                 | 13,5*<br>0,18–0,33 | –6,17<br>–1,80 | 16–21<br>20–30                           |
| <b>ceftriaxon</b>                 | 554,6                          | 0,12–0,18          | –1,70          | 85–95                                    |
| <b>cefuroxim</b>                  | 424,4                          | 0,13–1,8           | –0,16          | 50                                       |
| <b>ertapenem</b>                  | 475,5                          | 0,12               | 0,30           | 95                                       |
| <b>imipenem</b>                   | 299,4                          | 0,23–0,31          | –0,19          | 20                                       |
| <b>meropenem</b>                  | 385,5                          | 0,35               | –0,60          | 2                                        |
| <b>vankomycin</b>                 | 1449,3                         | 0,47–1,1           | –3,10          | 10–50                                    |

|                      |        |           |       |       |
|----------------------|--------|-----------|-------|-------|
| <b>gentamicin</b>    | 477,6  | 0,3       | -3,10 | 0-30  |
| <b>daptomycin</b>    | 1620,7 | 0,1       | -0,47 | 90-92 |
| <b>linezolid</b>     | 337,3  | 0,6       | 0,90  | 31    |
| <b>anidulafungin</b> | 1140,2 | 30-50*    | 2,90  | >99   |
| <b>caspofungin</b>   | 1093,3 | 9,7*      | 0,00  | 97    |
| <b>vorikonazol</b>   | 349,3  | 4,6       | 1,00  | 58    |
| <b>fenytoin</b>      | 252,3  | 0,52-1,19 | 2,47  | 90    |
| <b>levetiracetam</b> | 170,2  | 0,5-0,7   | -0,60 | <10   |
| <b>lakosamid</b>     | 250,3  | 0,6       | 0,73  | <15   |
| <b>mykofenolát</b>   | 319,3  | 3,6-4     | 2,50  | 97    |
| <b>takrolimus</b>    | 804    | 1300*     | 3,30  | >98   |

\* hodnota v litrech, nikoli v l/kg

Ač jsou výsledky *ex vivo* studií někdy variabilní a zatížené řadou limitací, trendy jsou zřejmé. Na jejich podkladě byly vysloveny výše uvedené vlastnosti léčiv predisponující k sekvestraci. Současně *ex vivo* studie tvoří majoritu informací, které dnes k interferenci léčiv máme. Ha a kol. pak navrhl nástroj pro predikci změn farmakokinetiky léčiv u ECMO včetně pravděpodobnosti návrhu úpravy dávkování.<sup>158</sup>

- U léčiv s malým  $V_D$  ( $V_D \leq 1$  l/kg) odhaduje střední až velké zvýšení  $V_D$  a uvádí, že tak bude pravděpodobně třeba zvýšit nasycovací dávku. U léčiv s velkým  $V_D$  ( $V_D > 1$  l/kg) očekává pouze minimální vliv ECMO na  $V_D$ .
- Na základě hodnoty logP a vazebnosti na plazmatické bílkoviny rozděluje léčiva do pěti kategorií z hlediska rizika sekvestrace. Cut-off hodnotami je logP 1 a 2 a vazba na plazmatické bílkoviny 30 % a 70 %. Pro každou kategorii odhaduje riziko sekvestrace a udává různou sílu doporučení pro úpravu udržovací dávky.

Je třeba ale podotknout, že tento systém byl vytvořen na základě dříve publikovaných dat a může být zkreslen výše zmíněným vývojem materiálů v čase. Systém také nebyl dle dostupné literatury validován. Tabulka 3 nicméně nabízí vizualizaci, jak by podle tohoto systému byla výše uvedená léčiva klasifikována.

**Tabulka 3: Rozdělení léčiv dle rizika sekvestrace na základě klasifikačního systému publikovaného Ha a kol.<sup>158</sup>**

| logP | vazba na proteiny                                                                                                         |                                              |                                                                                                            |
|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|      | <30 %                                                                                                                     | 30–70 %                                      | >70 %                                                                                                      |
| <1   | morfin, cefepim, ceftazidim, ceftolozan/tazobaktam, imipenem, meropenem, vankomycin, gentamicin, levetiracetam, lakosamid | cefiderokol, cefotaxim, cefuroxim, linezolid | cefazolin, ceftriaxon, ertapenem, daptomycin, caspofungin                                                  |
| 1–2  | hydromorfon, ampicilin                                                                                                    | vorikonazol                                  |                                                                                                            |
| >2   |                                                                                                                           |                                              | fentanyl, propofol, midazolam, dexmedetomidin, amiodaron, anidulafungin, fenytoin, mykofenolát, takrolimus |

Poznámka: Stupně šedi označují riziko sekvestrace léčiva na okruh ECMO. Nejnižší riziko označuje bílé pozadí u léčiv s vazbou na proteiny <30% a logP <1; nejvyšší riziko pak označuje tmavě šedé pozadí u léčiv s vazbou na proteiny >70 % a logP >2.

V klinické praxi lze efekt řady léčiv přímo pozorovat pomocí klinických endpointů a odpovědi viditelné v reálném čase – hloubka sedace, efekt vazopresorů, diuretik, míra antikoagulace.<sup>108</sup> Řada z výše uvedených léčiv je navíc podávána kontinuálně. Tím jsou marginalizovány některé výsledky *ex vivo* experimentů. Dalším faktorem je, že se jednotlivá pracoviště liší ve svých postupech a charakteru pacientů na ECMO (indikacích pro ECMO); doporučení pro terapii a její klinické endpointy se navíc vyvíjejí v čase.<sup>108,109</sup> To vše představuje významné zkreslení komplikující srovnání klinických dat (např. spotřeby sedativ) pro hodnocení významu sekvestrace.

Problematickou skupinou nicméně zůstávají především antibiotika, protože zde nemáme jiné přímo pozorovatelné parametry než plazmatickou koncentraci (a to navíc ne u všech léčiv); antibiotika jsou navíc často citlivá ke změnám indukovaným ECMO okruhy i stavem samotného pacienta.<sup>107–109</sup> Limitům TDM antibiotik jsem se věnovala v předchozí kapitole. Při dávkování antibiotik u pacientů na ECMO mnohdy nezbyvá než se spolehnout na fyzikálně-chemické a farmakokinetické vlastnosti a očekávanou míru sekvestrace a data pro dávkování u kriticky nemocných pacientů bez ECMO, případně omezená dříve publikovaná data od kriticky nemocných pacientů na ECMO.<sup>108</sup> Dilarwi a kol. publikoval v roce 2024 dotazníkové šetření mapující lokální zvyklosti používání antimikrobiálních léčiv s tím, že pouze minimum respondentů uvedlo, že mají k dispozici modifikované dávkování pro pacienty na ECMO.<sup>109</sup> Přehled možného dávkování antibiotik (ale i dalších léčiv) na základě dříve publikovaných dat nabízí Cheng a kol., Duceppe a kol., Hahn a kol., Kim a kol.<sup>107,108,110,112</sup> Před aplikací

těchto dat je třeba porovnat minimálně populaci, od které data pochází a na kterou je terapie cílena. Použití ECMO u novorozenců a dětí je zatíženo mnohem významnějším vlivem na distribuční objem léčiv a odlišnostmi ve farmakokinetice obecně. Extrapolace dat mezi populací dospělých a novorozenců a dětí je značně omezená.<sup>107,108,111</sup> Limitující je i obecná kvalita těchto dat – nízký počet účastníků, jejich heterogenita, design studie a jeho variabilita neumožňující srovnání, absence údajů kontrolní skupiny a neuvedení klinického výsledku léčby.<sup>110,112</sup> Kvalita a heterogenita dat jsou pravděpodobně hlavní důvody, proč doposud nebyly publikovány doporučené postupy pro úpravu dávkování antibiotik na ECMO. Obecně lze konstatovat, že u většiny antibiotik (a antivirotik) ECMO ve výsledku výrazně nemění jejich farmakokinetiku a lze použít standardní dávky pro kriticky nemocné pacienty (především nasycovací dávky nebo dávky při horní hranici dávkového rozmezí, udržovací dávky dle clearance, ev. v prodloužených infuzích, máme-li pro takové podání opodstatnění); významnější úpravy lze očekávat v případě vorikonazolu, rifampicinu, tedy léčiv s obecně inter- a intraindividuálně variabilní farmakokinetikou s pravděpodobnější možností přechodu do nelineární kinetiky.<sup>107,110,111</sup>

### 3 Komentované práce

Prezentovaná habilitační práce se zabývá aspekty TDM kolistinu v běžné klinické praxi a adekvátním dávkováním kolistinu v populaci kriticky nemocných, především těch s ECMO.

V následujících pěti publikacích je shrnut náš postup od prvních kazuistik až po provedení prospektivní farmakokinetické klinické studie. Tato studie ověřovala interferenci kolistinu s ECMO okruhy a kladla si za cíl ověřit hypotézu vyslovenou na počátku, tedy zda vlivem adsorpce na materiál ECMO okruhu nedochází k významnému poklesu plazmatických koncentrací kolistinu či změně jeho farmakokinetiky. Nutným předstupněm klinické studie bylo zavedení spolehlivé analytické metody umožňující stanovení kolistinu i CMS v širokém rozmezí plazmatických koncentrací, a především stanovení kolistinu i za přítomnosti CMS. Současně jsme se rozhodli provést stabilitní zkoušky reflektující běžné zacházení se vzorkem před vlastní analýzou. Přeměna CMS na kolistin probíhá spontánně s rychlostí závislou na koncentraci, teplotě a dalších podmínkách. Přenositelnost dříve publikovaných dat je tedy omezená. Vývoji analytické metody a vybraným stabilitním testům se věnuje jedna z uvedených prací.

Publikované kazuistiky a výsledky uvedené klinické studie představují unikátní data. Kromě nich je totiž k problematice interference kolistinu a ECMO okruhů dodnes publikovaná jediná další práce, resp. kazuistika jednoho pacienta.

Uvedená studie ale mimo výše uvedené poskytla i kvalitní farmakokinetická data umožňující konstrukci populačního farmakokinetického modelu pro kriticky nemocné pacienty. Na jeho základě pak bylo navrženo modifikované dávkování kolistinu. S pomocí populačního modelu můžeme predikovat vývoj hladin v čase, a to i při omezené frekvenci odběrů aplikovatelné v běžné klinické praxi.

Výsledky této studie otevírají prostor pro další výzkum: ověření navrženého dávkování při různých stupních renální dysfunkce v klinické praxi, aktualizace dávkování CMS u pacientů s RRT, zpřesnění a externí validace konstruovaného populačního modelu. Na úrovni designu klinických hodnocení je na místě optimalizace a sjednocení postupu získávání informovaného souhlasu od účastníků v bezvědomí, či z jiného důvodu aktuálně neschopných informovaný souhlas udělit. Toto je jedna z překážek, která výzkum v populaci kriticky nemocných limituje.

Publikace tak vytváří ucelený soubor informací podporující implementaci terapeutického monitorování kolistinu do běžné praxe. Současně tento soubor dobře ilustruje propojení jednotlivých oblastí farmakologie – analytické chemie, *in vitro* testů stability, klinické farmakologie, populační farmakokinetiky a terapeutického monitorování léčiv, designování a provádění klinických studií.

### 3.1 Farmakokinetika kolistinu při extrakorporální membránové oxygenaci

Citace:

Suk P, Rychlíčková J. Pharmacokinetics of colistin during extracorporeal membrane oxygenation. J Antimicrob Chemother. 2022 Jul 28;77(8):2298–2300.

Komentář:

Tento soubor dvou kazuistik představuje jedna z prvních dat o možných změnách farmakokinetiky kolistinu u kriticky nemocných pacientů na ECMO. Kromě nich byla (a dodnes je) publikována kazuistika jednoho pacienta, kterému byl ovšem podáván kolistin přímo v jeho aktivní formě (kolistin sulfát) a pacient byl na podpoře ECMO i CRRT.<sup>159</sup>

Kolistin i CMS jsou hydrofilní léčiva se střední vazbou na plazmatické bílkoviny. Adsorpce na materiál ECMO okruhu se na základě těchto vlastností jeví jako nepravděpodobná. Na druhé straně existují data o adsorpci kolistinu na polysulfonovou membránu dialyzátoru (klinická data) a polystyren (*in vitro* testy).<sup>34,160</sup> Polypropylen vykazoval nejnižší riziko sekvestrace *in vitro*.<sup>160</sup> Data pro specifické materiály ECMO okruhu (polymethylpentenová membrána oxygenátoru, hadice z polyvinylchloridu) nejsou k dispozici.

Oba dospělí pacienti byli léčeni standardní dávkou CMS v souladu s SPC i s publikovanými doporučenými postupy (nasyčovací dávka CMS 9 MIU, udržovací dávka CMS 4,5 MIU po 12 hodinách).<sup>22,30,43</sup> Navzdory normální resp. augmentované kreatininové clearance stanovené ze sběru moči a standardnímu dávkování převyšovaly plazmatické koncentrace kolistinu stanovený PK/PD cíl. Údolní koncentrace zůstávaly stabilní u obou pacientů. Z toho usuzujeme, že k významné sekvestraci kolistinu na materiál ECMO okruhu ani k významné změně farmakokinetiky kolistinu u dospělých pacientů na ECMO pravděpodobně nedochází. Možným vysvětlením supratherapeutických koncentrací kolistinu je systémová absorpce inhalačně podaného CMS/kolistinu, *in vitro* hydrolýza vzorků navzdory jejich adekvátnímu uchovávání před analýzou nebo potenčovaná hydrolýza CMS vlivem materiálů ECMO okruhu.

Absence dat k interferenci kolistinu s ECMO okruhy pro nás byla inspirací k dalšímu výzkumu v této oblasti a k ověření hypotézy, že ECMO významně nemění farmakokinetiku kolistinu, v *in vivo* podmínkách.

Můj podíl na publikaci: podíl na návrhu a sběru klinických dat, podíl na analýze dat, podíl na tvorbě rukopisu.

## Research letters

standards<sup>8</sup> revealed a multiresistance phenotype, including resistance to macrolides and lincosamides (Table S1, available as [Supplementary data](#) at JAC Online). The transferability of *erm*(54) was confirmed by electrotransformation of pHKS3860 into *Staphylococcus aureus* RN4220 followed by selection on brain heart infusion agar containing 16 mg/L erythromycin. Moreover, antimicrobial susceptibility testing of the transformants revealed a  $\geq 8$ -fold increase in the MICs of all macrolides and lincosamides tested, compared with the recipient strain, thereby proving the functionality of *erm*(54) (Table S1). A newly developed *erm*(54)-specific PCR assay [amplicon size 1238 bp; primers *erm*(54)<sub>fw</sub> (5'-GATAGAATCATCGTAAGAACGGA-3') and *erm*(54)<sub>rev</sub> (5'-CCGTCAAGGTGGACAACAT-3'); annealing temperature 60°C] was applied to 30 macrolide-resistant staphylococcal isolates, which harboured most of the next-related genes available to us, including *erm*(A), *erm*(B), *erm*(C), *erm*(T), *erm*(33), *erm*(43), *erm*(44), *erm*(44)<sub>v</sub>, *erm*(45) or *erm*(48) alone or in combinations.<sup>11</sup> The new PCR assay did not detect any of the aforementioned next-related *erm* genes, but detected the *erm*(54) gene in strain 3860 and the transformants carrying plasmid pHKS3860.

In conclusion, we identified a novel functionally active and transferable *erm* gene, *erm*(54), on plasmid pHKS3860 in a porcine LA-MRSA ST398 isolate from Germany. Due to the potential for zoonotic transmission and the possibility of co-selection, *erm*(54)-carrying isolates might represent a threat to public health in the future.

## Acknowledgements

We thank Marilyn C. Roberts from the Nomenclature Center for MLS Resistance Genes (University of Washington, Seattle, WA, USA) for the designation of the novel *erm*(54) gene and Vincent Perreten (VetSuisse Faculty of the University of Berne, Berne, Switzerland) for providing staphylococcal strains that carry the genes *erm*(43), *erm*(44), *erm*(45) and *erm*(48).

## Funding

This work was funded by the National Natural Science Foundation of China (31761133022 and 81861138051) and the German Research Foundation (SCHW382/11-1).

## Transparency declarations

None to declare.

## Supplementary data

Table S1 is available as [Supplementary data](#) at JAC Online.

## References

- 1 Feßler AT, Wang Y, Wu C et al. Mobile macrolide resistance genes in staphylococci. *Plasmid* 2018; **99**: 2–10.
- 2 Poehlsgaard J, Douthwaite S. The bacterial ribosome as a target for antibiotics. *Nat Rev Microbiol* 2005; **3**: 870–81.
- 3 Butaye P, Argudin MA, Smith TC. Livestock-associated MRSA and its current evolution. *Curr Clin Microbiol Rep* 2016; **3**: 19–31.
- 4 Feßler A, Scott C, Kadlec K et al. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from cases of bovine mastitis. *J Antimicrob Chemother* 2010; **65**: 619–25.
- 5 Kadlec K, Ehrlich R, Monecke S et al. Diversity of antimicrobial resistance pheno- and genotypes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from diseased swine. *J Antimicrob Chemother* 2009; **64**: 1156–64.
- 6 Weisblum B. Insights into erythromycin action from studies of its activity as inducer of resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; **39**: 797–805.
- 7 Schmitz FJ, Petridou J, Jagusch H et al. Molecular characterization of ketolide-resistant *erm*(A)-carrying *Staphylococcus aureus* isolates selected *in vitro* by telithromycin, ABT-773, quinupristin and clindamycin. *J Antimicrob Chemother* 2002; **49**: 611–7.
- 8 CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing—Thirty-First Edition: M100*. 2021.
- 9 Adamse P, Van der Fels-Klerx HJ, de Jong J. Cadmium, lead, mercury and arsenic in animal feed and feed materials – trend analysis of monitoring results. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2017; **34**: 1298–311.
- 10 Rensing C, Moodley A, Cavaco LM et al. Resistance to metals used in agricultural production. *Microbiol Spectr* 2018; **6**: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0025-2017>.
- 11 Wipf JRK, Perreten V. Discovery of novel MLS<sub>B</sub> resistance methylase genes and their associated genetic elements in staphylococci. *Curr Clin Micro Rpt* 2016; **3**: 42–52.

*J Antimicrob Chemother* 2022; **77**: 2298–2300

<https://doi.org/10.1093/jac/dkac163>

Advance Access publication 24 May 2022

## Pharmacokinetics of colistin during extracorporeal membrane oxygenation

Pavel Suk<sup>1,2</sup> and Jitka Rychlíčková<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>International Clinical Research Center, St. Anne's University Hospital Brno, Pekařská 53, 656 91 Brno, Czech Republic;  
<sup>2</sup>Department of Anesthesiology and Intensive Care, St. Anne's University Hospital Brno and Faculty of Medicine, Masaryk University, Pekařská 53, 656 91 Brno, Czech Republic

\*Corresponding author. E-mail: [rychlickova@med.muni.cz](mailto:rychlickova@med.muni.cz)

© The Author(s) 2022. Published by Oxford University Press on behalf of British Society for Antimicrobial Chemotherapy. All rights reserved. For permissions, please e-mail: [journals.permissions@oup.com](mailto:journals.permissions@oup.com)

2298

During the recent COVID-19 pandemic, several patients required extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) due to COVID-19 infection complicated by ventilator-associated pneumonia caused by MDR *Pseudomonas aeruginosa* that was only susceptible to colistin.

Extracorporeal circuits, in general, represent another compartment that increases the volume of distribution for hydrophilic compounds and may affect drug clearance.<sup>1</sup> Besides that, ECMO can, more importantly, influence pharmacokinetics by drug adsorption on the circuit surface. This phenomenon is influenced by physicochemical properties of the medication – mainly lipophilicity and protein binding – but it is also dependent on particular materials of circuit components and circuit coating. Since both colistin and its prodrug colistin methanesulfonate (CMS) are hydrophilic substances (logP –2.4 for colistin) with medium protein binding (approx. 50% for colistin), adsorption on the ECMO circuit seems unlikely. We have not found any data on potential adsorption on an ECMO circuit; however, adsorption on the polysulphone membrane dialyser was described.<sup>2</sup> Therefore, we were concerned about the reduced plasma levels and disturbed effectiveness of colistin therapy in our patients.

We present two middle-aged men with acute respiratory distress syndrome who were concurrently treated with veno-venous ECMO and colistin. Patient A had an adjusted body weight (ABW) of 90 kg and patient B had an ABW of 96 kg. Circuits with a polymethyl pentene membrane oxygenator (HLS 7.0, Getinge, Germany) and polyvinyl chloride tubing were used for veno-venous ECMO. Colistin was commenced with an intravenous loading dose of 9 million IU of CMS, followed by intravenous maintenance doses of 4.5 million IU 12-hourly.<sup>3</sup> Total colistin plasma levels were measured using HPLC-mass detection on a triple-quadrupole mass detector (LC-MS/MS) modified from Gobin *et al.*<sup>4</sup> Preparation of samples involved

solid-phase extraction and the addition of an internal polymyxin B standard. The AUC was calculated using the trapezoidal rule.

The Ethics Committee of St. Anne's University Hospital Brno waived the right to issue an opinion for this project. No consent for publication of data was obtained from the patients because the data are fully anonymous.

The course of colistin plasma levels after the ninth dose (steady state) in patient A is depicted in Figure 1. Although his creatinine clearance was normal, colistin AUC<sub>12</sub> reached 80 mg·h/L with an average steady-state concentration ( $C_{SS, AVG}$ ) of 6.7 mg/L. In patient B, both the first and fifth doses were monitored (see Figure 1); moreover, the trough level after the third dose was measured (3.1 mg/L; creatinine clearance = 149 mL/min). This patient with augmented renal clearance had AUC<sub>12</sub> of 61.8 and 56.5 mg·h/L, respectively, and corresponding  $C_{SS, AVG}$  of 5.1 and 4.7 mg/L. These results show that the colistin plasma levels achieved by standard dosing exceeded the recommended steady-state AUC<sub>0–24</sub> of ~50 mg·h/L or  $C_{SS, AVG}$  of >2 mg/L considering the EUCAST susceptible breakpoints for *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. and Enterobacteriaceae of 2 mg/L.<sup>3</sup> This and the stable trough concentration in both patients indicate no significant sequestration of colistin on the ECMO circuit.

Regarding microbiological cure, all samples taken from the lower respiratory tract after the commencement of colistin therapy were *P. aeruginosa* negative. Nevertheless, *P. aeruginosa* was repeatedly cultured from throat swabs in patient B. Given the baseline severe lung dysfunction in COVID-19 infection, the clinical cure is difficult to assess. Patient A died due to septic shock despite adjusting antimicrobial therapy, whereas patient B was discharged clinically stabilized after a prolonged hospital stay.

Observed colistin plasma concentrations were higher than the average reported by Garonzik *et al.*,<sup>5</sup> despite the creatinine clearance being normal to augmented. A possible explanation could be the systemic absorption of nebulized CMS (1 million IU of

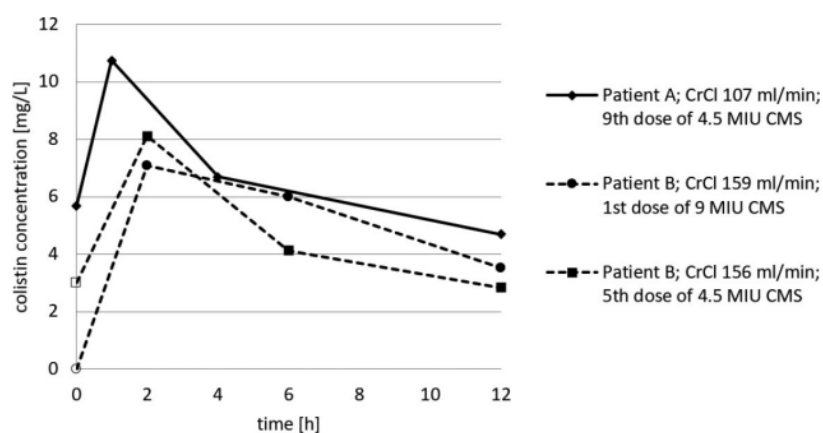


Figure 1. Colistin plasma profiles. Open symbols represent estimated trough levels. CrCl, creatinine clearance.

## Research letters

CMS 8-hourly in both patients); other less likely explanations are *in vitro* hydrolysis of CMS in blood samples despite adequate storage at  $-80^{\circ}\text{C}$  or enhanced CMS hydrolysis in the polyvinyl chloride tubing of the ECMO circuit.

Colistin has a narrow therapeutic window with side effects related to achieved plasma levels. Our steady-state trough concentration exceeded  $2.42\text{ mg/L}$  – a threshold for nephrotoxicity determined by Sorli *et al.*<sup>6</sup> Although creatinine clearance was stable in patient A, acute kidney injury developed in patient B 4 days after the commencement of colistin therapy. The aetiology of acute kidney injury is multifactorial and several factors might have played a role. Since other nephrotoxic drugs were not co-administered, concomitant sepsis and colistin nephrotoxicity were the most likely causes. After the acute kidney injury had been recognized, CMS dosing was reduced to only 2.5 million IU 12-hourly. Serum creatinine returned to the baseline value within the next 5 days of ongoing colistin therapy without a need for renal replacement therapy.

Based on this limited sample, we conclude that target colistin concentrations are achieved or even exceeded with standard dosing in critically ill patients on ECMO. Therefore, we estimate that ECMO-induced changes are not strong enough to reduce colistin plasma concentrations with an associated risk of therapy failure.

## Acknowledgements

We wish to acknowledge Jana Maláková, PharmD, PhD from the Department of Clinical Biochemistry and Diagnostics, University Hospital Hradec Králové, Czech Republic, for assistance with the measurement of colistin in plasma samples.

## Funding

No specific funding has been received for this work.

## Transparency declarations

None to declare.

## Data availability

All data are presented in the article.

## References

- 1 Shekar K, Fraser JF, Smith MT *et al.* Pharmacokinetic changes in patients receiving extracorporeal membrane oxygenation. *J Crit Care* 2012; **27**: 741.e9–18.
- 2 Markou N, Foustieri M, Markantonis SL *et al.* Colistin pharmacokinetics in intensive care unit patients on continuous venovenous haemodiafiltration: an observational study. *J Antimicrob Chemother* 2012; **67**: 2459–62.
- 3 Tsuji BT, Pogue J M, Zavascki AP *et al.* International consensus guidelines for the optimal use of the polymyxins: endorsed by the American

College of Clinical Pharmacy (ACCP), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), Infectious Diseases Society of America (IDSA), International Society for Anti-infective Pharmacology (ISAP), Society of Critical Care Medicine (SCCM), and Society of Infectious Diseases Pharmacists (SIDP). *Pharmacotherapy* 2019; **39**: 10–39.

4 Gobin P, Lemaître F, Marchand S *et al.* Assay of colistin and colistin methanesulfonate in plasma and urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; **54**: 1941–8.

5 Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V *et al.* Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and formed colistin in critically ill patients from a multicenter study provide dosing suggestions for various categories of patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; **55**: 3284–94.

6 Sorli L, Luque S, Grau S *et al.* Trough colistin plasma level is an independent risk factor for nephrotoxicity: a prospective observational cohort study. *BMC Infect Dis* 2013; **13**: 380.

*J Antimicrob Chemother* 2022; **77**: 2300–2303

<https://doi.org/10.1093/jac/dkac147>

Advance Access publication 10 May 2022

## Persistence of hepatitis E virus in the cerebrospinal fluid despite apparently successful ribavirin therapy

Sébastien Lhomme<sup>1,2\*</sup>, Amandine Fayard<sup>3</sup>, Sonia Mirafzal<sup>4</sup>, Romain Carcenac<sup>2</sup>, Pauline Boyer<sup>2</sup>, Justine Latour<sup>2</sup>, Amélie Brebion<sup>5</sup>, Jacques-Olivier Bay<sup>3</sup>, Cécile Henquell<sup>5</sup> and Jacques Izopet<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Infinity, Université Toulouse, CNRS, Inserm, UPS, Toulouse, France;

<sup>2</sup>CHU Toulouse, Hôpital Purpan, Laboratoire de Virologie, Centre National de Référence pour le VHE, Toulouse, F-31300, France;

<sup>3</sup>CHU Clermont-Ferrand, Service d'Hématologie, 63000 Clermont-Ferrand, France; <sup>4</sup>CHU Clermont-Ferrand, Service de Neuroradiologie, 63000 Clermont-Ferrand, France; <sup>5</sup>CHU Clermont-Ferrand, 3 IHP, Laboratoire de Virologie, 63000 Clermont Ferrand, France

\*Corresponding author. E-mail: [lhomme.s@chu-toulouse.fr](mailto:lhomme.s@chu-toulouse.fr)

The hepatitis E virus (HEV), a member of the *Hepeviridae* family, is endemic in resource-limited countries and a major health issue in industrialized countries.<sup>1</sup> Four main HEV genotypes infect humans; genotype 3 (HEV3) causes most of the infections in developed countries due to the consumption of uncooked/undercooked contaminated pork meat.<sup>1</sup> HEV can persist for over 3 months, producing a chronic infection in immunocompromised patients, including those with

### 3.2 Úskalí používání kolistinu v intenzivní medicíně a jeho terapeutického monitorování: přehled literatury.

Citace:

Rychlíčková J, Kubíčková V, Suk P, Urbánek K. Challenges of Colistin Use in ICU and Therapeutic Drug Monitoring: A Literature Review. *Antibiotics (Basel)*. 2023 Feb 22;12(3):437.

Komentář:

Literární review se zaměřilo na shrnutí dostupné literatury k praktickým aspektům použití kolistinu u kriticky nemocných, interferenci kolistinu s různými materiály a jeho TDM.

Kolistin je léčivo s unikátními fyzikálně-chemickými vlastnostmi – charakteristická je přítomnost náboje, schopnost adsorpce na různé materiály a schopnost vytvářet micely. Na principu uvedených fyzikálně-chemických vlastností je vysloven předpokládaný mechanismus účinku kolistinu. Tyto vlastnosti mají ale i ryze praktické dopady – s rostoucí koncentrací roste stabilita a viskozita roztoků CMS a kolistinu. Stabilitní data tedy nelze přenášet mezi jednotlivými substráty, protože koncentrace roztoku pro nebulizaci jsou přibližně 1000× vyšší než koncentrace CMS a kolistinu ve vzorcích pro TDM. Změny viskozity se promítají do velikosti kapének vytvářených nebulizátory. Přestože jsou generované částice stále dostatečně malé, aby mohly dosáhnout distálních částí bronchiálního stromu, dochází ke změně doby trvání celé procedury.<sup>161</sup> Detergenční vlastnosti kolistinu společně s osmolalitou nosného roztoku jsou dávány do souvislosti s jeho nežádoucími účinky.<sup>162–164</sup>

Na základě výše zmíněných fyzikálně-chemických vlastností lze očekávat i interferenci CMS a kolistinu s materiály okruhů extrakorporálních metod (ECMO, RRT). Dostupná a současně velmi omezená data k této problematice v tomto review rovněž uvádíme.

Farmakokinetika kolistinu je komplexní a stále ne zcela objasněná. Situaci pocho-pitelně komplikuje i fakt, že je podáván ve formě proléčiva se zcela odlišnými farmakokinetickými vlastnostmi. V tomto review tak shrnujeme obecná fakta o farmakokinetice kolistinu, ale zaměřujeme se i na podrobný přehled a srovnání publikovaných farmakokinetických dat od kriticky nemocných dospělých pacientů. Data jsou zatížena značnou variabilitou nejen samotné populace, ale i použitých dávek a monitoringu. Spíše než absolutní hodnoty jednotlivých farmakokinetických parametrů, jsou tak pro nás důležité rozptyly jejich hodnot. Inter- a intraindividuální variabilita jen podporuje potřebu TDM. Uvádíme a analyzujeme i aktuálně akceptované PK/PD cíle pro kolistin, jeho dávkování a faktory, které jej ovlivňují.

TDM je nástrojem pro vyvážení poměru benefitů a rizik terapie, především u léčiv s úzkým terapeutickým oknem, jejichž toxicita a/nebo efekt dobře koreluje s plazmatickou koncentrací. Zároveň je to ale proces, ve kterém se protínají všechny překážky

a omezení kolistinu diskutované výše – dostupnost a spolehlivost metody pro stanovení CMS a kolistinu, resp. kolistinu za přítomnosti CMS, spontánní degradace CMS na kolistin *in vitro* s rizikem detekce falešně vysokých koncentrací kolistinu, podávání inaktivního proléčiva s následnou variabilní přeměnou na aktivní léčivo, dostupnost a spolehlivost populačních farmakokinetických modelů nebo potřeba častého odběru krve v průběhu dávkovacího intervalu, přenositelnost dat mezi produkty jednotlivých výrobců, klinická relevance aktuálně akceptovaných PK/PD cílů.

Uvedené review a identifikované slabiny v dostupné literatuře a dosavadním výzkumu se staly podkladem pro naši další práci v této oblasti a pro následující publikace.

Můj podíl na publikaci: podíl na návrhu tématu, literární rešerše, analýza dat, majoritní tvorba rukopisu.



## Review

# Challenges of Colistin Use in ICU and Therapeutic Drug Monitoring: A Literature Review

Jitka Rychlíčková <sup>1,2</sup> , Vendula Kubíčková <sup>3</sup>, Pavel Suk <sup>1,4</sup> and Karel Urbánek <sup>3,\*</sup> <sup>1</sup> International Clinical Research Center, St. Anne's University Hospital Brno, Pekařská 664/53, 656 91 Brno, Czech Republic<sup>2</sup> Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Kamenice 753/5, 625 00 Brno, Czech Republic<sup>3</sup> Department of Pharmacology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University in Olomouc, Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc, Czech Republic<sup>4</sup> Department of Anaesthesiology and Intensive Care, St. Anne's University Hospital Brno and Faculty of Medicine, Masaryk University, Pekařská 664/53, 656 91 Brno, Czech Republic

\* Correspondence: karel.urbanek@upol.cz; Tel.: +420-585-632-551

**Abstract:** The emerging resistance of Gram-negative bacteria is a growing problem worldwide. Together with the financial cost, limited efficacy, and local unavailability of newer antibiotics or their combinations, it has led to the reintroduction of colistin as a therapeutic alternative. Despite its protracted development and availability on the market, there is now a complex maze of questions surrounding colistin with a more or less straightforward relationship to its safety and efficacy. This review aims to offer a way to navigate this maze. We focus on summarizing the available literature regarding the use of colistin in critically ill patients, particularly on stability, pharmacokinetics, methods for determining plasma concentrations, and therapeutic drug monitoring benefits and limitations. Based on these data, we then highlight the main gaps in the available information and help define directions for future research on this drug. The first gap is the lack of data on the stability of intravenous and nebulization solutions at clinically relevant concentrations and under external conditions corresponding to clinical practice. Furthermore, pharmacokinetic-pharmacodynamic parameters should be validated using standardized dosing, including a loading dose. Based on the pharmacokinetic data obtained, a population model for critically ill patients should be developed. Finally, the interference of colistin with extracorporeal methods should be quantified.

**Keywords:** colistin; quantification methods; drug stability; pharmacokinetics; drug monitoring



**Citation:** Rychlíčková, J.; Kubíčková, V.; Suk, P.; Urbánek, K. Challenges of Colistin Use in ICU and Therapeutic Drug Monitoring: A Literature Review. *Antibiotics* **2023**, *12*, 437. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030437>

Academic Editor: Jeffrey Lipman

Received: 30 January 2023

Revised: 16 February 2023

Accepted: 20 February 2023

Published: 22 February 2023



**Copyright:** © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

Colistin (polymyxin E) is an old lipopeptide antibiotic whose isolation from the fermentation products of *Paenibacillus polymyxa* and development occurred mainly in the 1940s [1–4]. Colistin was authorized by the US FDA in 1959 [1]. Later, to reduce adverse effects, it was modified into the prodrug of colistin methanesulphonate (CMS) and successfully registered. Despite this modification, the severity of adverse effects, especially when compared to newer antibiotics, was still high, and the use of colistin was minimized in the 1980s and 1990s [5]. However, the situation in the last two decades has changed, mainly due to the emerging resistance to carbapenems, fluoroquinolones, and aminoglycosides. Another reason is the financial cost or factual local unavailability of newer antibiotics or combinations (ceftazidime/avibactam, meropenem/vaborbactam, plazomicin) which are, moreover, not clinically effective to treat carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* (CRAB) infections. Therefore, colistin is currently becoming a therapeutic alternative again for infections caused by some multidrug-resistant Gram-negative pathogens [1,4–7]. Colistin is a narrow-spectrum antibiotic. In vitro, colistin shows efficacy against *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and most *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Enterobacter*

spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., and *Klebsiella*). Naturally resistant pathogens are *Proteus* spp., *Burkholderia pseudomallei*, *Serratia* spp., *Morganella morganii*, *Providentia* spp.; further, Gram-positive bacteria, anaerobes, and eukaryotes are typically resistant [1,2,8–10]. According to the Infectious Disease Society of America (IDSA) guidelines, colistin in monotherapy is considered the last choice for therapy of uncomplicated cystitis caused by carbapenem-resistant *Enterobacterales* [11]. In mild infections (e.g., tracheitis, urinary tract infections, skin and soft tissue infections) caused by CRAB, the preferred agent is ampicillin-sulbactam in monotherapy, and colistin is one of the alternate agents [12]. Combination therapy with at least two active agents, whenever possible, is suggested for the treatment of moderate to severe CRAB infections, at least until clinical improvement is observed, and polymyxins are preferred for this combination [12]. A similar recommendation is in the International Consensus Guidelines for the Optimal Use of the Polymyxins—for invasive infections due to CRAB, colistin (or polymyxin B) should be used in combination; if a second agent is unavailable, monotherapy is recommended (weak recommendation) [13]. The same guidelines suggest combination therapy, including colistin for invasive infections due to carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* [13].

It is due to the replacement of colistin by newer antibiotics in the 1980s and 1990s that we are now facing a situation with limited information on its physicochemical and pharmacological properties, which are crucial for its appropriate and safe use in clinical practice, especially in critically ill patients. Such aspects are the issues of the *in vitro* stability of colistin and CMS and concentration-dependent tissue toxicity, methods for estimating colistin and CMS plasma concentrations, and the long-term stability of these plasma samples. Issues of a more clinical nature are the pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) parameters of colistin and target plasma concentrations, sampling timing for the therapeutic drug monitoring (TDM), and, last but not least, the impact of extracorporeal methods used in critically ill patients on colistin and CMS pharmacokinetics (renal replacement therapy (RRT), extracorporeal membrane oxygenation (ECMO)).

## 2. Colistin Physicochemical Properties and Their Consequences

### 2.1. Colistin Chemical Profile, Mechanism of Action

Colistin is an amphiphilic lipopeptide molecule consisting of several parts—a cyclic heptapeptide, forming the hydrophilic part, linked by a tripeptide bridge with a fatty acid, representing the hydrophobic part (see Figure 1) [14]. Five diaminobutyric acid residues are attached to this core structure, which represent free amines that give the molecule a positive charge at physiological pH. The attachment of methanesulfonate residues by covalent bonds to the five diaminobutyrate residues of the colistin molecule results in CMS, a negatively charged antimicrobially completely inactive prodrug developed to reduce colistin toxicity [15].

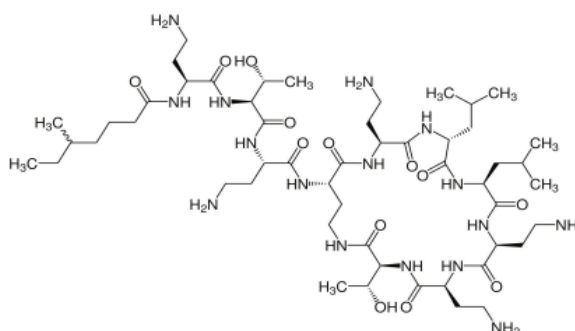


Figure 1. Colistin chemical structure.

The positive charge of the colistin molecule determines one of its putative mechanisms of action—the competitive dislocation of calcium and magnesium ions from their binding to phosphates. The subsequent binding of colistin to these negatively charged components of the lipopolysaccharide supports the formation of pore-like structures [2,4,16]. Colistin molecule destabilizes the three-dimensional structure of the outer membrane of Gram-negative pathogens, and colistin (or other antibiotics) is allowed to reach the level of the inner membrane [1,2,4,16–19]. Here, again, the detergent effect of colistin becomes apparent; the change in the integrity of the inner membrane leads to the loss of its function, leakage of intracellular contents, and cell lysis. An alternative membrane-related mechanism of action of polymyxins refers to the theory of phospholipid cross-linking and exchange between the outer and inner membranes with subsequent induced osmotic imbalance and cell lysis [19]. Secondary mechanisms include the so-called anti-endotoxin effect, where colistin scavenges and neutralizes endotoxins [2], the noncompetitive inhibition of bacterial respiratory chain enzymes localized on the inner membrane [4,20], hydroxyl radical production via the Fenton reaction, and oxidative damage to DNA, lipids, and proteins [21]. A comprehensive diagram of the above mechanisms of action of colistin is offered by El-Sayed Ahmed et al. [22].

Both colistin and CMS are not chemically clearly definable molecules. Colistin is produced by fermentation, so it is a mixture of more than thirty components that are not in a constant ratio. For this reason, the molecular weight of colistin is not precisely determined, and its quantity is expressed in both conventional SI units and international units (IU). The main components are colistin A and colistin B, whose molecular weights are 1169.5 and 1155.4, respectively [17,23,24]. Similarly, the derivatization of the diaminobutyrate residues of colistin can lead to the attachment of two or, in contrast, no methane-sulfonate groups to individual primary amines [25]. Thus, CMS is a complex mixture of methane-sulfonated derivatives, mainly CMS A and CMS B [17].

The reverse conversion of CMS to colistin occurs spontaneously in aqueous solutions in vivo and in vitro. CMS A and CMS B, as well as other derivatives present, hydrolyze to a series of partially methane-sulfonated derivatives and colistin [17]. After the cleavage of all sulphomethyl units, when the molecule becomes more positively charged with each cleaved sulphomethyl substituent, their antimicrobial activity is restored. Partially sulphomethylated derivatives lack antimicrobial activity.

## 2.2. Bottlenecks in Analytical Methods for Colistin Quantification

The variability in the chemical structure and antimicrobial effect of individual derivatives and the presence of an unstable, spontaneously hydrolyzing prodrug complicates the development of a reliable method for quantifying colistin and CMS in a given matrix, whether it is a patient blood sample for TDM or a sample of an infusion or nebulization solution to determine stability and storage conditions in vitro.

Microbiological methods are simple and inexpensive, but time-consuming and inaccurate. They are also not suitable for determining colistin from biological samples concurrently containing CMS. The latter will be hydrolyzed to colistin during the long incubation period, thus giving falsely high concentrations [18]. Issues related to sensitivity and selectivity are also encountered with immunological methods, methods using thin-layer chromatography or capillary electrophoresis [26]. The use of high-performance liquid chromatography (HPLC) with different detection methods seems to be more appropriate. Since colistin exhibits poor absorption of ultraviolet radiation and shows no native fluorescence, it is essential to use a derivatization procedure with UV-absorbing or fluorescent reagents. Although fluorescence detection after derivatization is a sensitive method, the disadvantages listed below make it rather an alternative method. Limitations in repeatability in the determination of lower colistin concentrations, time demands, and the complexity of sample preparation are particularly troublesome. The optimal analytical method should be fast, simple, accurate, and sufficiently sensitive. These conditions are currently best fulfilled by the liquid chromatography with mass detection (LC/MS), as evidenced by

recently published methodologies [26,27]. The LC/MS provides high selectivity, sensitivity, does not require prior derivatization, and analyses are performed in minutes.

In the determination of colistin concentrations, the two main components, colistin A and colistin B, are measured; CMS is determined indirectly through acid hydrolysis of the respective samples and subsequent determination of colistin due to the instability of the CMS molecule [1,17,26]. Most methods were carried out on C18 analytical columns, using water with acetonitrile or methanol with 0.1% formic acid as the mobile phase. The acidification of the mobile phase is suitable for the formation of doubly or triply charged ions. Polymyxin B or B1 were used as internal standards. The most commonly reported MS detector is the triple quadrupole. Electrospray ionization (ESI) then generates multiply charged ions produced by protonating or deprotonating free amine groups of colistin. The choice of ion to be selected as a precursor depends on the stability, intensity, and signal-to-noise ratio of the corresponding ions. For better spectrometer response, colistin is more often measured in the ESI positive mode with  $m/z$   $[M + H]^+$ ,  $[M + 2H]^{2+}$  and  $[M + 3H]^{3+}$ , at  $m/z$  1170, 586, 391 for colistin A and 1156, 579, 386 for colistin B. The most frequently mentioned product ion corresponds to values in the range  $m/z$  100.9–101.4 [26,27]. The product ions and a summary of the selected methods are listed in Table 1 [17,28–36].

**Table 1.** Summary of LC-MS methods for the determination of colistin and CMS.

| Column Type                                      | Internal Standard              | Mobile Phase                                  |                                  | Elution               | Analysis Time [min] | ESI Mode             | <i>m/z</i>                                     |                                                | Ref. |
|--------------------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------|-----------------------|---------------------|----------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|------|
|                                                  |                                | A                                             | B                                |                       |                     |                      | Colistin A                                     | Colistin B                                     |      |
| Xbridge C18 (150 mm × 2.1 mm; 5 µm)              | polymyxin B                    | 0.1% formic acid in water                     | 0.1% formic acid in acetonitrile | isocratic A:B (80:20) | 3.8                 | positive             | 585.5 → 101.2                                  | 578.5 → 101.2                                  | [17] |
| Xbridge BEH-Amide (50 mm × 2.1 mm; 2.5 µm) HILIC | not used                       | 0.1% formic acid in acetonitrile              | 0.1% formic acid in water        | gradient              | 12                  | positive             | 390.7 → 100.9                                  | 386.0 → 100.9                                  | [28] |
| Synergi Fusion RP C18 (150 mm × 2 mm; 4 µm)      | polymyxin B                    | 0.1% formic acid in water                     | 0.1% formic acid in acetonitrile | gradient              | 11                  | positive             | 585.7 → 101.1; 202.3; 241.3                    | 578.7 → 101.1; 202.3; 227.3                    | [29] |
| Kinetex C18 (50 mm × 3 mm; 2.6 µm)               | polymyxin B                    | 0.1% formic acid in water                     | 0.1% formic acid in acetonitrile | gradient              | 6                   | positive             | 585.5 → 101.1; 241.1                           | 578.5 → 101.1; 227.2                           | [30] |
| Acquity UPLC BEH C18 (100 mm × 2.1 mm; 1.7 µm)   | not specified                  | 0.2% formic acid and 5% acetonitrile in water | acetonitrile                     | gradient              | 10                  | positive             | 390.60 → 101.07; 241.19                        | 385.90 → 101.07; 227.17                        | [31] |
| Atlantis dC18 (100 mm × 2.1 mm; 3 µm)            | clarithromycin                 | water                                         | 0.2% formic acid in acetonitrile | isocratic A:B (50:50) | 4                   | positive             | 585.6 → 101.4                                  | 578.7 → 101.3                                  | [32] |
| Kinetex XB-C18 (100 mm × 2.1 mm; 2.6 µm)         | polymyxin B                    | acetonitrile: methanol (1:1)                  | 0.1% formic acid in water        | gradient              | 3.5                 | positive             | 390.7 → 101.3                                  | 386.0 → 101.2                                  | [33] |
| MassTox                                          | polymyxin B                    | 0.1% formic acid in water                     | 0.1% formic acid in methanol     | gradient              | 3.5                 | positive             | 585.5 → 534.9; 576                             | 578.5 → 527.9; 568.9                           | [34] |
| Acquity UPLC C18 (150 mm × 4.6 mm; 3.5 µm)       | polymyxin B                    | 0.1% formic acid in water                     | 0.1% formic acid in acetonitrile | gradient              | 2.5                 | positive             | 390.9 → 385.1                                  | 386.2 → 101.0                                  | [35] |
| Acquity UPLC BEH C18 (50 mm × 2.1 mm; 1.7 µm)    | sulphadiazine <sup>13</sup> C6 | 0.1% formic acid in water                     | 0.1% formic acid in acetonitrile | gradient              | 3.5                 | positive<br>negative | 390.8 → 86.1; 101.0<br>1167.8 → 1079.4; 1124.1 | 386.0 → 86.0; 101.1<br>1153.7 → 1065.8; 1110.0 | [36] |

Various procedures have been proposed for the pre-analytical processing of biological samples (predominantly plasma or serum): precipitation of plasma proteins with organic solvents with or without the addition of acid, precipitation of the protein followed by solid phase extraction (SPE), or SPE followed by concentrating the sample by dry evaporation and reconstitution. Although protein precipitation is an inexpensive and rapid method of sample preparation, it also poses the risk of inadequate sample clean-up and increased risk of matrix effects. Sample preparation by SPE provides a clean extract and is the choice for minimizing matrix effects. However, the more laborious and expensive sample preparation procedure can be a disadvantage [17,18,37].

In the context of guaranteeing the most accurate determination of colistin and CMS concentrations in the sample, it is worth noting the potential adsorption of colistin to some plastics, especially polystyrene or polysulphone (the latter relevant as the material of some hemodialyzer membranes); in contrast, polypropylene has a lower risk of adsorption [38,39]. This is due to the physicochemical properties of colistin, especially the amphiphilic nature and positive charge of its molecule, and the risk factors are the handling of the sample in the liquid state, the number of exposures to new, unsaturated surfaces, and the concentration of colistin [38]. However, when processing plasma or serum, the proteins contained prevent the adsorption of colistin to plastic surfaces [38].

### 2.3. Colistin Stability and Related Issues for Clinical Practice

In clinical practice, colistin is now used both in the form of colistin sulphate and CMS, which spontaneously converts into the antimicrobial active colistin; the rate and extent of this transformation depend on a range of external conditions and, of course, it occurs *in vitro*. One of these external conditions is the concentration of CMS in the solution. The amphiphilic nature of both colistin and CMS molecules determines the ability to form micelles and colloidal aggregates, enhancing stability with increasing concentration [40]. The compositions and pH of the carrier solution, the ambient temperature, and the material of the tubes/infusion containers further influence the stability of both molecules.

The available stability data can generally be divided into three principal categories, taking into account the above factors affecting stability and reflecting clinical situations—nebulization solutions (tested CMS concentrations 75–77.5 mg/mL), solutions for intravenous administration (tested concentrations of CMS 0.8–4 mg/mL), and plasma samples for TDM (tested concentrations 2 mg/L and 30 mg/L of CMS, 1.7 mg/L of colistin and 0.05–9.0 mg/L of colistin A and colistin B, respectively), including freeze–thaw stability [17,32,41–46].

The stability of the CMS solution for nebulization has been addressed in two papers following the FDA recommendations conditioned by the case of acute respiratory distress syndrome after the administration of CMS premix [41,42,47]. Both studies used virtually comparable concentrations of CMS solution—77.5 mg/mL in sterile water and normal saline (NS) [41] and 75 mg/mL of CMS in sterile water, respectively [42]. Both studies demonstrated excellent stability of CMS solutions with less than 1% formed colistin throughout the monitored period—24 h at 21 °C [42] and 1 year at 4 °C and 25 °C in the dark [41].

Wallace et al. tested the stability of CMS at a concentration for intravenous administration, specifically 4 mg/mL in both NS and 5% glucose in an infusion bag stored in the dark at 4 °C and 21 °C. There was a gradual increase in colistin concentrations in both carrier solutions; within 48 h, approximately 4% of CMS spontaneously converted at the higher temperature, whereas only 0.3% did so at the lower temperature [41]. Within 12–24 h after reconstitution, times that replicate the potential length of a single infusion in continuous administration, approximately 2–3% degraded to colistin at room temperature [41]. Abdulla et al. and Post et al. studied the stability of CMS in elastomeric pumps, i.e., in a different material and simultaneously at lower concentrations—0.8 mg/mL [43], and 0.8 mg/mL, 1.6 mg/mL, and 2.4 mg/mL, respectively [44]. A relationship between stability and concentration was proven—the most significant CMS conversion occurred at

the lowest concentration (3.7% of CMS hydrolyzed during 8 days of storage at 20 °C and in the light vs. 2.6% and 2.3% at higher concentrations) [44]. CMS stability in the infusion bag (2 million IU of CMS in 100 mL NS; CMS concentration 1.6 mg/mL) during the 8 days was better in comparison to all concentrations used in the elastomeric pumps (the proportion of formed colistin was 1.7% and 2.1% at 4 °C and 20 °C, respectively) [44]. CMS concentration in intravenous solutions used in clinical practice typically ranges between 4.8–14.4 mg/L.

The stability of CMS and colistin at clinically relevant plasma concentrations was addressed by Dudhani et al. In their experiment, three types of samples were prepared—colistin 1.7 mg/L and CMS 2 mg/L and 30 mg/L in plasma at pH 7.4; the samples were further stored at −20 °C, −70 °C, and −80 °C [45]. The CMS concentration in both types of samples remained stable at lower temperatures for 4 months; however, at −20 °C, there was significant degradation to colistin, with a decrease of more than 26% in CMS (initial concentration 2 mg/L) after two months of storage and a concomitant measurable level of de novo formed colistin (approximately 0.4 mg/L); the stability of CMS at higher concentrations was better. Concerning the stability of colistin, there is again an explicit temperature dependence: at −70 °C and −80 °C, the degradation of colistin did not exceed 7% for 6–8 months, whereas at −20 °C, a similar extent of degradation was observed after only one month [45]. Similar data have been published by Gobin et al. [17]. Regarding the stability of CMS and colistin in the case of thawing and refreezing of the plasma sample, the available data show good stability with two [17] or three (colistin only) freeze/thaw cycles, respectively [32,46]. Considering pH as another condition affecting the stability of CMS and colistin in samples, it may be reasonable to take the acid–base balance into account in colistin TDM, especially in critically ill patients, with these data usually available [48].

#### 2.4. Other Colistin Solution Properties and Their Consequences

The amphiphilic nature of the CMS molecule and the concentration-dependent ability to form micelles and colloidal aggregates determine not only the stability of the solution but also changes in its viscosity. This plays an important role, especially concerning aerosol formation in inhalation therapy. This issue was addressed by Bihan et al. [49]. The authors compared a standard dilution of 4 million IU CMS in 12 mL NS (26 mg/mL) and an experimental dilution of 4 million IU CMS in 6 mL NS (53 mg/mL), both in terms of the nature of the particles produced and the changes in pharmacokinetics. With the more concentrated solution, a larger size of particles generated was initially observed, but still within the limit that allows deposition in the distal airways. The total duration of nebulization was significantly shorter with the more concentrated solution. In contrast, the pharmacokinetics of CMS and colistin did not change with dilution [49].

Another important physicochemical property in the context of inhalation administration is osmolality, but this depends more on the type of carrier solution used for CMS. Dodd et al. investigated objectively measured changes in lung function and subjective sensations associated with the inhaled administration of hypotonic (sterile water as the carrier solution), isotonic (water and NS 1:1), and hypertonic (NS) CMS solutions at a dose of 2 million IU in adult patients with cystic fibrosis [50]. After the administration of all solutions, there was a similar decrease in FEV1 (forced expiratory volume in one second), but the time at which the maximum decrease occurred differed: the fastest onset of change was observed with the hypertonic solution and the slowest with the hypotonic solution. Similarly, the hypertonic solution was the least preferred form by patients [50]. The induced bronchoconstriction was attributed to the tonicity of the nebulization solution, but we should not forget the detergent properties of colistin, which may also account for the dose-dependent degranulation of mast cells [51,52].

### 3. Colistin Pharmacokinetics in Critically Ill Adults and PK/PD Targets

As an inactive prodrug, CMS requires *in vivo* bioactivation to colistin, which, together with the very different physicochemical properties of the two substances, accounts for the complex pharmacokinetics. To achieve systemic therapeutic concentrations, CMS must be

administered intravenously. Of course, CMS reaches its maximum plasma concentration ( $C_{MAX}$ ) very quickly, whereas colistin must first be formulated (time to reach maximum plasma concentration— $T_{MAX}$ —is delayed). The bioactivation of CMS to colistin is spontaneous and represents one of the non-renal CMS clearance pathways; other non-renal pathways are possible (e.g., hydrolysis of peptide bonds) [53]. In addition to this non-renal clearance, CMS is excreted by glomerular filtration and tubular secretion, and there is an inverse relationship between renal function and the rate and extent of CMS bioactivation to colistin. In other words, patients with renal insufficiency have a higher exposure to in vivo formed colistin, whereas patients with normal renal function are at risk of too rapid excretion of the prodrug before conversion [54]. Published data from critically ill patients suggest colistin  $T_{MAX}$  in the range of 1–8 h [55–60], and the extent of CMS conversion, this time in healthy volunteers (Japanese male subjects and Caucasian subjects), is estimated to be between 30 and 60% [61,62]. The variability of individual medicinal products (not only in terms of the manufacturer but also in terms of the batch) further contributes to the already significant interindividual variability [13,63–65]. The  $C_{MAX}$  of colistin ranged widely depending on evolving dosing regimens and the use of a loading dose, creatinine clearance (CrCl), or the use of renal replacement therapy (RRT) (for details, see Table 2). In general, the  $C_{MAX}$  of colistin ranged widely between 0.6 and 13 mg/L [55–60,66].

**Table 2.** Characteristics of pharmacokinetic trials/case reports in adult patients receiving CMS.

| Population     | Number of Subjects | Renal Function                                                          | Dosage (CMS * mg Intravenous)                                     | LD  | Timing                               | Sampling before + after the Infusion [min]                    | Pharmacokinetic Data—Colistin                                                                 |                 |                                                                       | Ref. |
|----------------|--------------------|-------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|-----|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-----------------------------------------------------------------------|------|
|                |                    |                                                                         |                                                                   |     |                                      |                                                               | $C_{MAX}$ [mg/L]                                                                              | $T_{MAX}$ [min] | AUC [mg × h/L]                                                        |      |
| critically ill | 3                  | NS<br>all on continuous RRT                                             | 150 q 18 h<br>75 q 8 h<br>75 q 8 h                                | no  | day 3<br>day 10<br>day 6             | 0 + 10; 60; 120;<br>240; 360; 480;<br>600; before the next    | 2.98<br>2.29<br>2.11                                                                          | 10              | 33.6–40.8<br>$C_{SS,AVE}$<br>1.4–1.7 mg/L                             | [39] |
| critically ill | 14                 | CrCl:<br>46.0–199.7 mL/min                                              | 225 q 8/12 h<br>150 q 8 h                                         | no  | after min. 2 days                    | 0 + 10; 60; 120;<br>240; 360; 480                             | mean 2.93<br>SD 1.24                                                                          | NS              | mean 12.8<br>SD 5.1                                                   | [55] |
| critically ill | 73                 | calculated CrCl:<br>median 86 mL/min<br>(range 14–368 mL/min)           | LD median 160;<br>16 patients 600–720<br>MD median daily dose 480 | yes | first, random dose                   | during the infusion (2 ×) + 60–120 min; 5 min before the next | NS                                                                                            | NS              | NS<br>$C_{SS,AVE}$<br>3.4 mg/L **                                     | [56] |
| critically ill | 18                 | calculated CrCl:<br>mean 82.3 mL/min<br>(SD 24.35) mL/min               | 240 q 8 h<br>or 160 q 8 h                                         | no  | first, fourth, or sixth/seventh dose | 0 + 15; 30; 60; 90;<br>120; 240; 360;<br>465                  | following the first dose<br>0.6 **<br>following next doses<br>2.3 **                          | NS              | NS                                                                    | [57] |
| critically ill | 10                 | calculated CrCl:<br>24.9–191.5 mL/min                                   | LD 480<br>80–240 q 8 h                                            | yes | first, eighth dose                   | 0 + 15; 30; 60;<br>120; 240; 465                              | NS                                                                                            | NS              | NS                                                                    | [58] |
| critically ill | 19                 | calculated CrCl:<br>29–220 mL/min                                       | LD 480–720<br>MD 240 q 8 h<br>or 360 q 12 h                       | yes | first, fifth/sixth dose              | 0 + 30; 60; 120;<br>240; 480; 720;<br>before the next         | following the first dose<br>mean 2.65<br>range 0.95–5.1<br>at steady state<br>range 0.68–8.72 | 480             | NS                                                                    | [59] |
| critically ill | 2                  | NS<br>both on continuous RRT                                            | LD 720<br>MD 240 q 8 h                                            | yes | first; end of second-eighth dose     | 0 + 30; 60; 120;<br>240; 360; 720;<br>before the next         | 13.4<br>10.9                                                                                  | NS              | 216.3<br>179.1                                                        | [66] |
| critically ill | 215                | CrCl:<br>median 39.8 mL/min<br>range 0–314 mL/min<br>29 patients on RRT | median daily dose 480<br>range 180–1454                           | no  | days 3–5                             | NS                                                            | NS                                                                                            | NS              | NS<br>median<br>$C_{SS,AVE}$<br>2.35 mg/L;<br>range<br>0.24–9.92 mg/L | [67] |

Table 2. Cont.

| Population     | Number of Subjects | Renal Function                                                                               | Dosage (CMS * mg Intravenous)            | LD  | Timing                           | Sampling before + after the Infusion [min]      | Pharmacokinetic Data—Colistin<br>C <sub>MAX</sub> [mg/L] | T <sub>MAX</sub> [min] | AUC [mg × h/L]                                | Ref. |
|----------------|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|-----|----------------------------------|-------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|------------------------|-----------------------------------------------|------|
| critically ill | 105                | calculated CrCl: mean 28.7 mL/min/1.73 m <sup>2</sup> range 0–169 mL/min/1.73 m <sup>2</sup> | median daily dose 200 mg range 75–410 mg | no  | day 3–4                          | 0 + end of infusion; 30; 60; 120; 240; 480; 720 | NS                                                       | NS                     | 11.5–225 median C <sub>SS,AVE</sub> 2.36 mg/L | [68] |
| critically ill | 10                 | NS all on continuous RRT                                                                     | LD 480 or 720 MD 160–240 q 8 h           | yes | first, seventh dose              | 0 + 30; 60; 180; 360; 480                       | NS                                                       | NS                     | NS C <sub>SS,AVE</sub> 4.67 mg/L              | [69] |
| critically ill | 2                  | CrCl: 107 mL/min 159 mL/min 156 mL/min                                                       | LD 720 MD 360 q 12 h                     | yes | ninth dose first dose fifth dose | 0 + 60; 240; 720 120; 360; 720 120; 360; 720    | NS                                                       | NS                     | 80 61.8 56.5                                  | [70] |
| NS             | 15                 | calculated CrCl: median 89.8 mL/min range 24.2–330 mL/min                                    | mean daily dose 235.3 *** SD 79.9 ***    | no  | day 5                            | 0 + 30; 60; 120; 240; 480                       | mean 5.50 SD 2.75                                        | 73.8 ± 69              | mean 40.5 SD 20.7                             | [71] |

\* CMS 1 million IU = 80 mg of CMS; \*\* predicted value; \*\*\* dose as colistin base activity (mg); approximately corresponds to CMS mean 607 mg (SD 206 mg). Abbreviations: CMS—colistin methanesulphonate; C<sub>MAX</sub>—maximum plasma concentration; C<sub>SS,AVE</sub>—steady-state average concentration; CrCl—creatinine clearance; RRT—renal replacement therapy; h—hours; LD—loading dose; MD—maintenance dose; NS—not specified; q—every; SD—standard deviation; T<sub>MAX</sub>—time to maximum plasma concentration.

Approximately 50% of colistin binds to plasma proteins, mainly  $\alpha$ -1-acid glycoprotein [13,72]. Higher levels of protein binding (59–74%) have been observed in critically ill patients [58]. The volume of distribution in healthy volunteers is low (14 and 12.4 L for CMS and colistin, respectively) and corresponds approximately to the volume of extracellular fluid [61]. The metabolic and elimination pathways of colistin are not fully described. Given the peptide nature, proteolytic degradation is possible, but the enzymes involved and localization are still unknown [53]. Renal clearance of colistin is very low in healthy volunteers (1.9 mL/min) due to significant tubular reabsorption (organic cation transporters OCTN1, peptide transporters PEPT2, and a low-density lipoprotein receptor megalin may be involved) [53,61]. This and the adsorption of colistin to the polysulfone membrane of the hemofilter are the reasons for the administration of higher doses of CMS in patients on continuous RRT than in patients with normal renal function [39,67]. The biological half-life is again variable, approximately 3–5 h in healthy volunteers (Japanese male subjects and Caucasian subjects) [61,62], and ranges from 3.1 to 18.5 h in the critically ill population without RRT [55–59].

In terms of PK/PD targets, colistin is among the antibiotics with an exposure-dependent effect; the area under the plasma concentration curve of colistin or its free fraction to MIC ratio (fAUC/MIC) correlates best with efficacy in vitro and animal models [13]. In therapeutic use, the target AUC over a 24 h interval and at the steady state (AUC<sub>SS,24h</sub>) is approximately 50 mg × h/L, corresponding to a mean steady-state plasma concentration (C<sub>SS,AVG</sub>) of 2 mg/L [13]. Both refer to monotherapy and the total plasma concentration of colistin. Plasma protein binding, as well as inaccuracies in the determination of MICs and differences between in vitro and in vivo efficacy, are reflected in this target.

Recommended dosing in critically ill patients includes a loading dose of 9 million IU of CMS administered over 30–60 min, followed by a first maintenance dose 12 h later. The daily maintenance dose in patients with normal renal function (CrCl >70 mL/min) should be between 9 and 10.9 million IU, divided into two doses; the dose should be adjusted when creatinine clearance decreases [13,67,73]. The loading dose primarily reflects the prolonged T<sub>MAX</sub> in critically ill patients and the variable extent of conversion of CMS to colistin and provides the achievement of therapeutically effective concentrations as soon as possible. The relationship between the loading dose and the risk of acute renal

failure as a manifestation of nephrotoxicity is unclear, as is the appropriate loading dose in specific populations (obese patients, patients with renal insufficiency, augmented renal clearance, patients on RRT) [74]. No pharmacokinetic drug–drug interactions have been described that would require a change in the dosage of CMS. Pharmacodynamic interactions with other nephrotoxic (see Section 4.2) or neurotoxic drugs (including non-depolarizing neuromuscular blocking agents, aminoglycosides) may be clinically relevant [75,76]. A synergistic antibiotic activity with colistin combined with rifampicin or carbapenems has been shown in vitro, but the superiority of such a combination has not been demonstrated clinically [77].

Due to the poor colistin penetration into lung tissue, it was believed that nebulization would produce high drug concentrations at the site of infection. When CMS is nebulized in critically ill patients, local concentrations of colistin vary over an extensive range; however, in general, a higher percentage of CMS is converted to colistin, and the local concentrations achieved are higher than plasma concentrations during intravenous treatment [51,78]. On the other hand, there are conflicting findings on the clinical efficacy of nebulized antibiotics, which may be related to the limited number of randomized clinical trials, miscellaneous pathogens, various aerosol generation devices and methods, ventilation regimens, and questionable colistin efficacy due to potential binding to mucin [11–13,77]. Despite the limited permeability of CMS and colistin through barriers, systemic absorption of both drugs occurs, and systemic exposure to colistin reaches a measurable level or even observable toxicity [51,77,78]. There are inconsistent recommendations on the use and dosage of inhaled colistin as an adjuvant therapy to intravenous therapy in patients with ventilator-associated pneumonia caused by multidrug-resistant pathogens [12,13,79,80]. Namely, IDSA guidelines do not suggest adding nebulized antibiotics to treat respiratory infections caused by difficult-to-treat *Pseudomonas aeruginosa* and CRAB [11,12]. Rello et al. released a similar recommendation suggesting avoiding the use of nebulized antibiotics (including colistin) instead of the intravenous or as-added to conventional intravenous therapy already including colistin or aminoglycosides for the treatment of ventilator-associated pneumonia caused by both susceptible and resistant pathogens [80]. On the other hand, the International Consensus Guidelines for the Optimal Use of the Polymyxins recommends adjunctive polymyxin aerosol therapy for hospital-acquired or ventilator-associated pneumonia, as the committee believes that the potential benefits outweigh the risks [13]. The standard dose is 1–2 million IU every 8–12 h; however, the administration of substantially higher doses (e.g., 5 million IU every 8 h) has also been proposed [73,77].

#### 4. Colistin TDM, Benefits and Limits of Routine Use in Clinical Practice

There remains space for the use of colistin in clinical practice as it represents one of the few remaining therapeutic options still effective against carbapenem-resistant pathogens (see current guidelines above) [11–13]. Thus, the emergence of colistin resistance poses a substantial public health risk. Recently, some reviews were published on the global prevalence of colistin resistance in CRAB [81] and *Klebsiella pneumoniae* [82]. On the other hand, the distribution of colistin resistance is difficult to assess due to methodologically challenging and limited local susceptibility testing [83]. In this context, it is worth mentioning the Carbapenem and/or Colistin-Resistant *Enterobacterales* (CCRE) survey initiative (as part of the EURGen-Net), which will provide updated information on the distribution of carbapenemase-producing *Enterobacterales* and help to better understand the capacity for colistin susceptibility testing in Europe [83,84]. Regarding the susceptibility of selected pathogens to colistin, the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) set the susceptibility limit for *Pseudomonas aeruginosa* at 4 mg/L and for *Acinetobacter baumannii* 2 mg/L [85]. These values enable simultaneously safe and effective therapy to be achieved. Unfortunately, we are still balancing the risk of underdosing and the development of resistance on the one hand and toxicity on the other. The use of TDM seems to be the way forward. This is confirmed by guidelines that identify the research on the optimal approach to implementing TDM as a future need [13].

TDM is a useful tool for guaranteeing drug safety and efficacy, especially for agents with a narrow therapeutic window and the expected correlation between efficacy or safety and plasma concentration. Colistin fulfills these conditions, and its physicochemical properties allow us to anticipate changes in plasma concentrations in critically ill patients alone or with concomitant extracorporeal methods such as RRT and ECMO [86]. There are only a few papers available on the real impact of extracorporeal methods on colistin pharmacokinetics. CMS and colistin can be effectively cleared by continuous RRTs (CRRT). The actual extent of extracorporeal clearance depends on CRRT type and settings, the CRRT dose administered, and the presence of residual renal function; another essential factor is colistin adsorption on the hemofilter membrane [39,65,68,69,87]. Conflicting data on the adsorption of colistin to the membrane based on prefilter and postfilter colistin values were provided only by Menna et al. (postfilter colistin was more than 70% of prefilter colistin) [66]. Only two papers have addressed the interference of colistin with ECMO—colistin sulphate was used in one publication and CMS in the other. In neither case was significant sequestration of colistin on the ECMO circuit observed [70,88].

#### 4.1. TDM as an Approach to Ensure Colistin Safety

Concerning efficacy, the development of multidrug resistance is becoming one of the major clinical problems in nosocomial infections, especially in critically ill patients. Another issue is the difficulty of achieving adequate colistin plasma concentrations during CMS monotherapy, particularly in patients with good to augmented renal clearance and/or organisms with MIC greater than 1.0 µg/mL [39]. Colistin's pharmacodynamic effect depends on the AUC to MIC ratio ( $AUC_{SS,24h}$  of approximately 50 mg × h/L is the current target) [13]. For a good AUC estimation in a population with high interindividual variability typical for critically ill patients and product variability, every pharmacokinetic algorithm or simplified approach is burdened with a significant error, and, thus, multiple sampling and individual curve construction seem to be the most accurate approach [48,71]. In the available studies of critically ill patients, 6–9 samples were drawn in a single dosing cycle, whereas a single study carried only four samples (see Table 2) [55–59,68,71]. Thus, the number of samples seems to be another barrier to implementing TDM in routine practice. Kim et al. suggested trough level and a blood sample collected 2 h after starting a 30 min infusion for a limited sampling strategy because this combination showed the highest correlation with AUC [71]. A logical solution to minimize the sampling required for AUC estimation is the administration of colistin (CMS) as a continuous infusion. Although this regimen would theoretically correlate well with the defined PK/PD target, this approach does not have sufficient support in the literature [89,90]. In a limited cohort, continuous infusions had no protective effect on nephrotoxicity or improvement in therapeutic effect [90].

Another limitation of colistin TDM is the issue of its actual target concentration. Although the PK/PD parameter is defined, most of the available data are insufficient to fully confirm the relationship between plasma levels and the efficacy and safety of colistin treatment [86].

#### 4.2. TDM as an Approach to Reduce Colistin Toxicity

The main expected adverse effects of colistin are nephrotoxicity and neurotoxicity. In individual studies involving critically ill patients, the incidence of acute renal failure ranged between 21 and 76% and 20 and 50%, respectively [13,74]. A recent meta-analysis including only randomized trials, in which colistin was administered at a controlled dosage (mainly including a loading dose), showed the incidence of colistin-induced nephrotoxicity in critically ill patients to be 36%, with a relative risk 140% higher compared to β-lactams [91]. Risk factors for toxicity include older age, preexisting renal impairment, hypoalbuminemia, higher disease severity, concomitant therapy with other nephrotoxic drugs (vancomycin, aminoglycosides, furosemide, calcineurin inhibitors) or vasopressors, colistin dosage, and length of therapy [13]. Sorlí et al. reported that trough concentrations ( $c_{MIN}$ ) of colistin

above 3.33 and 2.42 mg/L on day 7 and at the end of therapy, respectively, are risk factors for nephrotoxicity [92]. Shields et al. stated CMS doses higher than 5 mg/kg/day within 7 days of therapy as a risk factor [74]. A dose dependence was also observed for neurotoxicity [75]. The aim is to identify not only clinical but also genetic predictors of nephrotoxicity [93]. However, none of these are currently screened for in clinical practice.

Taking all this together, colistin is a complicated substrate with many obstacles to TDM in routine clinical practice—namely, the availability of an appropriate analytical method, spontaneous degradation of CMS and risk of detecting falsely high colistin concentrations, administration of an inactive prodrug with variable extent and rate of conversion, considerable interindividual variability, product specificity, limited reliability of pharmacokinetic modeling, or the need for multiple sampling, missing clinical confirmation of current PK/PD targets. On the other hand, routine colistin TDM can produce undeniable safety and efficacy benefits and may provide refinement of dosing strategies in specific patient populations [48,68,94–96].

## 5. Discussion

Colistin is returning to therapeutic use nowadays, although it is usually the last choice in treating multidrug-resistant Gram-negative pathogens. The typical target population is critically ill patients. Even after almost 80 years of colistin development and more than 60 years since its marketing authorization, we still have limited data on its stability, safety, and efficacy.

The first contributor to this lack of information is the limited use of colistin in the 1980s and 1990s [5]. Another factor is the predominant use of colistin in the form of an antimicrobial inactive prodrug, which is characterized by heterogeneity of components in the individual products evolving over time [13,63–65], the interindividually different extent and rate of activation to colistin and different pharmacokinetics in general [54–62], but also the presence of spontaneous conversion to colistin *ex vivo*. Thus, the physicochemical properties of CMS and colistin become another source of uncertainty with a limited degree of possible extrapolation in several preclinical and clinical questions, such as the stability of infusion and nebulization solutions under different conditions, the stability of samples for TDM, the MIC determination of pathogens in the microbiology laboratory, analytical methods for quantifying CMS and colistin in a specific matrix, the nature of particles formed during nebulization, and the rate of nebulization [17,18,26,27,32,37,38,40–46,48,49].

Regarding the stability of CMS and colistin in solution or other matrices, we have data for a considerably wide range of concentrations. Unfortunately, these concentrations do not fully reflect those achieved in routine clinical practice, and the transferability of these results is limited, as described above. For example, the concentration of nebulization solutions tested is approximately three times higher than that used in standard practice (1–2 million IU of CMS diluted in 3 mL or 6 mL of saline) [41,42,73]. Although there are studies proposing higher doses of CMS (4 million IU every 8 h (dilution unspecified), 5 million IU every 8 h, i.e., 40 mg/mL CMS in water for injection), the concentration is still well below the tested limit [41,42,77,97]. A similar situation applies to intravenous solutions; available stability data do not adequately reflect the variability in concentrations, infusion container materials, and environmental factors accompanying CMS administration in clinical practice. When testing the stability of these solutions, the potential adsorption of colistin to plastic surfaces must also be taken into account. The protective effect of proteins is entirely absent in these solutions [38].

The determination of MIC becomes a particular issue in the context of the colistin adsorption ability on different surfaces. Colistin interferes mainly with polystyrene, but neither glass nor polypropylene showed zero adsorption at the concentrations used in microbiological testing [38]. Polysorbate-80 reduces adsorption to polystyrene, but EU-CAST does not recommend using surfactants [98]. The second fact is that directly active colistin sulphate is used for microbial testing, whereas CMS is used in clinical practice. Unfortunately, even colistin sulfate is not clearly defined chemically; in other words, it is a

mixture of chemically related substances in different ratios and with various antimicrobial activities [7].

In addition to MIC determination, adsorption can affect the concentration of colistin in samples obtained by bronchoalveolar lavage or microdialysis. This can alter the target value of the PK/PD parameter for colistin and question its validity. Moreover, the progressive evolution of dosing regimens in recent years must also be considered, and currently available pharmacokinetic data need to be correlated to the dosage used (with or without a loading dose), the route of administration, the order of the monitored interval, the characteristics and condition of the patient (including the use of extracorporeal methods), and the type of product used (see Table 2). The omission of a loading dose substantially delays the achievement of therapeutic levels and can be the reason for a suboptimal clinical response [39,57,87]. Future studies, including the pharmacokinetic profile of CMS and colistin and defined clinical markers of efficacy and safety, may clarify and update the target PK/PD parameters and confirm the relationship between colistin plasma levels and the effectiveness and safety of the therapy [86]. The key to this is the implementation of TDM into routine clinical practice, including a validated method suitable for the daily determination of such a specific substrate and taking into account all the above-mentioned limitations.

The aim of this review was to summarize the available data, especially regarding the administration of colistin to critically ill patients and TDM, to highlight the weaknesses of the available literature, and then to define directions for future research on this drug.

## 6. Conclusions

Despite its toxicity, which had temporarily minimized its use, colistin represents a valuable therapeutic alternative, particularly in the context of increasing bacterial resistance worldwide. A way to optimize the benefit–risk ratio is the introduction of TDM into routine clinical practice. However, there are numerous obstacles in this path, which are conditioned by the physicochemical properties of colistin: the administration as an inactive prodrug, substantial interindividual variability, further enhanced effects in critically ill patients. Summary and precise definitions of these barriers allow the design of more practice-relevant research and clinical trials whose results can improve the colistin profile.

## 7. Future Directions

There are several directions for further research on colistin. At a purely preclinical level, one is the verification of the stability of the intravenous solution and solution for nebulization at clinically relevant concentrations and under conditions corresponding to clinical practice (e.g., volume and type of carrier solution, CMS concentration, duration of administration, including continuous infusion). Another issue to test is compatibility with other drugs. Only with this knowledge can the condition of ‘the right dose’ be fulfilled as one of the eight rights of medication administration. The requirement for stability data is more urgent for the intravenous solution than the nebulization solution because of the contradictory guidelines on colistin nebulization, among others. Another area is mapping the current microbiological and susceptibility testing practices and monitoring colistin resistance development.

At the level of pharmacological and clinical-pharmacological research, we need to obtain more pharmacokinetic and clinical-outcome data in critically ill patients receiving colistin at a standardized dosage, including a loading dose. Such well-defined data can help confirm the currently reported PK/PD parameters and design a population model. These models can help us to estimate the plasma concentration–time curve of colistin without extensive sampling and quantify changes induced by extracorporeal methods. Lastly, confirmation or a more precise definition of colistin toxicity predictors would be helpful.

Taking all this together, colistin represents a drug that deserves attention in both preclinical and clinical research.

**Author Contributions:** Conceptualization, K.U. and J.R.; writing—original draft preparation, J.R. and V.K.; writing—review and editing, K.U., J.R. and P.S.; visualization, V.K. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was partly funded by the Ministry of Education, Youth and Sports via the project Large Research Infrastructure CZECRIN (LM2023049), from the European Regional Development Fund—project CZECRIN\_4 PATIENTS (CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_013/0001826), and by a grant Verification of colistin adsorption on the ECMO circuit (DSGC-2021-0179) within the project OP VVV “Improvement of the Doctoral Student Grant Competition Schemes and their Pilot Implementation”, reg.no. CZ.02.2.69/0.0/0.0/19\_073/0016713.

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable.

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** Not applicable.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

- Bialvaei, A.Z.; Samadi Kafil, H. Colistin, Mechanisms and Prevalence of Resistance. *Curr. Med. Res. Opin.* **2015**, *31*, 707–721. [\[CrossRef\]](#)
- Cai, Y.; Lee, W.; Kwa, A.L. Polymyxin B versus Colistin: An Update. *Expert Rev. Anti-Infect. Ther.* **2015**, *13*, 1481–1497. [\[CrossRef\]](#)
- Roberts, K.D.; Azad, M.A.K.; Wang, J.; Horne, A.S.; Thompson, P.E.; Nation, R.L.; Velkov, T.; Li, J. Antimicrobial Activity and Toxicity of the Major Lipopeptide Components of Polymyxin B and Colistin: Last-Line Antibiotics against Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria. *ACS Infect. Dis.* **2015**, *1*, 568–575. [\[CrossRef\]](#)
- Trimble, M.J.; Mlynářčík, P.; Kolář, M.; Hancock, R.E.W. Polymyxin: Alternative Mechanisms of Action and Resistance. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2016**, *6*, a025288. [\[CrossRef\]](#)
- Falagas, M.E.; Michalopoulos, A. Polymyxins: Old Antibiotics Are Back. *Lancet* **2006**, *367*, 633–634. [\[CrossRef\]](#)
- Clancy, C.J.; Potoski, B.A.; Buehrle, D.; Nguyen, M.H. Estimating the Treatment of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Infections in the United States Using Antibiotic Prescription Data. *Open Forum Infect. Dis.* **2019**, *6*, ofz344. [\[CrossRef\]](#)
- Satlin, M.J.; Lewis, J.S.; Weinstein, M.P.; Patel, J.; Humphries, R.M.; Kahlmeter, G.; Giske, C.G.; Turnidge, J. Clinical and Laboratory Standards Institute and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Position Statements on Polymyxin B and Colistin Clinical Breakpoints. *Clin. Infect. Dis.* **2020**, *71*, e523–e529. [\[CrossRef\]](#)
- Landman, D.; Georgescu, C.; Martin, D.A.; Quale, J. Polymyxins Revisited. *Clin. Microbiol. Rev.* **2008**, *21*, 449–465. [\[CrossRef\]](#)
- Lim, L.M.; Ly, N.; Anderson, D.; Yang, J.C.; Macander, L.; Jarkowski, A.; Forrest, A.; Bulitta, J.B.; Tsuji, B.T. Resurgence of Colistin: A Review of Resistance, Toxicity, Pharmacodynamics, and Dosing. *Pharmacotherapy* **2010**, *30*, 1279–1291. [\[CrossRef\]](#)
- Poirol, L.; Jayol, A.; Nordmann, P. Polymyxins: Antibacterial Activity, Susceptibility Testing, and Resistance Mechanisms Encoded by Plasmids or Chromosomes. *Clin. Microbiol. Rev.* **2017**, *30*, 557–596. [\[CrossRef\]](#)
- Tamma, P.D.; Aitken, S.L.; Bonomo, R.A.; Mathers, A.J.; van Duin, D.; Clancy, C.J. Infectious Diseases Society of America Guidance on the Treatment of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase Producing Enterobacterales (ESBL-E), Carbapenem-Resistant Enterobacterales (CRE), and *Pseudomonas Aeruginosa* with Difficult-to-Treat Resistance (DTR-P. *Aeruginosa*). *Clin. Infect. Dis.* **2021**, *72*, e169–e183. [\[CrossRef\]](#)
- Tamma, P.D.; Aitken, S.L.; Bonomo, R.A.; Mathers, A.J.; van Duin, D.; Clancy, C.J. Infectious Diseases Society of America Guidance on the Treatment of AmpC  $\beta$ -Lactamase-Producing Enterobacterales, Carbapenem-Resistant *Acinetobacter Baumannii*, and *Stenotrophomonas Maltophilia* Infections. *Clin. Infect. Dis.* **2022**, *74*, 2089–2114. [\[CrossRef\]](#)
- Tsuji, B.T.; Pogue, J.M.; Zavascki, A.P.; Paul, M.; Daikos, G.L.; Forrest, A.; Giacobbe, D.R.; Viscoli, C.; Giamarellou, H.; Karaiskos, I.; et al. International Consensus Guidelines for the Optimal Use of the Polymyxins: Endorsed by the American College of Clinical Pharmacy (ACCP), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), Infectious Diseases Society of America (IDSA), International Society for Anti-Infective Pharmacology (ISAP), Society of Critical Care Medicine (SCCM), and Society of Infectious Diseases Pharmacists (SIDP). *Pharmacotherapy* **2019**, *39*, 10–39. [\[CrossRef\]](#)
- Bergen, P.J.; Li, J.; Rayner, C.R.; Nation, R.L. Colistin Methanesulfonate Is an Inactive Prodrug of Colistin against *Pseudomonas Aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2006**, *50*, 1953–1958. [\[CrossRef\]](#)
- Ehrentraut, S.F.; Muenster, S.; Kreyer, S.; Theuerkauf, N.U.; Bode, C.; Steinhagen, F.; Ehrentraut, H.; Schewe, J.-C.; Weber, M.; Putensen, C.; et al. Extensive Therapeutic Drug Monitoring of Colistin in Critically Ill Patients Reveals Undetected Risks. *Microorganisms* **2020**, *8*, 415. [\[CrossRef\]](#)
- Andrade, F.F.; Silva, D.; Rodrigues, A.; Pina-Vaz, C. Colistin Update on Its Mechanism of Action and Resistance, Present and Future Challenges. *Microorganisms* **2020**, *8*, 1716. [\[CrossRef\]](#)
- Gobin, P.; Lemaître, F.; Marchand, S.; Couet, W.; Olivier, J.-C. Assay of Colistin and Colistin Methanesulfonate in Plasma and Urine by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2010**, *54*, 1941–1948. [\[CrossRef\]](#)

18. Jansson, B.; Karvanen, M.; Cars, O.; Plachouras, D.; Friberg, L.E. Quantitative Analysis of Colistin A and Colistin B in Plasma and Culture Medium Using a Simple Precipitation Step Followed by LC/MS/MS. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2009**, *49*, 760–767. [CrossRef]
19. Velkov, T.; Thompson, P.E.; Nation, R.L.; Li, J. Structure–Activity Relationships of Polymyxin Antibiotics. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 1898–1916. [CrossRef]
20. Deris, Z.Z.; Akter, J.; Sivanesan, S.; Roberts, K.D.; Thompson, P.E.; Nation, R.L.; Li, J.; Velkov, T. A Secondary Mode of Action of Polymyxins against Gram-Negative Bacteria Involves the Inhibition of NADH-Quinone Oxidoreductase Activity. *J. Antibiot.* **2014**, *67*, 147–151. [CrossRef]
21. Sampson, T.R.; Liu, X.; Schroeder, M.R.; Kraft, C.S.; Burd, E.M.; Weiss, D.S. Rapid Killing of *Acinetobacter Baumannii* by Polymyxins Is Mediated by a Hydroxyl Radical Death Pathway. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2012**, *56*, 5642–5649. [CrossRef]
22. El-Sayed Ahmed, M.A.E.-G.; Zhong, L.-L.; Shen, C.; Yang, Y.; Doi, Y.; Tian, G.-B. Colistin and Its Role in the Era of Antibiotic Resistance: An Extended Review (2000–2019). *Emerg. Microbes Infect.* **2020**, *9*, 868–885. [CrossRef]
23. PubChem Colistin A. Available online: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/24825758> (accessed on 31 December 2022).
24. PubChem Colistin B. Available online: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/25138298> (accessed on 31 December 2022).
25. Grayson, M.L.; Cosgrove, S.; Crowe, S.; Hope, W.; McCarthy, J.; Mills, J.; Mouton, J.W.; Paterson, D. (Eds.) *Kucers' the Use of Antibiotics: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal, Antiparasitic, and Antiviral Drugs*, 7th ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2018; Volume 3, ISBN 978-1-4987-4795-0.
26. Dagla, I.; Karkoula, E.; Baira, E.; Tsaropoulos, A.; Gikas, E. Analytical Methodologies Used for the Determination of Colistin in Biological Fluids. Is It Still a Challenge? *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2019**, *164*, 777–788. [CrossRef]
27. Zabidi, M.S.; Abu Bakar, R.; Musa, N.; Wan Yusuf, W.N. Analytical Methodologies for Measuring Colistin Levels in Pharmacokinetic Studies. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **2020**, *43*, 671–686. [CrossRef]
28. Qi, B.; Gijzen, M.; Van Brantegem, P.; De Vocht, T.; Deferm, N.; Abza, G.B.; Nauwelaerts, N.; Wauters, J.; Spriet, I.; Annaert, P. Quantitative Determination of Colistin A/B and Colistin Methanesulfonate in Biological Samples Using Hydrophilic Interaction Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Drug Test. Anal.* **2020**, *12*, 1183–1195. [CrossRef]
29. Leporati, M.; Bua, R.O.; Mariano, F.; Carignano, P.; Stella, M.; Biancone, L.; Vincenti, M. Determination by LC-MS/MS of Colistins A and B in Plasma and Ultrafiltrate from Critically Ill Patients Undergoing Continuous Venovenous Hemodiafiltration. *Ther. Drug Monit.* **2014**, *36*, 182–191. [CrossRef]
30. Yuan, H.; Yu, S.; Chai, G.; Liu, J.; Zhou, Q.T. An LC-MS/MS Method for Simultaneous Analysis of the Cystic Fibrosis Therapeutic Drugs Colistin, Ivacaftor and Ciprofloxacin. *J. Pharm. Anal.* **2021**, *11*, 732–738. [CrossRef]
31. Peng, C.; Zuo, S.; Qiu, Y.; Fu, S.; Peng, L. Determination of Colistin in Contents Derived from Gastrointestinal Tract of Feeding Treated Piglet and Broiler. *Antibiotics* **2021**, *10*, 422. [CrossRef]
32. Binhashim, N.H.; Alvi, S.N.; Hammami, M.M. LC-MS/MS Method for Determination of Colistin in Human Plasma: Validation and Stability Studies. *IJAMSC* **2021**, *09*, 1–11. [CrossRef]
33. Zhao, M.; Wu, X.-J.; Fan, Y.-X.; Guo, B.-N.; Zhang, J. Development and Validation of a UHPLC-MS/MS Assay for Colistin Methanesulphonate (CMS) and Colistin in Human Plasma and Urine Using Weak-Cation Exchange Solid-Phase Extraction. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2016**, *124*, 303–308. [CrossRef]
34. Cangemi, G.; Barco, S.; Castagnola, E.; Tripodi, G.; Favata, F.; D'Avolio, A. Development and Validation of UHPLC-MS/MS Methods for the Quantification of Colistin in Plasma and Dried Plasma Spots. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2016**, *129*, 551–557. [CrossRef]
35. Bihan, K.; Lu, Q.; Enjalbert, M.; Apparuit, M.; Langeron, O.; Rouby, J.-J.; Funck-Brentano, C.; Zahr, N. Determination of Colistin and Colistimethate Levels in Human Plasma and Urine by High-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Ther. Drug Monit.* **2016**, *38*, 796–803. [CrossRef]
36. Gaugain, M.; Raynaud, A.; Bourcier, S.; Verdon, E.; Hurtaud-Pessel, D. Development of a Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method to Determine Colistin, Bacitracin and Virginiamycin M1 at Cross-Contamination Levels in Animal Feed. *Food Addit. Contam. Part A* **2021**, *38*, 1481–1494. [CrossRef] [PubMed]
37. Mercier, T.; Tissot, F.; Gardiol, C.; Corti, N.; Wehrli, S.; Guidi, M.; Csajka, C.; Buclin, T.; Couet, W.; Marchetti, O.; et al. High-Throughput Hydrophilic Interaction Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry for the Optimized Quantification of the Anti-Gram-Negatives Antibiotic Colistin A/B and Its pro-Drug Colistimethate. *J. Chromatogr. A* **2014**, *1369*, 52–63. [CrossRef] [PubMed]
38. Karvanen, M.; Malmberg, C.; Lagerbäck, P.; Friberg, L.E.; Cars, O. Colistin Is Extensively Lost during Standard In Vitro Experimental Conditions. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2017**, *61*, e00857-17. [CrossRef]
39. Markou, N.; Foustieri, M.; Markantonis, S.L.; Zidianakis, B.; Hroni, D.; Boutzouka, E.; Baltopoulos, G. Colistin Pharmacokinetics in Intensive Care Unit Patients on Continuous Venovenous Haemodiafiltration: An Observational Study. *J. Antimicrob. Chemother.* **2012**, *67*, 2459–2462. [CrossRef]
40. Wallace, S.J.; Li, J.; Nation, R.L.; Prankerd, R.J.; Velkov, T.; Boyd, B.J. Self-Assembly Behavior of Colistin and Its Prodrug Colistin Methanesulfonate: Implications for Solution Stability and Solubilization. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 4836–4840. [CrossRef]
41. Wallace, S.J.; Li, J.; Rayner, C.R.; Coulthard, K.; Nation, R.L. Stability of Colistin Methanesulfonate in Pharmaceutical Products and Solutions for Administration to Patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2008**, *52*, 3047–3051. [CrossRef]

42. Healan, A.M.; Gray, W.; Fuchs, E.J.; Griffiss, J.M.; Salata, R.A.; Blumer, J. Stability of Colistimethate Sodium in Aqueous Solution. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2012**, *56*, 6432–6433. [\[CrossRef\]](#)
43. Abdulla, A.; van Leeuwen, R.W.F.; de Vries Schultink, A.H.M.; Koch, B.C.P. Stability of Colistimethate Sodium in a Disposable Elastomeric Infusion Device. *Int. J. Pharm.* **2015**, *486*, 367–369. [\[CrossRef\]](#)
44. Post, T.E.; Kamerling, I.M.C.; van Rossen, R.C.J.M.; Burggraaf, J.; Stevens, J.; Dijkmans, A.C.; Heijerman, H.G.M.; Touw, D.J.; van Velzen, A.J.; Wilms, E.B. Colistin Methanesulfonate Infusion Solutions Are Stable over Time and Suitable for Home Administration. *Eur. J. Hosp. Pharm.* **2018**, *25*, 337–339. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
45. Dudhani, R.V.; Nation, R.L.; Li, J. Evaluating the Stability of Colistin and Colistin Methanesulphonate in Human Plasma under Different Conditions of Storage. *J. Antimicrob. Chemother.* **2010**, *65*, 1412–1415. [\[CrossRef\]](#)
46. Hanai, Y.; Matsuo, K.; Kosugi, T.; Kusano, A.; Ohashi, H.; Kimura, I.; Hirayama, S.; Nanjo, Y.; Ishii, Y.; Sato, T.; et al. Rapid, Simple, and Clinically Applicable High-Performance Liquid Chromatography Method for Clinical Determination of Plasma Colistin Concentrations. *J. Pharm. Health Care Sci.* **2018**, *4*, 22. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
47. McCoy, K.S. Compounded Colistimethate as Possible Cause of Fatal Acute Respiratory Distress Syndrome. *N. Engl. J. Med.* **2007**, *357*, 2310–2311. [\[CrossRef\]](#)
48. Bode-Böger, S.M.; Schopp, B.; Tröger, U.; Martens-Lobenhoffer, J.; Kalousis, K.; Mailänder, P. Intravenous Colistin in a Patient with Serious Burns and Borderline Syndrome: The Benefits of Therapeutic Drug Monitoring. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2013**, *42*, 357–360. [\[CrossRef\]](#)
49. Bihan, K.; Zahr, N.; Becquemin, M.-H.; Lu, X.; Bertholon, J.-F.; Vezinet, C.; Arbelot, C.; Monsel, A.; Rouby, J.-J.; Langeron, O.; et al. Influence of Diluent Volume of Colistimethate Sodium on Aerosol Characteristics and Pharmacokinetics in Ventilator-Associated Pneumonia Caused by MDR Bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.* **2018**, *73*, 1639–1646. [\[CrossRef\]](#)
50. Dodd, M.E.; Abbott, J.; Maddison, J.; Moorcroft, A.J.; Webb, A.K. Effect of Tonicity of Nebulised Colistin on Chest Tightness and Pulmonary Function in Adults with Cystic Fibrosis. *Thorax* **1997**, *52*, 656–658. [\[CrossRef\]](#)
51. Boisson, M.; Jacobs, M.; Grégoire, N.; Gobin, P.; Marchand, S.; Couet, W.; Mimoz, O. Comparison of Intrapulmonary and Systemic Pharmacokinetics of Colistin Methanesulfonate (CMS) and Colistin after Aerosol Delivery and Intravenous Administration of CMS in Critically Ill Patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2014**, *58*, 7331–7339. [\[CrossRef\]](#)
52. Schoeffel, R.E.; Anderson, S.D.; Altounyan, R.E. Bronchial Hyperreactivity in Response to Inhalation of Ultrasonically Nebulised Solutions of Distilled Water and Saline. *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.)* **1981**, *283*, 1285–1287. [\[CrossRef\]](#)
53. Grégoire, N.; Aranzana-Climent, V.; Magréault, S.; Marchand, S.; Couet, W. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Colistin. *Clin. Pharmacokinet.* **2017**, *56*, 1441–1460. [\[CrossRef\]](#)
54. Kristofferson, A.N.; Rognås, V.; Brill, M.J.E.; Dishon-Benattar, Y.; Durante-Mangoni, E.; Daitch, V.; Skiada, A.; Lellouche, J.; Nutman, A.; Kotsaki, A.; et al. Population Pharmacokinetics of Colistin and the Relation to Survival in Critically Ill Patients Infected with Colistin Susceptible and Carbapenem-Resistant Bacteria. *Clin. Microbiol. Infect.* **2020**, *26*, 1644–1650. [\[CrossRef\]](#)
55. Markou, N.; Markantonis, S.L.; Dimitrakis, E.; Panidis, D.; Boutzouka, E.; Karatzas, S.; Rafailidis, P.; Apostolakis, H.; Baltopoulos, G. Colistin Serum Concentrations after Intravenous Administration in Critically Ill Patients with Serious Multidrug-Resistant, Gram-Negative Bacilli Infections: A Prospective, Open-Label, Uncontrolled Study. *Clin. Ther.* **2008**, *30*, 143–151. [\[CrossRef\]](#)
56. Grégoire, N.; Mimoz, O.; Mégarbane, B.; Comets, E.; Chatelier, D.; Lasocki, S.; Gauzit, R.; Balayn, D.; Gobin, P.; Marchand, S.; et al. New Colistin Population Pharmacokinetic Data in Critically Ill Patients Suggesting an Alternative Loading Dose Rationale. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2014**, *58*, 7324–7330. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
57. Plachouras, D.; Karvanen, M.; Friberg, L.E.; Papadomichelakis, E.; Antoniadou, A.; Tsangaris, I.; Karaikos, I.; Poulakou, G.; Kontopidou, F.; Armaganidis, A.; et al. Population Pharmacokinetic Analysis of Colistin Methanesulfonate and Colistin after Intravenous Administration in Critically Ill Patients with Infections Caused by Gram-Negative Bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *53*, 3430–3436. [\[CrossRef\]](#)
58. Mohamed, A.F.; Karaikos, I.; Plachouras, D.; Karvanen, M.; Pontikis, K.; Jansson, B.; Papadomichelakis, E.; Antoniadou, A.; Giamarellou, H.; Armaganidis, A.; et al. Application of a Loading Dose of Colistin Methanesulfonate in Critically Ill Patients: Population Pharmacokinetics, Protein Binding, and Prediction of Bacterial Kill. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2012**, *56*, 4241–4249. [\[CrossRef\]](#)
59. Karaikos, I.; Friberg, L.E.; Pontikis, K.; Ioannidis, K.; Tsagkari, V.; Galani, L.; Kostakou, E.; Baziaka, F.; Paskalis, C.; Koutsoukou, A.; et al. Colistin Population Pharmacokinetics after Application of a Loading Dose of 9 MU Colistin Methanesulfonate in Critically Ill Patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2015**, *59*, 7240–7248. [\[CrossRef\]](#)
60. Moni, M.; Sudhir, A.S.; Dipu, T.S.; Mohamed, Z.; Prabhu, B.P.; Edathadathil, F.; Balachandran, S.; Singh, S.K.; Prasanna, P.; Menon, V.P.; et al. Clinical Efficacy and Pharmacokinetics of Colistimethate Sodium and Colistin in Critically Ill Patients in an Indian Hospital with High Endemic Rates of Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Infections: A Prospective Observational Study. *Int. J. Infect. Dis.* **2020**, *100*, 497–506. [\[CrossRef\]](#)
61. Couet, W.; Grégoire, N.; Gobin, P.; Saulnier, P.J.; Frasca, D.; Marchand, S.; Mimoz, O. Pharmacokinetics of Colistin and Colistimethate Sodium after a Single 80-Mg Intravenous Dose of CMS in Young Healthy Volunteers. *Clin. Pharmacol. Ther.* **2011**, *89*, 875–879. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
62. Mizuyachi, K.; Hara, K.; Wakamatsu, A.; Nohda, S.; Hiram, T. Safety and Pharmacokinetic Evaluation of Intravenous Colistin Methanesulfonate Sodium in Japanese Healthy Male Subjects. *Curr. Med. Res. Opin.* **2011**, *27*, 2261–2270. [\[CrossRef\]](#)

63. He, H.; Li, J.-C.; Nation, R.L.; Jacob, J.; Chen, G.; Lee, H.J.; Tsuji, B.T.; Thompson, P.E.; Roberts, K.; Velkov, T.; et al. Pharmacokinetics of Four Different Brands of Colistimethate and Formed Colistin in Rats. *J. Antimicrob. Chemother.* **2013**, *68*, 2311–2317. [CrossRef] [PubMed]
64. Feng, J.-Y.; Lee, Y.-T.; Pan, S.-W.; Yang, K.-Y.; Chen, Y.-M.; Yen, D.H.-T.; Li, S.-Y.; Wang, F.-D. Comparison of Colistin-Induced Nephrotoxicity between Two Different Formulations of Colistin in Critically Ill Patients: A Retrospective Cohort Study. *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* **2021**, *10*, 111. [CrossRef] [PubMed]
65. Karauskos, I.; Friberg, L.E.; Galani, L.; Ioannidis, K.; Katsouda, E.; Athanassa, Z.; Paskalis, H.; Giamarellou, H. Challenge for Higher Colistin Dosage in Critically Ill Patients Receiving Continuous Venovenous Haemodiafiltration. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2016**, *48*, 337–341. [CrossRef] [PubMed]
66. Menna, P.; Salvatorelli, E.; Mattei, A.; Cappiello, D.; Minotti, G.; Carassiti, M. Modified Colistin Regimen for Critically Ill Patients with Acute Renal Impairment and Continuous Renal Replacement Therapy. *Chemotherapy* **2018**, *63*, 35–38. [CrossRef]
67. Nation, R.L.; Garonzik, S.M.; Thamlikitkul, V.; Giamarellos-Bourboulis, E.J.; Forrest, A.; Paterson, D.L.; Li, J.; Silveira, F.P. Dosing Guidance for Intravenous Colistin in Critically-Ill Patients. *Clin. Infect. Dis.* **2017**, *64*, 565–571. [CrossRef] [PubMed]
68. Garonzik, S.M.; Li, J.; Thamlikitkul, V.; Paterson, D.L.; Shoham, S.; Jacob, J.; Silveira, F.P.; Forrest, A.; Nation, R.L. Population Pharmacokinetics of Colistin Methanesulfonate and Formed Colistin in Critically Ill Patients from a Multicenter Study Provide Dosing Suggestions for Various Categories of Patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2011**, *55*, 3284–3294. [CrossRef] [PubMed]
69. Leuppi-Taegtmeyer, A.B.; Decosterd, L.; Osthoff, M.; Mueller, N.J.; Buclin, T.; Corti, N. Multicenter Population Pharmacokinetic Study of Colistimethate Sodium and Colistin Dosed as in Normal Renal Function in Patients on Continuous Renal Replacement Therapy. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2019**, *63*, e01957-18. [CrossRef]
70. Suk, P.; Rychlíčková, J. Pharmacokinetics of Colistin during Extracorporeal Membrane Oxygenation. *J. Antimicrob. Chemother.* **2022**, *77*, 2298–2300. [CrossRef] [PubMed]
71. Kim, E.J.; Oh, J.; Lee, K.; Yu, K.-S.; Chung, J.-Y.; Hwang, J.-H.; Nam, E.Y.; Kim, H.S.; Kim, M.; Park, J.S.; et al. Pharmacokinetic Characteristics and Limited Sampling Strategies for Therapeutic Drug Monitoring of Colistin in Patients With Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Infections. *Ther. Drug Monit.* **2019**, *41*, 102–106. [CrossRef] [PubMed]
72. Azad, M.A.K.; Huang, J.X.; Cooper, M.A.; Roberts, K.D.; Thompson, P.E.; Nation, R.L.; Li, J.; Velkov, T. Structure-Activity Relationships for the Binding of Polymyxins with Human  $\alpha$ -1-Acid Glycoprotein. *Biochem. Pharmacol.* **2012**, *84*, 278–291. [CrossRef]
73. COLOMYCIN, 1MIU INJ/INF PLV SOL/SOL NEB 10X1MIU, Státní Ústav pro Kontrolu Léčiv. Available online: <https://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC170146.pdf&type=spc&as=colomycin-spc> (accessed on 9 January 2023).
74. Shields, R.K.; Anand, R.; Clarke, L.G.; Paronish, J.A.; Weirich, M.; Perone, H.; Kieserman, J.; Freedy, H.; Andrzejewski, C.; Bonilla, H. Defining the Incidence and Risk Factors of Colistin-Induced Acute Kidney Injury by KDIGO Criteria. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0173286. [CrossRef]
75. Falagas, M.E.; Kasiakou, S.K. Toxicity of Polymyxins: A Systematic Review of the Evidence from Old and Recent Studies. *Crit. Care* **2006**, *10*, R27. [CrossRef]
76. Lexicomp® Drug Interactions. Available online: <http://uptodate.com/drug-interactions/> (accessed on 13 February 2023).
77. Lu, Q.; Luo, R.; Bodin, L.; Yang, J.; Zahr, N.; Aubry, A.; Golmard, J.-L.; Rouby, J.-J. Nebulized Antibiotics Study Group Efficacy of High-Dose Nebulized Colistin in Ventilator-Associated Pneumonia Caused by Multidrug-Resistant *Pseudomonas Aeruginosa* and *Acinetobacter Baumannii*. *Anesthesiology* **2012**, *117*, 1335–1347. [CrossRef]
78. Athanassa, Z.E.; Markantonis, S.L.; Foustier, M.-Z.F.; Myrianthefs, P.M.; Boutzouka, E.G.; Tsakris, A.; Baltopoulos, G.J. Pharmacokinetics of Inhaled Colistimethate Sodium (CMS) in Mechanically Ventilated Critically Ill Patients. *Intensive Care Med.* **2012**, *38*, 1779–1786. [CrossRef] [PubMed]
79. Kalil, A.C.; Metersky, M.L.; Klompas, M.; Muscedere, J.; Sweeney, D.A.; Palmer, L.B.; Napolitano, L.M.; O'Grady, N.P.; Bartlett, J.G.; Carratalà, J.; et al. Management of Adults with Hospital-Acquired and Ventilator-Associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin. Infect. Dis.* **2016**, *63*, e61–e111. [CrossRef]
80. Rello, J.; Solé-Leonart, C.; Rouby, J.-J.; Chastre, J.; Blot, S.; Poulakou, G.; Luyt, C.-E.; Riera, J.; Palmer, L.B.; Pereira, J.M.; et al. Use of Nebulized Antimicrobials for the Treatment of Respiratory Infections in Invasively Mechanically Ventilated Adults: A Position Paper from the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clin. Microbiol. Infect.* **2017**, *23*, 629–639. [CrossRef]
81. Pormohammad, A.; Mehdinejadiani, K.; Gholizadeh, P.; Nasiri, M.J.; Mohtavinejad, N.; Dadashi, M.; Karimaei, S.; Safari, H.; Azimi, T. Global Prevalence of Colistin Resistance in Clinical Isolates of *Acinetobacter Baumannii*: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Microb. Pathog.* **2020**, *139*, 103887. [CrossRef]
82. Uzairue, L.I.; Rabaan, A.A.; Adewumi, F.A.; Okolie, O.J.; Folorunso, J.B.; Bakhrebah, M.A.; Garout, M.; Alfouzan, W.A.; Halwani, M.A.; Alamri, A.A.; et al. Global Prevalence of Colistin Resistance in *Klebsiella Pneumoniae* from Bloodstream Infection: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Pathogens* **2022**, *11*, 1092. [CrossRef] [PubMed]
83. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial Resistance in the EU/EEA (EARS-Net): Annual Epidemiological Report for 2019. Available online: <https://data.europa.eu/doi/10.2900/10103> (accessed on 14 February 2023).

84. Expert Consensus Protocol on Colistin Resistance Detection and Characterisation for the Survey of Carbapenem- and/or Colistin-Resistant Enterobacteriaceae. Available online: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/expert-consensus-protocol-colistin-resistance-detection-and-characterisation> (accessed on 14 February 2023).
85. MIC and Zone Distributions and ECOFFs. Available online: <https://www.eucast.org/> (accessed on 14 February 2023).
86. Sanabria, J.; Garzón, V.; Pacheco, T.; Avila, M.-P.; Garcia, J.-C.; Jaimes, D.; Torres, A.; Bustos, R.-H.; Escobar-Perez, J.; Abril, D. Estimation of the Difference in Colistin Plasma Levels in Critically Ill Patients with Favorable or Unfavorable Clinical Outcomes. *Pharmaceutics* **2021**, *13*, 1630. [CrossRef] [PubMed]
87. Karvanen, M.; Plachouras, D.; Friberg, L.E.; Paramythiotou, E.; Papadomichelakis, E.; Karaiskos, I.; Tsangaris, I.; Armaganidis, A.; Cars, O.; Giamarellou, H. Colistin Methanesulfonate and Colistin Pharmacokinetics in Critically Ill Patients Receiving Continuous Venovenous Hemodiafiltration. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2013**, *57*, 668–671. [CrossRef]
88. Peng, D.; Zhang, F.; Lv, P.; Chen, Y.; Yang, J.; Zhu, W.; Zhu, S.; Shao, H. Plasma Concentrations of Colistin Sulfate in a Patient with Septic Shock on Extracorporeal Membrane Oxygenation and Continuous Renal Replacement Therapy: A Case Report. *Ann. Transl. Med.* **2022**, *10*, 614. [CrossRef]
89. Michalopoulos, A.; Kasiakou, S.K.; Rosmarakis, E.S.; Falagas, M.E. Cure of Multidrug-Resistant *Acinetobacter Baumannii* Bacteraemia with Continuous Intravenous Infusion of Colistin. *Scand. J. Infect. Dis.* **2005**, *37*, 142–145. [CrossRef] [PubMed]
90. Kassamali, Z.; Curello, J.; Gregson, A. Comparison of Continuous versus Intermittent Intravenous Infusion of Colistimethate Sodium (Colistin) for Treatment of Carbapenem-Resistant Gram-Negative Bacterial Infections. In Proceedings of the 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Amsterdam, Netherlands, 9–12 April 2016.
91. Eljaaly, K.; Bidell, M.R.; Gandhi, R.G.; Alshehri, S.; Enani, M.A.; Al-Jedai, A.; Lee, T.C. Colistin Nephrotoxicity: Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Open Forum Infect. Dis.* **2021**, *8*, ofab026. [CrossRef]
92. Sorlí, L.; Luque, S.; Grau, S.; Berenguer, N.; Segura, C.; Montero, M.M.; Alvarez-Lerma, F.; Knobel, H.; Benito, N.; Horcajada, J.P. Trough Colistin Plasma Level Is an Independent Risk Factor for Nephrotoxicity: A Prospective Observational Cohort Study. *BMC Infect. Dis.* **2013**, *13*, 380. [CrossRef]
93. Eadon, M.T.; Hause, R.J.; Stark, A.L.; Cheng, Y.-H.; Wheeler, H.E.; Burgess, K.S.; Benson, E.A.; Cunningham, P.N.; Bacallao, R.L.; Dagher, P.C.; et al. Genetic Variants Contributing to Colistin Cytotoxicity: Identification of TGIF1 and HOXD10 Using a Population Genomics Approach. *Int. J. Mol. Sci.* **2017**, *18*, 661. [CrossRef] [PubMed]
94. Pacheco, T.; Bustos, R.-H.; González, D.; Garzón, V.; García, J.-C.; Ramírez, D. An Approach to Measuring Colistin Plasma Levels Regarding the Treatment of Multidrug-Resistant Bacterial Infection. *Antibiotics* **2019**, *8*, 100. [CrossRef] [PubMed]
95. Yamada, T.; Ishiguro, N.; Oku, K.; Higuchi, I.; Nakagawa, I.; Noguchi, A.; Yasuda, S.; Fukumoto, T.; Iwasaki, S.; Akizawa, K.; et al. Successful Colistin Treatment of Multidrug-Resistant *Pseudomonas Aeruginosa* Infection Using a Rapid Method for Determination of Colistin in Plasma: Usefulness of Therapeutic Drug Monitoring. *Biol. Pharm. Bull.* **2015**, *38*, 1430–1433. [CrossRef]
96. Tafelski, S.; Wagner, L.; Angermair, S.; Deja, M.; ABx Study Group. Therapeutic Drug Monitoring for Colistin Therapy in Severe Multi-Resistant *Acinetobacter* Intracerebral Abscess: A Single Case Study with High-Dose Colistin and Review of Literature. *SAGE Open Med. Case Rep.* **2017**, *5*, 2050313X17711630. [CrossRef]
97. Abdellatif, S.; Trifi, A.; Daly, F.; Mahjoub, K.; Nasri, R.; Ben Lakhal, S. Efficacy and Toxicity of Aerosolised Colistin in Ventilator-Associated Pneumonia: A Prospective, Randomised Trial. *Ann. Intensive Care* **2016**, *6*, 26. [CrossRef] [PubMed]
98. Matuschek, E.; Åhman, J.; Webster, C.; Kahlmeter, G. Antimicrobial Susceptibility Testing of Colistin—Evaluation of Seven Commercial MIC Products against Standard Broth Microdilution for *Escherichia Coli*, *Klebsiella Pneumoniae*, *Pseudomonas Aeruginosa*, and *Acinetobacter* spp. *Clin. Microbiol. Infect.* **2018**, *24*, 865–870. [CrossRef] [PubMed]

**Disclaimer/Publisher's Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

### 3.3 Stanovení kolistinu A, B a kolistin-methanesulfonátu v lidské plazmě pomocí LC-MS/MS a jejich krátkodobá stabilita v plazmě

Citace:

Kubíčková V, Soukop J, Rychlíčková J. Assay of colistin A, B and colistin methanesulfonate in human plasma by LC-MS/MS and short-term plasma stability. *Klin Farmakol Farm.* 2023;37(3):89–92. doi: 10.36290/far.2023.016.

Komentář:

V České republice prováděla stanovení kolistinu pouze jediná laboratoř – Ústav klinické biochemie a diagnostiky Fakultní nemocnice v Hradci Králové. Metoda ale byla kalibrována pouze pro stanovení kolistinu, nikoli CMS. Ve spolupráci s Ústavem farmakologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci jsme vyvinuli metodu splňující požadavky vyplývající z literární rešerše.

Kolistin je fermentačním produktem, není tudíž jednoznačně chemicky definovaný. Analytická metoda tedy detekuje dvě hlavní složky – kolistin A a kolistin B. CMS je stanovován nepřímo – nejprve je kyselou hydrolýzou konvertován na kolistin, jenž je následně stanoven. Při designování metody bylo třeba předejít zkreslení v důsledku adsorpce analytů na materiály laboratorních pomůcek, preanalytické degradace a matrix efektu při odstraňování bílkovin ze vzorků.

Výsledkem je validovaná metoda kapalinové chromatografie s detekcí tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS) kalibrovaná na detekci kolistinu A a kolistinu B v plazmě v rozmezí 0,15–30 mg/l s délkou analýzy 3 minuty. Metoda byla využita pro ověření krátkodobé stability CMS a kolistinu v klinicky relevantních koncentracích (10 mg/l pro CMS, resp. 2 mg/l, 10 mg/l, 20 mg/l pro kolistin A a kolistin B) v plazmě při tělesné teplotě a při běžné laboratorní teplotě. Data potvrzují časově a koncentračně závislou degradaci a podporují požadavek na co nejrychlejší transport do laboratoře a preanalytické zpracování vzorku. Uvedená data se stala základem pro Laboratorní manuál studie COL-ECMO2022.

Můj podíl na publikaci: podíl na návrhu studie, podíl na přípravě rukopisu, korekce rukopisu.

## Assay of colistin A, B and colistin methanesulfonate in human plasma by LC-MS/MS and short-term plasma stability

Vendula Kubičková<sup>1</sup>, Jan Soukop<sup>1</sup>, Jitka Rychlíčková<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Ústav farmakologie, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci

<sup>2</sup>Farmakologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

<sup>3</sup>International Clinical Research Center, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně

A simple liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) assay for the determination of colistin A and colistin B in human plasma was developed and validated. Plasma extraction was performed using Oasis HLB 1 ml cartridges, analysis was performed using Arion® Polar C18 (250 × 4,6 mm; 5 mm) column at 35 °C. Mobile phases consisted of water containing 0,1% formic acid and methanol containing 0,1% formic acid (40:60, v/v) delivered at a flow rate of 0,8 ml/minute. Eluent was detected in the positive ion mode using electrospray ionization at the following transitions of mass to charge (m/z): colistin A 585,55 → 101,05; colistin B 578,5 → 101,15; and IS 602,4 → 101,1; 120,15; 86,15. Short-term stability tests of colistin and CMS were performed, at room temperature and 37 °C, where the stability of both components decreases with increasing temperature. The presented paper is part of the Pharmacokinetics of Colistin in Critically Ill Patients With Extracorporeal Membrane Oxygenation (COL-ECMO2022) study in which further results will be presented.

**Key words:** colistin, CMS, quantification methods, clinical samples, critically ill.

### Stanovení kolistinu A, B a kolistinu-methanesulfonátu v lidské plazmě pomocí LC-MS/MS a jejich krátkodobá stabilita v plazmě

Byla zavedena a validována jednoduchá metoda s použitím kapalinové chromatografie a tandemové hmotnostní spektrometrie (LC-MS/MS) pro stanovení kolistinu A a kolistinu B v plazmě. Extrakce proteinů z plazmy byla provedena pomocí 1 ml kazet Oasis HLB a chromatografická separace byla provedena na koloně Arion® Polar C18 (250 × 4,6 mm; 5 mm) při 35 °C. Mobilní fáze se skládala z vody obsahující 0,1 % kyseliny mravenčí a methanolu obsahujícího 0,1 % kyseliny mravenčí v poměru 40:60 (v/v), při průtoku 0,8 ml/minutu. Eluent byl detekován v režimu pozitivních iontů pomocí ionizace elektrosprejem s následujícími iontovými přechody m/z: kolistin A 585,55 → 101,05; kolistin B 578,5 → 101,15; a IS 602,4 → 101,1; 120,15; 86,15. Byly provedeny testy krátkodobé stability kolistinu a CMS, a to při pokojové teplotě a 37 °C, kdy se stabilita obou složek se zvyšující se teplotou snižuje. Předložený příspěvek je součástí studie Pharmacokinetics of Colistin in Critically Ill Patients With Extracorporeal Membrane Oxygenation (COL-ECMO2022), v níž budou prezentovány další výsledky.

**Klíčová slova:** kolistin, CMS, kvantifikační metody, klinické vzorky, kriticky nemocní.

### Introduction

Colistin (COL), also known as polymyxin E, is classified as a polypeptide antibiotic produced by *Bacillus polymyxa*. Colistin is usually used as a last-resort antibiotic for

the treatment of multidrug-resistant gram-negative infections (mainly *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*), especially where new antibiotics (ceftazidime/avibactam, meropenem/vabor-

bactam, plasmomycin) are not available or are not preferred (1, 2, 3, 4).

As a product of fermentation, colistin is a mixture of more than thirty components that are not in a constant ratio. Therefore, its

Mgr. Vendula Kubičková

Ústav farmakologie, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci

Vendula.kubickova@upol.cz

Cit. zkr: Klin Farmakol Farm 2023;37(3):89-92

Článek přijat redakcí: 11. 8. 2023

Článek přijat k publikaci: 24. 8. 2023

## PŮVODNÍ PRÁCE

ASSAY OF COLISTIN A, B AND COLISTIN METHANESULFONATE IN HUMAN PLASMA BY LC-MS/MS AND SHORT-TERM PLASMA STABILITY

molecular weight is not precisely determined. The main components of this mixture are colistin A and colistin B, whose molecular weights are 1169,5 and 1155,4, respectively (5, 6). The base of the colistin molecule consists of a decapeptide with seven amino acid residues in a cyclic formation and a fatty acid tail attached to the tripeptide end (4, 7). Due to the toxic side effects, colistin is used as an inactive prodrug, colistin methanesulphonate (CMS). CMS is hydrolyzed spontaneously in an aqueous solution *in vivo* and *in vitro* to a series of partially methanesulfonated derivatives and colistin (1, 8).

To find the most optimal conditions for the determination of CMS and colistin, various methods have been published that differ in sample preparation, analytical conditions, and measured concentrations in patients' plasma samples (8, 9). The method described below is based on already published and established methods, which we have adapted to our instrumental conditions to follow up with a study focusing on the pharmacokinetics of colistin used in critically ill patients. Colistin plasma concentrations in critically ill patients generally range from 0,6–13 mg/L (3).

Several pitfalls can be encountered in the determination of CMS and colistin. One problem is the adsorption of colistin to a range of materials, including plastics and glass in labware. If colistin adsorbs to materials used in sample collection, processing, or storage, its concentrations may be incorrectly evaluated. Another problem is the stability of both substances, CMS and colistin. The hydrolysis of CMS to colistin and colistin stability itself depends on concentration, time, temperature, and the matrix containing the substance (7, 9, 10).

## Experimental

## Chemical and reagents

Colistin sulfate, Colistinmethate Sodium and Polymyxin B sulfate (internal standard, IS) were purchased from Sigma–Aldrich (St. Louis, MO, USA). MS grade water, Formic acid  $\geq 99\%$ , and Sulphuric acid 96% were purchased from VWR (Radnor, PA, USA). MS grade Methanol was purchased from J. T. Baker (Avantor,

Gliwice, Poland), and Sodium hydroxide was obtained from Lach-Ner (Neratovice, Czech Republic).

## Chromatographic conditions

The liquid chromatography was performed using the Prominence LC–20A HPLC system (Shimadzu, Kyoto, Japan), and an analytical column Arion® Polar C18 column (250 × 4,6 mm; 5 mm) purchased from Chromservis (Prague, Czech Republic) and tempered at 35 °C. The detector was a triple quadrupole mass spectrometer LCMS-8045 (Shimadzu, Kyoto, Japan) with electrospray ionization (ESI). The mobile phases consisted of water containing 0,1% formic acid and methanol containing 0,1% formic acid (40:60, v/v). The flow rate was 0,8 ml/minute. Ions were generated using electrospray ionization and detected in the positive ion mode at the following transitions of mass to charge (m/z): colistin A 585,55 → 101,05; colistin B 578,5 → 101,15; and IS 602,4 → 101,1; 120,15; 86,15. The total analysis time was 3 minutes and the LabSolutions software (ver. 5,93; Shimadzu, Kyoto, Japan) was used for instrument control, data acquisition, and processing.

## Sample preparation

## Colistin

The volume of 140 µl of human plasma was treated with 20 µl of a solution containing 0,1 mg/ml of IS. Further preparation of all samples was performed with Oasis HLB 1 ml cartridges with 30 mg of sorbent (Waters, Prague, Czech Republic). The SPE extraction consisted of conditioning of cartridges with 1 mL of methanol, equilibration of cartridges with 1 ml of water containing 0,1 % formic acid, 160 µl of sample loading, washing away of interferences with 1 ml of water containing 0,1 % formic acid, and finally eluting of COL and IS with 0,5 ml of methanol containing 0,1 % formic acid. An amount of 10 µl of the sample obtained from the elution step was injected into HPLC.

## CMS

The volume of 140 µl of human blood plasma was treated with 20 µl of a solution containing 0,1 mg/ml of IS. Acid hydrolysis was

performed by adding 15 µl of 1 M sulfuric acid to a plasma sample containing CMS. After 30 minutes, 30 µl of 1M sodium hydroxide was added to stop hydrolysis. The subsequent sample treatment was the same as for the colistin samples.

## Validation

Calibration curves for colistin and CMS were constructed in the range of 0,15–30 mg/L, where each calibration point of the curve was measured at least six times. All points in the calibration series were used to determine the precision and accuracy of the inter-day (intraday) measurements. Samples at 2, 10, and 30 mg/L were prepared for intraday (inter-day) precision and accuracy measurements. Plasma samples with colistin and CMS concentrations of 0,07; 0,1; 0,15; 0,5; 1; and 2 mg/L were prepared for limit of quantification (LOQ) and limit of detection (LOD) determination.

## Stability of COL and CMS samples testing

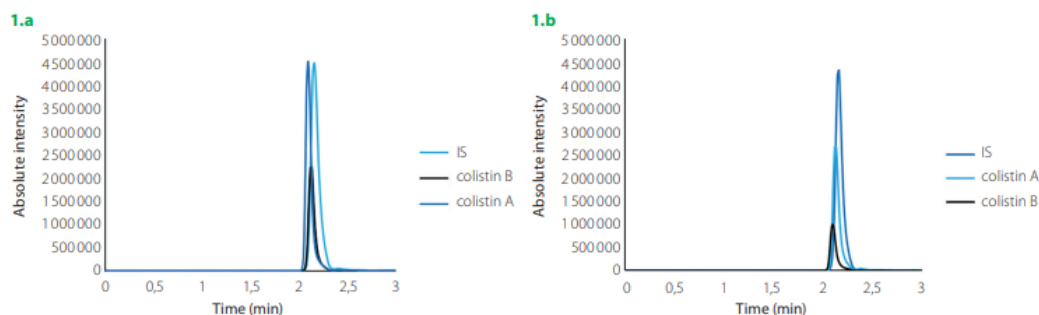
Studies for short-term, long-term, and freeze-thaw stability were also performed on the samples. The validation procedure was derived from the European Medicines Agency (EMA) recommendations. Control plasma samples from three female and three male donors obtained from the Transfusion Department of the Olomouc University Hospital were used for calibration and validation.

## Results and discussion

No pure colistin A and B reference standards were available. Therefore, the pharmaceutical secondary standard of colistin sulfate was used for the method determination. The purity of the standard was determined by the manufacturer (11) to be 91 % by HPLC-UV analysis, which contained 30,46 % colistin A and 53,8 % colistin B.

As shown in Figure 1.a, the retention time of colistin A and B and IS are 2,11; 2,09, and 2,1 minutes, respectively. Calibration curves were constructed in the 0,15–30 mg/L range. Plotting the peak area versus concentration, linear calibration curves were obtained with a confidence value of  $R^2 = 0,9997$  for colistin A and  $R^2 = 0,9989$  for colistin B. In the case of hydrolysed CMS to COL, the confidence value

Fig. 1. Representative chromatograms of calibration point 10 mg/L (1.a) and patient sample (1.b)



of  $R^2 = 0,9995$  for colistin A and  $R^2 = 0,9982$  for colistin B. The results of the inter-day and intraday measurements for method validation are accurate and precise, with an error not exceeding 15 % with the LOQ set at 0,15 mg/L. The validation confirmed the reliability of the LC-MS method for measuring concentrations of colistin in human plasma. Summary information on the analysis parameters is given in Table 1.

The CMS concentration was measured indirectly by acid hydrolysis, for which we found it most useful to use 15  $\mu$ l of 1 M sulfuric acid. After 30 minutes, the hydrolysis was stopped by adding 30  $\mu$ l of 1M sodium hydroxide. As this is an indirect method, it is necessary to back-calculate the CMS concentrations from the difference:

$$CMS = COL_{total} - COL_{before\ hydrolysis}$$

where  $COL_{total}$  is the concentration after hydrolysis of CMS to colistin and  $COL_{before\ hydrolysis}$  is the circulating concentration of colistin formed by endogenous transformation of the prodrug to its active form.

Long-term stability studies of colistin showed no degradation in stock solutions and patient plasma samples stored at  $-70^\circ\text{C}$  for at least 90 days. Also, no degradation was observed in three freeze-thaw cycles (data not shown). The short-term stability of colistin was measured for three concentration points at room temperature (RT) and  $37^\circ\text{C}$  (Table 2). After 24 hours at RT, the degradation of the samples reached almost 10%. However, the degradation of colistin was more significant at  $37^\circ\text{C}$ . Already after 30 minutes, degradation reaching up to 25 % was observed, the average degradation for all samples was 11 %.

Tab. 1. Summary information on the analysis parameters

| Table 1. Summary information on the analysis parameters |                                       |              |
|---------------------------------------------------------|---------------------------------------|--------------|
| Chromatographic conditions                              |                                       |              |
| HPLC:                                                   | Shimadzu, Prominence LC-20A           |              |
| Column:                                                 | Arion® Polar C18 (250 × 4,6 mm; 5 mm) |              |
| Mobile phase A:                                         | 0,1% formic acid in water             | (40:60, v/v) |
| Mobile phase B:                                         | 0,1% formic acid in methanol          |              |
| Flow rate:                                              | 0,8 ml/minute                         |              |
| Column temperature:                                     | 35 °C                                 |              |
| The volume of injection:                                | 10 µl                                 |              |
| Analysis time:                                          | 3 minutes                             |              |
| MS/MS detection                                         |                                       |              |
| Mass spectrometer:                                      | Shimadzu, LCMS-8045                   |              |
| Ionization mode:                                        | ESI positive                          |              |
| Ion transition monitored:                               | Colistin A 585,55 → 101,05            |              |
|                                                         | Colistin B 578,5 → 101,15             |              |
|                                                         | IS 602,4 → 101,1; 120,15; 86,15       |              |
| Validation parameters                                   |                                       |              |
| Calibration curve range (mg/l)                          | 0,15–30                               |              |
| Limit of quantification – LOQ (mg/l)                    | 0,2                                   |              |
| Limit of detection – LOD (µg/l)                         | 4,7                                   |              |
| Recovery (%)                                            | 81                                    |              |

Tab. 2. Stability of colistin A and B (%) at three concentration levels (2; 10; 20 mg/L) in human plasma

|                     | Time   | Colistin A |         |         | Colistin B |         |         |
|---------------------|--------|------------|---------|---------|------------|---------|---------|
|                     |        | 2 mg/L     | 10 mg/L | 20 mg/L | 2 mg/L     | 10 mg/L | 20 mg/L |
| RT                  | 0,5 h  | 99,28      | 101,28  | 100,18  | 107,01     | 105,14  | 103,41  |
|                     | 1 h    | 98,90      | 97,86   | 99,05   | 92,93      | 97,28   | 104,80  |
|                     | 2 h    | 96,92      | 97,66   | 96,08   | 92,15      | 95,31   | 99,89   |
|                     | 5 h    | 93,28      | 92,16   | 95,64   | 92,22      | 94,15   | 96,57   |
|                     | 24 h   | 90,57      | 92,71   | 91,37   | 90,15      | 93,93   | 96,46   |
| 37 $^\circ\text{C}$ | 30 min | 91,65      | 92,76   | 91,21   | 74,96      | 92,76   | 92,17   |

RT – room temperature

Tab. 3. Stability of CMS (%) at 10 mg/L concentration level in human plasma

| Time  | 37 $^\circ\text{C}$ |       | RT $^\circ\text{C}$ |       |
|-------|---------------------|-------|---------------------|-------|
|       | COL A               | COL B | COL A               | COL B |
| 0,5 h | 103,7               | 103,1 | 100,1               | 100,6 |
| 1 h   | 108,0               | 109,2 | 102,0               | 105,6 |
| 2 h   | 114,0               | 116,3 | 108,1               | 110,3 |
| 3 h   | 117,6               | 119,9 | 111,7               | 113,8 |

RT – room temperature

CMS stability in plasma samples at a selected concentration of 10 mg/L was studied at room temperature and  $37^\circ\text{C}$ . As expected, the con-

version of CMS to colistin is more significant at  $37^\circ\text{C}$  than at RT. At elevated temperatures, we observe the conversion of CMS into its colistin

## PŮVODNÍ PRÁCE

ASSAY OF COLISTIN A, B AND COLISTIN METHANESULFONATE IN HUMAN PLASMA BY LC-MS/MS AND SHORT-TERM PLASMA STABILITY

components after 30 min. After 3 hours, the average conversion of CMS is about 13% at RT and 19% at 37 °C (Table 3). The stability of CMS in a matrix other than plasma was not tested. However, as there is evidence of lower stability of CMS in aqueous solutions or infusion solutions, this stability needs to be studied more closely before further measurement (7, 12).

This analytical method for determining both COL and CMS in plasma samples is applied in the ongoing phase IV clinical trial „Pharmacokinetics of Colistin in Critically Ill Patients With Extracorporeal Membrane Oxygenation (COL-ECMO2022)” (EudraCT

Number 2022-000291-19; NCT05542446) (13, 14). This study is designed to assess the influence of extracorporeal membrane oxygenation on the pharmacokinetics of colistin and CMS.

## Conclusion

A rapid method for measuring colistin in human plasma has been introduced and validated. The described method is sensitive and selective for the analysis of colistin in plasma and it was applied to the measurement of patient samples. The presented paper is part of the Pharmacokinetics of Colistin in Critically Ill Patients With Extracorporeal

Membrane Oxygenation (COL-ECMO2022) study in which further results will be presented. The study has been approved by the Ethics Committee of St. Anne's University Hospital Brno (Number 10ML/2022-AM). EudraCT Number of the study is 2022-000291-19, registered on June 21, 2022. The study was registered at the Clinical Trials register <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05542446> on September 15, 2022.

*Podpořeno ze státního rozpočtu  
prostřednictvím MŠMT projektem VVI CZECRIN  
(LM2023049) a IGA\_LF\_2023\_004.*

## REFERENCES

1. Rychlíčková J, Kubičková V. Fyzikálně-chemické vlastnosti kolistinu a jejich dopady do klinické praxe. *Klin Farmakol Farm.* 2022;36(1):29-33.
2. Qi B, Gijssen M, Van Brantegem P, et al. Quantitative determination of colistin A/B and colistin methanesulfonate in biological samples using hydrophilic interaction chromatography tandem mass spectrometry. *Drug Test Anal.* 2020;12(8):1183-1195.
3. Rychlíčková J, Kubičková V. Farmakologické vlastnosti kolistinu. *Klin Mikrobiol Inf Léč.* 2022;28(2):59-64.
4. Gilas E, Bazoti FN, Katsimardou M, et al. Determination of colistin A and colistin B in human plasma by UPLC-ESI high resolution tandem MS: Application to a pharmacokinetic study. *J Pharm Biomed Anal.* 2013;83:228-236.
5. Mercier T, Tissot F, Gardiol C, et al. High-throughput hydrophilic interaction chromatography coupled to tandem mass spectrometry for the optimized quantification of the anti-Gram-negatives antibiotic colistin A/B and its pro-drug colistimethate. *J Chromatogr A.* 2014;1369:52-63.
6. Gobin P, Lemaître F, Marchand S, Couet W, et al. Assay of Colistin and Colistin Methanesulfonate in Plasma and Urine by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(5):1941-1948.
7. Jansson B, Karvanen M, Cars O, et al. Quantitative analysis of colistin A and colistin B in plasma and culture medium using a simple precipitation step followed by LC/MS/MS. *J Pharm Biomed Anal.* 2009;49(3):760-767.
8. Zabidi MS, Abu Bakar R, Musa N, et al. Analytical methodologies for measuring colistin levels in pharmacokinetic studies. *J Liq Chromatogr. Relat. Technol.* 2020;43(15-16):671-686.
9. Dagla I, Karkoula E, Baira E, et al. Analytical methodologies used for the determination of colistin in biological fluids. Is it still a challenge? *J Pharm Biomed Anal.* 2019;164:777-788.
10. Karvanen M, Malmberg C, Lagerbäck P, et al. Colistin Is Extensively Lost during Standard In Vitro Experimental Conditions. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(11):e00857-17.
11. Certificate of Analysis – Colistin sulfate (version LRAC9149.02). Merck (Sigma-Aldrich) [online]. [cit. 19-07-2023]. <https://www.sigmaaldrich.com/CZ/en/product/sial/phr1605>.
12. Mercier T, Tissot F, Gardiol C, et al. High-throughput hydrophilic interaction chromatography coupled to tandem mass spectrometry for the optimized quantification of the anti-Gram-negatives antibiotic colistin A/B and its prodrug colistimethate. *J Chromatogr A.* 2014;1369:52-63.
13. Pharmacokinetics of Colistin in Critically Ill Patients With Extracorporeal Membrane Oxygenation (COL-ECMO2022). *ClinicalTrials.gov* identifier: NCT05542446. Updated 28.12.2022 [online]. [cit. 19.7.2023]. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05542446>.
14. Suk P, Rychlíčková J, Součková L, et al. Changes of colistin pharmacokinetics in critically ill patients due to the extracorporeal membrane oxygenation: protocol for the COL-ECMO2022 trial – a prospective, non-randomised, open-label phase IV pharmacokinetic clinical trial. *BMJ Open.* 2023;13(7):e071649.

### 3.4 Změny farmakokinetiky kolistinu u kriticky nemocných vlivem extrakorporální membránové oxygenace: protokol studie COL-ECMO2022 – prospektivní, nerandomizované, otevřené farmakokinetické studie fáze IV

Citace:

Suk P, Rychlíčková J, Součková L, Kubíčková V, Urbánek K. Changes of colistin pharmacokinetics in critically ill patients due to the extracorporeal membrane oxygenation: protocol for the COL-ECMO2022 trial – a prospective, non-randomised, open-label phase IV pharmacokinetic clinical trial. *BMJ Open*. 2023 Jul 30;13(7):e071649.

Komentář:

Studie COL-ECMO2022 je investigátorem iniciovaná klinická studie, jejímž zadavatelem je Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně. Studii COL-ECMO2022 jsem vedla jako projektová manažerka na straně zadavatele a připravovala jsem všechny doprovodné dokumenty předkládané v rámci schvalovacího procesu studie regulačním autoritám, dokumenty nutné pro zahájení a vedení studie (Trial Master File, Investigator Site File). Na studii jsem se tak podílela jak z odborného hlediska, spolupodílela jsem se na jejím návrhu a designu, přípravě protokolu, tak jsem zajišťovala i její každodenní management.

Studie je designovaná jako prospektivní, nerandomizovaná, otevřená a jejím cílem je zhodnotit vliv ECMO na farmakokinetiku CMS a kolistinu u kriticky nemocných pacientů. Studie byla designována jako monocentrická. Byla schválena Etickou komisí Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně a Státním ústavem pro kontrolu léčiv, registrována pod EudraCT číslem 2022-000291-19 (povinně) a v Clinical Trials Register pod kódem NCT05542446 (nepovinně). Studie byla prováděna v souladu s Helsinskou deklarací.

Od všech účastníků klinického hodnocení byl získán informovaný souhlas. Účastníci, kteří nebyli schopni udělit informovaný souhlas, byli do studie zařazeni po zhodnocení zkoušejícím studie. Etická komise Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně byla o tomto kroku neprodleně informována. Od účastníka byl získán následný informovaný souhlas, jakmile došlo k obnově kvalitního vědomí. Tento postup byl jako jediný z navrhovaných akceptován oběma regulačními autoritami.

Pro studii byla zvolena pragmatická strategie vzorkování – během jednoho monitorovaného intervalu byly odebrány maximálně čtyři vzorky krve v přesně definovaných intervalech. Celkově byly monitorovány maximálně tři dávkovací intervaly.

Cílem bylo ze získaných koncentrací vypočítat základní farmakokinetické parametry CMS a kolistinu v populaci kriticky nemocných, a to ve skupině s podporou ECMO a bez ní. Tyto parametry pak porovnat ke zhodnocení vlivu ECMO na farmakokinetiku kolistinu. Bylo stanoveno, že rozdíl větší než 25 % bude považován za klinicky významný. Na základě individuálních hodnot bylo v plánu konstruovat populační

farmakokinetický model se zahrnutím podpory ECMO, clearance kreatininu, RRT, celkové a adjustované tělesné hmotnosti a věku jako kovariát.

Můj podíl na publikaci: podíl na návrhu studie a jejího designu, příprava dokumentace pro schválení regulačními autoritami a provedení studie, podíl na přípravě rukopisu, korekce rukopisu.

## Open access

## Protocol

# BMJ Open Changes of colistin pharmacokinetics in critically ill patients due to the extracorporeal membrane oxygenation: protocol for the COL-ECMO2022 trial – a prospective, non-randomised, open-label phase IV pharmacokinetic clinical trial

Pavel Suk,<sup>1,2</sup> Jitka Rychlíčková ,<sup>1,3</sup> Lenka Součková,<sup>3,4</sup> Vendula Kubíčková,<sup>5</sup> Karel Urbánek<sup>5</sup>

**To cite:** Suk P, Rychlíčková J, Součková L, et al. Changes of colistin pharmacokinetics in critically ill patients due to the extracorporeal membrane oxygenation: protocol for the COL-ECMO2022 trial – a prospective, non-randomised, open-label phase IV pharmacokinetic clinical trial. *BMJ Open* 2023;13:e071649. doi:10.1136/bmjopen-2023-071649

► Prepublication history and additional supplemental material for this paper are available online. To view these files, please visit the journal online (<http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2023-071649>).

Received 07 January 2023  
Accepted 25 June 2023



© Author(s) (or their employer(s)) 2023. Re-use permitted under CC BY-NC. No commercial re-use. See rights and permissions. Published by BMJ.

For numbered affiliations see end of article.

**Correspondence to**  
Dr Jitka Rychlíčková;  
[rychlickova@med.muni.cz](mailto:rychlickova@med.muni.cz)

## ABSTRACT

**Introduction** Colistin is a lipopeptide antibiotic administered as an inactive prodrug—colistin methanesulfonate (CMS). Colistin is a drug with a narrow therapeutic window; the limiting factors are mainly nephrotoxicity and neurotoxicity, dependent on plasma concentrations. The number of patients with infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria sensitive only to colistin and the number of patients requiring extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) support for severe respiratory failure increased significantly in association with COVID-19-induced infections. ECMO can generally affect the pharmacokinetics of drugs by creating a new compartment.

**Methods and analysis** The COL-ECMO2022 study is a prospective, non-randomised, single-centre, phase IV pharmacokinetic clinical trial designed to assess the influence of ECMO on the pharmacokinetics of colistin and CMS. Up to 30 patients treated with colistin will be included in the study and assigned to one of two arms, depending on the presence/absence of ECMO. All study participants will receive standard CMS dose intravenously. The plasma concentrations of colistin and CMS taken at defined intervals will be assessed by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. Patients will participate in the clinical trial for a maximum of three monitored dosing intervals. A population pharmacokinetic model will be developed to assess the influence of ECMO on pharmacokinetics. A difference greater than 25% is considered clinically significant.

**Ethics and dissemination** The study has been approved by the Ethics Committee of St. Anne's University Hospital Brno (Number 10ML/2022-AM). Related manuscripts will be submitted to peer-review journals.

**Trial registration numbers** EudraCT Number 2022-000291-19; NCT0542446.

## STRENGTHS AND LIMITATIONS OF THIS STUDY

- ⇒ COL-ECMO2022 is a prospective, non-randomised, open-label phase IV pharmacokinetic study.
- ⇒ Only critically ill patients with and without extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) will be recruited to provide information on this population, for which data on colistin pharmacokinetics is limited.
- ⇒ A maximum of three monitored dosing intervals are set for each subject to monitor trends in plasma concentrations over a more extended period of time and to limit the burden on subjects.
- ⇒ The primary outcome is to assess the impact of ECMO on colistin pharmacokinetics.
- ⇒ A limited sampling strategy of four samples per interval is a limitation of this study.

## INTRODUCTION

The number of patients requiring extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) for severe respiratory failure increased significantly during the COVID-19 pandemic. Most of these patients require long-term intensive care with the need for repeated antibiotic treatment. These factors lead to a higher frequency of infections with multidrug-resistant Gram-negative bacteria sensitive only to colistin.

ECMO circuits generally represent an additional pharmacokinetic compartment that increases the volume of distribution of drugs and may also affect their clearance by adsorption of the drug on the circuit surface.<sup>1</sup> This phenomenon is determined by the lipophilicity of the drug and its binding to plasma proteins, but the material of the

BMJ Open: first published as 10.1136/bmjopen-2023-071649 on 30 July 2023. Downloaded from <http://bmjopen.bmj.com/> on January 27, 2025 by guest. Protected by copyright, including for uses related to text and data mining, AI training, and similar technologies.

## Open access



ECMO circuit components or their surface modification also have an influence.

Based on their chemical characteristics, the adsorption of colistin, or its prodrug, to the surface of the ECMO circuit seems unlikely. There are very limited data on the actual effect of ECMO on colistin pharmacokinetics.<sup>2–3</sup> Nevertheless, colistin adsorption on polysulfone dialysis membranes has been previously published.<sup>4</sup>

Colistin is a lipopeptide antibiotic administered as an inactive prodrug—colistin methanesulfonate (CMS). Bioactivation of the prodrug is non-enzymatic by hydrolysis. Colistin is an antimicrobial agent with a concentration-dependent and time-dependent effect, where the target pharmacokinetic-pharmacodynamic parameter is the area under the plasma concentration curve (AUC). The target 24-hour steady-state AUC ( $AUC_{SS,24h}$ ) is approximately 50 mg×hour/L, which corresponds to a steady-state mean plasma concentration of approximately ( $C_{avg,ss}$ ) 2 mg/L.<sup>5</sup> Colistin is a drug with a narrow therapeutic window. The limiting factors are mainly nephrotoxicity and neurotoxicity, both dependent on plasma concentrations. Sorlí *et al* reported that the minimum plasma concentration ( $c_{min}$ ) of 2.42 mg/L at the end of therapy, respectively, 3.33 mg/L on day 7 of colistin therapy is predictive for the development of acute renal failure.<sup>6</sup>

The estimation of the colistin AUC is complicated by several factors. The first is the rate of bioactivation of the prodrug, which can vary interindividually, between products of various manufacturers, or even in batches of one manufacturer.<sup>7</sup> The second is the variability in the time to maximum plasma concentration ( $T_{max}$ ) of colistin, which depends not only on the rate of conversion of CMS to colistin but also on the rate of elimination of CMS. Clearance of CMS is dependent on creatinine clearance. When creatinine clearance decreases, more CMS is converted to colistin. The excretion of colistin is not fully described; however, significant tubular resorption was reported. The pharmacokinetics of colistin in critically ill patients have been described in detail in several studies.<sup>4,8–14</sup>

Because of the considerable heterogeneity of the pharmacokinetic parameters of colistin and the lack of a reliable population kinetic model, it is appropriate to use multiple samplings during a single dosing interval to calculate the AUC. This, together with the determination of the plasma concentration of the prodrug at the corresponding times, will give a better idea of the plasma concentration profile of both substances and improve the estimation of the colistin AUC. By comparing the achieved plasma concentrations of colistin and CMS in patients with and without ECMO, we can then estimate the presence and quantify the extent of adsorption of both agents to the ECMO circuit material or other processes induced by the ECMO circuit.

## STUDY OBJECTIVES

The objective of this phase IV pharmacokinetic trial is to assess the influence of ECMO on the pharmacokinetics of colistin and CMS in critically ill adults and to propose dosing guidance.

## METHODS

## Trial design

The COL-ECMO2022 is an investigator-initiated trial. The COL-ECMO2022 clinical trial is a prospective, non-randomised, open-label, single-centre, phase IV pharmacokinetic clinical trial that has been started in September 2022. The COL-ECMO2022 study plans to include 30 participants with or without ECMO support receiving CMS as part of the standard medical care. The indication, dosage and duration of colistin administration are, therefore, entirely within the discretion of the attending physician. These study participants will be consecutively assigned to two groups until the planned number of participants: ECMO and non-ECMO, in a 1:1 ratio depending on their actual need for ECMO support. Both groups are treated by intravenous CMS at standard, approved dosing. The influence of ECMO on CMS and colistin pharmacokinetics will be assessed by comparing the pharmacokinetic endpoints of the study. Study subjects will participate in the clinical trial for up to three monitored CMS dosing intervals

## Study setting

The principal investigator and St. Anne's University Hospital Brno, the coordinating and only recruiting centre for the study, are responsible for the education and training of research staff, tracking participants' enrolment, mathematical analysis, monitoring, pharmacovigilance, data management and reporting of the study.

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University in Olomouc, is responsible for a qualitative and quantitative analysis of colistin and CMS in blood samples by liquid chromatography and mass spectrometry (LC-MS) determination.

Creatinine clearance from urine collection reflecting the observed interval(s) after colistin administration will be determined by the Department of Clinical Biochemistry, St. Anne's University Hospital Brno.

## Study population

## Inclusion criteria

All consecutive patients will be included in the clinical trial if they meet all of the following criteria:

1. Age ≥18 years.
2. Men and women (with a negative pregnancy test prior to study enrolment in women of childbearing potential).
3. Hospitalised at the Department of Anaesthesiology and Intensive Care, St. Anne's University Hospital Brno.
4. Indication for parenteral colistin (administered as CMS) as a part of standard medical care, that is, in patients with severe bacterial infection.



5. Informed consent was given. In unconscious patients, the study investigator will decide whether to include the patient in the study considering all individual risks.

#### Additional inclusion criterion

For some patients (15 participants expected), in addition to all the criteria listed in the Inclusion criteria section, the following inclusion criterion is provided:

1. ECMO support is needed as part of standard therapy for severe respiratory failure.

#### Exclusion criteria

A patient must not be included in the clinical trial if he/she meets any of the following criteria:

1. Pregnancy.
2. Breast feeding.
3. Refusal to give informed consent (primarily or after regaining consciousness).

#### Who will take informed consent?

The study protocol, including the informed consent, was reviewed and approved by the Institutional Review Board of the site (Ethics Committee of St. Anne's University Hospital Brno) and by the National Regulatory Authority (NRA) (The State Institute of Drug Control). A trained study investigator describes the study to patients. Patients will receive written information about the study as well (see online data supplemental 1). The investigator will discuss with patients the design and characteristics of the study, potential benefits, and risks based on the written information provided to the participant. The investigator obtains written informed consent from patients willing to participate in the trial. If a patient is unable to give informed consent due to his/her medical condition (eg, unconsciousness), his/her ability to participate in the study will be assessed by the investigator. In this case, the Ethics Committee of St. Anne's University Hospital Brno will be informed of the patient's inclusion. The investigator will ask study participants in whom good quality consciousness is restored to give subsequent informed consent without unreasonable delay.

#### Sample size

We plan to include 15 study participants in each group (ECMO and non-ECMO).

The sample size is difficult to calculate due to the significant variation of pharmacokinetic parameters among published studies, the unknown effect of ECMO on pharmacokinetics, and unknown interindividual variability.

If, at the time of completion of the planned recruitment, a large number of patients has been monitored for only one interval or there is a high frequency of deviations from the sampling protocol, or sample loss/damage is detected, the plan is to increase the sample size or even extend the overall study duration. On the other hand, colistin is a reserve and relatively toxic antibiotic. Therefore, there is only a limited number of suitable patients.

#### Interventions

The commencement of colistin therapy is the responsibility of an attending physician. Colistin will be given as CMS intravenously via the central venous catheter at the approved dosage: a loading dose of 9 million international units (MIU) over 30 min followed by a maintenance dose of 4.5 MIU over 30 min every 12 hours. There is a protocol for dose reduction in patients with impaired renal function, including patients treated with intermittent haemodialysis. The dosing interval is reduced to 8 hours, and the loading dose is increased to 12 MIU in patients requiring continuous renal replacement therapy (CRRT). The dosage strictly follows the local guideline proposed on the international guidelines.<sup>5,15</sup> The protocol for colistin dosage applicable at the study site is in online data supplemental 2: Colistin dosage local protocol.

The diagram presenting the course of the study is depicted in figure 1.

#### Visit 1: screening: patient selection phase

Patients meeting the inclusion criteria will be screened if not meeting any of the exclusion criteria. A urine pregnancy test will be performed on women of childbearing potential. The patient will be offered participation in the clinical trial and interviewed by the investigator, who clearly explains the purpose, design, benefits and risks of the trial. If the patient agrees to participate in the clinical trial, he/she will give informed consent. After signing the informed consent form, the patients will be recruited for this study and distributed to ECMO or non-ECMO groups according to their actual need for ECMO support. For patients unable to give informed consent, an interim informed consent will be signed by the investigator.

#### Visit 2 (visits 3 and 4 if colistin therapy continues): pharmacokinetics (blood samples collection)

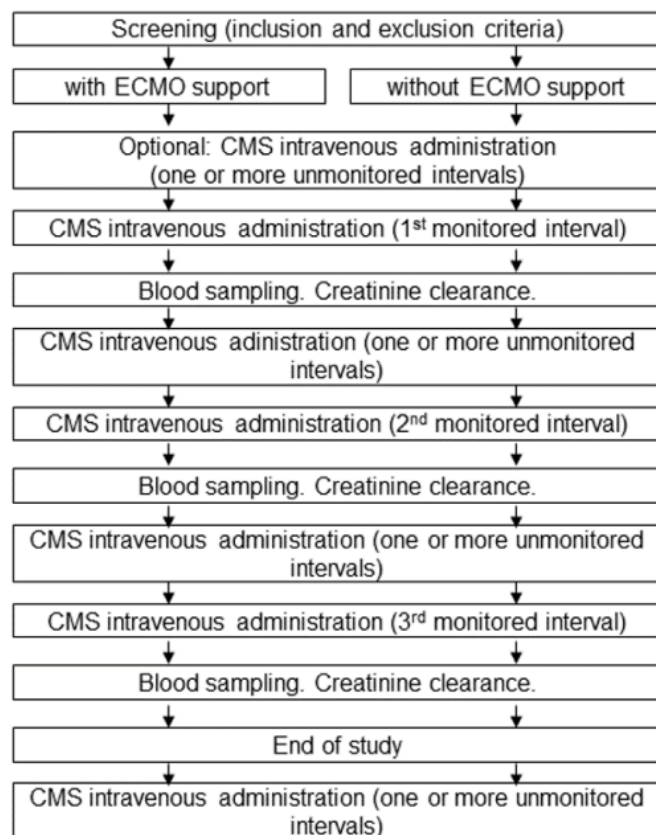
A total of four (three in case of CRRT) blood samples will be taken during each monitored dosing interval. Based on the blood sample volume of 5 mL, up to 20 mL of blood will be drawn from the patient per monitored dosing interval. The timing of blood samples is summarised in figure 2.

Blood samples will be taken from the arterial catheter, routinely placed in critically ill patients in intensive care unit. This will minimise blood loss and requires no further interference with the physical integrity of enrolled patients. The sample timing is precisely defined according to the start of the CMS infusion. A 12-hour urine collection will be performed during the monitored dosing interval to determine the creatinine clearance.

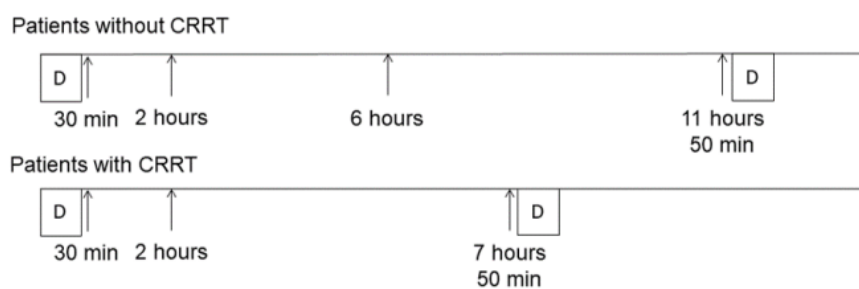
Blood samples will be preanalytically processed (centrifugation, freezing and storing separated plasma at  $-80^{\circ}\text{C}$ ).

The last blood sample collection in the third monitored interval is the last intervention in the study for an individual patient and is the time of termination of the patient's participation in the clinical trial. This last intervention corresponds with blood sampling at 7 hours and 50 min after starting CMS infusion in CRRT patients and

## Open access



**Figure 1** Trial schema for COL-ECMO2022 study. CMS, colistin methanesulfonate; ECMO, extracorporeal membrane oxygenation.



**Figure 2** Blood sampling schedule for COL-ECMO2022 study. Arrows indicate blood sampling time points. CRRT, continuous renal replacement therapy; D, administration of CMS dose as a 30 min intravenous infusion.

**Table 1** Participant timeline for COL-ECMO2022 study

|                                                         | Visit 1   | Visit 2                  | Visit 3*                  | Visit 4*                 |
|---------------------------------------------------------|-----------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
|                                                         | Screening | First monitored interval | Second monitored interval | Third monitored interval |
| Inclusion/exclusion criteria                            | X         |                          |                           |                          |
| Urine pregnancy test in women of childbearing potential | X         |                          |                           |                          |
| Informed consent                                        | X         |                          |                           |                          |
| CMS intravenous administration over 30 min              |           | X                        | X                         | X                        |
| Pharmacokinetic blood samples                           |           | X                        | X                         | X                        |
| 12-hour urine collection for creatinine clearance†      |           | X                        | X                         | X                        |

\*Only if CMS therapy continues (optional visit), maximum of three dosing intervals per subject.

†Only in a patient with urine output of more than 500 mL per day.  
CMS, colistin methanesulfonate.

at 11 hours and 50 min after starting CMS infusion in patients without CRRT. CMS therapy can continue.

#### Participant timeline

The enrolment, intervention and visits schedule is summarised in table 1. The duration of the study participation for each subject is a maximum of three monitored dosing intervals.

#### Criteria for discontinuing or modifying allocated interventions

The trial participant has the right to terminate participation in this clinical trial at any time, for any reason or without stating it.

The investigator must:

- ▶ Instruct the participant on the right to early termination of participation.
- ▶ Inform him/her that the termination of participation would not affect the physician's approach, the method of further treatment or its quality.
- ▶ Ask him/her to discuss this decision with the investigator in advance.
- ▶ State in the records the date of early termination of the patient's participation and the reason, if known.

Other reasons for the early termination of the subject's participation include:

- ▶ The investigator's decision that further patient involvement is not in the patient's best interests.
- ▶ Pregnancy of a patient participating in the clinical trial.
- ▶ Termination of the study by a decision of the sponsor or the regulatory authority.
- ▶ Discontinuation of colistin therapy at the discretion of the attending physician before completion of the third monitored dosing interval.

#### Outcomes

Since the efficacy of colistin is dependent on the AUC, colistin average steady-state concentration ( $C_{ss, avg}$ ) is the main objective. A difference between ECMO and non-ECMO patients larger than 25% is considered clinically significant. The toxicity correlates with colistin minimum plasma concentration. The endpoints are the following

pharmacokinetic parameters:  $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $C_{trough}$ , AUC,  $V_d$ , clearance and intercompartment clearance of CMS and colistin.

#### Patient and public involvement

None.

#### Data collection and management

##### Plans for assessment and collection of outcomes

The study will collect demographic and baseline characteristics from medical records and electronic medical records, including age, gender, ECMO support and baseline characteristics such as body weight, body height. Concomitant inhalation CMS and laboratory results will be documented in the paper medical records and entered by the trial investigator in the paper case report form (CRF).

##### Data management

The study data will be collected from medical records and manually entered into the paper CRF. The study team members will have access to the patients' medical records. The investigators will be responsible for screening patients, obtaining informed consent, collecting study data and entering it into the CRF. Once recruitment is complete and the last intervention in the study is performed, pseudonymised data from the paper CRFs will be digitised into an Excel worksheet and formatted for use in pharmacokinetic software. Data will be digitally submitted for statistical processing as well. The statistician will analyse the study data in cooperation with the principal investigator. The data will be stored for 15 years after the completion of the study and then destroyed. To promote data quality, the CRFs of each participant will be reviewed by another member of the study team as a monitor.

##### Confidentiality

All study-related information will be stored securely at the study site. All participant information will be stored in locked file cabinets in areas with limited access. Forms, lists, logbooks, appointment books and any other listings

## Open access



that link participant ID numbers to add identifying information will be stored in a separate locked file in an area with limited access.

## STATISTICAL METHODS

A population pharmacokinetic model will be developed based on measured plasma levels of CMS and colistin. A non-linear mixed-effects model will be used for the calculation of population pharmacokinetic parameters. To improve the model fit, the following variables will be evaluated as covariates: ECMO therapy, creatinine clearance, renal replacement therapy, actual or adjusted body weight, and age. A difference of at least 25% between the ECMO and non-ECMO groups will be considered clinically significant.

The Shapiro-Wilk test will be used to evaluate the normal distribution. Student's t-test or Mann-Whitney U test will be used for comparisons as appropriate. Data will be presented as means±SD or median (IQR); p values <0.05 will be considered statistically significant. Statistica software V.14.0 (TIBCO Software, U.S.A.) will be used for statistical analysis.

## ETHICS AND DISSEMINATION

This protocol and the template informed consent form were reviewed and approved by the Ethical Committee of the University Hospital St. Anne's Brno (Number 10ML/2022-AM on 13 July 2022) with respect to the scientific content and compliance with applicable research and human subject regulations. Any new protocol modifications will be sent for review by the ethics committee and will be amended at the clinical trial registry. Informed consent will be obtained from all participants prior to enrolment in the study. In unconscious patients, the study investigator will decide whether to include the patient in the study after considering all individual risks. In this case, the Ethics Committee of St. Anne's University Hospital Brno will be informed of the patient's inclusion. The investigator will ask study participants in whom good quality consciousness is restored to give subsequent informed consent without unreasonable delay.

We intend to submit the results of the study to be published in a peer-reviewed international medical journal and disseminate them to academic and healthcare professionals via presentations at conferences.

EudraCT Number of the study is 2022-000291-19 registered on 21 June 2022. Study registered at the Clinical Trials register <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT0542446> on 15 September 2022.

## DISCUSSION

The COL-ECMO2022 trial is, as far as we know, the first of its kind. Its results will provide new pharmacokinetic data and a population pharmacokinetic model for critically ill patients and refine colistin dosage in patients on ECMO.

However, several non-standard approaches in the methodology deserve more detailed justification. The first is the definition of inclusion criteria. It is not usual for inclusion criteria to be the logical opposite of exclusion criteria and vice versa. In this protocol, pregnancy fulfils this condition and the reason for the wording is a requirement of the NRA and national legislation. According to current national legislation, pregnant women can only be enrolled in clinical trials of a therapeutic or preventive nature directly aimed at the pregnancy or the unborn fetus. This is also why pregnancy has been established as an exclusion criterion despite being a standard-of-care trial. The second relevant reason is that it is a pharmacokinetic study in a small sample of critically ill patients. Pregnancy leads to significant changes in drug pharmacokinetics, which would lead to undesirable bias in the parameters obtained.

Another unusual practice is the inclusion by the investigator of a patient unable to consent to participate in the trial. The inclusion of unconscious patients in the trial is a touchy ethical issue on which the responsible institutional review board and the NRA had difficulty finding consensus when reviewing this trial. The usual practice of obtaining consent from a legally authorised representative, a close person or a pair of an independent physician with an independent witness was unacceptable. A compromise acceptable to both institutions was the procedure described above, whereby the principal investigator decides independently on the inclusion of the patient and informs the institutional review board ex post. Given the nature of the study, a waiver of informed consent would have been possible in many cases. And this is perhaps the reason why the procedure described above was finally acceptable. Notably, the process would likely be different if the study had been submitted under the new regulation; however, the first submission was made before the entry into force of Reg. (EU) 536/2014.

The next questions concern patients on CRRT. The first is the differentiation of colistin adsorption to the ECMO circuit and the CRRT circuit in ECMO+CRRT patients. Adsorption to the haemofilter is a known phenomenon that we consider in the dosing frequency. Thus, non-ECMO+CRRT patients will be the most appropriate comparison group to quantify adsorption to ECMO in those patients. For the other patient groups (ECMO+CRRT vs ECMO+nonCRRT vs non-ECMO+nonCRRT), the predictive value will only be in comparing trough concentrations between groups and concentrations taken at 30 min after the start of the infusion in particular groups. However, CRRT will be a binary covariate for the pharmacokinetic analysis, similar to ECMO. Hence, we should be able to distinguish the effect of either extracorporeal method on colistin pharmacokinetics. The second issue related to patients on CRRT is how creatinine clearance is determined. If patients are oliguric, we do not plan to collect urine (see note in table 1), given the limited significance of this value. Creatinine clearance, necessary for the construction of



the population pharmacokinetic model, will be set to an average value of 30 mL/min, recognising the slight variability depending on the individual CRRT setting. We do not expect a high proportion of patients on CRRT in this study. However, we did not primarily want to exclude them from the study, even at the risk of bias that their pharmacokinetic parameters may introduce.

Several methodological limitations of this study can affect the outcomes negatively: anticipated sample size, implemented limited sampling strategy, CMS administration per standard medical care which the investigator cannot modify. First, the sample size was estimated based on pilot data to make the study feasible. The pilot data were collected during the COVID-19 pandemic when the patient profile differed from the routine. Following this, we chose a more conservative and still feasible target number of subjects. Second, since this is a standard-of-care trial, we implemented a limited sampling strategy to minimise patient burden and interference between study procedures and routine care. We also took into account the data published by Kim *et al.*<sup>16</sup> The trough and concentration at 2 hours after initiation of the 30 min infusion showed the highest correlation with AUC. Third, although colistin dosing is not a study procedure and is subject to routine medical care, it respects local and international guidelines. The actual dosage is recorded in the CRE. As a result, a reliable and transferable population pharmacokinetic model can be constructed.

## TRIAL STATUS

Trial sponsor: St. Anne's University Hospital in Brno, Pekařská 664/53, 656 91 Brno, Czech Republic

Protocol version 1.2, dated 25 May 2022. The recruitment was started in September 2022. Thirty patients are planned to be recruited by the end of December 2023. Completion of the study with data analysis is anticipated in December 2023.

## Author affiliations

- <sup>1</sup>International Clinical Research Center, Saint Anne's University Hospital Brno, Brno, Czech Republic  
<sup>2</sup>Department of Anaesthesiology and Intensive Care, Saint Anne's University Hospital Brno and Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic  
<sup>3</sup>Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic  
<sup>4</sup>Saint Anne's University Hospital, Brno, Czech Republic  
<sup>5</sup>Department of Pharmacology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc, Olomouc, Czech Republic

**Contributors** PS: design of the study, protocol writing, first author, principal investigator, statistical analysis. JR: design of the study, protocol writing. LS: design of the study, protocol revision. VK: protocol revision, design of the laboratory analytic part. KU: design of the study, design of the laboratory analytical part.

**Funding** Activities related to the development of a method for the determination of colistin in plasma were covered by a grant Verification of colistin adsorption on the ECMO circuit (DSGC-2021-0179) 'within the project OP VVV' Improvement of the Doctoral Student Grant Competition Schemes and their Pilot Implementation, reg.no. CZ.02.2.69/0.0/0.0/19\_073/0016713. Some activities connected with study preparation are created in collaboration with MED MUNI through the CZECRIN project (LM2023049), supported by the national budget through MEYS and from the

European Regional Development Fund—project CZECRIN\_4 PATIENTS (CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_013/0001826).

**Competing interests** None declared.

**Patient and public involvement** Patients and/or the public were not involved in the design, or conduct, or reporting, or dissemination plans of this research.

**Patient consent for publication** Not applicable.

**Provenance and peer review** Not commissioned; externally peer reviewed.

**Supplemental material** This content has been supplied by the author(s). It has not been vetted by BMJ Publishing Group Limited (BMJ) and may not have been peer-reviewed. Any opinions or recommendations discussed are solely those of the author(s) and are not endorsed by BMJ. BMJ disclaims all liability and responsibility arising from any reliance placed on the content. Where the content includes any translated material, BMJ does not warrant the accuracy and reliability of the translations (including but not limited to local regulations, clinical guidelines, terminology, drug names and drug dosages), and is not responsible for any error and/or omissions arising from translation and adaptation or otherwise.

**Open access** This is an open access article distributed in accordance with the Creative Commons Attribution Non Commercial (CC BY-NC 4.0) license, which permits others to distribute, remix, adapt, build upon this work non-commercially, and license their derivative works on different terms, provided the original work is properly cited, appropriate credit is given, any changes made indicated, and the use is non-commercial. See: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

## ORCID ID

Jitka Rychlíčková <http://orcid.org/0000-0001-5764-5326>

## REFERENCES

- Shekar K, Fraser JF, Smith MT, *et al.* Pharmacokinetic changes in patients receiving Extracorporeal membrane oxygenation. *J Crit Care* 2012;27:741.
- Suk P, Rychlíčková J. Pharmacokinetics of Colistin during Extracorporeal membrane oxygenation. *J Antimicrob Chemother* 2022;77:2298–300.
- Peng D, Zhang F, Lv P, *et al.* Plasma concentrations of Colistin sulfate in a patient with septic shock on Extracorporeal membrane oxygenation and continuous renal replacement therapy: a case report. *Ann Transl Med* 2022;10:614.
- Markou N, Foustieri M, Markantonis SL, *et al.* Colistin pharmacokinetics in intensive care unit patients on continuous Venovenous Haemodiafiltration: an observational study. *J Antimicrob Chemother* 2012;67:2459–62.
- Harigaya Y, Bulitta JB, Forrest A, *et al.* Pharmacodynamics of vancomycin at simulated epithelial lining fluid concentrations against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (Mrsa): implications for dosing in Mrsa pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:3894–901.
- Sorli L, Luque S, Grau S, *et al.* Trough Colistin plasma level is an independent risk factor for nephrotoxicity: a prospective observational cohort study. *BMC Infect Dis* 2013;13:380.
- Nation RL, Velkov T, Li J. Colistin and Polymyxin B: peas in a pod, or chalk and cheese. *Clin Infect Dis* 2014;59:88–94.
- Plachouras D, Karvanen M, Friberg LE, *et al.* Population pharmacokinetic analysis of Colistin Methanesulfonate and Colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:3430–6.
- Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, *et al.* Population pharmacokinetics of Colistin Methanesulfonate and formed Colistin in critically ill patients from a multicenter study provide dosing suggestions for various categories of patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:3284–94.
- Mohamed AF, Karaiskos I, Plachouras D, *et al.* Application of a loading dose of Colistin Methanesulfonate in critically ill patients: population pharmacokinetics, protein binding, and prediction of bacterial kill. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:4241–9.
- Grégoire N, Mimoz O, Mégarbane B, *et al.* New Colistin population pharmacokinetic data in critically ill patients suggesting an alternative loading dose rationale. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:7324–30.
- Karaiskos I, Friberg LE, Pontikis K, *et al.* Colistin population pharmacokinetics after application of a loading dose of 9 MU Colistin Methanesulfonate in critically ill patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59:7240–8.

## Open access



- 13 Markou N, Markantonis SL, Dimitrakis E, et al. Colistin serum concentrations after intravenous administration in critically ill patients with serious multidrug-resistant, gram-negative Bacilli infections: a prospective, open-label, uncontrolled study. *Clin Ther* 2008;30:143–51.
- 14 Menna P, Salvatorelli E, Mattei A, et al. Modified Colistin regimen for critically ill patients with acute renal impairment and continuous renal replacement therapy. *Chemotherapy* 2018;63:35–8.
- 15 Nation RL, Garonzik SM, Thamlikitkul V, et al. Dosing guidance for intravenous Colistin in critically-ill patients. *Clin Infect Dis* 2017;64:565–71.
- 16 Kim EJ, Oh J, Lee K, et al. Pharmacokinetic characteristics and limited sampling strategies for therapeutic drug monitoring of Colistin in patients with multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Ther Drug Monit* 2019;41:102–6.

BMJ Open: first published as 10.1136/bmjopen-2023-071649 on 30 July 2023. Downloaded from <http://bmjopen.bmj.com/> on January 27, 2025 by guest. Protected by copyright, including for uses related to text and data mining, AI training, and similar technologies.

### 3.5 Změny farmakokinetiky kolistinu u kriticky nemocných vlivem extrakorporální membránové oxygenace: výsledky studie COL-ECMO2022

Citace:

Suk P, Rychlíčková J, Součková L, Kubíčková V, Šíma M, Šitina M, Urbánek K, Šrámek V. Changes of colistin pharmacokinetics in critically ill patients due to the extracorporeal membrane oxygenation: results of the COL-ECMO2022 trial. International Journal of Antimicrobial Agents. 2025 Jul 29;66(5).

Komentář:

Klinické hodnocení COL-ECMO2022 proběhlo v jednom centru v České republice. Klinické hodnocení bylo realizováno v souladu s dříve publikovaným protokolem, studie byla průběžně monitorována dle plánu. V průběhu studie nebyly hlášeny žádné závažné nežádoucí příhody. Ze strany zadavatele, ani regulačních autorit nebyly provedeny žádné zásahy do průběhu studie.

Celkem bylo do studie zařazeno 18 účastníků. Do analýzy bylo zahrnuto 144 vzorků CMS a 153 vzorků kolistinu. Průměrně bylo monitorováno 2,5 dávkovacího intervalu na účastníka. U 11 účastníků byl monitorován první dávkovací interval (tj. po podání nasycovací dávky). Celkem 26 monitorovaných intervalů splnilo námi definované podmínky ustáleného stavu (steady-state).

Individuální plazmatické koncentrace byly zpracovány, resp. porovnány třemi metodami – standardními farmakokinetickými výpočty v jednokompartmentovém modelu, populačním farmakokinetickým modelováním s Monte Carlo simulací a lineárním smíšeným regresním modelem – tak, abychom minimalizovali dopady omezení, které každá z metod má. V rámci deskriptivního přístupu jsme díky komplexní farmakokinetice kolistinu, pragmatické strategii vzorkování a charakteru jeho koncentračně-časových křivek nebyli schopni vypočítat některé farmakokinetické parametry. Toto umožňoval pouze populační farmakokinetický model. Jeho nevýhodou je to, že není schopen pracovat s vývojem stavu pacienta v čase. V našem případě především s vývojem clearance kreatininu jako identifikovanou kovariátou. V populačním farmakokinetickém modelu pracujeme s mediánem clearance kreatininu. Tuto limitaci překonává lineární smíšený regresní model.

Všemi metodami jsme dospěli ke stejnému závěru – ECMO významně neovlivňuje farmakokinetiku kolistinu. Při podrobnějším pohledu jsou sice rozdíly přítomné – clearance CMS i distribuční objem CMS jsou u pacientů na ECMO vyšší, medián  $CL_{AVG,SS}$  CMS a kolistinu byl u pacientů s ECMO nižší než u pacientů bez ECMO – nedosahují ale statistické významnosti ani stanovené hranice klinické relevance. Lineární smíšený regresní model potvrzuje, že ECMO snižuje koncentrace CMS a vyslovuje i teorii, jakým

způsobem. U pacientů na ECMO není třeba žádných úprav dávek oproti skupině bez této podpory.

Je ale zřejmé, že celková expozice kolistinu je v naší populaci vyšší, a to navzdory použití standardního dávkování CMS. K podobnému závěru jsme došli již u prvních dvou pacientů (viz první komentovaná práce). Clearance kreatininu je významnou kovariátou clearance CMS. Při renální dysfunkci clearance CMS klesá a expozice *in vivo* formulovanému kolistinu pochopitelně roste. S pomocí populačního modelu a Monte Carlo simulace jsme navrhli nový způsob dávkování odstupňovaný dle míry snížení renálních funkcí. Nejzajímavější částí je jistě redukce výše nasycovacích dávek. S tímto postupem se u kriticky nemocných pacientů obvykle nesetkáváme s ohledem na typické změny farmakokinetiky v této populaci. V případě kolistinu je ale situace jiná – je podáván jako proléčivo a míra konverze proléčiva je nepřímo úměrná rychlosti glomerulární filtrace. Myšlenka individualizace nasycovací dávky byla podpořena další publikovanou prací, ač jde jen o matematický model.<sup>44</sup>

Výsledky studie dále potvrzují potřebu dostupnosti metody pro stanovení kolistinu v běžné praxi, tak abychom zajistili bezpečnost i účinnost terapie. Pomocí navrženého dávkování zvyšujeme pravděpodobnost dosažení cílové expozice, ale stále se pohybujeme pouze v hodnotách 28–40 % (pro srovnání při dávkování dle SPC je to 19–35 %). Naše data zároveň nepotvrzují, že by stanovení CMS zpřesnilo model. Metoda pro stanovení kolistinu validovaná v širokém rozmezí koncentrací je dostačující.

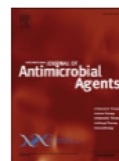
Výsledky této studie otevírají prostor pro další výzkum: ověření navrženého dávkování při různých stupních renální dysfunkce v klinické praxi, aktualizace dávkování CMS u pacientů s RRT, zpřesnění a externí validace konstruovaného populačního modelu, ověření interference CMS a kolistinu s ECMO okruhy *ex vivo*. Na úrovni designu klinického hodnocení je na místě optimalizace a sjednocení postupu získávání informovaného souhlasu od účastníků v bezvědomí, či z jiného důvodu aktuálně neschopných informovaný souhlas udělit.

Můj podíl na publikaci: podíl na návrhu studie, projektový management studie, podíl na sběru klinických dat, podíl na zpracování a analýze dat, podíl na přípravě rukopisu, korekce rukopisu.



Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Antimicrobial Agents

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ijantimicag](http://www.elsevier.com/locate/ijantimicag)

## Short Communication

## Changes of colistin pharmacokinetics in critically ill patients due to the extracorporeal membrane oxygenation: Results of the COL-ECMO2022 trial

Pavel Suk<sup>a,b</sup>, Jitka Rychlíčková<sup>a,b,c,\*</sup>, Lenka Součková<sup>a,c</sup>, Vendula Kubíčková<sup>d</sup>, Martin Šíma<sup>e</sup>, Michal Šitina<sup>a,b</sup>, Karel Urbánek<sup>d</sup>, Vladimír Šrámek<sup>b</sup><sup>a</sup> International Clinical Research Center, St. Anne's University Hospital Brno, Brno, Czech Republic<sup>b</sup> Department of Anaesthesiology and Intensive Care, St. Anne's University Hospital Brno and Faculty of Medicine, Masaryk University Brno, Czech Republic<sup>c</sup> Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Brno, Czech Republic<sup>d</sup> Department of Pharmacology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University in Olomouc, Olomouc, Czech Republic<sup>e</sup> Department of Pharmacology, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Czech Republic

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 30 April 2025

Accepted 21 July 2025

Editor by: Dr MH Scheetz

## Keywords:

Colistin

Critically ill

Pharmacokinetics

Extracorporeal membrane oxygenation

Investigator-initiated study

## ABSTRACT

**Introduction:** Colistin is recognized as the last-resort antibiotic for treating infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria, especially in critically ill patients. However, its interference with the extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) circuit may affect the achievement of therapeutic targets. The COL-ECMO2022 study aimed to verify the interference of colistin and its prodrug colistimethanesulphonate (CMS) with ECMO.

**Methods:** A prospective pharmacokinetic phase IV study included critically ill adults in whom the parenteral colistin was part of standard medical care. A maximum of three dosing intervals were monitored for each patient. CMS and colistin concentrations were measured by HPLC-MS. ECMO and non-ECMO patients were compared by average steady-state colistin concentration ( $C_{AVG,SS}$ ), population pharmacokinetic model (ECMO as a covariate), and linear mixed-effect model (LMEM).

**Results:** Eighteen patients and 40 monitored dosing intervals were analyzed. Median  $C_{AVG,SS}$  was non-significantly lower in 7 patients on ECMO (4.3 [3.5–6.3] mg/L) than in 11 non-ECMO patients (5.2 [4.2–11.5] mg/L) (by 18%;  $P = 0.551$ ). ECMO was not a significant covariate for any pharmacokinetic parameter in the population PK model. Although LMEM proved significant adsorption of CMS on the ECMO circuit, colistin concentrations were not significantly influenced.

**Conclusion:** No significant differences in colistin plasma concentrations were detected; therefore, CMS dosage adjustment is unnecessary in patients on ECMO.

© 2025 Elsevier Ltd and International Society of Antimicrobial Chemotherapy. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

## 1. Introduction

Colistin is recognized as the last-resort antibiotic for treating infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria, especially in critically ill patients. Colistin is administered as an inactive prodrug, sodium colistin methanesulphonate (CMS), an agent with different pharmacokinetic (PK) properties. The conversion of CMS to colistin is spontaneous and variable, resulting in a large inter- and intraindividual variability in colistin plasma levels. The

limited number of validated population PK models further emphasizes the limits of predicting colistin plasma levels [1–3].

Interference of colistin with the extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) circuit is a concern in critically ill patients. Although colistin adsorption is improbable based on its PK and physicochemical properties, adsorption on a polysulfone dialysis membrane has been reported [4,5]. Real-life data on colistin and ECMO interference are limited [6,7].

The objective of the COL-ECMO2022 study was to verify the interference of CMS or colistin and the ECMO circuits by comparing PK data between patients with and without ECMO support. Moreover, these data reflect some of the shortcomings of previous studies and enrich the limited body of knowledge on colistin pharmacokinetics in critically ill patients.

\* Corresponding author. Mailing address: Faculty of Medicine, Department of Pharmacology, Kamenice 753/5, Brno, 625 00, Czech Republic.  
E-mail address: [rychlickova@med.muni.cz](mailto:rychlickova@med.muni.cz) (J. Rychlíčková).

<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2025.107582>

0924-6579/© 2025 Elsevier Ltd and International Society of Antimicrobial Chemotherapy. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

## 2. Methods

### 2.1. Study design and setting

The COL-ECMO2022 trial, a prospective, non-randomized, open-label, phase IV pharmacokinetic study, was performed in a single center in the Czech Republic. The trial protocol has been published before, and no significant changes occurred during the trial [8]. The trial was registered in the EudraCT database (2022-000291-19) and the Clinical Trials Register (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05542446>). The Ethics Committee of St. Anne's University Hospital Brno (EC) approval was obtained (Number 10ML/2022-AM). Written informed consent (IC) was obtained from all patients willing to participate in the trial. In those patients unable to give it due to their medical conditions, the investigator assessed their ability to participate in the study. In this case, the EC was informed of the patient's inclusion. The investigator asked study participants, to whom good quality consciousness was restored, to give subsequent IC without unreasonable delay. The study was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki.

### 2.2. Participants

Patients eligible for inclusion were adults ( $\geq 18$  years) hospitalized at the Department of Anaesthesiology and Intensive Care, St. Anne's University Hospital Brno, in whom the intravenous colistin was part of standard medical care. An additional inclusion criterion applicable to only half of the planned participants was the need for ECMO support as part of standard medical care. Pregnant and breastfeeding patients and those who refused to give IC were excluded from the trial.

### 2.3. Extracorporeal circuits

Getinge HLS Set Advanced 7.0 (oxygenator with a polymethyl pentene membrane; surface area of 1.8 m<sup>2</sup>) was used in all ECMO-supported patients. The prime volume is 600 mL, and the tubing is made of polyvinylchloride. Continuous renal replacement therapy (CRRT) was performed as continuous venovenous hemodialysis with a dialyser Fresenius Ultraflux AV1000S (polysulfone membrane, surface area of 1.8 m<sup>2</sup>), the blood flow rate of 100–120 mL/min, and dialysate flow of 2000–2400 mL/h.

### 2.4. Interventions, blood sampling

All participants started with colistin therapy according to standard clinical practice; the commencement of colistin therapy was the responsibility of the attending physician. Colistin was administered as CMS (Colomycin®, Teva Pharmaceuticals CR s.r.o., Prague) intravenously at the approved dosage [9]. The dosing interval was reduced to 8 hours, and the loading dose (LD) was increased to 12 MIU (960 mg) in patients requiring CRRT. Maintenance doses (MDs) were reduced in patients with decreased creatinine clearance (CrCL). The dosage strictly follows the local guidelines proposed by the international guidelines; the protocol for the colistin dosage applicable at the study site was published earlier [8,10,11].

Blood sampling was carried out 30 minutes, 2 hours, 6 hours, and 11 hours and 50 minutes after starting the infusion (at the 12-hour dosing interval) or at 7 hours and 50 minutes instead of the last two draws in the 8-hour interval, respectively. A maximum of three intervals were monitored for each patient. For patients with a urine output of  $>500$  mL per day, a 12-hour urine collection was performed to calculate CrCL reflecting the interval monitored. The qualitative and quantitative analysis of the total colistin and CMS concentrations in samples was conducted by the Department of

Pharmacology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University in Olomouc, using a validated LC-MS method [12]. Samples were pre-analytically processed immediately after collection and frozen at  $-70$  to  $-80^{\circ}\text{C}$  until analysis.

### 2.5. Outcomes

The primary outcome is the average steady-state concentration ( $C_{\text{AVG,SS}}$ ) of colistin reflecting the area under the plasma colistin concentration-time curve (AUC) in the ECMO and non-ECMO groups. A difference of  $>25\%$  between these groups is considered to be of clinical significance. Further description of the pharmacokinetics and the influence of ECMO is based on a population PK analysis and a linear mixed-effects regression model.

The following secondary outcomes were calculated: maximum plasma concentration ( $C_{\text{MAX}}$ ), time to maximum plasma concentration ( $T_{\text{MAX}}$ ), minimum plasma concentration ( $C_{\text{TROUGH}}$ ), the 24-hour area under the plasma concentration-time curve ( $\text{AUC}_{0-24}$ ), volume of distribution ( $V_d$ ), clearance (CL), half-life ( $T_{1/2}$ ) of both CMS and colistin.

### 2.6. Population pharmacokinetic analysis

Serum concentration-time profiles of both CMS and colistin were analyzed using a nonlinear mixed-effects modeling method. The model parameters were assumed to be log-normally distributed and estimated by maximum likelihood using the SAEM (Stochastic Approximation Expectation Maximization) algorithm within Monolix Suite software version 2021R2 (Lixoft SAS, Antony, France). GraphPad Prism software version 8.2.1 (GraphPad Inc., La Jolla, CA, USA) was used to compare ECMO and non-ECMO patients. Details on the structural model, covariates tested, and adequacy evaluation are described in the Supplementary materials.

### 2.7. Monte carlo simulations

Monte Carlo simulations based on the final population PK model were performed to generate the theoretical distribution of concentration-time profiles and colistin  $\text{AUC}_{0-24}$  during the first 7 days of treatment after administration of various dosing regimens using Simulx version 2021 (Lixoft SAS, Antony, France). Further details on the dosing regimens tested and the probability of target attainment (PTA) are in the Supplementary materials. Colistin  $\text{AUC}_{0-24}$  of 50–100 mg.h/L was elected as an optimal PK/PD target [11]. The Department of Pharmacology, First Faculty of Medicine, Charles University and the General University Hospital in Prague constructed the population PK model and performed the Monte Carlo simulations.

### 2.8. Linear mixed-effects regression model

A PK model was adopted and modified to describe the pharmacokinetics of CMS and colistin [13,14]. The model considers several mechanisms by which ECMO may affect the pharmacokinetics of CMS or colistin, including the direct effect on CMS, which indirectly affects colistin concentration, and the direct effect on colistin. Details of the model and its derivation are described in the Supplementary material. The International Clinical Research Center, St. Anne's University Hospital Brno, constructed the linear mixed-effects regression model.

### 2.9. Calculations and Statistics

Data are presented as means  $\pm$  standard deviation (SD) or median (interquartile range, IQR);  $p$ -values  $<0.05$  are considered statistically significant. Continuous parameters were tested for

**Table 1**  
Characteristics of study participants.

|                                         | All patients                                                           | ECMO                                                                  | without ECMO                                                           | P-value |
|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|---------|
| Patients / monitored doses (n)          | 18 / 40                                                                | 7 / 16                                                                | 11 / 24                                                                |         |
| Age (years)                             | 61 (37–69)                                                             | 43 (35–61)                                                            | 68 (54–70)                                                             | 0.101   |
| Sex (males/females)                     | 16 / 2                                                                 | 6 / 1                                                                 | 10 / 1                                                                 | 1.000   |
| Height (cm)                             | 176 ± 7                                                                | 177 ± 9                                                               | 175 ± 6                                                                | 0.562   |
| Weight (kg)                             | 102.3 ± 21.4                                                           | 114.1 ± 21.4                                                          | 94.8 ± 18.5                                                            | 0.059   |
| CRRT                                    | 1 patient / 2 monitored doses                                          | 1 patient / 2 monitored doses                                         | none                                                                   |         |
| Monitored doses (n)                     | 3 doses to 8 patients<br>2 doses to 6 patients<br>1 dose to 4 patients | 3 doses to 3 patients<br>2 doses to 3 patients<br>1 dose to 1 patient | 3 doses to 5 patients<br>2 doses to 3 patients<br>1 dose to 3 patients |         |
| Mean CrCL (mL/min/1.73 m <sup>2</sup> ) | 1.70 (0.77–2.27)                                                       | 2.02 (1.65–2.06)                                                      | 1.2 (0.89–2.16)                                                        | 0.481   |

CrCL, creatinine clearance; CRRT, continuous renal replacement therapy; ECMO, extracorporeal membrane oxygenation.

normality using the Shapiro-Wilk test; Student t-test or Mann-Whitney U test were used for comparisons as appropriate. Fisher's Exact test was used to compare binary variables.

The area under the plasma concentration-time curve over the dosing interval ( $AUC_{0-\tau}$ ) was calculated using the trapezoid rule;  $C_{AVG,SS}$  was calculated as  $AUC_{0-\tau}$  divided by the dosing interval. All the following criteria were used to define the steady-state dose: at least the 3<sup>rd</sup> dose, no change in dosage, no significant changes in CrCL or plasma creatinine levels (monitored daily), CRRT and ECMO were not initiated or terminated. CMS elimination half-life was calculated from the descendant part of the time-concentration curve using linear regression with log transformation.

### 3. Results

Eighteen patients were recruited for the study. Their baseline characteristics are reported in Table 1. Except for one patient on CRRT, all patients received a CMS LD of 9 MIU (720 mg) intravenously over 30 minutes. The first MD of CMS 4.5 MIU (360 mg) given intravenously over 30 minutes was started 12 hours after the LD in 16 patients and continued 12-hourly in all of them. One patient having CRRT was given the LD of 12 MIU of CMS over 30 minutes, and the MDs of 4.5 MIU 8-hourly were started 8 hours after the LD. One patient with a reduced CrCL received reduced MDs of 3 MIU of CMS 12-hourly beginning 12 hours after the standard 9 MIU-LD. ECMO support and/or CRRT were ongoing in all patients

throughout all monitored intervals. All 7 patients on ECMO had a veno-venous configuration.

#### 3.1. Descriptive pharmacokinetics

A total of 144 CMS levels and 153 colistin levels were taken. Individual total plasma concentrations of CMS and colistin are presented in Figures S1 and S2, respectively. A total of 40 monitored intervals were analyzed, of which 26 met the criteria for the steady state.  $C_{AVG,SS}$  of CMS and colistin in ECMO and non-ECMO patients are presented in Fig. 1. The median  $C_{AVG,SS}$  of CMS in ECMO patients was nonsignificantly lower than in the non-ECMO group (by 40%;  $P = 0.421$ ). Median colistin  $C_{AVG,SS}$  was nonsignificantly lower in the ECMO cohort than in patients without ECMO support (by 18%;  $P = 0.551$ ).

$C_{MAX}$  of CMS was observed as 60.1 (47.1–64.1) mg/L and 37.5 (31.0–45.8) mg/L following the administration of the LD and MDs, respectively. CMS elimination was close to 1<sup>st</sup> order kinetics ( $r^2=0.968$  [0.919–0.987]) with elimination half-life of 2.17 (1.69–2.87) hours and clearance of 2.48 (1.68–2.87) L/h.  $C_{TROUGH}$  of CMS was 1.35 (0.46–10.94) mg/L, while  $C_{TROUGH}$  of colistin was 4.25 (3.20–6.91) mg/L. Since the PK of colistin is complex without an obvious peak on the time-concentration curve, only the population PK model was able to calculate the other colistin PK parameters.

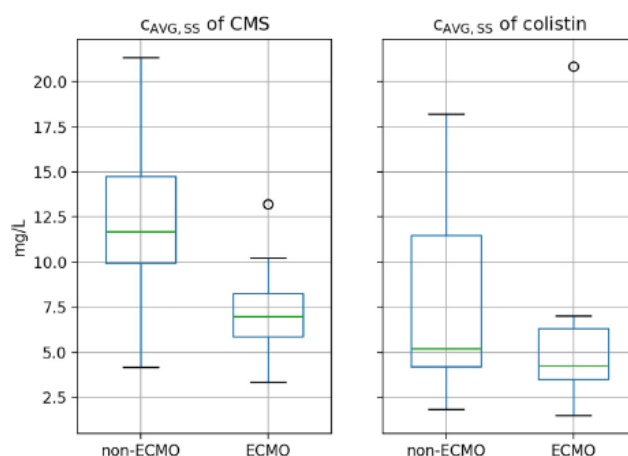


Fig. 1. Average plasma steady-state concentrations ( $C_{AVG,SS}$ ) of CMS and colistin in patients with (ECMO) and without (non-ECMO) extracorporeal membrane oxygenation.

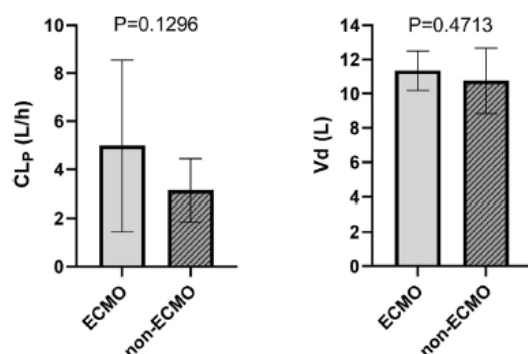


Fig. 2. Comparison of CMS pharmacokinetics (expressed as conditional mode per individual) based on the population PK model – clearance ( $CL_p$ ) and volume of distribution ( $V_d$ ) – in patients treated with (ECMO) or without (non-ECMO) extracorporeal membrane oxygenation.

### 3.2. Population pharmacokinetic model

A one-compartment model with linear elimination kinetics for both parent drug and metabolite, and unidirectional transformation from parent drug to metabolite best fitted CMS and colistin concentration-time data. A combined error model was the most accurate for the description of residual variability. The PK model was parametrized in terms of  $V_d$ , parent drug clearance, metabolite clearance, and parent drug-metabolite transfer rate constant. Preliminary graphical assessment showed only a strong relationship between  $CL_p$  and CrCL, whereas the other features tested as potential covariates (including ECMO) were without statistical significance. Comparison between CMS PK parameters (expressed as conditional mode per individual) in patients treated with and without ECMO is presented in Fig. 2. The final equations describing the relationships between PK parameters and their covariates, population PK estimates, and bootstrap results in the final population model are summarized in the Supplementary materials.

### 3.3. Monte Carlo simulations

Results of the Monte Carlo simulations are in the Supplementary materials. The newly proposed CrCL-scaled dosing led to a notable enhancement in PTA.

### 3.4. Linear mixed-effects regression model

No significant effect of ECMO on the pharmacokinetics of CMS in a concentration-dependent manner was demonstrated. However, the effect of ECMO was significant in both removing a constant percentage (for all dose types together and MD) and a constant amount of CMS (for MD only). The study revealed no significant direct effect of ECMO on the pharmacokinetics of colistin. See details in Table S3.

## 4. Discussion

The COL-ECMO2022 trial provides insight into the colistin pharmacokinetics in critically ill patients and offers the first systematically collected data on its interference with ECMO. Three approaches to comparing ECMO and non-ECMO groups were employed here to mitigate the limitations inherent in each method. Although both models proved higher CMS clearance, the effect of ECMO on plasma colistin levels is limited. Consequently, CMS dosage does not require adjustments for ECMO patients.

We observed high colistin AUCs, both after the LD and at a steady state, despite using the approved dosage. Our data suggest the need for greater MDs reductions than indicated by the summary of product characteristics or guidelines [9–11], as well as for the LD reduction in patients with renal dysfunction. In the critically ill, reducing the antibiotics LD is not common due to induced changes in pharmacokinetics [15]. However, colistin is administered as a prodrug. The quantity of colistin formed is inversely proportional to the CMS clearance. Thus, it appears essential to consider renal function as the primary elimination pathway of CMS, together with  $V_d$  and the target colistin plasma concentration. The idea of adjusting the LD according to CrCL is also mentioned by Gontijo et al. [16].

Unlike the mathematical model published [16], our proposed dosage maintains a constant interval of 12 hours between the LD and the first MD and between MDs. Given the estimated colistin biological half-life, a 24-hour dosing interval might also be considered. However, in addition to pragmatic reasons (uniformity of 12-hourly dosing), we see a shorter dosing interval more appropriate for such a variable population. A continuous CMS infusion seems unreasonable given the minimal fluctuation in plasma colistin concentrations.

Our results confirm that CMS determination does not produce a more accurate estimation of colistin concentration and that CrCL is a significant covariate [2]. Due to a massive variability in colistin pharmacokinetics, therapeutic drug monitoring remains the only way to ensure colistin concentrations are within the target range [2,11,17]. Unfortunately, confirmation of the relationship between plasma concentration and clinical outcome is lacking. A systematic review and meta-analysis showed no difference in  $C_{AVG,SS}$  achieved in the clinical cure and clinical failure groups [18]. Similar uncertainty exists on the safety side:  $C_{AVG,SS}$  was not statistically different in patients with and without nephrotoxicity [18].

Our drug concentrations are reliable in terms of the analytical method specificity and possible extracorporeal CMS conversion [15]. Spontaneous hydrolysis may increase colistin concentrations and alter the calculated biological half-life. However, our estimated biological half-life of colistin (approximately 11 hours) aligns with previously published data [3,15,19,20]. Thus, the comparability of our results with studies using other CMS-containing products from other manufacturers should not be compromised.

## 5. Study limitations

We decided to implement a pragmatic sampling strategy. On average, we monitored 2.5 intervals per patient; the first interval (after the LD) was monitored in 11 of 18 patients. Moreover, 26 of 29 monitored MDs were at a steady state.

As demonstrated in Figure S2, the colistin plasma concentration-time curves are flat without an evident peak. The sampling strategy used does not allow for a reliable estimation of  $C_{MAX}$  and  $T_{MAX}$ ; however, these parameters have low clinical significance.

The population PK model utilized in this study cannot incorporate the variability of CrCL over time in a single patient. Only the median CrCL was used for the model. A linear mixed-effects regression model was employed to overcome this limitation, with a similar conclusion.

Since this was a PK study, monitoring of colistin toxicity and clinical effect was not employed. Plasma albumin and colistin free fraction levels were not measured [2]. Given that the plasma protein binding of colistin is moderate, the use of total plasma concentrations (employed in most similar studies) should not result in a significant bias. Limited sample size and some differences in patients' characteristics between the ECMO and non-ECMO groups

(e.g., CrCL) are potential limitations for the generalizability of the study results.

## 6. Conclusion

A moderate increase in CMS clearance was observed in the ECMO group, likely due to adsorption to the circuit; however, no significant differences were detected in colistin plasma concentrations. CMS dosage adjustment is not required in patients on ECMO.

## Declaration of generative AI and AI-assisted technologies in the writing process

The authors declare that they did not use generative AI and AI-assisted technologies.

## Ethics approval

All procedures were performed in compliance with relevant laws and institutional guidelines and have been approved by the appropriate institutional committee. The Ethics Committee of St. Anne's University Hospital Brno (EC) approval was obtained (Number 10ML/2022-AM). Written informed consent (IC) was obtained from all patients willing to participate in the trial.

The research carried out here complied with the Declaration of Helsinki principles.

## Clinical trial registration

The trial was registered in the EudraCT database (2022-000291-19) and the Clinical Trials Register (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05542446>).

## Availability of data

All data generated or analyzed during this study are included in this published article and its supplementary information files.

## Declaration of competing interest

The authors declare that they have no competing interests.

## Funding

Activities related to the development of a method for the determination of colistin in plasma were covered by a grant Verification of colistin adsorption on the ECMO circuit (DSGC-2021-0179) 'within the project OP VVV' Improvement of the Doctoral Student Grant Competition Schemes and their Pilot Implementation, reg. no. CZ.02.2.69/0.0/0.0/19\_073/0016713. Some activities connected with study preparation are created in collaboration with MED MUNI through the CZECRIN project (LM2023049), supported by the national budget through MEYS and from the European Regional Development Fund—project CZECRIN\_4 PATIENTS (CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_013/0001826).

## Supplementary materials

Supplementary material associated with this article can be found, in the online version, at [doi:10.1016/j.ijantimicag.2025.107582](https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2025.107582).

## References

- [1] Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, Paterson DL, Shoham S, Jacob J, et al. Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and formed colistin in critically ill patients from a multicenter study provide dosing suggestions for various categories of patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:3284–94. doi:10.1128/AAC.01733-10.
- [2] Mathew SK, Rao SV, Prabha R, Neely MN, Mathew BS, Aruldas B.W., et al. Model-informed rationale for early therapeutic drug monitoring of Colistin in critically ill patients. *J Clin Pharmacol* 2023;63:57–65. doi:10.1002/jcph.2130.
- [3] Karaikos I, Friberg LE, Pontikis K, Ioannidis K, Tsagkari V, Galani L, et al. Colistin population pharmacokinetics after application of a loading dose of 9 MU Colistin methanesulfonate in critically ill patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59:7240–8. doi:10.1128/AAC.0554-15.
- [4] Markou N, Fousteri M, Markantonis SL, Zidianakis B, Hroni D, Boutzoula E, et al. Colistin pharmacokinetics in intensive care unit patients on continuous venovenous haemodiafiltration: an observational study. *J Antimicrob Chemother* 2012;67:2459–62. doi:10.1093/jac/dks257.
- [5] Ha MA, Sieg AC. Evaluation of altered drug pharmacokinetics in critically ill adults receiving extracorporeal membrane oxygenation. *Pharmacotherapy* 2017;37:221–35. doi:10.1002/phar.1882.
- [6] Suk P, Rychlíčková J. Pharmacokinetics of colistin during extracorporeal membrane oxygenation. *J Antimicrob Chemother* 2022;77:2298–300. doi:10.1093/jac/dkac163.
- [7] Peng D, Zhang F, Lv P, Chen Y, Yang J, Zhu W., et al. Plasma concentrations of Colistin sulfate in a patient with septic shock on extracorporeal membrane oxygenation and continuous renal replacement therapy: a case report. *Ann Transl Med* 2022;10:614. doi:10.21037/atm-22-2081.
- [8] Suk P, Rychlíčková J, Součková L, Kubičková V, Urbánek K. Changes of colistin pharmacokinetics in critically ill patients due to the extracorporeal membrane oxygenation: protocol for the COL-ECMO 2022 trial - a prospective, non-randomised, open-label phase IV pharmacokinetic clinical trial. *BMJ Open* 2023;13:e071649. doi:10.1136/bmjopen-2023-071649.
- [9] COLOMYCIN, 1MIU INJ/INF PLV SOL/SOL. NEB 10X1MIU, SmPC. State Institute for Drug Control. <https://prehledysukl.cz/prehledy/v1/dokumenty/59934>
- [10] Nation RL, Garonzik SM, Thamlikitkul V, Giamarellos-Bourboulis EJ, Forrest A, Paterson DL, et al. Dosing guidance for intravenous colistin in critically-ill patients. *Clin Infect Dis* 2017;64:565–71. doi:10.1093/cid/ciw839.
- [11] Tsuji BT, Pogue JM, Zavascki AP, Paul M, Daikos GL, Forrest A, et al. International consensus guidelines for the optimal use of the polymyxins: endorsed by the American college of clinical pharmacy (ACCP), European Society of clinical microbiology and infectious diseases (ESCMID), infectious diseases society of America (IDSA), international society for anti-infective pharmacology (ISAP), society of critical care medicine (SCCM), and Society of infectious diseases pharmacists (SIDP). *Pharmacotherapy* 2019;39:10–39. doi:10.1002/phar.2209.
- [12] Kubičková V, Soukop J, Rychlíčková J. Assay of colistin A, B and colistin methanesulfonate in human plasma by LC-MS/MS and short-term plasma stability. *Klin Farmakol Farm* 2023;37:89–92. doi:10.33290/far.2023.016.
- [13] Fan Y, Li Y, Chen Y, Yu J, Liu X, Li W., et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of colistin methanesulfonate in healthy Chinese subjects after multi-dose regimen. *Antibiotics (Basel)* 2022;11:798. doi:10.3390/antibiotics11060798.
- [14] Grégoire N, Aranzana-Climent V, Magréault S, Marchand S, Couet W. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of Colistin. *Clin Pharmacokinet* 2017;56:1441–60. doi:10.1007/s40262-017-0561-1.
- [15] Zabidi MS, Abu Bakar R, Musa N, Mustafa S, Wan Yusuf WN. Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate sodium and colistin in critically ill patients: a systematic review. *Pharmaceuticals (Basel)* 2021;14:903. doi:10.3390/ph14090903.
- [16] Gontijo AVL, Cavalieri AVG. Individualized optimization of colistin loading doses. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2023;50:11–20. doi:10.1007/s10928-022-09831-x.
- [17] Ehrentraut SF, Muenster S, Kreyer S, Theuerkauf NU, Bode CH, Steinhagen F, et al. Extensive therapeutic drug monitoring of colistin in critically ill patients reveals undetected risks. *Microorganisms* 2020;8:415. doi:10.3390/microorganisms8030415.
- [18] Son J-Y, Kim S, Porsuk T, Shin S, Choi YJ. Clinical outcomes of colistin methanesulfonate sodium in correlation with pharmacokinetic parameters in critically ill patients with multi-drug resistant bacteria-mediated infection: a systematic review and meta-analysis. *J Infect Public Health* 2024;17:843–53. doi:10.1016/j.jiph.2024.03.021.
- [19] Machouras D, Karvanen M, Friberg LE, Papadomichelakis E, Antoniadou A, Tsangaris I, et al. Population pharmacokinetic analysis of colistin methanesulfonate and colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:3430–6. doi:10.1128/AAC.01361-08.
- [20] Mohamed AF, Karaikos I, Plachouras D, Karvanen M, Pontikis K, Jansson B, et al. Application of a loading dose of colistin methanesulfonate in critically ill patients: population pharmacokinetics, protein binding, and prediction of bacterial kill. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:4241–9. doi:10.1128/AAC.06426-11.

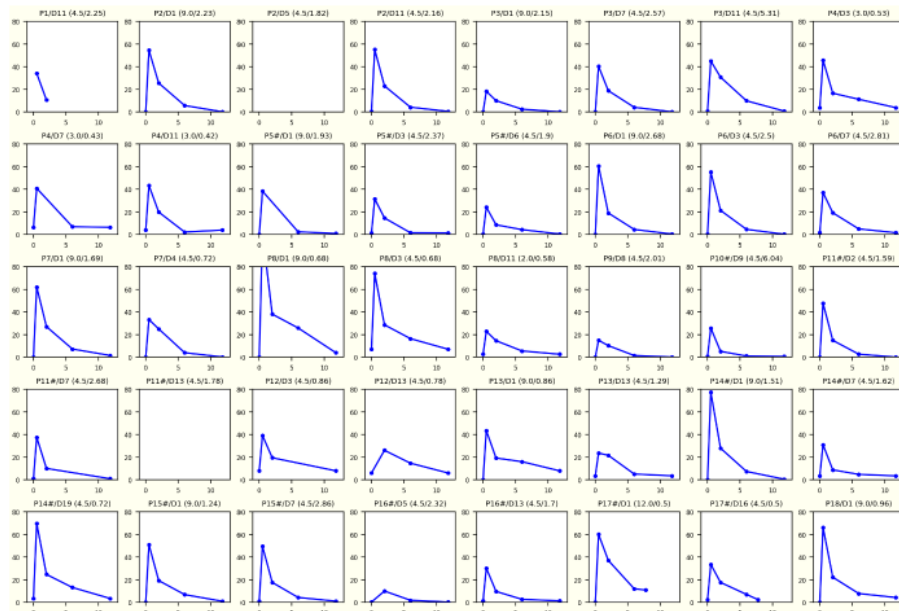
**Supplementary materials**

Changes of colistin pharmacokinetics in critically ill patients due to the extracorporeal membrane oxygenation: results of the COL-ECMO2022 trial

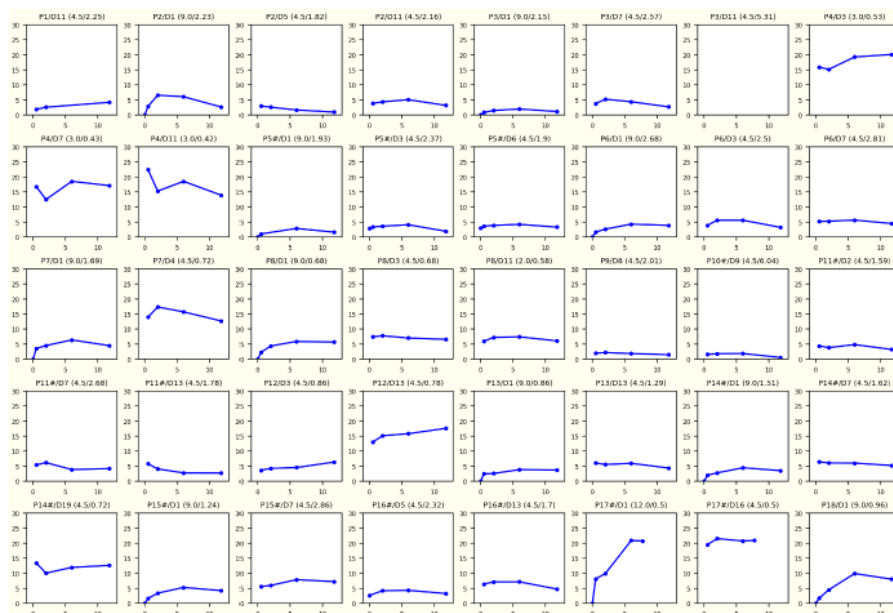
|      |                                                                                                                                    |    |
|------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| S1   | Supplementary figures – individual plasma concentrations.....                                                                      | 2  |
| S2   | Population pharmacokinetic analysis.....                                                                                           | 4  |
| S2.1 | Population pharmacokinetic analysis - methodology.....                                                                             | 4  |
| S2.2 | Population pharmacokinetic model – population PK estimates, bootstrap results in the final population model, final equations ..... | 4  |
| S2.3 | MonteCarlo simulations.....                                                                                                        | 6  |
| S3   | A linear mixed-effects regression model, a model of colistin pharmacokinetics .....                                                | 8  |
| S3.1 | Derivation of the linear mixed-effects regression model .....                                                                      | 8  |
| S3.2 | Calculation of the change in AUC of colistin due to the utilization of ECMO.....                                                   | 12 |
| S3.3 | Syntax of calculations of linear mixed-effects regression models .....                                                             | 13 |
| S3.4 | Linear mixed-effects regression model - results.....                                                                               | 14 |
| S4   | References.....                                                                                                                    | 15 |

## S1 Supplementary figures – individual plasma concentrations

Figure S1. Individual plasma concentrations of CMS during all monitored dosing intervals.



Legend: patient number - patients on ECMO marked with #/dose number (administered dose in MIU/current creatinine clearance); X-axis represents the time from the start of CMS administration (hours), Y-axis represents CMS plasma concentration (mg/L)

**Figure S2.** Individual plasma concentrations of colistin during all monitored dosing intervals.

Legend: patient number - patients on ECMO marked with #/dose number (administered dose of CMS in MIU/current creatinine clearance); X-axis represents the time from the start of CMS administration (hours), Y-axis represents colistin plasma concentration (mg/L)

## S2 Population pharmacokinetic analysis

### S2.1 Population pharmacokinetic analysis - methodology

For the structural model, a parent drug-metabolite model with unidirectional transformation from parent drug to metabolite was used. One- and two-compartment models with first-order and Michaelis-Menten elimination kinetics were tested. Log-normally distributed inter-individual variability terms with estimated variance were tested on each PK parameter. Constant, proportional, and combined error models were tested for the residual error model. The most appropriate model was selected based on the minimum objective function value (OFV), adequacy of the goodness-of-fit (GOF) plots, and low relative standard errors (R.S.E.) of the estimated PK parameters.

In the second step, age, body weight, height, and CrCL were tested as continuous covariates, while gender, ECMO, and CRRT as categorical covariates of PK parameters. A preliminary graphical assessment and univariate association using Pearson's correlation test of the effects of covariates on estimated PK parameters was made. The covariates with  $P < 0.05$  were considered for the covariate model. Afterward, a stepwise covariate modeling procedure was performed. A decrease in OFV of more than 3.84 points for model selection between nested models ( $P < 0.05$ ) was considered statistically significant, assuming a  $\chi^2$ -distribution. Additional criteria for model selection were reasonably low R.S.E. values of the estimates of model parameters, physiological plausibility of the obtained parameter values and the covariates found, and absence of bias in GOF plots.

The adequacy of the final population PK model was evaluated using GOF plots. Observed concentrations were plotted against individual predictions, while the normalized prediction distribution errors (NPDE) were plotted against the time and population predictions. A bootstrap analysis was performed to evaluate the stability of the model. In this procedure, 250 replicates of the original data were generated and the parameter estimates for each of the 250 samples were re-estimated using R package Rsmix for Monolix Suite (Lixoft SAS, Antony, France) in the final model. The median and 95% confidence intervals (CI) obtained for each parameter estimated for bootstrap samples were compared with the estimates in the final model.

### S2.2 Population pharmacokinetic model – population PK estimates, bootstrap results in the final population model, final equations

**Table S1.** Estimates of the final parent drug (colistin methanesulfonate) – metabolite (colistin) population PK model and bootstrap results based on 250 simulations.

| Parameter                                                 | Final model |            | Bootstrap analysis  |
|-----------------------------------------------------------|-------------|------------|---------------------|
|                                                           | Estimate    | R.S.E. (%) | Median (95% CI)     |
| Fixed effects                                             |             |            |                     |
| $V_d$ pop (L)                                             | 10.96       | 7.71       | 10.69 (10.57–10.79) |
| $CL_P$ pop (L/h)                                          | 1.83        | 13.7       | 1.74 (1.68–1.78)    |
| $\beta$ $CL_P$ CrCL (L/h per 1 mL/s/1.73 m <sup>2</sup> ) | 0.33        | 20.5       | 0.35 (0.34–0.37)    |
| $CL_M$ pop (L/h)                                          | 0.32        | 22.1       | 0.31 (0.30–0.32)    |
| $K_{PM}$ pop (h <sup>-1</sup> )                           | 0.025       | 16.6       | 0.025 (0.024–0.026) |
| Standard deviation of the random effects                  |             |            |                     |
| $\Omega$ $V_d$                                            | 0.21        | 30.2       | 0.17 (0.15–0.18)    |
| $\Omega$ $CL_P$                                           | 0.29        | 21.9       | 0.25 (0.24–0.26)    |
| $\Omega$ $CL_M$                                           | 0.71        | 23.4       | 0.70 (0.66–0.72)    |
| $\Omega$ $K_{PM}$                                         | 0.58        | 20.9       | 0.54 (0.53–0.56)    |
| Error model parameters                                    |             |            |                     |
| Constant parent drug                                      | 0.57        | 23.2       | 0.58 (0.57–0.60)    |
| Proportional parent drug                                  | 0.36        | 9.01       | 0.36 (0.36–0.37)    |
| Constant metabolite                                       | 1.02        | 9.60       | 1.04 (1.02–1.06)    |
| Proportional metabolite                                   | 0.13        | 15.9       | 0.13 (0.12–0.13)    |

$V_d$  – the volume of distribution;  $CL_P$  – parent drug (colistin methanesulfonate) clearance;  $CL_M$  – metabolite (colistin) clearance;  $K_{PM}$  – parent drug-metabolite transfer rate constant; CrCL – creatinine clearance; CI – confidence interval; R.S.E. – relative standard error; pop – the typical value of the parameter;  $\beta$  – covariate effect on parameter;  $\Omega$  – standard deviation of the random effects

The final equations describing the relationships between PK parameters and their covariates are following (legend: parent drug clearance ( $CL_P$ ), metabolite clearance ( $CL_M$ ) and parent drug-metabolite transfer rate constant ( $K_{PM}$ ):

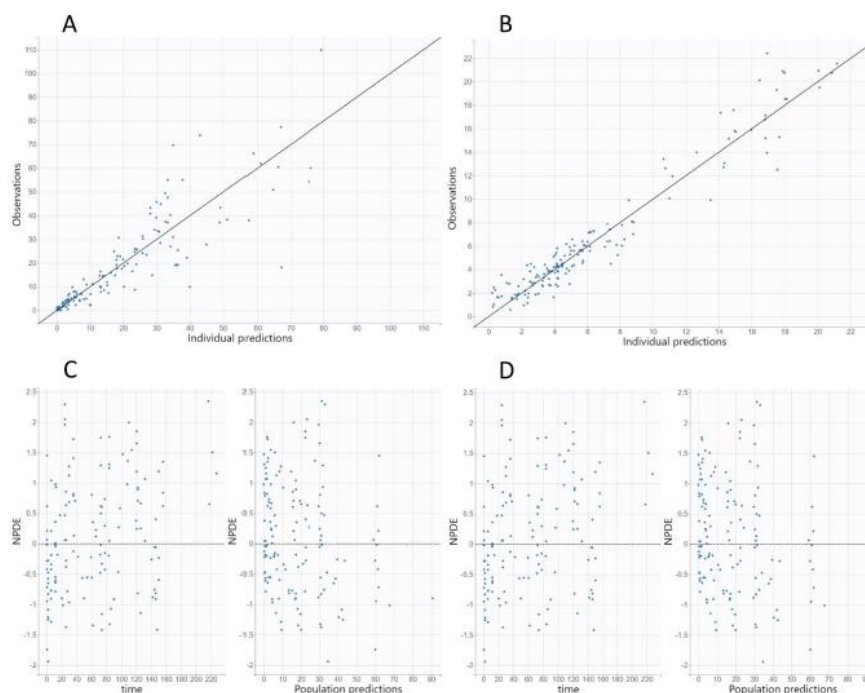
- $Vd = Vd_{pop}$ ,
- $CL_P = CL_{P_{pop}} \times e^{\beta_{CL_P} \times CrCL \times CrCL}$ ,
- $CL_M = CL_{M_{pop}}$ ,
- $K_{PM} = K_{PM_{pop}}$ ,

where pop represents a typical value of the parameter,  $\beta$  represents the covariate effect on the parameter. This means that the typical value of PK parameters in the population is:

- $Vd = 10.96 \text{ L}$ ,
- $CL_P = 1.83 \times e^{0.33 \times CrCL} \text{ L/h}$ ,
- $CL_M = 0.32 \text{ L/h}$ ,
- $K_{PM} = 0.025 \text{ h}^{-1}$ .

The diagnostic GOF plots for the final covariate model did not indicate major deviations (Figure S3). As shown in Table S1, the R.S.E. revealed that all PK parameters in the model were precisely estimated. All median parameter values in the bootstrap procedure were consistent with the values obtained in the final model fit, indicating the reliability of the parameter and the random-effect estimates.

**Figure S3.** Goodness-of-fit (GOF) plots: individual predictions against observed concentrations of colistin methanesulfonate (A) and colistin (B), and normalized prediction distribution errors against time and population predictions for colistin methanesulfonate (C) and colistin (D).



### S2.3 Monte Carlo simulations

Monte Carlo simulations (250 replicates of the original dataset) based on the final population PK model were performed to generate the theoretical distribution of concentration-time profiles and colistin AUC<sub>0-24</sub> during the first 7 days of treatment after administration of various dosing regimens using Simulx version 2021 (Lixoft SAS, Antony, France). The following dosing regimens were tested: unified dosing according to Summary of Product Characteristics (SmPC), CrCL-scaled dosing according to SmPC, and CrCL-scaled dosing proposed by Nation et al.<sup>1</sup> Subsequently, the whole study population was stratified according to CrCL as the only one covariate found (CrCL of <0.5, 0.5–1, 1–1.5, 1.5–2.13 and >2.13 mL/s/1.73 m<sup>2</sup>), and administration of various CMS dosing regimens was simulated in each subpopulation. Colistin AUC<sub>0-24</sub> of 50–100 mg.h/L was elected as an optimal PK/PD target<sup>2</sup>, and the CMS dosing regimen showing the highest probability of target attainment (PTA) was identified for each subpopulation.

Table S2 summarizes the PTA values of various dosing regimens and newly proposed CrCL-scaled dosing based on the developed population PK model on the 1<sup>st</sup>, 3<sup>rd</sup>, and 7<sup>th</sup> day of CMS therapy. Figure S4 shows simulated CMS and colistin concentration-time profiles after intravenous administration of standard dosing regimens – an LD of 9 MIU followed by the MD of 3 MIU every 8 hours or 4.5 MIU every 12 hours given by 30 minutes intravenous infusion – using the Monte Carlo method.

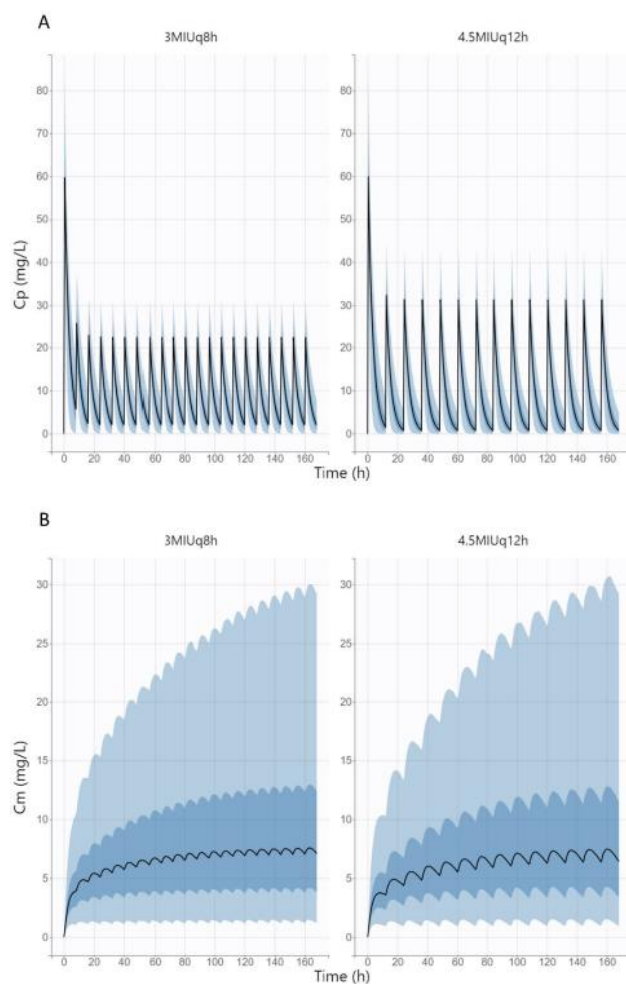
**Table S2.** Probability of PK/PD target attainment of various dosing regimens.

| CrCL (mL/min)                                | Dosing regimen           | AUC <sub>0-24h</sub> of < 50/50–100/>100 mg.h/L<br>(%; rounded to whole numbers) |          |          |
|----------------------------------------------|--------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|----------|----------|
|                                              |                          | Day 1                                                                            | Day 3    | Day 7    |
| SmPC – unified dosing                        |                          |                                                                                  |          |          |
|                                              | LD 9 MIU + 4.5 MIU q12h  | 20/35/45                                                                         | 14/22/64 | 11/18/71 |
|                                              | LD 9 MIU + 3 MIU q8h     | 16/33/51                                                                         | 13/21/66 | 11/18/71 |
| SmPC – eGFR scaled dosing                    |                          |                                                                                  |          |          |
| < 10                                         | LD 9 MIU + 1.75 MIU q12h | 7/28/64                                                                          | 19/21/60 | 21/22/57 |
| 10–30                                        | LD 9 MIU + 2.5 MIU q12h  | 0                                                                                | 0        | 0        |
| 30–50                                        | LD 9 MIU + 3.25 MIU q12h | 9/30/61                                                                          | 8/19/73  | 8/17/75  |
| > 50                                         | LD 9 MIU + 4.5 MIU q12h  | 22/37/41                                                                         | 15/22/64 | 14/19/67 |
| Total                                        |                          | 20/35/45                                                                         | 14/21/64 | 13/19/67 |
| eGFR scaled dosing proposed by Nation et al. |                          |                                                                                  |          |          |
| <10                                          | LD 9 MIU + 2.2 MIU q12h  | 7/28/65                                                                          | 13/21/66 | 14/21/64 |
| 10–20                                        | LD 9 MIU + 2.43 MIU q12h | 0                                                                                | 0        | 0        |
| 20–30                                        | LD 9 MIU + 2.65 MIU q12h | 0                                                                                | 0        | 0        |
| 30–40                                        | LD 9 MIU + 2.95 MIU q12h | 6/30/64                                                                          | 8/19/74  | 8/18/74  |
| 40–50                                        | LD 9 MIU + 3.33 MIU q12h | 8/36/56                                                                          | 10/19/71 | 10/19/71 |
| 50–60                                        | LD 9 MIU + 3.7 MIU q12h  | 11/34/55                                                                         | 9/19/72  | 9/18/73  |
| 60–70                                        | LD 9 MIU + 4.18 MIU q12h | 0                                                                                | 0        | 0        |
| 70–80                                        | LD 9 MIU + 4.5 MIU q12h  | 12/42/47                                                                         | 7/22/72  | 7/20/73  |
| 80–90                                        | LD 9 MIU + 5.15 MIU q12h | 0                                                                                | 0        | 0        |
| > 90                                         | LD 9 MIU + 5.45 MIU q12h | 25/37/39                                                                         | 13/20/67 | 12/18/71 |
| Total                                        |                          | 19/36/46                                                                         | 11/20/69 | 11/18/71 |
| Newly proposed eGFR scaled dosing            |                          |                                                                                  |          |          |
| < 30                                         | LD 4.5 MIU + 1 MIU q12h  | 35/44/21                                                                         | 38/34/29 | 39/32/29 |

|        |                           |                   |                   |                   |
|--------|---------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 30–60  | LD 5.5 MIU + 1.3 MIU q12h | 33/ <u>43</u> /23 | 35/ <u>33</u> /31 | 37/ <u>31</u> /32 |
| 60–90  | LD 7 MIU + 1.6 MIU q12h   | 24/ <u>43</u> /33 | 34/ <u>30</u> /36 | 35/ <u>29</u> /36 |
| 90–130 | LD 9 MIU + 2.2 MIU q12h   | 22/ <u>40</u> /38 | 30/ <u>29</u> /41 | 31/ <u>28</u> /41 |
| > 130  | LD 12 MIU + 3.4 MIU q12h  | 32/ <u>36</u> /31 | 32/ <u>26</u> /42 | 31/ <u>25</u> /44 |
| Total  |                           | 29/ <u>40</u> /31 | 33/ <u>30</u> /37 | 33/ <u>28</u> /38 |

AUC<sub>0-24</sub> – 24-hours area under the colistin plasma concentration-time curve; CrCL – creatinine clearance; SmPC – summary of product characteristics; LD – loading dose; MIU – million international units

**Figure S4.** Simulated serum concentration-time profiles of colistin methanesulfonate (A) and colistin (B) after administration of standard dosing regimens – the loading dose of 9 MIU followed by the maintenance dose of 3MIU every 8 hours or 4.5 MIU every 12 hours. The blue line represents the median, and the blue bands represent percentiles (5–27.5%, 27.5–50%, 50–72.5%, and 72.5–95%) of the 90% simulated concentrations distribution.



### S3 A linear mixed-effects regression model, a model of colistin pharmacokinetics

The model considers several mechanisms by which ECMO may affect the pharmacokinetics of CMS or colistin, including the direct effect on CMS, which indirectly affects colistin concentration, and the direct effect on colistin. Five possible options are considered – ECMO removes:

1. CMS in a concentration-dependent manner via first-order kinetics;
2. a constant percentage of the administered dose of CMS;
3. a constant amount of CMS from the administered dose of CMS;
4. colistin in a concentration-dependent manner via first-order kinetics;
5. a constant amount of colistin from the available colistin.

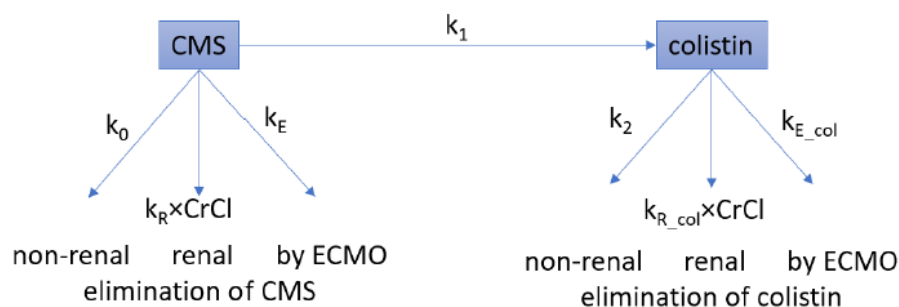
A multivariate linear equation was derived from the PK model for each of the five options, with one of the variables being the indicator variable for ECMO. The coefficients of the equation and their significance were calculated using a linear mixed-effects regression model, with the use of the R language function `lme` from the `nlme` library. A subset of the variables were specified as random effects, with individual values for each patient. Repeat administrations for the same patient were also included in the model. The syntax details in the R language of each model employed are provided in S3.3 part.

For each option, a regression model was constructed without and with the inclusion of ECMO as a covariate. The two models were then compared using the ANOVA test. A significant difference between the two models would indicate that ECMO affects the pharmacokinetics of CMS-colistin through a particular mechanism. If two models corresponding to different mechanisms are directly comparable, then the model that fits the data better (determined by lower AIC) is regarded as more accurate. In the case where ECMO directly affects CMS, the resulting indirect reduction in colistin concentration is calculated.

#### S3.1 Derivation of the linear mixed-effects regression model

The pharmacokinetics of colistin are schematically represented in Figure S5. The model is based on the work of Fan et al. and Grégoire et al.<sup>3,4</sup> All eliminations and transformations are subject to first-order kinetics. CMS is administered as a short intravenous infusion. CMS is eliminated non-renally with a constant  $k_0$ , renally proportional to creatinine clearance ( $k_R \times \text{CrCl}$ ), and undergoes hydrolysis to colistin with a constant  $k_1$ . The only source of colistin is the hydrolysis of CMS. Colistin is eliminated non-renally with a constant  $k_2$ , and renally proportional to creatinine clearance ( $k_{R\_col} \times \text{CrCl}$ ). Both CMS and colistin might also be eliminated by the ECMO circuit ( $k_E$ ,  $k_{E\_col}$ ).

Figure S5. A model of CMS and colistin pharmacokinetics



### The impact of ECMO on the pharmacokinetics of CMS-colistin

The model considers several potential mechanisms through which ECMO may influence the pharmacokinetics of CMS-colistin. Given that the pharmacokinetics of CMS is independent of colistin concentration, it is possible to consider the impact of ECMO on CMS and the impact of ECMO on colistin in isolation using two submodels.

#### Submodel for the impact on CMS

After all the aforementioned transformations have been incorporated (excluding the impact of ECMO), the following differential equation is applicable to the concentration of CMS ([CMS]).

$$\frac{d[CMS]}{dt} = -k_0[CMS] - k_R \cdot CrCl \cdot [CMS] - k_1[CMS] = -(k_0 + k_R \cdot CrCl + k_1)[CMS] \quad (1)$$

Three options are considered for the elimination of CMS by ECMO:

1. ECMO eliminates CMS in a concentration-dependent manner via first-order kinetics.
2. ECMO removes a constant percentage of the administered dose of CMS.
3. ECMO removes a constant amount of CMS from the administered dose of CMS.

#### 1. CMS elimination through ECMO in a concentration-dependent manner

ECMO eliminates CMS via first-order kinetics proportional to the concentration of CMS with a constant  $k_E$ . After including the effect of ECMO, the equation (1) expands to

$$\begin{aligned} \frac{d[CMS]}{dt} &= -k_0[CMS] - k_R \cdot CrCl \cdot [CMS] - k_1[CMS] - k_E \cdot ECMO \cdot [CMS] \\ &= -(k_0 + k_R \cdot CrCl + k_1 + k_E \cdot ECMO)[CMS] \end{aligned}$$

The ECMO variable serves as an indicator variable, with  $ECMO = 1$  and  $ECMO = 0$  denoting the presence and absence of ECMO, respectively.

Following the separation of variables and integration, we obtain

$$\ln[CMS] = \ln[CMS]_0 - (k_0 + k_1)t - k_R \cdot CrCl \cdot t - k_E \cdot ECMO \cdot t$$

Henceforth, the sum  $k_0 + k_1$  will be referred to as  $k$ .  $[CMS]_0$  denotes the initial CMS concentration of CMS, which is equal

$$[CMS]_0 = \frac{D}{V_d^{CMS}}$$

where  $D$  is the dose of CMS and  $V_d^{CMS}$  is the distribution volume of CMS. Therefore

$$\ln[CMS]_0 = \ln D - \ln V_d^{CMS}$$

After substitution, we obtain the equation

$$\ln[CMS] = -\ln V_d^{CMS} + \ln D - k \cdot t - k_R \cdot CrCl \cdot t - k_E \cdot ECMO \cdot t,$$

which is linear in time and the logarithm of CMS dose, with an intercept of  $-\ln V_d^{CMS}$ .

In R language, the equation corresponds to the syntax

$$I(\ln CMS) \sim 1 + I(\ln D) + t + I(CrCl * t) + I(ECMO \cdot t)$$

The intercept and the effect of time (constant  $k$ ) are selected as random effects in the model, corresponding to the individually different distribution volume of CMS and the individually different rate of conversion of CMS to colistin.

## 2. Removal of a constant percentage of the administered dose of CMS through ECMO

The ECMO removes a constant percentage of the administered dose of CMS (e.g., by adhesion to the walls of ECMO), thereby reducing the effective administered dose in proportion to the administered dose.

Let us denote the fraction of the administered dose of CMS that is not eliminated through the ECMO as  $a$  ( $1-a$  is eliminated through the ECMO). Then, the effective dose of CMS is  $Deff = a.D$ , or  $\ln Deff = \ln D + \ln a$ . After substituting in the Eq. (1) and its integration, we obtain

$$\ln[CMS] = -\ln V_d^{CMS} + \ln D + \ln a \cdot ECMO - k \cdot t - k_R \cdot CrCl \cdot t$$

In R language, the equation corresponds to the syntax

$$I(\ln CMS) \sim 1 + I(\ln D) + ECMO + t + I(CrCl * t)$$

The intercept and the effect of time (constant  $k$ ) are selected as random effects in the model, as in the previous model.

## 3. Removal of a constant amount of CMS from the administered dose of CMS through ECMO

The ECMO removes a constant amount of CMS from the administered dose of CMS (e.g., by adhesion to the surface of the ECMO circuit), thereby reducing the effective administered dose independent of the administered dose.

The direct integration of Equation (1) over a single dosing interval  $T$ , results in

$$\int d[CMS] = (k + k_R \cdot CrCl) \cdot \int_0^T [CMS] \cdot dt = (k + k_R \cdot CrCl) \cdot AUC_{CMS}$$

The  $AUC_{CMS}$  denotes the area under the curve of the CMS concentration over time.

The concentration of CMS can be expressed as

$$[CMS] = \frac{\text{actual amount of CMS in the body}}{V_d^{CMS}}$$

As the data demonstrate that CMS is entirely eliminated prior to the administration of the subsequent dose, the following integration can be performed.

$$\int d[CMS] = \frac{1}{V_d^{CMS}} \int d(\text{actual amount of CMS in the body}) = \frac{D}{V_d^{CMS}}$$

Therefore,

$$D = V_d^{CMS} (k + k_R \cdot CrCl) \cdot AUC_{CMS}$$

The effect of ECMO is reflected by a reduction in the administered dose by the amount  $a$ , resulting in an effective administered dose of  $D - a \cdot ECMO$ . Thus, the final equation is given by

$$D = a \cdot ECMO + k \cdot V_d^{CMS} \cdot AUC_{CMS} + k_R \cdot V_d^{CMS} \cdot CrCl \cdot AUC_{CMS}$$

which is linear in AUC and ECMO.  $AUC_{CMS}$  is calculated directly from the measured values of  $[CMS]$  over time.

In R language, the equation corresponds to the syntax

$$D \sim -1 + ECMO + AUC_{CMS} + I(CrCl * AUC_{CMS})$$

#### **Submodel for the direct impact on colistin**

The only source of colistin is the hydrolysis of CMS. Colistin is eliminated non-renally with the  $k_2$  constant and renally in proportion to creatinine clearance ( $k_{R_{col}} \cdot CrCl$ ).

After all the aforementioned transformations have been incorporated (excluding the impact of ECMO), the following differential equation is applicable to the concentration of colistin ( $[colistin]$ ).

$$\frac{d[colistin]}{dt} = k_1[CMS] - k_2[colistin] - k_{R_{col}} \cdot CrCl \cdot [colistin] \quad (2)$$

With an integration over a single dosing interval  $T$ , we obtain

$$\int d[colistin] = k_1 \int_0^T [CMS] \cdot dt - (k_2 + k_{R_{col}} \cdot CrCl) \int_0^T [colistin] \cdot dt$$

The integral on the left side of the equation corresponds to the increase in colistin concentration during a single dose interval,  $\Delta[colistin]$ . Integrals on the right side correspond to the area under the CMS and colistin curves during a single dose interval,  $AUC_{CMS}$  and  $AUC_{col}$ .

$$\Delta[colistin] = k_1 \cdot AUC_{CMS} - (k_2 + k_{R_{col}} \cdot CrCl) \cdot AUC_{col}$$

$AUC_{CMS}$  and  $AUC_{col}$  are calculated directly from the measured values of  $[CMS]$  and  $[colistin]$  over time. The model does not directly include the administered dose of CMS ( $D$ ), as this is already included in  $AUC_{CMS}$ .

By adjusting the equation, we obtain a linear relationship between  $AUC_{CMS}$  and  $AUC_{col}$ .

$$AUC_{CMS} = \frac{\Delta[colistin]}{k_1} + \frac{k_2}{k_1} \cdot AUC_{col} + \frac{k_{R_{col}}}{k_1} \cdot CrCl \cdot AUC_{col}$$

The difference in colistin concentrations at the end and beginning of a single dosing interval ( $\Delta[colistin]$ ) is approximated by the difference in measured concentrations  $C_{11.8}$  and  $C_{0.5}$ , i.e.  $\Delta[colistin] = C_{11.8} - C_{0.5}$ . When the CMS is first administered, the initial colistin concentration is zero, and therefore  $\Delta[colistin] = C_{11.8}$ .

Two mechanisms are considered for the direct elimination of colistin by ECMO:

4. ECMO eliminates colistin in a concentration-dependent manner via first-order kinetics
5. ECMO removes a constant amount of colistin from the available colistin

#### **4. Elimination of colistin through ECMO in a concentration-dependent manner**

ECMO eliminates colistin via first-order kinetics proportional to the concentration of CMS with a constant  $k_{E_{col}}$ . After including the effect of ECMO with equation (2) and integrating it, we obtain

$$AUC_{CMS} = \frac{\Delta[colistin]}{k_1} + \frac{k_2}{k_1} \cdot AUC_{col} + \frac{k_{R_{col}}}{k_1} \cdot CrCl \cdot AUC_{col} + \frac{k_{E_{col}}}{k_1} \cdot ECMO \cdot AUC_{col}$$

In R language, the equation corresponds to the syntax

$$AUC_{CMS} \sim -1 + I(C11.8 - C0.5) + AUC_{col} + I(CrCl * AUC_{col}) + I(ECMO * AUC_{col})$$

#### 5. Removal of a constant amount of colistin from the available colistin through ECMO

ECMO removes a constant amount of colistin from the available amount of colistin, thereby reducing the  $AUC_{col}$  for colistin by the constant  $a$ . Consequently, the equation assumes the form

$$AUC_{CMS} = \frac{\Delta[colistin]}{k_1} + \frac{k_2}{k_1} (AUC_{col} - a \cdot ECMO) + \frac{k_{R_{col}}}{k_1} \cdot CrCl \cdot (AUC_{col} - a \cdot ECMO)$$

After adjustment, we obtain the equation

$$AUC_{CMS} = \frac{\Delta[colistin]}{k_1} + \frac{k_2}{k_1} \cdot AUC_{col} + \frac{k_{R_{col}}}{k_1} \cdot CrCl \cdot AUC_{col} - a \left( \frac{k_2}{k_1} + \frac{k_{R_{col}}}{k_1} \cdot CrCl \right) \cdot ECMO$$

The term  $\left( \frac{k_2}{k_1} + \frac{k_{R_{col}}}{k_1} \cdot CrCl \right)$  prior to ECMO remains approximately constant. Consequently, in R language, the equation corresponds to the syntax

$$AUC_{CMS} \sim -1 + I(C11.8 - C0.5) + AUC_{col} + I(CrCl * AUC_{col}) + ECMO$$

### S3.2 Calculation of the change in AUC of colistin due to the utilization of ECMO

The data demonstrate that ECMO has no direct impact on colistin elimination; however, it does reduce  $AUC_{col}$  through increased elimination of CMS, namely by reducing  $AUC_{CMS}$ . Furthermore, the data indicate that the elimination of CMS by ECMO is not concentration-dependent, but rather that ECMO removes a constant amount (or constant percentage) of CMS, as described by submodels 2 and 3 for CMS.

The following calculation quantifies the impact of eliminating CMS via ECMO on the reduction of the  $AUC_{col}$ . Two variants are considered, corresponding to submodels 2 and 3 for CMS.

- 1) ECMO removes a constant amount from the administered dose of CMS
- 2) ECMO removes a constant percentage from the administered dose of CMS

- 1) For the case that ECMO removes a constant amount from the administered dose of CMS, the following equation was derived in Appendix 1.

$$D = a \cdot ECMO + k \cdot V_d^{CMS} \cdot AUC_{CMS} + k_R \cdot V_d^{CMS} \cdot CrCl \cdot AUC_{CMS}$$

For the sake of simplicity, we denote the constants preceding the variables as  $a$ ,  $b$ , and  $c$ . Their values were obtained by solving a linear regression model.

$$D = a \cdot ECMO + b \cdot AUC + c \cdot CrCl \cdot AUC_{CMS}$$

Hence,

$$AUC_{CMS} = \frac{D - a \cdot ECMO}{b + c \cdot CrCl}$$

Upon renaming the constants in equation (3) as  $d$ ,  $e$ ,  $f$ , and  $g$ , we obtain

$$AUC_{CMS} = d \cdot \Delta[\text{colistin}] + e \cdot AUC_{col} + f \cdot CrCl \cdot AUC_{col} - g \cdot ECMO$$

After substituting into the previous equation and adjusting, we obtain

$$AUC_{col} = \text{členy bez ECMO} - \frac{\frac{a}{b+c \cdot CrCl} + g}{e + f \cdot CrCl} \cdot ECMO$$

The subtraction of  $AUC_{col}$  without and with ECMO provides an expression for the reduction in  $AUC_{col}$  attributable to ECMO.

$$\Delta AUC_{col} = \frac{\frac{a}{b+c \cdot CrCl} + g}{e + f \cdot CrCl}$$

- 2) For the case that ECMO removes a constant percentage from the administered dose of CMS, the following equation was derived in Appendix 1.

$$\ln[CMS] = -\ln V_d^{CMS} + \ln D + \ln a \cdot ECMO - k_r \cdot t - k_R \cdot CrCl \cdot t$$

Upon renaming the constants as a, b, c, d, and f and the elimination of the logarithms, we obtain

$$[CMS] = e^{a+b \ln D + c \cdot ECMO} \cdot e^{t \cdot (d+f \cdot CrCl)}$$

Upon integration over a single dosing interval T,

$$\int_0^T [CMS] \cdot dt = e^{a+b \ln D + c \cdot ECMO} \cdot \int_0^T e^{t \cdot (d+f \cdot CrCl)} dt,$$

we obtain an expression

$$AUC_{CMS} = \frac{e^{a+b \ln D + c \cdot ECMO}}{d + f \cdot CrCl} \cdot (e^{T \cdot (d+f \cdot CrCl)} - 1)$$

The expression is substituted into the equation. After renaming the constants to g, h, i, and j and expressing  $AUC_{col}$ , the resulting equation is

$$AUC_{col} = \frac{AUC_{CMS} - g \cdot \Delta[\text{colistin}] - j \cdot ECMO}{h + i \cdot CrCl}$$

The subtraction of the terms for ECMO = 0 and ECMO = 1 yields an expression for the reduction in  $AUC_{col}$  attributable to ECMO,  $\Delta AUC_{col}$ .

### S3.3 Syntax of calculations of linear mixed-effects regression models

The following syntax was employed in calculating linear mixed-effects regression models in R-language, utilizing the lme function from the nlme library.

1. `model_without_ECMO = lme(ConcLog ~ 1 + I(log(D)) + time + I(time*CrCl),  
random = ~ 1 + time | ID_internal, data = CMSall, method = "ML")`  
`model_with_ECMO = lme(ConcLog ~ 1 + I(log(D)) + time + I(time*CrCl) + I(time*ECMO),  
random = ~ 1 + time | ID_internal, data = CMSall, method = "ML")`
2. `model_without_ECMO = lme(ConcLog ~ 1 + I(log(D)) + time + I(time*CrCl),  
random = ~ 1 + time | ID_internal, data = CMSall, method = "ML")`  
`model_with_ECMO = lme(ConcLog ~ 1 + I(log(D)) + time + I(time*CrCl) + ECMO ,  
random = ~ 1 + time | ID_internal, data = CMSall, method = "ML")`

3.  $\text{model\_without\_ECMO} = \text{lme}(D \sim -1 + \text{CMS\_AUC} + I(\text{CrCl} * \text{CMS\_AUC}),$   
 $\text{random} = \sim -1 + \text{CMS\_AUC} \mid \text{xID}, \text{data} = \text{PS}, \text{method} = "ML")$   
 $\text{model\_with\_ECMO\_S\_ECMO} = \text{lme}(D \sim -1 + \text{ECMO} + \text{CMS\_AUC} + I(\text{CrCl} * \text{CMS\_AUC}),$   
 $\text{random} = \sim -1 + \text{CMS\_AUC} \mid \text{xID}, \text{data} = \text{PS}, \text{method} = "ML")$
4.  $\text{model\_without\_ECMO} = \text{lme}(\text{CMS\_AUC} \sim -1 + I(\text{C11.8} - \text{C0.5}) + \text{col\_AUC} + I(\text{col\_AUC} * \text{CrCl}),$   
 $\text{random} = \sim -1 + I(\text{C11.8} - \text{C0.5}) \mid \text{xID}, \text{data} = \text{PS}, \text{method} = "ML")$   
 $\text{model\_with\_ECMO} = \text{lme}(\text{CMS\_AUC} \sim -1 + I(\text{C11.8} - \text{C0.5}) + \text{col\_AUC} + I(\text{col\_AUC} * \text{CrCl}) +$   
 $I(\text{col\_AUC} * \text{ECMO}), \text{random} = \sim -1 + I(\text{C11.8} - \text{C0.5}) \mid \text{xID}, \text{data} = \text{PS}, \text{method} = "ML")$
5.  $\text{model\_without\_ECMO} = \text{lme}(\text{CMS\_AUC} \sim -1 + I(\text{C11.8} - \text{C0.5}) + \text{col\_AUC} + I(\text{col\_AUC} * \text{CrCl}),$   
 $\text{random} = \sim -1 + I(\text{C11.8} - \text{C0.5}) \mid \text{xID}, \text{data} = \text{PS}, \text{method} = "ML")$   
 $\text{model\_with\_ECMO} = \text{lme}(\text{CMS\_AUC} \sim -1 + I(\text{C11.8} - \text{C0.5}) + \text{col\_AUC} + I(\text{col\_AUC} * \text{CrCl}) + \text{ECMO},$   
 $\text{random} = \sim -1 + I(\text{C11.8} - \text{C0.5}) \mid \text{xID}, \text{data} = \text{PS}, \text{method} = "ML")$

### S3.4 Linear mixed-effects regression model - results

The calculation was performed for all CMS administrations together and separately for the LD and MDs.

**Table S3.** Results of different models of CMS and colistin elimination by the ECMO circuit

|                                                                       | administration |              |                   |
|-----------------------------------------------------------------------|----------------|--------------|-------------------|
|                                                                       | all            | loading dose | maintenance doses |
| Elimination of CMS in a concentration-dependent manner                |                |              |                   |
| Model comparison (p-value)                                            | 0.5518         | 0.1586       | 0.2323            |
| Analysed plasma concentrations (n)                                    | 143            | 43           | 100               |
| Removal of a constant percentage of the administered dose of CMS      |                |              |                   |
| Model comparison (p-value)                                            | 0.0483         | 0.9772       | 0.0012            |
| Removal of CMS through ECMO                                           | -              | -            | 40%               |
| Analysed plasma concentrations (n)                                    | 143            | 43           | 100               |
| Removal of a constant amount of CMS from the administered dose of CMS |                |              |                   |
| Model comparison (p-value)                                            | 0.1099         | 0.3295       | <0.0001           |
| Removal of CMS through ECMO                                           | -              | -            | 36%               |
| Analysed dosing intervals (n)                                         | 35             | 10           | 25                |
| Elimination of colistin in a concentration-dependent manner           |                |              |                   |
| Model comparison p-value                                              | 0.853          | 0.4017       | 0.939             |
| Analysed dosing intervals (n)                                         | 35             | 10           | 25                |
| Removal of a constant amount of colistin from the available colistin  |                |              |                   |
| Model comparison (p-value)                                            | 0.7019         | 0.1996       | 0.6238            |
| Analysed dosing intervals (n)                                         | 35             | 10           | 25                |

p-values were obtained from the ANOVA test comparing the regression model without and with the inclusion of ECMO as a covariate.

In the case of removing a constant percentage of CMS, the effect of ECMO is significant for all administrations, highly significant for repeated doses and non-significant for the LD. The model also provides superior data fitting with a lower AIC compared to the previous concentration-dependent model. For repeated doses, ECMO eliminates approximately 40% of the administered CMS dose. The effects of both dose of CMS and creatinine clearance were highly significant (p-values 0.0027 and 0.0009, respectively).

When the removal of a constant amount of CMS is considered, the effect of ECMO is non-significant for all administrations and the LD but highly significant for repeated doses when ECMO eliminates approximately 1.6 MIU of CMS per dosing interval, which corresponds to 36% of the usual administered dose. The effects of both dose of CMS, reflected as AUC of CMS, and CrCL were highly significant (p-values 0.0006 and 0.004, respectively).

**S4 References**

1. Nation RL, Garonzik SM, Thamlikitkul V, et al. Dosing guidance for intravenous colistin in critically-ill patients. *Clin Infect Dis*. 2017;64(5):565-571. doi:10.1093/cid/ciw839
2. Tsuji BT, Pogue JM, Zavascki AP, et al. International Consensus Guidelines for the Optimal Use of the Polymyxins: Endorsed by the American College of Clinical Pharmacy (ACCP), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), Infectious Diseases Society of America (IDSA), International Society for Anti-infective Pharmacology (ISAP), Society of Critical Care Medicine (SCCM), and Society of Infectious Diseases Pharmacists (SIDP). *Pharmacotherapy*. 2019;39(1):10-39. doi:10.1002/phar.2209
3. Fan Y, Li Y, Chen Y, et al. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Colistin Methanesulfonate in Healthy Chinese Subjects after Multi-Dose Regimen. *Antibiotics (Basel)*. 2022;11(6):798. doi:10.3390/antibiotics11060798
4. Grégoire N, Aranzana-Climent V, Magréault S, Marchand S, Couet W. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Colistin. *Clin Pharmacokinet*. 2017;56(12):1441-1460. doi:10.1007/s40262-017-0561-1

## 4 Závěr

Kolistin jako rezervní antibiotikum představuje jednu z limitovaného počtu alternativ pro terapii infekcí způsobených multirezistentními gram-negativními bakteriemi. Potřeba použít dostatečně vysoké dávky pro dosažení terapeutických cílů, ale zároveň úzké terapeutické rozmezí kolistinu a vysoká inter- a intraindividuální variabilita jeho farmakokinetiky především u kriticky nemocných pacientů ztěžují nalezení rovnováhy mezi benefitem léčby a jejími riziky. Cestu tak představuje terapeutické monitorování léčiv (TDM).

V úvodu této habilitační práce byly zmíněny hlavní limity pro provádění TDM kolistinu v klinické praxi. Byla to především nedostupnost metody pro souběžné stanovení kolistinu a CMS v ČR, omezené množství stabilitních dat kolistinu a CMS v podmínkách reflektujících běžné preanalytické zpracování vzorku, absence populačního farmakokinetického modelu pro kriticky nemocné. Komentované publikace zahrnuté do této habilitační práce poskytují data, která tyto limity odstraňují.

Podarilo se zavést spolehlivou, rychlou a levnou metodu umožňující stanovení obou léčiv současně. Na druhé straně z výsledků klinické studie COL-ECMO2022 nevyplyvá, že by znalost plazmatické koncentrace CMS zpřesnila prediktivní schopnost populačního modelu. V rámci TDM v běžné praxi tedy bude postačovat stanovení plazmatické koncentrace kolistinu samotného.

Metoda umožňující stanovení CMS a kolistinu současně má ale své uplatnění ve stabilitních testech. Aktuálně máme k dispozici krátkodobá stabilitní data pro CMS a kolistin v plazmě při tělesné a laboratorní teplotě. Plánujeme ale data rozšířit na další biologické substráty (krev, sérum), doplnit další koncentrace CMS a otestovat stabilitní data pro opakované rozmrazování a zmrazování vzorku. Tedy data, která více reflektují podmínky reálné praxe. Metodu rovněž plánujeme využít v *ex vivo* testování adsorpce CMS a kolistinu na materiály ECMO okruhů (metodika tohoto pokusu je uvedena v Příloze 3). Pomocí výsledků *ex vivo* pokusu budeme schopni potvrdit závěry klinické studie COL-ECMO2022, že sekvestrace kolistinu nedosahuje klinicky významných hodnot. Výsledky zde nebudou zatíženy variabilitou farmakokinetiky kriticky nemocných pacientů. *Ex vivo* pokus také může přispět k ozřejnění charakteru adsorpce CMS na materiály ECMO okruhu identifikované lineárním smíšeným regresním modelem.

Výsledky klinické studie COL-ECMO2022 potvrdily významnou variabilitu farmakokinetiky v populaci kriticky nemocných pacientů a podtrhly tak potřebu dostupnosti TDM v běžné klinické praxi. Pouze s jeho pomocí budeme lépe schopni zajistit bezpečnost a účinnost terapie kolistinem. Ač reálný přínos TDM pro klinický výsledek léčby musí být předmětem dalšího výzkumu. Na základě výsledků studie COL-ECMO2022 bylo také navrženo modifikované dávkování CMS pro kriticky nemocné pacienty odstupňované dle rychlosti glomerulární filtrace, a to včetně úpravy výše nasycovací

dávky. Záměrem další klinické studie tak pochopitelně bude toto dávkování ověřit. Stejně tak je nutné pomocí dalších farmakokinetických dat zpřesnit a externě validovat navržený populační model.

Kolistin je v mnoha ohledech specifické a komplikované léčivo, o kterém máme navzdory délce jeho použití stále limitované znalosti. Tato habilitační práce a komentované publikace se soustředily na získání klinicky relevantních informací k racionálnímu použití kolistinu v péči o kriticky nemocné pacienty. Dosavadní výsledky staví pevné základy pro zavedení TDM kolistinu do rutinní praxe a opodstatňují jeho význam, otevírají ale současně i příležitosti pro další výzkum. Habilitační práce rovněž na příkladu kolistinu ilustruje širší klinické farmakologie jako vědy.

## Použité zdroje

1. Jansson B, Karvanen M, Cars O, Plachouras D, Friberg LE. Quantitative analysis of colistin A and colistin B in plasma and culture medium using a simple precipitation step followed by LC/MS/MS. *J Pharm Biomed Anal.* 2009;49(3):760–767. doi:10.1016/j.jpba.2008.12.016
2. Bialvaei AZ, Samadi Kafil H. Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Curr Med Res Opin.* 2015;31(4):707–721. doi:10.1185/03007995.2015.1018989
3. Cai Y, Lee W, Kwa AL. Polymyxin B versus colistin: an update. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2015;13(12):1481–1497. doi:10.1586/14787210.2015.1093933
4. Roberts KD, Azad MAK, Wang J, et al. Antimicrobial Activity and Toxicity of the Major Lipopeptide Components of Polymyxin B and Colistin: Last-line Antibiotics against Multidrug-Resistant Gram-negative Bacteria. *ACS Infect Dis.* 2015;1(11):568–575. doi:10.1021/acsinfecdis.5b00085
5. Andrade FF, Silva D, Rodrigues A, Pina-Vaz C. Colistin Update on Its Mechanism of Action and Resistance, Present and Future Challenges. *Microorganisms.* 2020;8(11):1716. doi:10.3390/microorganisms8111716
6. Gobin P, Lemaître F, Marchand S, Couet W, Olivier JC. Assay of Colistin and Colistin Methanesulfonate in Plasma and Urine by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(5):1941–1948. doi:10.1128/AAC.01367-09
7. NIH National Library of Medicine NCBI. PubChem Compound Summary for Colistin B, CID 25138298. Accessed March 23, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/25138298>
8. NIH National Library of Medicine NCBI. PubChem Compound Summary for Colistin A, CID 202195. Accessed March 23, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/24825758>
9. Binhashim NH, Alvi SN, Hammami MM. LC-MS/MS Method for Determination of Colistin in Human Plasma: Validation and Stability Studies. *Int J Anal Mass Spectrom Chromatogr.* 2021;9(1):1–11. doi:10.4236/ijamsc.2021.91001
10. Wallace SJ, Li J, Rayner CR, Coulthard K, Nation RL. Stability of colistin methanesulfonate in pharmaceutical products and solutions for administration to patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52(9):3047–3051. doi:10.1128/AAC.00103-08

11. Healan AM, Gray W, Fuchs EJ, Griffiss JM, Salata RA, Blumer J. Stability of colistimethate sodium in aqueous solution. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(12):6432–6433. doi:10.1128/AAC.01079-12
12. Abdulla A, van Leeuwen RWF, de Vries Schultink AHM, Koch BCP. Stability of colistimethate sodium in a disposable elastomeric infusion device. *Int J Pharm*. 2015;486(1–2):367–369. doi:10.1016/j.ijpharm.2015.04.008
13. Post TE, Kamerling IMC, van Rossen RCJM, et al. Colistin methanesulfonate infusion solutions are stable over time and suitable for home administration. *Eur J Hosp Pharm Sci Pract*. 2018;25(6):337–339. doi:10.1136/ejpharm-2016-001128
14. Dudhani RV, Nation RL, Li J. Evaluating the stability of colistin and colistin methanesulphonate in human plasma under different conditions of storage. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65(7):1412–1415. doi:10.1093/jac/dkq134
15. Velkov T, Thompson PE, Nation RL, Li J. Structure—Activity Relationships of Polymyxin Antibiotics. *J Med Chem*. 2010;53(5):1898–1916. doi:10.1021/jm900999h
16. Trimble MJ, Mlynářčík P, Kolář M, Hancock REW. Polymyxin: Alternative Mechanisms of Action and Resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2016;6(10):a025288. doi:10.1101/cshperspect.a025288
17. Warren HS, Kania SA, Siber GR. Binding and neutralization of bacterial lipopolysaccharide by colistin nonapeptide. *Antimicrob Agents Chemother*. 1985;28(1):107–112. doi:10.1128/aac.28.1.107
18. Deris ZZ, Akter J, Sivanesan S, et al. A secondary mode of action of polymyxins against Gram-negative bacteria involves the inhibition of NADH-quinone oxidoreductase activity. *J Antibiot (Tokyo)*. 2014;67(2):147–151. doi:10.1038/ja.2013.111
19. Sampson TR, Liu X, Schroeder MR, Kraft CS, Burd EM, Weiss DS. Rapid Killing of *Acinetobacter baumannii* by Polymyxins Is Mediated by a Hydroxyl Radical Death Pathway. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(11):5642–5649. doi:10.1128/AAC.00756-12
20. Clancy CJ, Potoski BA, Buehrle D, Nguyen MH. Estimating the Treatment of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Infections in the United States Using Antibiotic Prescription Data. *Open Forum Infect Dis*. 2019;6(8):ofz344. doi:10.1093/ofid/ofz344
21. Poirel L, Jayol A, Nordmann P. Polymyxins: Antibacterial Activity, Susceptibility Testing, and Resistance Mechanisms Encoded by Plasmids or Chromosomes. *Clin Microbiol Rev*. 2017;30(2):557–596. doi:10.1128/CMR.00064-16

22. Tsuji BT, Pogue JM, Zavascki AP, et al. International Consensus Guidelines for the Optimal Use of the Polymyxins: Endorsed by the American College of Clinical Pharmacy (ACCP), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), Infectious Diseases Society of America (IDSA), International Society for Anti-infective Pharmacology (ISAP), Society of Critical Care Medicine (SCCM), and Society of Infectious Diseases Pharmacists (SIDP). *Pharmacotherapy*. 2019;39(1):10–39. doi:10.1002/phar.2209
23. Tamma PD, Aitken SL, Bonomo RA, Mathers AJ, van Duin D, Clancy CJ. Infectious Diseases Society of America Guidance on the Treatment of AmpC  $\beta$ -Lactamase-Producing Enterobacterales, Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*, and *Stenotrophomonas maltophilia* Infections. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2022;74(12):2089–2114. doi:10.1093/cid/ciab1013
24. European Committee in Antimicrobial Susceptibility Testing. MIC and Zone Distributions and ECOFFs. Accessed March 23, 2025. <https://www.eucast.org/>
25. Rychlíčková J, Kubíčková V. [Pharmacological properties of colistin]. *Klin Mikrobiol Infekcni Lek*. 2022;28(2):59–64.
26. Michalopoulos AS, Falagas ME. Colistin: recent data on pharmacodynamics properties and clinical efficacy in critically ill patients. *Ann Intensive Care*. 2011;1:30. doi:10.1186/2110-5820-1-30
27. Couet W, Grégoire N, Gobin P, et al. Pharmacokinetics of colistin and colistimethate sodium after a single 80-mg intravenous dose of CMS in young healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther*. 2011;89(6):875–879. doi:10.1038/clpt.2011.48
28. Son JY, Kim S, Porsuk T, Shin S, Choi YJ. Clinical outcomes of colistin methanesulfonate sodium in correlation with pharmacokinetic parameters in critically ill patients with multi-drug resistant bacteria-mediated infection: A systematic review and meta-analysis. *J Infect Public Health*. 2024;17(5):843–853. doi:10.1016/j.jiph.2024.03.021
29. Kristoffersson AN, Rognås V, Brill MJE, et al. Population pharmacokinetics of colistin and the relation to survival in critically ill patients infected with colistin susceptible and carbapenem-resistant bacteria. *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(12):1644–1650. doi:10.1016/j.cmi.2020.03.016
30. Nation RL, Garonzik SM, Thamlikitkul V, et al. Dosing guidance for intravenous colistin in critically-ill patients. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2017;64(5):565–571. doi:10.1093/cid/ciw839
31. Mizuyachi K, Hara K, Wakamatsu A, Nohda S, Hiramata T. Safety and pharmacokinetic evaluation of intravenous colistin methanesulfonate sodium in Japanese

- healthy male subjects. *Curr Med Res Opin.* 2011;27(12):2261–2270. doi:10.1185/03007995.2011.626557
32. Kim EJ, Oh J, Lee K, et al. Pharmacokinetic Characteristics and Limited Sampling Strategies for Therapeutic Drug Monitoring of Colistin in Patients With Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Infections. *Ther Drug Monit.* 2019;41(1):102–106. doi:10.1097/FTD.0000000000000572
33. Karaiskos I, Friberg LE, Pontikis K, et al. Colistin Population Pharmacokinetics after Application of a Loading Dose of 9 MU Colistin Methanesulfonate in Critically Ill Patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(12):7240–7248. doi:10.1128/AAC.00554-15
34. Markou N, Fousteri M, Markantonis SL, et al. Colistin pharmacokinetics in intensive care unit patients on continuous venovenous haemodiafiltration: an observational study. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(10):2459–2462. doi:10.1093/jac/dks257
35. Markou N, Markantonis SL, Dimitrakis E, et al. Colistin serum concentrations after intravenous administration in critically ill patients with serious multidrug-resistant, gram-negative bacilli infections: a prospective, open-label, uncontrolled study. *Clin Ther.* 2008;30(1):143–151. doi:10.1016/j.clinthera.2008.01.015
36. Grégoire N, Mimoz O, Mégarbane B, et al. New colistin population pharmacokinetic data in critically ill patients suggesting an alternative loading dose rationale. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(12):7324–7330. doi:10.1128/AAC.03508-14
37. Plachouras D, Karvanen M, Friberg LE, et al. Population pharmacokinetic analysis of colistin methanesulfonate and colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(8):3430–3436. doi:10.1128/AAC.01361-08
38. Mohamed AF, Karaiskos I, Plachouras D, et al. Application of a loading dose of colistin methanesulfonate in critically ill patients: population pharmacokinetics, protein binding, and prediction of bacterial kill. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(8):4241–4249. doi:10.1128/AAC.06426-11
39. Menna P, Salvatorelli E, Mattei A, Cappiello D, Minotti G, Carassiti M. Modified Colistin Regimen for Critically Ill Patients with Acute Renal Impairment and Continuous Renal Replacement Therapy. *Chemotherapy.* 2018;63(1):35–38. doi:10.1159/000484974

40. Abdul-Aziz MH, Alffenaar JWC, Bassetti M, et al. Antimicrobial therapeutic drug monitoring in critically ill adult patients: a Position Paper#. *Intensive Care Med.* 2020;46(6):1127–1153. doi:10.1007/s00134-020-06050-1
41. Nation RL, Li J, Cars O, et al. Framework for optimisation of the clinical use of colistin and polymyxin B: the Prato polymyxin consensus. *Lancet Infect Dis.* 2015;15(2):225–234. doi:10.1016/S1473-3099(14)70850-3
42. Theuretzbacher U. Product information for parenteral colistin varies substantially across Europe. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69(7):1987–1992. doi:10.1093/jac/dku064
43. Státní ústav pro kontrolu léčiv. COLOMYCIN, 1MIU INJ/INF PLV SOL/SOL NEB 10X1MIU, SmPC. <https://prehledy.sukl.cz/prehledy/v1/dokumenty/59934>
44. Gontijo AVL, Cavalieri AVG. Individualized optimization of colistin loading doses. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2023;50(1):11–20. doi:10.1007/s10928-022-09831-x
45. Karaiskos I, Friberg LE, Galani L, et al. Challenge for higher colistin dosage in critically ill patients receiving continuous venovenous haemodiafiltration. *Int J Antimicrob Agents.* 2016;48(3):337–341. doi:10.1016/j.ijantimicag.2016.06.008
46. Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, et al. Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and formed colistin in critically ill patients from a multicenter study provide dosing suggestions for various categories of patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(7):3284–3294. doi:10.1128/AAC.01733-10
47. Leuppi-Taegtmeyer AB, Decosterd L, Osthoff M, Mueller NJ, Buclin T, Corti N. Multicenter Population Pharmacokinetic Study of Colistimethate Sodium and Colistin Dosed as in Normal Renal Function in Patients on Continuous Renal Replacement Therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019;63(2):e01957–18. doi:10.1128/AAC.01957-18
48. Karvanen M, Plachouras D, Friberg LE, et al. Colistin Methanesulfonate and Colistin Pharmacokinetics in Critically Ill Patients Receiving Continuous Venovenous Hemodiafiltration. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(1):668–671. doi:10.1128/AAC.00985-12
49. Li J, Rayner CR, Nation RL, et al. Pharmacokinetics of Colistin Methanesulfonate and Colistin in a Critically Ill Patient Receiving Continuous Venovenous Hemodiafiltration. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49(11):4814–4815. doi:10.1128/AAC.49.11.4814-4815.2005

- 
50. Mariano F, Leporati M, Carignano P, Stella M, Vincenti M, Biancone L. Efficient removal of colistin A and B in critically ill patients undergoing CVVHDF and sorbent technologies. *J Nephrol*. 2015;28(5):623–631. doi:10.1007/s40620-014-0143-3
51. Akers KS, Rowan MP, Niece KL, et al. Colistin pharmacokinetics in burn patients during continuous venovenous hemofiltration. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(1):46–52. doi:10.1128/AAC.03783-14
52. De Pascale G, Lisi L, Cutuli SL, et al. High-dose colistin pharmacokinetics in critically ill patients receiving continuous renal replacement therapy. *Ann Intensive Care*. 2024;14(1):152. doi:10.1186/s13613-024-01384-1
53. Justo JA, Bosso JA. Adverse reactions associated with systemic polymyxin therapy. *Pharmacotherapy*. 2015;35(1):28–33. doi:10.1002/phar.1493
54. Spapen H, Jacobs R, Van Gorp V, Troubleyn J, Honoré PM. Renal and neurological side effects of colistin in critically ill patients. *Ann Intensive Care*. 2011;1:14. doi:10.1186/2110-5820-1-14
55. Almutairy R, Aljrarri W, Noor A, et al. Impact of Colistin Dosing on the Incidence of Nephrotoxicity in a Tertiary Care Hospital in Saudi Arabia. *Antibiotics*. 2020;9(8):485. doi:10.3390/antibiotics9080485
56. Oliota AF, Penteado ST, Tonin FS, Fernandez-Llimos F, Sanches AC. Nephrotoxicity prevalence in patients treated with polymyxins: a systematic review with meta-analysis of observational studies. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2019;94(1):41–49. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2018.11.008
57. Pogue JM, Lee J, Marchaim D, et al. Incidence of and risk factors for colistin-associated nephrotoxicity in a large academic health system. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2011;53(9):879–884. doi:10.1093/cid/cir611
58. Sorlí L, Luque S, Grau S, et al. Trough colistin plasma level is an independent risk factor for nephrotoxicity: a prospective observational cohort study. *BMC Infect Dis*. 2013;13:380. doi:10.1186/1471-2334-13-380
59. Chien HT, Lin YC, Sheu CC, Hsieh KP, Chang JS. Is colistin-associated acute kidney injury clinically important in adults? A systematic review and meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents*. 2020;55(3):105889. doi:10.1016/j.ijantimicag.2020.105889
60. Horcajada JP, Sorlí L, Luque S, et al. Validation of a colistin plasma concentration breakpoint as a predictor of nephrotoxicity in patients treated with colistin methanesulfonate. *Int J Antimicrob Agents*. 2016;48(6):725–727. doi:10.1016/j.ijantimicag.2016.08.020

61. DeRyke CA, Crawford AJ, Uddin N, Wallace MR. Colistin Dosing and Nephrotoxicity in a Large Community Teaching Hospital. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(10):4503–4505. doi:10.1128/AAC.01707-09
62. Sisay M, Hagos B, Edessa D, Tadiwos Y, Mekuria AN. Polymyxin-induced nephrotoxicity and its predictors: a systematic review and meta-analysis of studies conducted using RIFLE criteria of acute kidney injury. *Pharmacol Res*. 2021;163:105328. doi:10.1016/j.phrs.2020.105328
63. Miano TA, Lautenbach E, Wilson FP, Guo W, Borovskiy Y, Hennessy S. Attributable Risk and Time Course of Colistin-Associated Acute Kidney Injury. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2018;13(4):542–550. doi:10.2215/CJN.06980717
64. Campbell RE, Chen CH, Edelstein CL. Overview of Antibiotic-Induced Nephrotoxicity. *Kidney Int Rep*. 2023;8(11):2211–2225. doi:10.1016/j.ekir.2023.08.031
65. Wang J, Niu H, Wang R, Cai Y. Safety and efficacy of colistin alone or in combination in adults with *Acinetobacter baumannii* infection: A systematic review and meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents*. 2019;53(4):383–400. doi:10.1016/j.ijantimicag.2018.10.020
66. Nigam A, Kumari A, Jain R, Batra S. Colistin neurotoxicity: revisited. *BMJ Case Rep*. 2015;2015:bcr2015210787. doi:10.1136/bcr-2015-210787
67. Camargo C, Narula T, Jackson DA, Padro T, Freeman WD. Colistin neurotoxicity mimicking Guillain-Barré syndrome in a patient with cystic fibrosis: case report and review. *Oxf Med Case Rep*. 2021;2021(9):omab080. doi:10.1093/omcr/omab080
68. Mansour MK, Mohamed A, Raghunathan R. Colistin induced neurotoxicity with bulbar palsy. A case report and literature review. *IDCases*. 2024;38:e02116. doi:10.1016/j.idcr.2024.e02116
69. Morales Castro D, Dresser L, Granton J, Fan E. Pharmacokinetic Alterations Associated with Critical Illness. *Clin Pharmacokinet*. 2023;62(2):209–220. doi:10.1007/s40262-023-01213-x
70. Bilbao-Meseguer I, Rodríguez-Gascón A, Barrasa H, Isla A, Solinís MÁ. Augmented Renal Clearance in Critically Ill Patients: A Systematic Review. *Clin Pharmacokinet*. 2018;57(9):1107–1121. doi:10.1007/s40262-018-0636-7
71. Blot S, Pea F, Lipman J. The effect of pathophysiology on pharmacokinetics in the critically ill patient--concepts appraised by the example of antimicrobial agents. *Adv Drug Deliv Rev*. 2014;77:3–11. doi:10.1016/j.addr.2014.07.006

72. Saran S, Rao NS, Azim A. Drug Dosing in Critically Ill Patients with Acute Kidney Injury and on Renal Replacement Therapy. *Indian J Crit Care Med Peer-Rev Off Publ Indian Soc Crit Care Med*. 2020;24(Suppl 3):S129–S134. doi:10.5005/jp-journals-10071-23392
73. Ewoldt TM, Abdulla A, Hunfeld N, et al. The impact of sepsis on hepatic drug metabolism in critically ill patients: a narrative review. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2022;18(6):413–421. doi:10.1080/17425255.2022.2106215
74. Roberts DJ, Hall RI. Drug absorption, distribution, metabolism and excretion considerations in critically ill adults. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2013;9(9):1067–1084. doi:10.1517/17425255.2013.799137
75. Jang SM, Infante S, Abdi Pour A. Drug Dosing Considerations in Critically Ill Patients Receiving Continuous Renal Replacement Therapy. *Pharm J Pharm Educ Pract*. 2020;8(1):18. doi:10.3390/pharmacy8010018
76. Azad MAK, Huang JX, Cooper MA, et al. Structure–activity relationships for the binding of polymyxins with human  $\alpha$ -1-acid glycoprotein. *Biochem Pharmacol*. 2012;84(3):278–291. doi:10.1016/j.bcp.2012.05.004
77. Smeets TJL, Boly CA, Papadopoulos J, Endeman H, Hunfeld NGM. What every intensivist should know about augmented renal clearance (ARC). *J Crit Care*. 2024;84:154541. doi:10.1016/j.jcrc.2024.154541
78. Udy AA, Jarrett P, Stuart J, et al. Determining the mechanisms underlying augmented renal drug clearance in the critically ill: use of exogenous marker compounds. *Crit Care*. 2014;18(6):657. doi:10.1186/s13054-014-0657-z
79. Pickkers P, Darmon M, Hoste E, et al. Acute kidney injury in the critically ill: an updated review on pathophysiology and management. *Intensive Care Med*. 2021;47(8):835–850. doi:10.1007/s00134-021-06454-7
80. Mohsenin V. Practical approach to detection and management of acute kidney injury in critically ill patient. *J Intensive Care*. 2017;5(1):57. doi:10.1186/s40560-017-0251-y
81. Behal ML, Flannery AH, Barreto EF. Medication Management in the Critically Ill Patient with Acute Kidney Injury. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2023;18(8):1080–1088. doi:10.2215/CJN.0000000000000101
82. Matzke GR, Aronoff GR, Atkinson AJ, et al. Drug dosing consideration in patients with acute and chronic kidney disease-a clinical update from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int*. 2011;80(11):1122–1137. doi:10.1038/ki.2011.322

83. Crass RL, Rodvold KA, Mueller BA, Pai MP. Renal Dosing of Antibiotics: Are We Jumping the Gun? *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2019;68(9):1596–1602. doi:10.1093/cid/ciy790
84. Miano TA, Hennessy S, Yang W, et al. Association of vancomycin plus piperacillin-tazobactam with early changes in creatinine versus cystatin C in critically ill adults: a prospective cohort study. *Intensive Care Med*. 2022;48(9):1144–1155. doi:10.1007/s00134-022-06811-0
85. Nash DM, Przech S, Wald R, O'Reilly D. Systematic review and meta-analysis of renal replacement therapy modalities for acute kidney injury in the intensive care unit. *J Crit Care*. 2017;41:138–144. doi:10.1016/j.jcrc.2017.05.002
86. Muilwijk EW, de Lange DW, Schouten JA, et al. Suboptimal Dosing of Fluconazole in Critically Ill Patients: Time To Rethink Dosing. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020;64(10):e00984–20. doi:10.1128/AAC.00984-20
87. Coenradie SM, Smeets TJL, Kamp RC, et al. Higher doses of fluconazole are needed to ensure target attainment in critically ill adults on continuous Veno-venous hemodialysis. *J Crit Care*. 2025;85:154924. doi:10.1016/j.jcrc.2024.154924
88. Vaja R, Rana M. Drugs and the liver. *Anaesth Intensive Care Med*. 2020;21(10):517–523. doi:10.1016/j.mpaic.2020.07.001
89. Rychlíčková J, Suk P. Pět nejvýznamnějších lékových interakcí v intenzivní medicíně. *Anesteziol Intenziv Medicína*. 2023;34(4):152–156. doi:10.36290/aim.2023.053
90. Dörffler-Melly J, de Jonge E, Pont AC, et al. Bioavailability of subcutaneous low-molecular-weight heparin to patients on vasopressors. *Lancet Lond Engl*. 2002;359(9309):849–850. doi:10.1016/s0140-6736(02)07920-5
91. Forsberg J, Bedard E, Mahmoud SH. Bioavailability of Orally Administered Drugs in Critically Ill Patients. *J Pharm Pract*. 2023;36(4):967–979. doi:10.1177/08971900221100205
92. Rychlíčková J, Součková L. Biologické účinky pomocných látek používaných u intravenózně podávaných léčiv. *Klin Farmakol Farm*. 2024;38(3):112–117. doi:10.36290/far.2024.018
93. Kang JS, Lee MH. Overview of Therapeutic Drug Monitoring. *Korean J Intern Med*. 2009;24(1):1–10. doi:10.3904/kjim.2009.24.1.1
94. Koch BCP, Muller AE, Hunfeld NGM, et al. Therapeutic Drug Monitoring of Antibiotics in Critically Ill Patients: Current Practice and Future Perspectives With a

- Focus on Clinical Outcome. *Ther Drug Monit.* 2022;44(1):11–18. doi:10.1097/FTD.0000000000000942
95. Holford N, Ma G, Metz D. TDM is dead. Long live TCI! *Br J Clin Pharmacol.* 2022;88(4):1406–1413. doi:10.1111/bcp.14434
96. Minichmayr IK, Dreesen E, Centanni M, et al. Model-informed precision dosing: State of the art and future perspectives. *Adv Drug Deliv Rev.* 2024;215:115421. doi:10.1016/j.addr.2024.115421
97. Berezowska M, Hayden IS, Brandon AM, et al. Recommended approaches for integration of population pharmacokinetic modelling with precision dosing in clinical practice. *Br J Clin Pharmacol.* Published online November 21, 2024. doi:10.1111/bcp.16335
98. Wicha SG, Märtsen AG, Nielsen EI, et al. From Therapeutic Drug Monitoring to Model-Informed Precision Dosing for Antibiotics. *Clin Pharmacol Ther.* 2021;109(4):928–941. doi:10.1002/cpt.2202
99. Berezowska M, Hayden IS, Brandon AM, et al. Recommended approaches for integration of population pharmacokinetic modelling with precision dosing in clinical practice. *Br J Clin Pharmacol.* 2025(91):1064–1079. doi:10.1111/bcp.16335
100. Kiang TKL, Sherwin CMT, Spigarelli MG, Ensom MHH. Fundamentals of Population Pharmacokinetic Modelling : Modelling and Software. *Clin Pharmacokinet.* 2012;51(8):515–525. doi:10.1007/BF03261928
101. Mould DR, Upton RN. Basic Concepts in Population Modeling, Simulation, and Model-Based Drug Development—Part 2: Introduction to Pharmacokinetic Modeling Methods. *CPT Pharmacomet Syst Pharmacol.* 2013;2(4):e38. doi:10.1038/psp.2013.14
102. Mould DR, Upton RN. Basic Concepts in Population Modeling, Simulation, and Model-Based Drug Development. *CPT Pharmacomet Syst Pharmacol.* 2012;1(9):e6. doi:10.1038/psp.2012.4
103. Hlaváč J, Šíma M, Slanař O. Population approach in pharmacokinetic analysis. *Klin Farmakol Farm.* 2023;37(3):102–107. doi:10.36290/far.2023.018
104. European Medicines Agency. Guideline on reporting the results of population pharmacokinetic analyses. June 21, 2007. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-reporting-results-population-pharmacokinetic-analyses\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-reporting-results-population-pharmacokinetic-analyses_en.pdf)

105. Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Population Pharmacokinetics. February 1, 2022. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/population-pharmacokinetics>
106. *Regulation (EU) 2017/745 of the European Parliament and of the Council of 5 April 2017 on Medical Devices, Amending Directive 2001/83/EC, Regulation (EC) No 178/2002 and Regulation (EC) No 1223/2009 and Repealing Council Directives 90/385/EEC and 93/42/EEC.*; 2024. Accessed May 4, 2025. <http://data.europa.eu/eli/reg/2017/745/2024-07-09/eng>
107. Hahn J, Choi JH, Chang MJ. Pharmacokinetic changes of antibiotic, antiviral, antituberculosis and antifungal agents during extracorporeal membrane oxygenation in critically ill adult patients. *J Clin Pharm Ther.* 2017;42(6):661–671. doi:10.1111/jcpt.12636
108. Cheng V, Abdul-Aziz MH, Roberts JA, Shekar K. Optimising drug dosing in patients receiving extracorporeal membrane oxygenation. *J Thorac Dis.* 2018;10(Suppl 5):S629–S641. doi:10.21037/jtd.2017.09.154
109. Dilawri A, Muir J, Brodie D, et al. Practices surrounding antimicrobial use in patients managed with extracorporeal membrane oxygenation: An international survey. *J Crit Care.* 2024;81:154534. doi:10.1016/j.jcrc.2024.154534
110. Kim M, Mahmood M, Estes LL, et al. A narrative review on antimicrobial dosing in adult critically ill patients on extracorporeal membrane oxygenation. *Crit Care.* 2024;28:326. doi:10.1186/s13054-024-05101-z
111. Sherwin J, Heath T, Watt K. Pharmacokinetics and Dosing of Anti-Infective Drugs in Patients on Extracorporeal Membrane Oxygenation: A Review of the Current Literature. *Clin Ther.* 2016;38(9):1976–1994. doi:10.1016/j.clinthera.2016.07.169
112. Duceppe MA, Kanji S, Do AT, et al. Pharmacokinetics of Commonly Used Antimicrobials in Critically Ill Adults During Extracorporeal Membrane Oxygenation: A Systematic Review. *Drugs.* 2021;81(11):1307–1329. doi:10.1007/s40265-021-01557-3
113. Shekar K, Roberts JA, Barnett AG, et al. Can physicochemical properties of antimicrobials be used to predict their pharmacokinetics during extracorporeal membrane oxygenation? Illustrative data from ovine models. *Crit Care.* 2015;19:437. doi:10.1186/s13054-015-1151-y
114. Cies JJ, Moore WS, Giliam N, Low T, Enache A, Chopra A. Oxygenator Impact on Ceftaroline in Extracorporeal Membrane Oxygenation Circuits. *Pediatr Crit Care Med.* 2018;19(11):1077–1082. doi:10.1097/PCC.0000000000001693

115. Leven C, Fillâtre P, Petitcollin A, et al. Ex Vivo Model to Decipher the Impact of Extracorporeal Membrane Oxygenation on Beta-lactam Degradation Kinetics. *Ther Drug Monit.* 2017;39(2):180–184. doi:10.1097/FTD.0000000000000369
116. Park J, Shin D, Lee S, et al. Investigation of Key Circuit Constituents Affecting Drug Sequestration During Extracorporeal Membrane Oxygenation Treatment. *ASAIO J.* 2017;63(3):293–298. doi:10.1097/MAT.0000000000000489
117. Khurana N, Sünnner T, Hubbard O, et al. Direct and continuous dosing of propofol can saturate Ex vivo ECMO circuit to improve propofol recovery. *J Extracorpor Technol.* 55(4):194–196. doi:10.1051/ject/2023036
118. Mané C, Delmas C, Porterie J, et al. Influence of extracorporeal membrane oxygenation on the pharmacokinetics of ceftolozane/tazobactam: an ex vivo and in vivo study. *J Transl Med.* 2020;18:213. doi:10.1186/s12967-020-02381-1
119. Iida A, Naito H, Yorifuji T, et al. Factors Affecting the Absorption of Midazolam to the Extracorporeal Membrane Oxygenation Circuit. *Acta Med Okayama.* 2019;73(2):101–107. doi:10.18926/AMO/56645
120. Rosen DA, Rosen KR, Silvasi DL. In vitro variability in fentanyl absorption by different membrane oxygenators. *J Cardiothorac Anesth.* 1990;4(3):332–335. doi:10.1016/0888-6296(90)90041-d
121. Mulla H, Lawson G, von Anrep C, et al. In vitro evaluation of sedative drug losses during extracorporeal membrane oxygenation. *Perfusion.* 2000;15(1):21–26. doi:10.1177/026765910001500104
122. Bhatt-Meht V, Annich G. Sedative clearance during extracorporeal membrane oxygenation. *Perfusion.* 2005;20(6):309–315. doi:10.1191/0267659105pf827oa
123. Mehta NM, Halwick DR, Dodson BL, Thompson JE, Arnold JH. Potential drug sequestration during extracorporeal membrane oxygenation: results from an ex vivo experiment. *Intensive Care Med.* 2007;33(6):1018–1024. doi:10.1007/s00134-007-0606-2
124. Wildschut ED, Ahsman MJ, Allegaert K, Mathot RAA, Tibboel D. Determinants of drug absorption in different ECMO circuits. *Intensive Care Med.* 2010;36(12):2109–2116. doi:10.1007/s00134-010-2041-z
125. Shekar K, Roberts JA, McDonald CI, et al. Sequestration of drugs in the circuit may lead to therapeutic failure during extracorporeal membrane oxygenation. *Crit Care.* 2012;16(5):R194. doi:10.1186/cc11679

126. Wagner D, Pasko D, Phillips K, Waldvogel J, Annich G. In vitro clearance of dexmedetomidine in extracorporeal membrane oxygenation. *Perfusion*. 2013;28(1):40–46. doi:10.1177/0267659112456894
127. Harthan AA, Buckley KW, Heger ML, Fortuna RS, Mays K. Medication Adsorption into Contemporary Extracorporeal Membrane Oxygenator Circuits. *J Pediatr Pharmacol Ther JPPT*. 2014;19(4):288–295. doi:10.5863/1551-6776-19.4.288
128. Estensen K, Shekar K, Robins E, McDonald C, Barnett AG, Fraser JF. Macro- and micronutrient disposition in an ex vivo model of extracorporeal membrane oxygenation. *Intensive Care Med Exp*. 2014;2:29. doi:10.1186/s40635-014-0029-7
129. Lemaitre F, Hasni N, Leprince P, et al. Propofol, midazolam, vancomycin and cyclosporine therapeutic drug monitoring in extracorporeal membrane oxygenation circuits primed with whole human blood. *Crit Care*. 2015;19(1):40. doi:10.1186/s13054-015-0772-5
130. Tron C, Leven C, Fillâtre P, et al. Should we fear tubing adsorption of antibacterial drugs in extracorporeal membrane oxygenation? An answer for cephalosporins and carbapenems. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2016;43(2):281–283. doi:10.1111/1440-1681.12527
131. Wagner D, Caraballo M, Waldvogel J, Peterson Y, Sun D. In vitro effects of an extracorporeal membrane oxygenation circuit on the sequestration of  $\epsilon$ -amino-caproic acid. *Perfusion*. 2017;32(3):226–229. doi:10.1177/0267659116678476
132. Watt KM, Cohen-Wolkowicz M, Williams DC, et al. Antifungal Extraction by the Extracorporeal Membrane Oxygenation Circuit. *J Extra Corpor Technol*. 2017;49(3):150–159.
133. Cies JJ, Moore WS, Giliam N, Low T, Enache A, Chopra A. Impact of ex-vivo extracorporeal membrane oxygenation circuitry on daptomycin. *Perfusion*. 2018;33(8):624–629. doi:10.1177/0267659118781761
134. Raffaelli G, Allegaert K, Koch B, et al. In Vitro Adsorption of Analgosedative Drugs in New Extracorporeal Membrane Oxygenation Circuits. *Pediatr Crit Care Med*. 2018;19(5):e251–e258. doi:10.1097/PCC.0000000000001484
135. Heith CS, Hansen LA, Bakken RM, et al. Effects of an Ex Vivo Pediatric Extracorporeal Membrane Oxygenation Circuit on the Sequestration of Mycophenolate Mofetil, Tacrolimus, Hydromorphone, and Fentanyl. *J Pediatr Pharmacol Ther JPPT*. 2019;24(4):290–295. doi:10.5863/1551-6776-24.4.290

136. Dallefeld SH, Sherwin J, Zimmerman KO, Watt KM. Dexmedetomidine extraction by the extracorporeal membrane oxygenation circuit: results from an in vitro study. *Perfusion*. 2020;35(3):209–216. doi:10.1177/0267659119868062
137. Chevalier A, McKnite A, Whelan A, et al. Interaction of azithromycin and methylprednisolone with ex-vivo extracorporeal membrane oxygenation circuits (ECMO). *Perfusion*. Published online November 5, 2024:2676591241297401. doi:10.1177/02676591241297401
138. Cies JJ, Moore WS, Giliam N, et al. Oxygenator impact on voriconazole in extracorporeal membrane oxygenation circuits. *Perfusion*. 2020;35(6):529–533. doi:10.1177/0267659120937906
139. Raffaelli G, Cavallaro G, Allegaert K, et al. Sequestration of Voriconazole and Vancomycin Into Contemporary Extracorporeal Membrane Oxygenation Circuits: An in vitro Study. *Front Pediatr*. 2020;8:468. doi:10.3389/fped.2020.00468
140. Zhang Y, Hu H, Zhang Q, et al. Effects of ex vivo Extracorporeal Membrane Oxygenation Circuits on Sequestration of Antimicrobial Agents. *Front Med*. 2021;8:748769. doi:10.3389/fmed.2021.748769
141. Imburgia CE, Rower JE, Green DJ, et al. Remdesivir and GS-441524 Extraction by Ex Vivo Extracorporeal Life Support Circuits. *ASAIO J Am Soc Artif Intern Organs 1992*. 2022;68(9):1204–1210. doi:10.1097/MAT.0000000000001616
142. McDaniel CG, Honeycutt CC, Watt KM. Amiodarone Extraction by the Extracorporeal Membrane Oxygenation Circuit. *J Extra Corpor Technol*. 2021;53(1):68–74. doi:10.1182/ject-2000053
143. Kalaria SN, Kishk OA, Gopalakrishnan M, Bagdure DN. Evaluation of an ex-vivo neonatal extracorporeal membrane oxygenation circuit on antiepileptic drug sequestration. *Perfusion*. 2022;37(8):812–818. doi:10.1177/02676591211028183
144. Green DJ, Watt KM, Fish DN, McKnite A, Kelley W, Bensimhon AR. Cefepime Extraction by Extracorporeal Life Support Circuits. *J Extracorpor Technol*. 2022;54(3):212–222. doi:10.1182/ject-212-222
145. Lescroart M, Pressiat C, Péquignot B, et al. Impaired Pharmacokinetics of Amiodarone under Veno-Venous Extracorporeal Membrane Oxygenation: From Bench to Bedside. *Pharmaceutics*. 2022;14(5):974. doi:10.3390/pharmaceutics14050974

146. Cies JJ, Nikolos P, Moore WS, et al. Oxygenator impact on meropenem/vaborbactam in extracorporeal membrane oxygenation circuits. *Perfusion*. 2022;37(7):729–737. doi:10.1177/02676591211018985
147. Berry AV, Conelius A, Gluck JA, Nicolau DP, Kuti JL. Cefiderocol is Not Sequestered in an Ex Vivo Extracorporeal Membrane Oxygenation (ECMO) Circuit. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 2023;48(4):437–441. doi:10.1007/s13318-023-00840-w
148. Honeycutt CC, McDaniel CG, McKnite A, et al. Meropenem extraction by ex vivo extracorporeal life support circuits. *J Extracorpor Technol*. 55(4):159–166. doi:10.1051/ject/2023035
149. Cies JJ, Moore WS, Marino D, Deacon J, Enache A, Chopra A. Oxygenator impact on peramivir in extra-corporeal membrane oxygenation circuits. *Perfusion*. 2023;38(3):501–506. doi:10.1177/02676591211060975
150. Booke H, Friedrichson B, Draheim L, et al. No Sequestration of Commonly Used Anti-Infectives in the Extracorporeal Membrane Oxygenation (ECMO) Circuit—An Ex Vivo Study. *Antibiotics*. 2024;13(4):373. doi:10.3390/antibiotics13040373
151. Whelan AJ, Mim S, Hunt JP, et al. Interaction of milrinone with extracorporeal life support. *J Extracorpor Technol*. 56(4):167–173. doi:10.1051/ject/2024014
152. Shekar K, Roberts JA, McDonald CI, et al. Protein-bound drugs are prone to sequestration in the extracorporeal membrane oxygenation circuit: results from an ex vivo study. *Crit Care*. 2015;19(1):164. doi:10.1186/s13054-015-0891-z
153. Dagan O, Klein J, Gruenwald C, Bohn D, Barker G, Koren G. Preliminary studies of the effects of extracorporeal membrane oxygenator on the disposition of common pediatric drugs. *Ther Drug Monit*. 1993;15(4):263–266. doi:10.1097/00007691-199308000-00001
154. Ashley C, Dunleavy A. *The Renal Drug Handbook*. Vol 2019. 5th ed. Taylor & Francis Group, LLC
155. DrugBank. DrugBank. Accessed July 27, 2025. <https://go.drugbank.com/>
156. NIH National Library of Medicine NCBI. PubChem. Accessed July 27, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
157. Státní ústav pro kontrolu léčiv. Přehled léčiv. Accessed July 27, 2025. [https://prehledy.sukl.cz/prehled\\_leciv.html#/](https://prehledy.sukl.cz/prehled_leciv.html#/)

- 
158. Ha MA, Sieg AC. Evaluation of Altered Drug Pharmacokinetics in Critically Ill Adults Receiving Extracorporeal Membrane Oxygenation. *Pharmacotherapy*. 2017;37(2):221–235. doi:10.1002/phar.1882
159. Peng D, Zhang F, Lv P, et al. Plasma concentrations of Colistin sulfate in a patient with septic shock on extracorporeal membrane oxygenation and continuous renal replacement therapy: a case report. *Ann Transl Med*. 2022;10(10):614. doi:10.21037/atm-22-2081
160. Karvanen M, Malmberg C, Lagerbäck P, Friberg LE, Cars O. Colistin Is Extensively Lost during Standard In Vitro Experimental Conditions. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(11):e00857–17. doi:10.1128/AAC.00857-17
161. Bihan K, Zahr N, Becquemin MH, et al. Influence of diluent volume of colistime-thate sodium on aerosol characteristics and pharmacokinetics in ventilator-associated pneumonia caused by MDR bacteria. *J Antimicrob Chemother*. 2018;73(6):1639–1646. doi:10.1093/jac/dky044
162. Schoeffel RE, Anderson SD, Altounyan RE. Bronchial hyperreactivity in response to inhalation of ultrasonically nebulised solutions of distilled water and saline. *Br Med J Clin Res Ed*. 1981;283(6302):1285–1287. doi:10.1136/bmj.283.6302.1285
163. Boisson M, Jacobs M, Grégoire N, et al. Comparison of intrapulmonary and systemic pharmacokinetics of colistin methanesulfonate (CMS) and colistin after aerosol delivery and intravenous administration of CMS in critically ill patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(12):7331–7339. doi:10.1128/AAC.03510-14
164. Dodd ME, Abbott J, Maddison J, Moorcroft AJ, Webb AK. Effect of tonicity of nebulised colistin on chest tightness and pulmonary function in adults with cystic fibrosis. *Thorax*. 1997;52(7):656–658. doi:10.1136/thx.52.7.656

## Přílohy

Příloha 1: Rychlíčková J, Suk P. Pět nejvýznamnějších lékových interakcí v intenzivní medicíně. Anest. Intensiv. Med. 2023;34(4):152–156.

152 | PŘEHLEDOVÉ ČLÁNKY / REVIEW ARTICLES

Pět nejvýznamnějších lékových interakcí v intenzivní medicíně  
<https://doi.org/10.36290/aim.2023.053>

### Pět nejvýznamnějších lékových interakcí v intenzivní medicíně

Rychlíčková J.<sup>1,2</sup>, Suk P.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>International Clinical Research Center, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Brno

<sup>2</sup>Farmakologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

<sup>3</sup>Anesteziologicko-resuscitační klinika, FN u sv. Anny v Brně a Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

Prevalence lékových interakcí v populaci kriticky nemocných je vysoká, ale často se jedná o potenciální lékové interakce s omezenou klinickou významností. Cílem tohoto sdělení je popsat mechanismus a management nikoliv nejčastějších, ale dle autorů klinicky nejvýznamnějších interakcí. Do přehledu jsme zahrnuli interakci karbapenemů a valproátu, inhibitorů CYP 3A4 a tikagreloru, enterální výživy a levodopy, kombinace léčiv prodlužujících QT interval a inhibitorů CYP 3A4 a kvetiapinu.

**Klíčová slova:** lékové interakce, intenzivní péče, nežádoucí účinky léků, syndrom dlouhého QT intervalu, inhibitory cytochromu P-450.

#### Five most important drug interactions in the critically ill

The prevalence of drug interactions in the critically ill is high, but these are often potential drug interactions of limited clinical relevance. This paper aims to describe the mechanism and management of not the most frequent but, according to the authors, the most clinically significant interactions. These top five interactions include carbapenems and valproate, CYP 3A4 inhibitors and ticagrelor, enteral nutrition and levodopa, combinations of QT prolonging drugs, and CYP 3A4 inhibitors and quetiapine.

**Key words:** drug interactions, critical care, drug side effects, long QT syndrome, cytochrome P-450 enzyme enhancers.

#### Úvod

Léková interakce je stav, kdy dochází k ovlivnění farmakokinetiky či farmakodynamiky jednoho léčiva jiným. Lékové interakce jsou v klinické praxi časté; běžně využíváme například synergismu analgetik, léčiv se sedativním efektem, antihypertenziv, či vazopresorů, nebo antagonismu v případě antidot. Nicméně obecná konotace lékových interakcí je spíše negativní, kdy očekáváme pokles či naopak přílišné zesílení efektu, projev nežádoucího účinku, potažmo prodloužení hospitalizace, nárůst nákladů na hospitalizaci, morbiditu, mortality [1].

Publikovaná literatura popisuje stovky lékových interakcí zachycených při analýze farmakoterapie pacientů na jednotkách intenzivní péče, ale relevance těchto interakcí je omezená, neboť značná část zachycených interakcí postrádá klinickou významnost. Důvodem je odlišný cíl těchto zpravidla observačních studií, které interakce detekují a hodnotí s cílem buď pouze popsat aktuální stav, či zpřesnit automatická upozornění generovaná nemocničními systémy [1–4]. V obou případech pracují s nejčastějšími lékovými interakcemi, zatímco v tomto přehledu jsme se zaměřili na interakce dle názoru autorů klinicky nejzávažnější. Přestože se spektrum léčiv a interakcí může na specializovaných jednotkách intenzivní péče (např. v transplantačních

centrech) odlišovat, věříme, že se tento krátký přehled stane užitečným vodítkem.

#### Karbapenemy a valproát

Interakce karbapenemových antibiotik a valproátu rychle dosahuje plného efektu a vede k významnému poklesu plazmatických koncentrací valproátu. Interakci nelze vyřešit změnou dávky a její efekt přetrvává několik dnů po vysazení interagujících léčiv. Klinický dopad interakce byl rovněž potvrzen u kriticky nemocných, kdy došlo nejen k nárůstu délky a ceny hospitalizace, ale i ke zvýšení mortality [5].

**Mechanismus lékové interakce** není zcela objasněn, nicméně se jedná o komplexní ovlivnění farmakokinetiky valproátu – dochází k inhibici jeho absorpce v gastrointestinálního traktu (inhibice transportérů na bazolaterální membráně enterocytů), omezení redistribuce z erytrocytů, posílení glukuronidace a urychlení eliminace valproátu díky blokádě dekonjugace glukuronidů, blokádě enterohepatální recirkulace (vlivem karbapenemů na střevní mikrobiotu) a posílením renální eliminace glukuronidů valproátu [6, 7].

**Klinický význam:** Výsledkem je rychlý (v průběhu 24–48 hodin) a významný pokles plazmatické koncentrace valproátu (přibližně 29–99%

#### KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA:

doc. MUDr. Pavel Suk, Ph.D., pavel.suk@fnusa.cz

Článek přijat redakcí: 28. 8. 2023; Článek přijat k tisku: 7. 11. 2023

Cit. zkr.: Anest. Intensiv. Med. 2023;34(4):152–156

redukce plazmatické koncentrace) [7, 8]. Typicky se tak plazmatická koncentrace valproátu dostává pod dolní hranici terapeutického rozmezí. Z dosavadních dat vyplývá, že k poklesu plazmatické koncentrace valproátu dochází prakticky u všech pacientů léčených karbapenemem, přibližně u třetiny až poloviny pacientů pak došlo ke zhoršení záchvatů [7, 8]. Nejlépe prostudovanou je interakce s meropenemem, nicméně ertapenem a imipenem vykazují podobný vzorec (pokles valproátu k subterapeutickým hladinám v průběhu 1–3 dnů, resp. 2–5 dnů, ač právě imipenem vedl k menšímu poklesu) [8]. Efekt interakce a snížení koncentrace valproátu přetrvávají až po dobu 8–14 dnů od vysazení karbapenemu a s ohledem na komplexní mechanismus lékové interakce není překvapivé, že k normalizaci hladin valproátu nedošlo ani navzdory navýšení dávky valproátu, podání dosycovací dávky, ani po změně cesty podání [6, 8, 9]. Stejně tak nehraje roli dávka karbapenemu, tedy s vyšší dávkou nedochází k jiné kinetice poklesu [9]. Klinická významnost interakce může být nižší u pacientů s těžkou hepatální dysfunkcí, kdy je upregulace glukuronidace limitovaná absolutním poklesem funkčních hepatocytů, omezená může být i biliární exkrece glukuronidů a přispívat k udržení účinné volné frakce valproátu může i hypoalbuminémie [7]. Důležité je, že plazmatická koncentrace karbapenemu není vlivem valproátu změněna.

**Management:** Je-li to možné, měli bychom se souběžnému podání valproátu a karbapenemu vyhnout. Pokud je souběžná terapie nutná, je vhodné do terapie dočasně a včas (před zahájením terapie karbapenemem) zavést další antikonvulzivum. Z terapeutických alternativ s rychlým titračním schématem (fenytoin, levetiracetam, lakosamid, perampnel, benzodiazepiny) žádná nevykazuje s karbapenem klinicky významnou lékovou interakci. Terapie doplňkovým antikonvulzivem by měla pokračovat minimálně 2 týdny po ukončení antibiotické terapie [8]. Stejně tak bychom neměli zapomenout na případnou následnou redukcí dávky valproátu, pokud byla jeho dávka v reakci na sníženou plazmatickou koncentraci navýšena [6, 8]. Terapeutické monitorování plazmatické koncentrace valproátu se tak stává nezbytným krokem jistě bezpečné a účinné terapie. To vše ale platí pouze za předpokladu, že valproát nebyl použit v jiné indikaci než epilepsie – antimigrenikum, stabilizátor nálady, terapie bipolární poruchy. V těchto případech použití dalšího antikonvulziva pochopitelně postrádá smysl.

Na druhé straně lze karbapenem využít v rámci terapie intoxikace valproátem. Pokles plazmatické koncentrace nastává již s první/jedinou podanou dávkou [10–13].

### Inhibitory CYP 3A4 a tikagrelor

Kombinace tikagreloru s klarithromycinem či jinými inhibitory CYP 3A4 přináší riziko zesílení a prodloužení inhibice destiček. Podobně jako v předchozím případě se interakce rozvíjí velmi rychle a její efekt přetrvává několik dnů po vysazení interagující medikace. Úprava dávky ani v tomto případě nepředstavuje řešení, především kvůli omezené proveditelnosti s ohledem na spektrum sil dostupných na trhu, a také kvůli omezeným možnostem monitoringu.

**Mechanismus lékové interakce** tikagreloru s klarithromycinem spočívá v klarithromycinem podmíněné inhibici CYP 3A4 a očekávaném nárůstu plazmatické koncentrace tikagreloru. Kvantifikaci nám může

poskytnout studie s jiným silným inhibitorem CYP 3A4 (ketokonazolem), kdy souběžné podání jedné dávky tikagreloru k zavedené terapii ketokonazolem vedlo k nárůstu maximální plazmatické koncentrace tikagreloru o 135 % a 7,3násobnému nárůstu plochy pod křivkou jeho plazmatické koncentrace (AUC) [14]. Právě obava z potenciace účinku tikagreloru je důvodem hodnocení lékové interakce jako závažná, resp. činí tuto kombinaci přímo kontraindikovanou [15, 16]. K tomu jistě přispívá i samotný farmakodynamický profil tikagreloru – v porovnání s klopidoogrem dosáhl významně vyšší a rychlejší inhibice agregace destiček [17, 18]. Klinická data o bezpečnosti a účinnosti tento rozdíl potvrzují [19, 20].

**Klinický význam:** V publikované literatuře je omezené množství dat dokládajících zvýšená rizika při podání tikagreloru s inhibitory CYP 3A4, analýzy dalších dopadů interakce (ekonomické dopady, prodloužení hospitalizace, vliv na mortalitu) pak chybí úplně. Důvodem může být publikační bias. Krvácení je u pacientů s duální protideštičkovou léčbou a případně antikoagulační terapií známou komplikací, proto zvýšení plazmatických koncentrací tikagreloru, které může být příčinou, nemusí být rozpoznáno. Dalším důvodem může být stropový efekt blokády P2Y<sub>12</sub> receptoru a současně poměrně vysoký stupeň blokády agregace destiček již při terapeutických dávkách tikagreloru [18]. Interakce tak nemůže přinést proporcionální zvýšení efektu tikagreloru, ale s jistotou vede k prodloužení efektu tikagreloru. Reálným rizikem se stávají situace, kdy je třeba terapii tikagrelorem přerušit. Takovou situaci ilustruje kazuistika z roku 2019, která ukazuje více než dvojnásobně dlouhou dobu potřebnou k normalizaci agregačního testu při předoperačním vysazení tikagreloru; to vše v důsledku užívání čtyřkombinace antiretrovirotik včetně kobicistatu u HIV pozitivního pacienta [21].

**Management** interakce klarithromycinu x tikagrelor tak může spočívat v přehodnocení nutnosti souběžné terapie. Pokud je antibiotická terapie nutná, nabízí se záměna klarithromycinu za azitromycin, který inhibiční efekt na CYP 3A4 nevykazuje [15] a je také dostupný i v parenterální formě. Poslední možností je záměna tikagreloru za jiné antiagregans; alternativami jsou prasugrel a klopidoogrel. Situace může být komplikována v případě, kdy několikadenní konkomitantní léčba klarithromycinem a tikagrelorem nebyla zachycena a kdy očekáváme kumulaci tikagreloru. Optimální způsob převodu jednoho protideštičkového léčiva na druhé v terénu potencionálního a především prodlouženého efektu tikagreloru zůstává s otazníkem, přinejmenším je ke zvážení vynechání sytící dávky.

**Další riziková léčiva** na jednotce intenzivní péče jsou především vorikonazol, itraconazol, verapamil a ritonavir, který jsme až do příchodu jeho fixní kombinace s nirmatrelvirem (pod obchodním názvem Paxlovid®) znali pouze z terapie HIV/AIDS [22]. Všechny uvedené látky se chovají jako silné inhibitory CYP 3A4. Inhibiční efekt ale není class efektem: např. flukonazol jako další azolové antimykotikum působí pouze jako středně silný inhibitor CYP 3A4 a při souběžném podání s tikagrelorem je doporučena pouze opatrnost a monitorace krvácivých projevů. Pozornost je vhodné věnovat i lékovým interakcím tikagreloru s induktory CYP 3A4 – fenytoinem, karbamazepinem, rifampicinem, dexametazonem – ve smyslu poklesu antiagregačního účinku tikagreloru [15, 16, 23].

### Enterální výživa a levodopa

Lékové interakce se nutně nemusí týkat pouze léčiv; jejich zdrojem může být i strava, v podmínkách jednotky intenzivní péče enterální nutrice. Dobře popsanou je interakce enterální výživy s levodopou.

**Mechanismus interakce** spočívá v kompetici levodopy a aminokyselin obsažených ve výživě o saturabilní transportní protein pro velké neutrální aminokyseliny lokalizovaný ve střešní stěně a o specifický transportér na hematoencefalické bariéře [24–27].

**Klinický význam:** V důsledku interakce dochází k omezení absorpce levodopy, přestože část levodopy se stále vstřebává pasivním transportem – difúzí. Důsledkem je riziko fluktuace a zhoršení symptomů základního onemocnění, vegetativní nestability, svalové rigidity, případně až rozvoje neuroleptického maligního syndromu (resp. stavu jemu podobnému; neuroleptic malignant-like syndrome) v řádu nižších jednotek až desítek hodin [28]. Diferenciální diagnostika interakce může být v podmínkách jednotky intenzivní péče poměrně komplikovaná. Jak ukazuje kazuistika, prezentace může být omezená na jediný symptom – horečku [29]. Klinický stav mohou nepříznivě ovlivnit i léčiva antagonizující dopaminové receptory (kvetiapin, tiapridal, haloperidol, metoklopramid...) [28].

**Management:** Problémem je současné podání levodopy a výživy s vysokým obsahem proteinů. Kriticky nemocní, kterým je obvykle tato výživa podávána kontinuálně, se stávají rizikovou skupinou. Nabízí se tři možné strategie: zamezit souběžnému podání léčiva a výživy, snížit příjem proteinů a/nebo zvýšit dávku levodopy [26, 28, 29]. K nim bychom mohli přidat ještě alternativní způsoby podání levodopy (např. rektálně, intestinální gel), nebo použití dopaminových agonistů (v ČR například transdermální rotigotin, intravenózní amantadin), obojí ale typicky vyžaduje konzultaci neurologa [27, 28, 30].

V rámci první strategie je doporučeno zastavit podání enterální výživy minimálně 90 minut před podáním levodopy a obnovit je 30 minut po podání, dle jiných zdrojů je to až 2 hodiny před a po podání levodopy [26, 27, 29, 31]. Delší intervaly pravděpodobně reflektují možnou gastroparézu a zpomalení motility gastrointestinálního traktu, které jsou u kriticky nemocných časté. Díky frekvenci podávání levodopy (typicky 3–5x denně) povede tento způsob ke zkrácení doby podávání enterální nutrice a může být příčinou nenaplnění nutričních cílů. Alternativou je podání výživy kontinuálně přes noc a podávání levodopy přes den s minimálním překryvem léčiva a výživy [29]. Další možností je přejít z kontinuálního podání enterální výživy na bolusové, až s vyšším rizikem aspirace [25, 26]. Druhá strategie – redukce příjmu proteinů – se pro kriticky nemocné jeví jako nevhodná z důvodu potenciální malnutrice, zvýšeného rizika komplikací a prodloužení hospitalizace [26, 28].

K ústupu symptomů dochází rychle po obnovení adekvátních koncentrací dopaminu. Součástí managementu lékové interakce by měla být i správná dokumentace změn farmakoterapie tak, aby po převodu pacienta zpět na standardní stravu mohla být dávka levodopy zpět redukována či přidána medikace vysazena.

**Další rizikové kombinace:** Interakce enterální výživy s léčivy vedoucí k jejich snížené biodostupnosti byla popsána i u dalších léčiv (fentyoin, valproát, levothyroxin), ačkoliv mechanismus v tomto případě nespočívá v kompetici o aktivní transportér [32, 33].

### Léčiva prodlužující QT interval

U kriticky nemocných je riziko prodloužení QT intervalu skloňováno často. Nejde jen o použití léčiv s potenciálem prodloužení QT intervalu, ale i o cestu podání těchto léčiv (vyšší riziko při intravenózním podání) a jejich podání u pacientů s řadou rizikových faktorů – syndrom dlou-

**Tab. 1.** Léčiva spojená s rizikem prodloužení QT intervalu/rozvoje TdP (výběr léčiv používaných v intenzivní medicíně v ČR) [43]

|                | Známé riziko TdP* | Možné riziko TdP** | Podmíněné riziko TdP*** |
|----------------|-------------------|--------------------|-------------------------|
| antiarytmika   | amiodaron         |                    | ivabradin               |
|                | sotalol           |                    | propafenon              |
| vazopresory    | terlipressin      |                    |                         |
| diuretika      |                   |                    | furosemid               |
| antiinfektiva  | azitromycin       | ofloxacin          | amfotericin B           |
|                | ciprofloxacin     | remdesivir         | itrakonazol             |
|                | flukonazol        |                    | metronidazol            |
|                | klarithromycin    |                    | piperacilin/tazobaktam  |
|                | levofloxacin      |                    | posakonazol             |
|                | moxifloxacin      |                    | vorikonazol             |
| anestetika     | propofol          | dexmedetomidin     |                         |
|                | sevofluran        |                    |                         |
| psychofarmaka  | citalopram        | tiaprid            | kvetiapin               |
|                | escitalopram      |                    |                         |
|                | haloperidol       |                    |                         |
| antiemetika    | ondansetron       |                    |                         |
| prokinetika    | domperidon        |                    | metoklopramid           |
|                | erytromycin       |                    |                         |
| antikonvulziva |                   | levetiracetam      |                         |
| imunosupresiva |                   | takrolimus         |                         |
| PPI*           |                   |                    | pantoprazol             |

\*Léčiva prodlužují QT interval a jsou jednoznačně spojena s rizikem TdP, a to i v případě, že jsou užívána podle doporučení. \*\*Léčiva mohou způsobit prodloužení QT intervalu, ale v chybí důkazy o riziku TdP, pokud jsou užívána podle doporučení. \*\*\*Léčiva spojená s TdP, ale pouze za určitých podmínek. \*PPI – inhibitory protonové pumpy

hého QT, onemocnění srdce a cév, šokové stavy, bradykardie, použití vazopresorů, elektrolytové dysbalance, poruchy eliminačních funkcí, thyreopatie, ženské pohlaví a věk nad 65 let [34–38]. V porovnání s předchozími je charakteristika této interakce (časový horizont rozvoje a přetrvání, dávková závislost, kvantifikace efektu, klinické konsekvence) obtížnější, zatížená vysokou inter- a intraindividuální variabilitou. Byl prokázán negativní vliv prodloužení QT na délku hospitalizace a mortalitu [36, 39–41], i když podíl interakce zůstává s otazníkem.

**Mechanismus lékové interakce:** Z pohledu mechanismu jde o lékovou interakci farmakodynamickou; nedochází tedy ke změnám plazmatických koncentrací léčiv. Odpověď na to, proč konkrétní léčiva QT/QTc interval ovlivňují, ale není zcela známa [34]. Častým společným jmenovatelem takových léčiv je blokáda  $I_{Kr}$  kanálu (rapidly activating delayed rectifier potassium channel), jednoho z kanálů zodpovědných za repolarizaci kardiomyocytů [34].

**Klinický význam:** Mezi jednotlivými léčivy existují rozdíly v mohutnosti prodloužení QT intervalu. Pozornost bychom měli věnovat léčivům s potenciálem prodloužení QT intervalu o > 20 ms [34]. Vztah mezi prodloužením QT/QTc a rozvojem torsades de pointes (TdP) je nicméně variabilní [34].

Léčiva spojená s rizikem prodloužení QT intervalu/rozvoje TdP používaná v intenzivní medicíně jsou uvedena v tabulce 1. Podrobnější zmínku si nepochybně zaslouží rozporuplná data k amiodaronu. Při chronickém podání má amiodaron významný potenciál k prodloužení QT intervalu, ale TdP způsobuje vzácně [34]. Při intravenózním podání je vyšší riziko rozvoje TdP v řádu hodin (typicky do 24 hodin) po zahájení infuze [42].

Přestože se nabízí myšlenka adice efektů při kombinaci těchto léčiv, doposud nebyla jednoznačně potvrzena [34, 35, 44]. Nicméně v klinické praxi předpokládáme nárůst rizika při kombinaci více rizikových léčiv [34, 45]. Tomu odpovídá i management.

**Management:** Základem je kvalitní záznam EKG a jeho komplexní zhodnocení, nikoli izolovaný pohled na QT/QTc interval. Riziko vzniku TdP narůstá s prodloužujícím se QTc, za významné se považuje překročení arbitrárně stanovené hranice 500 ms [37, 46]. Dalším krokem je uvědomění si rizikových léčiv, přehodnocení terapie, záměna léčiva za méně rizikové či ukončení terapie rizikovým léčivem. V případech převažujících benefitů a nasazení/pokračování rizikové terapie je na místě korekce modifikovatelných rizikových faktorů a intenzivnější monitoring. Ideální je porovnání vstupního EKG a EKG natočeného po dosažení ustáleného stavu (obecně po uplynutí 4–5 biologických poločasů léčiva; v případě intravenózního amiodaronu 24–48 hodin po zahájení infuze) po nasazení léčiva, změně dávky nebo přidání dalšího léčiva. V případě významného prodloužení QTc či QTc > 500 ms by měla být terapie opět přehodnocena [34, 37, 38, 42, 46].

## Inhibitory CYP 3A4 a kvetiapin

Poslední zmíněná interakce navazuje na dvě z předchozích a kombinuje v sobě jak farmakokinetickou, tak farmakodynamickou část.

**Mechanismus interakce:** je následující: kvetiapin je léčivo s potenciálem k prodloužení QT intervalu, zároveň je majoritně metabolizován cestou CYP 3A4. Klarithromycin, vorikonazol, verapamil a další inhibitory CYP 3A4 (viz předchozí část věnovaná tikagreloru) zvyšují plazmatické koncentrace kvetiapinu. To je farmakokinetická složka. Zároveň má část těchto léčiv větší či menší potenciál QTc interval sama prodloužit, čímž se dostáváme k farmakodynamické složce.

**Klinický význam:** V předchozí části jsme zmínili, že aditivní efekt kombinací léčiv s potenciálem k prodloužení QTc intervalu není jednoznačně potvrzen ani vyvrácen, dávková závislost je ale očekávatelná [34, 44, 45]. Významnost interakce tak roste s použitými dávkami. V důsledku inhibice metabolismu se mohou stát rizikové i nízké dávky kvetiapinu. Kvantifikaci interakce nám může poskytnout studie kombinující kvetiapin s ketokonazolem; maximální plazmatická koncentrace kvetiapinu vzrostla o 235 %, AUC pak přibližně na šestnásobek [47]. Interakce kvetiapinu s klarithromycinem byla dokumentována v kazuistice 32letého muže, kdy kombinace vyústila v somnolenci, poruchu vědomí a útlum dechu, a to při plazmatické koncentraci dosahující necelé pětinásobky horní hranice doporučeného rozmezí [48]. Ani v jedné z prací nebylo hodnoceno EKG, tudíž změny QTc intervalu nelze kvantifikovat.

**Management:** Interakce se promítá i do načasování monitoringu EKG – při inhibici metabolismu roste biologický poločas i čas dosažení ustáleného stavu (ve farmakokinetické studii došlo k prodloužení biologického poločasu kvetiapinu z 2,1 hodiny na 6,76 hodin; v kazuistice byl poločas odhadnut na téměř 39 hodin) [47, 48]. Další postup se pochopitelně neliší od výše uvedené části o prodloužení QT intervalu.

**Další rizikové kombinace:** Na podobném principu (farmakodynamická i farmakokinetická interakce) funguje i kombinace středně silných a silných inhibitorů CYP 3A4 a haloperidolu nebo takrolimu [15, 16, 49].

## Závěr

Pacienti na jednotkách intenzivní péče jsou nepřetržitě monitorováni, což klinickou významnost mnoha interakcí snižuje – potenciální nežádoucí účinky mohou být rychleji detekovány a řešeny [1, 50]. Někdy není jiná přijatelná možnost, než vzájemně interagující léčiva podat a současně zvolit adekvátní způsob monitorace léčby pacienta [50]. Příkladem mohou být právě léčiva s potenciálem prodloužení QT intervalu. Neméně významný podíl na výsledné klinické významnosti lékové interakce bude sehrávat klinický stav pacienta a důvod jeho hospitalizace na jednotce intenzivní péče.

**PROHLÁŠENÍ AUTORŮ: Prohlášení o původnosti:** Práce je původní a nebyla publikována ani není zaslána k recenznímu řízení do jiného média. **Střet zájmů:** Autoři prohlašují, že nemají střet zájmů v souvislosti s tématem práce. **Podíl autorů:** JR – tvorba manuskriptu, PS – korekce manuskriptu. **Financování:** N/A. **Poděkování:** N/A. **Registrace:** N/A. **Projednání etickou komisí:** N/A.

## 156 | PŘEHLEDOVÉ ČLÁNKY / REVIEW ARTICLES

Pět nejvýznamnějších lékových interakcí v intenzivní medicíně

## LITERATURA

- Bakker T, Abu-Hanna A, Dongelmans DA, Vermeijden WJ, Bosman RJ, de Lange DW, et al. Clinically relevant potential drug-drug interactions in intensive care patients: A large retrospective observational multicenter study. *J Crit Care*. 2021 Apr;62:124-30.
- Wong A, Amato MG, Seger DL, Rehr C, Wright A, Slight SP, et al. Prospective evaluation of medication-related clinical decision support over-rides in the intensive care unit. *BMJ Qual Saf*. 2018 Sep;27(9):718-24.
- Fitzmaurice MG, Wong A, Akerberg H, Avramovska S, Smithburger PL, Buckley MS, et al. Evaluation of Potential Drug-Drug Interactions in Adults in the Intensive Care Unit: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Drug Saf*. 2019 Sep 1;42(9):1035-44.
- Zheng WY, Richardson LC, Li L, Day RO, Westbrook JL, Baysari MT. Drug-drug interactions and their harmful effects in hospitalised patients: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Pharmacol*. 2018 Jan 1;74(1):15-27.
- Hsiao SC, Lai WH, Chen IL, Shih FY. Clinical impact of carbapenems in critically ill patients with valproic acid therapy: A propensity-matched analysis. *Front Neurol*. 2023 Mar 9;14:1069742.
- Mancil EE, Gidal BE. The effect of carbapenem antibiotics on plasma concentrations of valproic acid. *Ann Pharmacother*. 2009;43(12):2082-7.
- Al-Quteimat O, Laila A. Valproate Interaction With Carbapenems: Review and Recommendations. *Hosp Pharm*. 2020 Jun;55(3):181-7.
- Huang CR, Lin CH, Hsiao SC, Chen NC, Tsai WC, Chen SD, et al. Drug interaction between valproic acid and carbapenems in patients with epileptic seizures. *Kaohsiung J Med Sci*. 2017 Mar;32(3):130-6.
- Wen ZP, Fan SS, Du C, Yin T, Zhou BT, Peng ZF, et al. Drug-drug interaction between valproic acid and meropenem: a retrospective analysis of electronic medical records from neurosurgery inpatients. *J Clin Pharm Ther*. 2017;42(2):221-7.
- Doad G, McManus D, Topal J, Lopez F. 934: Utilizing the carbapenem-valproic acid drug interaction in the management of valproic acid overdose. *Crit Care Med*. 2018 Jan;46(1):450.
- Druecean D, Beres K, McIlmenny-Moore A, Gravino D. Use of meropenem to treat valproic acid overdose. *Am J Emerg Med*. 2019 Nov 1;37(1):2120.e5-2120.e7.
- Cunningham D, Clark K, Lord K. Treatment of valproic acid overdose with meropenem in an epileptic patient. *Am J Emerg Med*. 2022 Mar;53:284.e1-284.e3.
- Thomas C, Priano J, Smith TL. Meropenem as an antidote for intentional valproic acid overdose. *Am J Emerg Med*. 2020 Mar;38(3):690.e1-690.e2.
- Teng R, Butler K. Effect of the CYP3A4 inhibitors, diltiazem and ketoconazole, on ticagrelor pharmacokinetics in healthy volunteers. *J Drug Assess*. 2013 Mar 15;2(1):30-9.
- Lexicomp® Drug Interactions [Internet]. UpToDate®. [cited 2023 Jul 20]. Available from: <http://uptodate.com/drug-interactions/>.
- Micromedex® Drug Interactions Results [Internet]. Merative Micromedex®. [cited 2023 Jul 20]. Available from: <http://micromedex.fnsua.cz/micromedex2/librarian/PFDDefault/evidenceexpert.ShowDrugInteractionsResults>.
- Gurbel PA, Bliden KP, Butler K, Tantry US, Gesheff T, Wei C, et al. Randomized Double-Blind Assessment of the ONSET and OFFSET of the Antiplatelet Effects of Ticagrelor Versus Clopidogrel in Patients With Stable Coronary Artery Disease. *Circulation*. 2009 Dec 22;120(25):2577-85.
- Butler K, Teng R. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety and tolerability of multiple ascending doses of ticagrelor in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol*. 2010 Jul;70(1):65-77.
- Charpentier T, Ferdynus C, Lair T, Cordier C, Brulliard C, Valance D, et al. Bleeding risk of ticagrelor compared to clopidogrel in intensive care unit patients with acute coronary syndrome: A propensity-score matching analysis. *PLoS ONE*. 2020 May 4;15(5):e0232768.
- Wallentin L, Becker RC, Budaj A, Cannon CP, Emanuelsson H, Held C, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 2009 Sep 10;361(11):1045-57.
- Azran M, Tanaka KA. Interaction Between Ticagrelor and CYP3A4 Inhibitor: Importance of P2Y12 Function Testing to Assess Platelet Recovery Before Surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2019 Nov 1;33(11):3221-2.
- Dobesh PP, Oestreich JH. Ticagrelor: Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, Clinical Efficacy, and Safety. *Pharmacotherapy*. 2014 Oct;34(10):1077-90.
- Weeks P, Sieg A, Vahdat K, Raissi F, Nathan S. Improved Ticagrelor Antiplatelet Effect on Discontinuation of Phenytoin. *Ann Pharmacother*. 2014 May 1;48(5):644-7.
- Nutt JG, Woodward WR, Carter JH, Trotman TL. Influence of fluctuations of plasma large neutral amino acids with normal diets on the clinical response to levodopa. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1989 Apr 1;52(4):481-7.
- Deleu D, Northway MG, Hanssens Y. Clinical Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties of Drugs Used in the Treatment of Parkinson's Disease. *Clin Pharmacokin*. 2002 Apr 1;41(4):261-309.
- Cooper MK, Brock DG, McDaniel CM. Interaction between levodopa and enteral nutrition. *Ann Pharmacother*. 2008 Mar;42(3):439-42.
- Leta V, Klingelhofer L, Longardner K, Campagnolo M, Levent HC, Aureli F, et al. Gastrointestinal barriers to levodopa transport and absorption in Parkinson's disease. *Eur J Neurol*. 2023;30(5):1465-80.
- Bonnici A, Ruiner CE, St-Laurent L, Hornstein D. An interaction between levodopa and enteral nutrition resulting in neuroleptic malignant-like syndrome and prolonged ICU stay. *Ann Pharmacother*. 2010 Sep;44(9):1504-7.
- Whitman CB, Abiordepey E, Taylor B. Levodopa Withdrawal Presenting as Fever in a Critically Ill Patient Receiving Concomitant Enteral Nutrition. *J Pharm Pract*. 2016 Dec 1;29(6):574-8.
- Vogelzang JM, Luinstra M, Rutgers AWF. Effect of Rectal Levodopa Administration: A Case Report. *Case Rep Neurol*. 2015 Oct 21;7(3):209-12.
- Josková V, Linhartová A. Levodopa (+ inhibitor dekarboxylázy) [Internet]. Doporučení pro podání léčiv sondou. 2021 [cited 2023 Jul 22]. Available from: [https://www.ccsk.cz/images/Dokumenty/Doporuzeni\\_sondy/levodopa\\_s\\_inhibitorem\\_dekarboxylazy\\_-\\_doporuuen.pdf](https://www.ccsk.cz/images/Dokumenty/Doporuzeni_sondy/levodopa_s_inhibitorem_dekarboxylazy_-_doporuuen.pdf).
- Vandenbergh A, Broadway J. Enteral administration of protein supplement and valproate: A potential pharmacokinetic interaction. *Ment Health Clin*. 2018 Mar 23;7(1):10-2.
- Wohlt PD, Zheng L, Gunderson S, Balzar SA, Johnson BD, Fish JT. Recommendations for the use of medications with continuous enteral nutrition. *Am J Health Syst Pharm*. 2009 Aug 15;66(16):1458-67.
- Khatib R, Sabir FRN, Omari C, Pepper C, Tayebjee MH. Managing drug-induced QT prolongation in clinical practice. *Postgrad Med J*. 2021 Jul 1;97(1149):452-8.
- Tisdale JE, Jaynes HA, Kingery JR, Mourad NA, Trujillo TN, Overholser BR, et al. Development and Validation of a Risk Score to Predict QT Interval Prolongation in Hospitalized Patients. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2013 Jul;6(4):479-87.
- Pickham D, Helfenbein E, Shinn JA, Chan G, Funk M, Weinacker A, et al. High prevalence of corrected QT interval prolongation in acutely ill patients is associated with mortality: Results of the QT in Practice (QTP) Study. *Crit Care Med*. 2012 Feb;40(2):394.
- Indaratna P, Tardo D, Delves M, Szirt R, Ng B. Measurement and Management of QT Interval Prolongation for General Physicians. *J Gen Intern Med*. 2020 Mar 1;35(3):865-73.
- Elangovan A. QTc Prolongation in the Critically Ill: Tread with Caution! *Indian J Crit Care Med*. 2020 Apr;24(4):220-1.
- Ding Y, Jeon R, Ran L, Pan W, Wang F, Li Q. New-onset QT prolongation is a novel predictor of mortality in critically ill patients. *Crit Care*. 2019 Jun 21;23(1):229.
- Russell H, Churilov L, Toh L, Eastwood GM, Bellomo R. The incidence, predictors and outcomes of QTc prolongation in critically ill patients. *J Crit Care*. 2019 Dec 1;54:244-9.
- Javanainen T, Ishihara S, Gayat E, Charbit B, Jurkko R, Cinotti R, et al. Prolonged corrected QT interval is associated with short-term and long-term mortality in critically ill patients: results from the FROG-ICU study. *Intensive Care Med*. 2019 May 1;45(5):746-8.
- Shenthar J, Rachaiha JM, Pillai V, Chakali SS, Balasubramanian V, Chollenhali Nanjappa M. Incidence of drug-induced torsades de pointes with intravenous amiodarone. *Indian Heart J*. 2017 Nov 1;69(6):707-13.
- QTDrugs Lists : Crediblemeds [Internet]. [cited 2023 Oct 15]. Available from: <https://crediblemeds.org/druglist>.
- Hasnain M, Vieweg WVR, Howland RH, Kogut C, Breden Crouse EL, Koneru JN, et al. Quetiapine, QTc interval prolongation, and torsade de pointes: a review of case reports. *Ther Adv Psychopharmacol*. 2014 Jun;4(3):130-8.
- Dube KM, DeGrado J, Hohlfelder B, Szumita PM. Evaluation of the Effects of Quetiapine on QTc Prolongation in Critically Ill Patients. *J Pharm Pract*. 2018 Jun;31(3):292-7.
- Zeppenfeld K, Tfelt-Hansen J, de Riva M, Winkel BG, Behr ER, Blom NA, et al. 2022 ESC Guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death. *Eur Heart J*. 2022 Oct 21;43(40):3997-4126.
- Grimm SW, Richtand NM, Winter HR, Stams KR, Reele SB. Effects of cytochrome P450 3A4 modulators ketoconazole and carbamazepine on quetiapine pharmacokinetics. *Br J Clin Pharmacol*. 2006;61(1):58-69.
- Schulz-Du Bois C, Schulz-Du Bois AC, Bewig B, Gerstner I, Aldenhoff JB, Cascorbi I, et al. Major increase of quetiapine steady-state plasma concentration following co-administration of clarithromycin: confirmation of the pharmacokinetic interaction potential of quetiapine. *Pharmacopsychiatry*. 2008 Nov;41(6):258-9.
- Huang X, Zhou Y, Zhang J, Xiang H, Mei H, Liu L, et al. The importance of CYP2C19 genotype in tacrolimus dose optimization when concomitant with voriconazole in heart transplant recipients. *Br J Clin Pharmacol*. 2022;88(10):4515-25.
- Bakker T, Klopowska JE, de Keizer NF, van Marum R, van der Sijs H, de Lange DW, et al. Improving medication safety in the Intensive Care by identifying relevant drug-drug interactions - Results of a multicenter Delphi study. *J Crit Care*. 2020 Jun;57:134-40.

## Příloha 2: Rychlíčková J, Součková L. Biologické účinky pomocných látek používaných u intravenózně podávaných léčiv. Klin Farmakol Farm. 2024;38(3):112–117.

### HLAVNÍ TÉMA

BIOLOGICKÉ ÚČINKY POMOCNÝCH LÁTEK POUŽÍVANÝCH U INTRAVENÓZNĚ PODÁVANÝCH LÉČIV

## Biologické účinky pomocných látek používaných u intravenózně podávaných léčiv

Jitka Rychlíčková<sup>1,2</sup>, Lenka Součková<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Farmakologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

<sup>2</sup>Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně

Léčivé přípravky pro intravenózní podání často obsahují kromě farmakologicky účinné látky i pomocné látky, které zajišťují rozpustnost, stabilitu a správné pH léčiva. Tradičně se předpokládá, že pomocné látky jsou biologicky inertní, avšak tento předpoklad není vždy naplněn. Některé pomocné látky mohou způsobovat hypersenzitivní reakce, indukovanou orgánovou toxicitu, diskomfort při aplikaci či vykazovat vlastní biologické účinky.

Regulace těchto látek se liší podle jejich známých účinků, a tak ne vždy je kvantitativní obsah těchto látek specifikován. Tento článek se zaměřuje na tři často používané pomocné látky v intravenózních lékových formách – propylenglykol, polysorbát 80 a sulfobutylether- $\beta$ -cyklodextrin (SBECD).

V článku analyzujeme farmakologické profily těchto látek, jejich potenciální toxicitu a možnosti prevence nežádoucích účinků, s důrazem na jejich použití u kriticky nemocných dospělých pacientů, kde intravenózní podání léků je často jedinou možností. Tento přístup je zásadní pro minimalizaci rizik spojených s použitím těchto pomocných látek v intenzivní medicíně.

**Klíčová slova:** pomocné látky, nežádoucí účinky, propylenglykol, polysorbát 80, sulfobutylether- $\beta$ -cyklodextrin.

### Biological effects of excipients used in intravenously administered drugs

Medicinal products for intravenous administration often contain excipients, in addition to the pharmacologically active substance, that ensure the solubility, stability and correct pH of the drug.

Excipients are assumed to be biologically inert, but this assumption is not always met. Some excipients may cause hypersensitivity reactions, organ toxicity, discomfort on administration or show own biological effects.

The regulatory framework for these substances varies according to their known effects, thus the quantitative content of these substances is not always compulsory to be specified. This article focuses on three frequently used excipients in intravenous drug dosage forms – propylene glycol, polysorbate 80 and sulfobutyl ether- $\beta$ -cyclodextrin (SBECD).

In this article, we discuss the pharmacological profiles of these agents, their potential toxicity, and options for preventing adverse effects, with an emphasis on their use in critically ill adults where intravenous drug administration is often the only option. This approach is essential to minimise the risks associated with the use of these excipients in critically ill.

**Key words:** excipients, adverse reactions, propylene glycol, polysorbate 80, sulfobutyl ether- $\beta$ -cyclodextrin.

### DECLARATIONS:

#### Declaration of originality:

The manuscript is original and has not been published or submitted elsewhere.

#### Ethical principles compliance:

The authors attest that their study was approved by the local Ethical Committee and is in compliance with human studies and animal welfare regulations of the authors' institutions as well as with the World Medical Association Declaration of Helsinki on Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects adopted by the 18<sup>th</sup> WMA General Assembly in Helsinki, Finland, in June 1964, with subsequent amendments, as well as with the ICMJE Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals, updated in December 2018, including patient consent where appropriate.

#### Conflict of interest and financial disclosures:

None.

#### Funding/Support:

Podpořeno ze státního rozpočtu prostřednictvím MŠMT projektem VVI CZECRIN (LM2023049) a z Evropského sociálního fondu a Evropského fondu regionálního rozvoje projektem CZECRIN\_PRO PACIENTY – zavádění inovativních moderních terapií, reg. číslo CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_013/0001826.

Cit. zkr: Klin Farmakol Farm. 2024;38(3):112–117

<https://doi.org/10.36290/far.2024.018>

Článek přijat redakcí: 11. 8. 2024

Článek přijat k tisku: 3. 9. 2024

PharmDr. Jitka Rychlíčková, Ph.D., BCPS

[rychlickova@med.muni.cz](mailto:rychlickova@med.muni.cz)

## Úvod

Léčivé přípravky jsou zpravidla tvořeny léčivou látkou, tedy samotnou farmakologicky účinnou látkou, a látkami pomocnými, jejichž charakter odráží typ lékové formy. U lékových forem pro intravenózní podání se obvykle jedná o látky zlepšující rozpustnost léčiva ve vodném prostředí, látky upravující pH a osmolaritu, stabilizátory a konzervanty. Pro pomocné látky je charakteristické, že nemají žádné léčebné účinky, diskutabilní ovšem zůstává požadavek na jejich biologicky indiferentní povahu. V praxi tento požadavek často nebývá naplněn a i pomocné látky se stávají nositeli určitého efektu – příkladem mohou být hypersenzitivní reakce (1), indukovaná orgánová toxicita (2–5), diskomfort při aplikaci (6) či vlastní biologický účinek.

To částečně reflektují i lékové agentury. Podílejí se na sledování bezpečnostních rizik pomocných látek, definují tzv. pomocné látky se známým účinkem a požadují striktní uvádění obsahu těchto pomocných látek (7–9). Výrobce je povinen uvádět přesný kvantitativní obsah konkrétní pomocné látky se známým účinkem v příbalovém letáku a na obalu přípravku (8). Bohužel v praxi se setkáváme s tím, že tento požadavek není všemi výrobci dodržován. V ostatních případech, u pomocných látek bez známého účinku, stačí uvedení použité látky v souhrnu údajů o přípravku (SmPC) a příbalovém letáku bez jejího kvantitativního určení.

V tomto sdělení se zaměříme na tři pomocné látky používané v lékových formách pro intravenózní podání – propylenglykol, polysorbát 80 a sulfobutylether- $\beta$ -cyklo-dextrin (SBECD), a to z pohledu příkladů léčivých přípravků obsahujících tyto pomocné látky, z pohledu farmakologického profilu těchto látek, včetně potenciální toxicity, možnosti jejího rozpoznání a prevence. Zaměříme se především na léčiva používaná v intenzivní medicíně a u kriticky nemocných, kde intravenózní formy léčiv představují preferovanou a mnohdy také jedinou přípustnou formu podání léčiv. U této skupiny pacientů lze pochopitelně očekávat zvýšenou expozici zmíněným pomocným látkám, riziko kumulace při poruše exkrečních funkcí.

## Propylenglykol

Propylenglykol (1,2-propandiol) je pomocná látka zvyšující rozpustnost hydrofobních léčiv ve vodném prostředí a je zařazena na seznamu pomocných látek se známým účinkem (7). Nacházíme ji v řadě léčiv pro parenterální, perorální či topické podání. V poslední době se ale o propylenglykolu hovoří především v kontextu pneumotoxicity elektronických cigaret a jejich náplní (e-cigarety, or vaping, product use-associated lung injury, EVALI) (10).

Výběr léčivých přípravků s významným obsahem propylenglykolu dostupných v ČR a používaných v intenzivní medicíně nabízí Tabulka 1, v zahraničí je s propylenglykolem a jeho potenciální toxicitou spojován zejména léčivý přípravek s lorazepamem (11, 12).

Propylenglykol je nízkomolekulární (molekulová hmotnost 76 daltonů), vysoce osmoticky aktivní látka. Zčásti je metabolizován v játrech cestou alkohol-dehydrogenázy a aldehyd-dehydrogenázy za vzniku pyruvátu, acetátu a laktátu (11, 12). Z 12–45 % je v nezměněné formě vylučován renálně; clearance propylenglykolu klesá se stoupající dávkou, což ukazuje na saturabilní sekreci v proximálním tubulu (12–14). U dospělých se biologický poločas pohybuje kolem 2 hodin (v rozmezí 1,4–3,3 hodiny) (13, 14).

Doporučená maximální dávka propylenglykolu se vyvíjela postupem času a na základě zpěšňujících se informací z preklinických studií, jednotlivých kazuistik pacientů a dat z klinické praxe (15). Ačkoliv Světová zdravotnická organizace doporučila jako maximální denní dávku propylenglykolu 25 mg/kg (v tomto případě jako přísady do potravin), bezpečnostní limit denního příjmu propylenglykolu jako pomocné látky u léčiv byl stanoven až v roce 2017, doporu-

čení Evropské lékové agentury uvádí dávky až 500 mg/kg/den propylenglykolu jak pro perorální, tak pro parenterální podání jako bezpečné pro dospělé a děti od 5 let i dlouhodobě (14, 16, 17). Přestože studie na zvířatech opakovaně prokázaly, že propylenglykol má nízkou toxicitu a vykazuje pouze určitou hematologickou toxicitu v dávkách  $\geq 5000$  mg/kg/den, u lidí byly sice vzácné, ale potenciálně až život ohrožující nežádoucí účinky popsány (15). Wilson a kol. odhadují incidenci toxicity propylenglykolu na < 5 % (12). V ČR je riziko jistě nižší díky nedostupnosti intravenózního lorazepamu.

Obraz toxicity propylenglykolu je velmi variabilní – od běžných metabolických abnormalit až po klinickou manifestaci a zhoršení stavu pacienta (hyperosmolalita, laktátová acidóza, metabolická acidóza se zvýšeným anion gapem, hemolýza, hypotenze, arytmie, akutní selhání ledvin, multiorganová dysfunkce) (12, 14). Konkrétní kazuistiky nabízí ve své práci např. Wilson a kol. nebo Smedley a kol. (5, 12). Korelace plazmatických koncentrací propylenglykolu a tíže stavu nebyla prokázána, ač vyšší hladiny propylenglykolu se pochopitelně jeví rizikovější. Plazmatická koncentrace ale koreluje se sérovou osmolalitou, z níž lze plazmatickou koncentraci propylenglykolu zpětně odhadnout (12, 14).

Za rizikový faktor projevu toxicity propylenglykolu lze na základě dostupné literatury považovat kontinuální infuzi benzodiazepinů (lorazepamu, diazepam), ev. velké množství bolusů v průběhu dne; a to především u pacientů se současnou hepatální dysfunkcí anebo aktivním abúzem alkoholu, protože etanol a propylenglykol sdílí své metabolické cesty (12, 18). Další rizikovou skupinou mohou být pacienti indikovaní pro podání vysokodávkového kotrimoxazolu (např. při dávce

**Tab. 1.** Obsah propylenglykolu ve vybraných přípravcích pro parenterální podání používaných v intenzivní medicíně

| Léčivo                     | Léčivý přípravek pro i.v. podání                                                  | Obsah propylenglykolu                          |
|----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| sulfametoxazol/trimetoprim | Biseptol® (400 mg/80 mg/5 ml)                                                     | 2 100 mg                                       |
| diazepam                   | Apaurin® (10 mg/2 ml)                                                             | 828 mg                                         |
| urapidil                   | Ebrantil® (25 mg/5 ml), Urapidil Kalceks® (25 mg/5 ml), Tachyben IV® (25 mg/5 ml) | 500 mg                                         |
| glycerol trinitrát         | Perlinganit® (10 mg/10 ml)<br>Nitropohl® (10 mg/10 ml)                            | obsah není uveden<br>neobsahuje propylenglykol |
| fenytoin                   | Epanutin® (250 mg/5 ml)                                                           | 2 072 mg                                       |
| digoxin                    | Digoxin Zentiva (0,5 mg/2 ml)                                                     | 830 mg                                         |

## HLAVNÍ TÉMA

BIOLOGICKÉ ÚČINKY POMOCNÝCH LÁTEK POUŽÍVANÝCH U INTRAVENÓZNĚ PODÁVANÝCH LÉČIV

15 mg/kg/den trimetoprimu se pro 80 kg pacienta denní dávka propylenglykolu dostává téměř na 400 mg/kg/den). Riziko dále roste, pokud pacient dostává další léčivé přípravky s obsahem propylenglykolu. S ohledem na farmakokinetiku propylenglykolu se jako riziková jeví i závažná renální insuficience, akutní renální selhání s potenciálem kumulace nebo lékové interakce na úrovni kompetitivní inhibice alkoholdehydrogenázy (18).

U pacienta s nevysvětlenou hyperosmolalitou, laktátovou acidózou, akutní renální selháním nebo suspektu sepsí, ale s negativními hemokulturami, je na místě v rámci diferenciální diagnostiky zvážit i toxicitu propylenglykolu, ev. přehodnotit stávající farmakoterapii z pohledu celkové podané dávky propylenglykolu jako pomocné látky (14). V rámci prevence se nabízí monitoring sérové osmolality u pacientů s vyšším denním příjmem propylenglykolu (nad 500 mg/kg/den) (3). Propylenglykol je rovněž zdroj sacharidů a je třeba jeho příjem započítávat do celkové netukové energie u pacientů v cílené ketóze (19).

### Polysorbát 80 (Tween 80)

Polysorbát 80 je povrchově aktivní látka používaná jako emulgátor, rozpouštědlo, stabilizátor nebo látka zabraňující adsorpci a precipitaci proteinů. Na seznam Pomocných látek se známým účinkem povinně uváděných na obalech se dostal až v roce 2024 (9). Informace v doprovodné dokumentaci léčivých přípravků se tudíž stále ještě většinou omezují pouze na uvedení jeho přítomnosti. Příklady přípravků s jeho obsahem používané v intenzivní medicíně uvádí Tabulka 2, nicméně v nižším či vyšším množství bychom jej našli ve stovkách dalších přípravků, včetně vakcín (významný obsah je v zahraniční literatuře uváděn v přípravcích s obsahem docetaxelu, kabazitaxelu, nebo doxerkalciferolu, analog erythropoetinu, fosaprepitantu) (20, 21).

Chemicky je polysorbát 80 směsí esterů mastných kyselin a polyoxyethylen-sorbitanu, kdy minimálně 58 % této směsi tvoří kyselina olejová (molekulová hmotnost 1 310 daltonů) (21). Po parenterálním podání polysorbát 80 rychle podléhá hydrolyze, uvolněné mastné kyseliny pak procházejí beta-oxidací. Polyoxyethylen-sorbitan je vylučován pře-

**Tab. 2.** Obsah polysorbátu 80 ve vybraných přípravcích pro parenterální podání a používaných v intenzivní medicíně

| Léčivo              | Léčivý přípravek pro i.v. podání                                                     | Obsah polysorbátu 80                                                                                                                       |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| amiodaron           | Cordarone® (150 mg/3 ml)                                                             | obsah není uveden* (v zahraničí registrované přípravky obsahují 2 mg polysorbátu 80 na každý 1 mg amiodaronu pro parenterální podání) (20) |
| anidulafungin       | Anidulafungin Accord® (100 mg),<br>Anidulafungin Teva® (100 mg),<br>Ecalta® (100 mg) | obsah není uveden* (v zahraničí registrované přípravky uvádějí 250 mg polysorbátu 80 na 100 mg anidulafunginu) (49)                        |
| mykofenolát-mofetil | Cellcept® (500 mg)                                                                   | obsah není uveden* (v zahraničí registrované přípravky uvádějí 25 mg polysorbátu 80 na 500 mg mykofenolát mofetilu) (50)                   |
| vit. K              | Kanavit® (10 mg/ml)                                                                  | obsah není uveden*                                                                                                                         |

\*polysorbát 80 se na seznam Pomocných látek povinně uváděných na obalech dostal až s poslední aktualizací 17. 4. 2024; doprovodná dokumentace přípravků tedy ještě nemusela být aktualizována v době přípravy tohoto článku

važně renálně (20). Z klinických studií vyplývá krátký biologický poločas kolem jedné hodiny (21, 22). Distribuční objem polysorbátu 80 pak přibližně odpovídá objemu krve (21, 22). Tím, že v krvi pravděpodobně vytváří velké micely, ev. komplexy s proteiny, centrální kompartment neopouští a je pravděpodobné, že může ovlivňovat farmakokinetiku dalších léčiv (21, 23). Jako emulgátor může polysorbát 80 ovlivňovat fluiditu buněčných membrán a zvyšovat jejich propustnost (21, 24). Tento efekt je dáván do souvislosti s některými nežádoucími účinky.

Podle doporučení WHO je přijatelný orální denní příjem polysorbátu 80 u dospělých 25 mg/kg (25). EMA upřesňuje podání polysorbátu v jednotlivé dávce 10 mg/kg a celkově maximální dávce 35 mg/kg u dospělého pacienta (9, 26). Za maximální tolerovanou dávku polysorbátu 80 lze u dospělých pacientů považovat 300 mg, jedná se ale o odhad vycházející z klinické praxe, kdy právě dávka polysorbátu 80 podaná s amiodaronem, a v tomto případě typicky bez premedikace antihistaminikem či glukokortikoidem, bývá dobře tolerovaná (20). Postupně ale přibývá dat, která naznačují, že polysorbát 80 není fyziologicky inertní sloučeninou a s ním spojené reakce (např. hypersenzitivita, reakce v místě vpichu, hepatotoxicita, hypotenze, arytmie) mohou být mylně přisuzovány samotnému léčivu (20, 21, 27, 28).

Rhodes a kol. se jako první zmiňuje o roli polysorbátu 80 v amiodaronem indukovaném poškození jater; podobných kazuistických sdělení s časem přibývá (20, 24, 27, 29, 30). A je to právě krátký biologický poločas, který může být jedním z vysvětlení rychlé úpravy jaterního poškození po ukončení podání

parenterálního amiodaronu (v porovnání s poločasem samotného amiodaronu, případně vlivem základního onemocnění a také tolerancí perorálních forem bez obsahu emulgátoru) (24). Podrobnější obraz hepatotoxicity spojené s podáním intravenózního amiodaronu při současně dobré toleranci perorálního amiodaronu nabízí Bravo a kol. (30). U všech pacientů byl pozorován významný vzestup ALT (alanin-aminotransferázy) i AST (aspartát-aminotransferázy), dominantním znakem byla i hyperbilirubinémie a centrilobulární nekróza. Průměrně byl amiodaron podáván intravenózně po dobu třech dnů před změnou laboratorního obrazu (30). Bravo a kol. diskutují i další možné mechanismy hepatotoxicity – vedle emulgačního účinku polysorbátu 80 zmiňují výši plazmatické/jaterní koncentrace amiodaronu, podíl inhibice izoenzymů cytochromu P450 a P-glykoproteinu jak amiodaronem a jeho metabolitem, tak polysorbátem 80, a možné lékové interakce; zmiňují i vliv hypotenze (30). Hypotenze po podání polysorbátu 80 byla velmi dobře prokázána v preklinických testech a po podání amiodaronu s polysorbátem 80 jako emulgátorem v klinické praxi (31–33). Po podání amiodaronu v přípravku bez polysorbátu 80 žádný podobný efekt pozorován nebyl (32, 33).

V souvislosti s použitím polysorbátu 80 jako pomocné látky, byly pozorovány anafylaktoidní reakce neimunologického původu, kdy polysorbát specifické IgE protilátky nebyly identifikovány v enzymatickém imunosorbentním testu a imunoblotových vyšetřeních, což potvrzuje neimunologický charakter anafylaktoidní reakce (34). SÚKL doporučuje uvádět upozornění v SmPC léči-

vých přípravků obsahující polysorbát 80 jako pomocnou látku, riziko prodloužení intervalu QT a vzniku torsade de pointes (9). Zvláště pak u pacientů s kongenitálním syndromem dlouhého intervalu QT zvážit týkající se rizika souběžného užívání dalších přípravků, které prodlužují interval QT/QTc. Jednou z možností minimalizace rizika hypotenze a arytmií je snížení rychlosti podání injekce/infuze léčivého přípravku s obsahem polysorbátu 80.

Sledování nežádoucích účinků polysorbátu 80, ev. zhodnocení jeho podílu na změně stavu pacienta je jistě na místě. S nutností uvádět obsah emulgátoru v jednotlivých přípravcích bychom mohli získat lepší představu o charakteru nežádoucích účinků, jejich frekvenci nebo potenciální dávkové závislosti. Současně je třeba vnímat podíl polysorbátu 80 na farmakodynamické odpovědi na amiodaron a umět si vysvětlit odlišnou reakci při použití bezpolysorbátové formule, která by se na trh mohla dostat např. v rámci řešení výpadků.

### Sulfobutylether- $\beta$ -cyklodextrin (SBECD)

SBECD je v léčivých přípravcích používán jako pomocná látka usnadňující rozpouštění. Cyklodextriny obecně vznikají propojením monosacharidových jednotek do kónické struktury s hydrofobními skupinami orientovanými dovnitř. To je podstatou jejich solubilizačního účinku pro lipofilní léčiva (35). SBECD je chemicky modifikovaný přírůstek  $\beta$ -cyklodextrin, jehož hydroxylové skupiny byly polysubstituovány butylsulfonovými jednotkami, má tak vyšší molekulovou hmotnost (2 163 daltonů) a náboj.

SBECD není metabolizován a v nezměněné formě je zcela eliminován renálně s clearance odpovídající rychlosti glomerulární filtrace; po intravenózním podání nebyl SBECD detekován ve stolici. SBECD se neváže na plazmatické proteiny a distribuční objem odpovídá objemu extracelulární tekutiny (tj. kolem 0,2 l/kg), a to napříč různými populacemi: zdraví dobrovolníci, pacienti se středně závažným a závažným stupněm renální insuficience, pacienti s různými metodami náhrady funkce ledvin (renal replacement therapy, RRT) (36–38). Logicky lze na základě výše uvedeného očekávat rozdílnou clearance a celko-

vou expozici v jednotlivých výše uvedených skupinách. Zatímco u zdravých dobrovolníků s normální funkcí ledvin se biologický poločas pohybuje kolem 1,5–2 hodin, u pacientů s těžkou renální insuficiencí se prodlužuje k 10 hodinám, u intermitentně dialyzovaných pacientů v období mezi dialýzami stoupá až k 80 hodinám (36, 37, 39). Na druhé straně je SBECD dobře dialyzovatelný při použití high-flux filtrů (37, 38). U pacientů na kontinuální dialýze se biologický poločas pohybuje kolem 6–7 hodin, v průběhu intermitentní dialýzy je kratší a liší se dle konkrétního nastavení a typu vybavení (37, 38, 40). Navzdory účinné eliminaci SBECD cestou RRT je třeba u těchto pacientů stále očekávat významně vyšší expozici v porovnání s jednotlivci s normální funkcí ledvin (40).

V tuto chvíli se neřadí na seznam pomocných látek se známým účinkem. Příklady léčivých přípravků s jeho obsahem v ČR uvádí Tabulka 3 (41). V zahraničí bývá součástí například léčivých přípravků s amiodaronem, aripirazolem, ziprasidonem, karbamazepinem, itraconazolem pro intravenózní podání (35, 42). EMA vydala v roce 2014 doporučení na použití cyklodextrinů jako pomocných látek u léčivých přípravků, kde uvádí jako maximální denní dávku pro SBECD 300 mg/kg (43).

Hlavní obavou spojenou s SBECD je dávkově závislá nefrotoxicita. Obava je podložena skutečností, že chemicky nemodifikované  $\alpha$ - a  $\beta$ -cyklodextriny podléhají tubulární reabsorpci v renálních tubulárních buňkách, kde interferují s cholesterolem a narušují integritu buněk (36). Nicméně právě díky své chemické modifikaci SBECD nepodléhá tubulární resorpci a zůstává koncentrovaný v moči. Díky tomu by měl být oslaben jeho nefrotoxický potenciál (36).

Nejrizikovějším léčivem je s ohledem na dávkování, množství SBECD a předpokládanou délku terapie vorikonazol. Pro 80 kg pacienta odpovídá standardní denní dávka vorikonazolu 960 mg resp. 640 mg, tedy 15,3 g, resp. 10,2 g SBECD (192 mg/kg/den,

resp. 128 mg/kg/den). A právě s vorikonazolem je publikováno nejvíce studií zaměřených na sledování nefrotoxicity SBECD (38, 44–47). Nicméně ani systematické review z roku 2015, zahrnující většinu dat publikovaných na toto téma dodnes, nepotvrdilo vyšší výskyt nefrotoxicity u intravenózní formy vorikonazolu oproti perorální u pacientů s renální insuficiencí (35). Limitem dat je nepochybně omezená délka podávání SBECD pacientům se sníženou funkcí ledvin reflektující doporučení výrobce (přechod na perorální formu vorikonazolu při poklesu clearance kreatininu pod 50 ml/min). Pouze Yasu a kol. nabízí klinická data k dlouhodobějšímu (medián 27 dní) podání intravenózního vorikonazolu. Odhadují, že kumulativní dávka více než 400 mg/kg vorikonazolu resp. 6400 mg SBECD může přispět k rozvoji renální dysfunkce (48). To by odpovídalo přibližně 50 dnům léčby. Vezmeme-li v potaz 5,5x vyšší expozici SBECD u pacientů s těžkou renální insuficiencí, mechanistickým výpočtem dosáhneme podobné expozice po přibližně 9 dnech terapie.

Výrobce vorikonazolu doporučuje pečlivé zhodnocení benefitů a rizik před použitím SBECD u pacientů s clearance kreatininu pod 50 ml/min a výše uvedený přehled může posloužit k lepšímu zhodnocení oněch rizik. I přes své limity (data se týkají převážně kombinace s vorikonazolem, typicky jde o krátkodobou expozici) publikovaná data toxicity SBECD u lidí spolehlivě neprokazují a stávají se tak cenným vodítkem pro situace, kdy přechod na formu bez obsahu SBECD není možný.

### Závěr

Pomocné látky jsou nezbytnou součástí intravenózně podávaných léčiv, neboť zajišťují stabilitu, rozpustnost a biologickou dostupnost účinné látky. Přestože jsou tyto látky obecně považovány za inertní, rostoucí počet studií poukazuje na jejich potenciální biologické účinky, které mohou mít klinický význam. Zvláštní riziko mohou představovat v intenzivní péči, kdy se často setkáváme s je-

**Tab. 3.** Obsah SBECD ve vybraných přípravcích pro parenterální podání a používaných v intenzivní medicíně

| Léčivo      | Léčivý přípravek pro i. v. podání | Obsah SBECD |
|-------------|-----------------------------------|-------------|
| vorikonazol | Vfend® (200 mg)                   | 3 200 mg    |
| posakonazol | Noxafil® (300 mg)                 | 6 680 mg    |
| remdesivir  | Veklury (100 mg)                  | 3 000 mg    |

## Hlavní téma

BIOLOGICKÉ ÚČINKY POMOCNÝCH LÁTEK POUŽÍVANÝCH U INTRAVENÓZNÍ PODÁVÁNÝCH LÉČIV

jich extenzivním přívodem v krátkém časovém horizontu, nebo naopak s prodlouženým podáním a rizikem jejich kumulace. V takové situaci může i přes jejich bezpečnost dojít k projevu jejich biologických účinků.

Mezi nejčastěji zmiňované účinky patří změny farmakokinetiky léčiv, aktivace imunitního systému, ovlivnění buněčné toxicity a interakce s biologickými membránami. Některé pomocné látky mohou také způsobovat aler-

gické reakce nebo jiné orgánové toxicity, jako hepatotoxicita, dermatotoxicita či mohou negativně ovlivňovat kardiovaskulární systém. Vzhledem k těmto potenciálním rizikům je nutné věnovat zvýšenou pozornost výběru a hodnocení pomocných látek při vývoji nových intravenózních formulací, ale i použití stávajících léčivých přípravků.

Budoucí výzkum by měl být zaměřen na podrobnější zmapování těchto účinků a na

identifikaci bezpečných profilů pomocných látek, aby byla zajištěna co nejvyšší účinnost a bezpečnost intravenózně podávaných léčiv. Vigilance ve smyslu biologických efektů pomocných látek je jednou z klíčových iniciativ pro zajišťování bezpečné farmakoterapie, nikoli jen farmakovigilance zaměřené na farmakologicky účinné látky, jak je tomu doposud například při hodnocení generik a biosimilars.

## LITERATURA

1. Caballero ML, Krantz MS, Quince S, et al. Hidden Dangers: Recognizing Excipients as Potential Causes of Drug and Vaccine Hypersensitivity Reactions. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2021;9(8):2968-2982.
2. Demey HE, Daelemans RA, Verpooten GA, et al. Propylene glycol-induced side effects during intravenous nitroglycerin therapy. *Intensive Care Med*. 1988;14(3):221-226.
3. Neale BW, Mesler EL, Young M, et al. Propylene glycol-induced lactic acidosis in a patient with normal renal function: a proposed mechanism and monitoring recommendations. *Ann Pharmacother*. 2005;39(10):1732-1736.
4. Golden TR, Solnick V, Wade R, et al. Pentobarbital-induced lactic acidosis following status epilepticus barbiturate coma. *BMJ Case Rep*. 2018;2018bcr2017223482.
5. Smedley LW, Rios D, Barthol CA, et al. Iatrogenic Propylene Glycol Intoxication Due to High-Dose Pentobarbital for Refractory Intracranial Hypertension: A Case Report. *J Pharm Pract*. 2020;33(6):895-898.
6. Shi GH, Pisupati K, Parker JG, et al. Subcutaneous Injection Site Pain of Formulation Matrices. *Pharm Res*. 2021;38(5):779-793.
7. European Medicines Agency [on-line]. Annex to the European Commission guideline on „Excipients in the labelling and package leaflet of medicinal products for human use“. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/annex-european-commission-guideline-excipients-labelling-package-leaflet-medicinal-products-human-use>.
8. European Medicines Agency [on-line]. Excipients labelling. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/product-information-requirements/excipients-labelling>.
9. Státní ústav pro kontrolu léčiv [on-line]. Pomocné látky povinně uváděné na obalech a odpovídající text v příbalové informaci – aktualizovaná verze přílohy pro ČR. Available from: <https://www.sukl.cz/leciva/pomocne-latky-povinne-uvadene-na-obalech-a-odpovidajici-text>.
10. Cao DJ, Aldy K, Hsu S, et al. Review of Health Consequences of Electronic Cigarettes and the Outbreak of Electronic Cigarette, or Vaping, Product Use-Associated Lung Injury. *J Med Toxicol*. 2020;16(3):295-310.
11. Medications Containing Propylene Glycol and Risk of Anion Gap Metabolic Acidosis [on-line]. Available from: <https://www.ebmconsult.com/articles/medications-containing-propylene-glycol-risk-anion-gap-metabolic-acidosis>.
12. Wilson KC, Reardon C, Theodore AC, et al. Propylene glycol toxicity: a severe iatrogenic illness in ICU patients receiving IV benzodiazepines: a case series and prospective, observational pilot study. *Chest*. 2005;128(3):1674-1681.
13. Speth PA, Vree TB, Neilen NF, et al. Propylene glycol pharmacokinetics and effects after intravenous infusion in humans. *The Drug Monitor*. 1987;9(3):255-258.
14. Zar T, Graeber C, Perazella MA. Recognition, treatment, and prevention of propylene glycol toxicity. *Semin Dial*. 2007;20(3):217-219.
15. Lewis AS, Boomhower SR, Marsh CM, et al. Considerations for deriving a safe intake of propylene glycol. *Food Chem Toxicol*. 2024;186:114460.
16. European Medicines Agency [on-line]. Questions and answers on propylene glycol used as an excipient in medicinal products for human use. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/questions-and-answers-propylene-glycol-used-excipient-medicinal-products-human-use\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/questions-and-answers-propylene-glycol-used-excipient-medicinal-products-human-use_en.pdf).
17. World Health Organization [on-line]. Toxicological evaluation of certain food additives with a review of general principles and of specifications: seventeenth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Geneva, 25 June - 4 July 1973. Available from: [https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/41072/WHO\\_TRS\\_539.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/41072/WHO_TRS_539.pdf?sequence=1&isAllowed=y).
18. Nelsen JL, Haas CE, Habtemariam B, et al. A prospective evaluation of propylene glycol clearance and accumulation during continuous-infusion lorazepam in critically ill patients. *J Intensive Care Med*. 2008;23(3):184-194.
19. Abu-Sawwa R, Busque K, Cokley J. Parenteral medication considerations for the ketogenic diet. *American Journal of Health-System Pharmacy*. 2023;80(19):1357-1363.
20. Krieger C, Festag M, Kishore RSK, et al. Pediatric Safety of Polysorbates in Drug Formulations. *Children (Basel)*. 2019;7(1):1.
21. Schwartzberg LS, Navari RM. Safety of Polysorbate 80 in the Oncology Setting. *Adv Ther*. 2018;35(6):754-767.
22. ten Tije AJ, Loos WJ, Verweij J, et al. Disposition of polyoxyethylated excipients in humans: Implications for drug safety and formulation approaches. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2003;74(5):509-510.
23. Loos WJ, Baker SD, Verweij J, et al. Clinical pharmacokinetics of unbound docetaxel: role of polysorbate 80 and serum proteins. *Clin Pharmacol Ther*. 2003;74(4):364-371.
24. Kicker JS, Hazlip JA, Buck ML. Hepatotoxicity After Continuous Amiodarone Infusion in a Postoperative Cardiac Infant. *J Pediatr Pharmacol Ther*. 2012;17(2):189-195.
25. EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). Scientific Opinion on the re-evaluation of polyoxyethylene sorbitan monooleate (E 432), polyoxyethylene sorbitan monooleate (E 433), polyoxyethylene sorbitan monopalmitate (E 434), polyoxyethylene sorbitan monostearate (E 435) and polyoxyethylene sorbitan tristearate (E 436) as food additives. *EFSA Journal*. 2015;13(7):4152.
26. European Medicines Agency [on-line]. Information for the package leaflet regarding polysorbates used as excipients in medicinal products for human use. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/draft-information-package-leaflet-regarding-polysorbates-used-excipients-medicinal-products-human-use\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/draft-information-package-leaflet-regarding-polysorbates-used-excipients-medicinal-products-human-use_en.pdf).
27. Rhodes A, Eastwood JB, Smith SA. Early acute hepatitis with parenteral amiodarone: a toxic effect of the vehicle? *Gut*. 1993;34(4):565-566.
28. Boccia R, Geller RB, Clendeninn N, et al. Hypersensitivity and infusion-site adverse events with intravenous fosaprepitant after anthracycline-containing chemotherapy: a retrospective study. *Future Oncol*. 2019;15(3):297-303.
29. Rizzoli E, Incasa E, Gambineri S, et al. Acute toxic hepatitis after amiodarone intravenous loading. *Am J Emerg Med*. 2007;25(9):1082.e1-4.
30. Bravo AER, Drewe J, Schlienger RG, et al. Hepatotoxicity during rapid intravenous loading with amiodarone: Description of three cases and review of the literature. *Critical Care Medicine*. 2005;33(1):128.
31. Pouliot M, Bussiere J, Coppi A, et al. Polysorbate 80-Induced Anaphylactoid Reaction and the Effects on Cardiovascular Function: Dose Threshold and Species Comparison. *Int J Toxicol*. 2022;41(2):99-107.
32. Pannone L, D'Angelo G, Gulletta S, et al. Amiodarone in ventricular arrhythmias: still a valuable resource? *RCM*. 2021;22(4):1383-1392.
33. Lindquist DE, Rowe AS, Heidel E, et al. Evaluation of the Hemodynamic Effects of Intravenous Amiodarone Formulations During the Maintenance Phase Infusion. *Ann Pharmacother*. 2015;49(12):1317-1321.
34. Stone CA, Liu Y, Relling MV, et al. Immediate Hypersensitivity to Polyethylene Glycols and Polysorbates: More Common Than We Have Recognized. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2019;7(5):1533-1540.e8.
35. Turner RB, Martello JL, Malhotra A. Worsening renal function in patients with baseline renal impairment treated with intravenous voriconazole: A systematic review. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2015;46(4):362-366.
36. Luke DR, Tomaszewski K, Damle B, et al. Review of the basic and clinical pharmacology of sulfobutylether-beta-cyclodextrin (SBEC). *J Pharm Sci*. 2010;99(8):3291-3301.
37. Luke DR, Wood ND, Tomaszewski KE, et al. Pharmacokinetics of sulfobutylether-beta-cyclodextrin (SBEC) in subjects on hemodialysis. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2012;27(3):1207-1212.
38. Kiser TH, Fish DN, Aquilante CL, et al. Evaluation of sulfobutylether-beta-cyclodextrin (SBEC) accumulation and voriconazole pharmacokinetics in critically ill patients undergoing continuous renal replacement therapy. *Crit Care*. 2015;19(1):32.
39. Hoover RK, Alcorn H, Lawrence L, et al. Clinical Pharmacokinetics of Sulfobutylether-beta-Cyclodextrin in Patients With Varying Degrees of Renal Impairment. *J Clin Pharmacol*. 2018;58(6):814-822.
40. Hafner V, Czock D, Burhenne J, et al. Pharmacokinetics of Sulfobutylether-Beta-Cyclodextrin and Voriconazole in Patients with End-Stage Renal Failure during Treatment with Two Hemodialysis Systems and Hemodiafiltration. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(6):2596-2602.
41. Státní ústav pro kontrolu léčiv [on-line]. Databáze léků SÚKL. Available from: [https://prehledy.sukl.cz/prehled\\_leciv.html/](https://prehledy.sukl.cz/prehled_leciv.html/).
42. Stella VJ, Rajewski RA. Sulfobutylether-beta-cyclodextrin. *Int J Pharm*. 2020;583:119396.
43. European Medicines Agency [on-line]. Background review for cyclodextrins used as excipients. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/background-review-cyclodextrins-used-excipients-context-revision-guideline-excipients-label-and-package-leaflet-medicinal-products-human-use-draft-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/background-review-cyclodextrins-used-excipients-context-revision-guideline-excipients-label-and-package-leaflet-medicinal-products-human-use-draft-report_en.pdf).

## HLAVNÍ TÉMA

## BIOLOGICKÉ ÚČINKY POMOČNÝCH LÁTEK POUŽÍVANÝCH U INTRAVENÓZNĚ PODÁVANÝCH LÉČIV

44. Kim SH, Kwon JC, Park C, et al. Therapeutic drug monitoring and safety of intravenous voriconazole formulated with sulfobutylether  $\beta$ -cyclodextrin in haematological patients with renal impairment. *Mycoses*. 2016;59(10):644-651.

45. Lilly CM, Welch VL, Mayer T, et al. Evaluation of intravenous voriconazole in patients with compromised renal function. *BMC Infect Dis*. 2013;13:14.

46. Oude Lashof AML, Sobel JD, Ruhnke M, et al. Safety and Tolerability of Voriconazole in Patients with Baseline Renal

Insufficiency and Candidemia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(6):3133-3137.

47. Neofytos D, Lombardi LR, Shields RK, et al. Administration of Voriconazole in Patients With Renal Dysfunction. *Clinical Infectious Diseases*. 2012;54(7):913-921.

48. Yasu T, Konuma T, Kuroda S, et al. Effect of Cumulative Intravenous Voriconazole Dose on Renal Function in Hematological Patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018;62(9):e00507-18.

49. Food and Drug Administration [on-line]. ERAXIS® (anidulafungin) for injection, for intravenous use. Available from: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2020/021632027\\_5029lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2020/021632027_5029lbl.pdf).

50. Food and Drug Administration [on-line]. CELLCEPT Intravenous (mycophenolate mofetil) for injection, for intravenous use. Available from: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2022/050722s049s051,050723s049s051,050758s047s049lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2022/050722s049s051,050723s049s051,050758s047s049lbl.pdf).

Příloha 3: Metodika pro ověření adsorpce CMS a kolistinu na materiál okruhu ECMO *ex vivo*

**Cíl:** Kvantifikovat sekvestraci CMS a kolistinu na materiál ECMO okruhu v podmínkách *ex vivo*

**Metodika:** Interakce léčiv a materiálu bude kvantifikována na uzavřeném ECMO okruhu podobně, jako to bylo provedeno v dříve publikovaných studiích. ECMO okruh bude primován krví. Následně budou přidána léčiva. Opakovaně bude měřena koncentrace léčiv v okruhu. S ohledem na design pokusu nezahrnující lidské účastníky nebude požadováno schválení etickou komisí.

*ECMO okruh:* Budou použity tři nové ECMO okruhy (výrobce bude doplněn dle skutečnosti) sestávající z hadic (výrobce a materiál bude doplněn dle skutečnosti), oxygenátoru (materiál, plocha a výrobce bude doplněn dle skutečnosti), centrifugové pumpy (typ a výrobce bude doplněn dle skutečnosti) a rezervoáru (1000 ml, výrobce bude doplněn dle skutečnosti). Rezervoár bude primován krví (přibližně 500 ml) doplněnou o Plasmalyte (250 ml), heparin a v případě potřeby hydrogenuhličitanem sodným 8,4% ke korekci pH. Kontrola pH proběhne před zahájením experimentu pomocí analyzátoru (výrobce bude doplněn dle skutečnosti.), v čase 3, 6 a 12 hodin po zahájení experimentu, a navíc *ad hoc* v případě korekce. Cílem je pH v rozmezí 7,20–7,55. Teplota okruhu bude udržována na 37 °C pomocí tepelného výměníku. Průtok bude nastaven na 4 l/min. Tlak za oxygenátorem bude kontrolován každou hodinu od začátku experimentu.

*Přidání léčiva:* Zásobní roztoky CMS o koncentraci 19,5 mg/10ml a kolistinu o koncentraci 1,95 mg/10 ml připravené Ústavem farmakologie, Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci budou přidány do rezervoáru se směsí pro priming okruhu. Po homogenizaci bude odpuštěno 50 ml tohoto roztoku do skleněné kádinky a bude sloužit jako kontrolní vzorek. Zbývajícím roztokem bude primován ECMO okruh.

**Kontrolní vzorek:** Kontrolní vzorek v uzavřené skleněné kádince bude umístěn do vodní lázně temperované na 37 °C. Roztok vždy před odběrem vzorku homogenizován lehkým prokroužením.

*Odběr vzorků:* První vzorek bude odebrán ihned po přidání léčiv do roztoku, další vzorky z ECMO okruhu budou odebírány v čase 5, 15, 30 a 60 minut a 3, 6 a 12 hodin po uzavření okruhu. Nejprve bude odtaženo 10 ml krve, které budou do okruhu po odběru vzorku vráceny. Objem každého vzorku bude 4 ml. Stejný objem bude odebrán z kontrolního vzorku. Oba vzorky budou okamžitě centrifugovány při 3000 otáčkách a 4 °C po dobu 10 minut. Z každého vzorku bude sérum odpipetováno do dvou vialek a vzorky budou umístěny do mrazáku –50 °C. Po ukončení experimentu budou všechny vzorky zamrazeny na –80 °C až do analýzy.

*Analýza vzorků:* Vzorky budou analyzovány na Ústavu farmakologie, Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci zavedenou a validovanou metodou kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS) s polymyxinem B jako interním standardem. Použita bude Prominence LC-20A HPLC System (Shimadzu, Kyoto, Japonsko) s Arion® Polar C18 kolonou (250 × 4,6 mm; 5 mm; Chromservis, Praha, Česká republika) temperovaná na 35 °C. Detektor je trojitý kvadrupólový spektrometr LCMS-8045 (Shimadzu, Kyoto, Japonsko) a elektrosprejovou ionizací (ESI). Mobilní fáze je voda a 0,1% mravenčí kyselina a methanol s 0,1% kyselinou mravenčí (40:60 v/v). Rychlost průtoku je 0,8 ml/min. Ionty generované elektrosprejovou ionizací jsou detekovány v pozitivním módu při m/z pro kolistin A 585,55 → 101,05, m/z pro kolistin B 578,5 → 101,15 a m/z pro vnitřní standard 602,4 → 101,1; 120,15; 86,15. Celkový čas analýzy je 3 minuty.

*Výpočet návratnosti:* Pro výpočet bude využita standardní rovnice:

$$\text{návratnost (\%)} = \frac{C_t}{C_i} \times 100 \%,$$

kde  $C_t$  je koncentraci v časovém bodě a  $C_i$  je koncentrace v čase 5 minut (5 minut po podání léčiva, tj. po proběhnutí ekvilibrace).

*Statistická analýza:* Statistická analýza bude provedena v programu R. Pro porovnání návratnosti ve vzorku z ECMO okruhu a kontrolního vzorku bude použit dvouvýběrový t-test s hladinou významnosti  $\alpha = 0,05$  v 12hodinovém horizontu celého experimentu.