

Untersuchung der Pharmakokinetik von Ciprofloxacin und Piperacillin bei Intensivpatienten mit kontinuierlichen Hämodialyseverfahren

**Studie: UMM062010FS
EUDRACT-Nr 2010-021369-66**

Dissertation

zur Erlangung des Grades
„Doktor der Naturwissenschaften“
im Promotionsfach Pharmazie

am Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Florian Scheer
geboren in Neuwied

Mainz, 2012

Vom Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften der Johannes Gutenberg-Universität Mainz als Dissertation angenommen.

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von Januar 2010 bis Oktober 2012 in der Apotheke der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

Datum der mündlichen Prüfung: 18.12.2012

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	4
1.1	Akutes Nierenversagen	4
1.2	Sepsis und akutes Nierenversagen	8
1.3	Kontinuierliche Nierenersatzverfahren (CRRT)	11
1.3.1	Arzneimittelimination bei CRRT	13
1.3.2	Dialysatoren	15
1.4	Antibiotikatherapie bei Intensivpatienten mit CRRT	17
1.4.1	Das Breitspektrumpenicillin Piperacillin/Tazobactam	19
1.4.2	Der Gyrasehemmer Ciprofloxacin	22
1.4.3	Dosierung von Piperacillin/Tazobactam und Ciprofloxacin bei CRRT	26
2	Zielsetzung	33
3	Material und Methoden	35
3.1	Material	35
3.1.1	Laborgeräte und Verbrauchsmaterialien	35
3.1.2	Dialysesystem, Filter und Dialyselösungen	38
3.1.3	Chemikalien und Referenzsubstanzen	39
3.1.4	Stammlösungen, Kalibrations- und Qualitätskontrollstandards für die HPLC-Untersuchung	40
3.2	Methoden	42
3.2.1	Probennahme und Probenvorbereitung von Blut- und Dialysatproben	42
3.2.2	Berechnung der pharmakokinetischen Parameter von Piperacillin/Tazobactam und Ciprofloxacin	42
3.2.3	Berechnung der Effektivität von Piperacillin/Tazobactam und Ciprofloxacin	45
3.2.4	Festphasenextraktion zur quantitativen Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin aus Plasmaproben	45
3.2.5	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie mit UV-Detektion zur quantitativen Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Plasma- und Dialysatproben	47
3.2.6	Validierung der analytischen Methode zur Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Plasmaproben	48
3.2.7	Validierung der analytischen Methode zur Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Dialysatproben	50
3.2.8	Klinische Studie zur Untersuchung der Pharmakokinetik von Piperacillin und Ciprofloxacin bei Intensivpatienten mit CVVHD oder CVVHDF	51
3.2.9	Dokumentation der Patientendaten	56
4	Ergebnisse	57
4.1	Validierung der Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Plasmaproben	57

4.1.1	HPLC-Chromatogramme.....	57
4.1.2	Linearität, Richtigkeit und Genauigkeit	60
4.1.3	Effekte der Plasmaverdünnung auf die Bestimmung von Richtigkeit und Genauigkeit der Methode.....	64
4.1.4	Selektivität und Nachweisgrenze.....	64
4.1.5	Stabilität.....	65
4.2	Validierung der Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Dialysatproben.....	70
4.2.1	HPLC-Chromatogramme.....	70
4.2.2	Linearität, Richtigkeit und Genauigkeit	72
4.2.3	Selektivität und Nachweisgrenze.....	75
4.2.4	Stabilität.....	76
4.3	Pharmakokinetik von Piperacillin und Ciprofloxacin bei Intensivpatienten mit kontinuierlichen Hämodialyse-verfahren	81
4.3.1	Patientenkollektiv	81
4.3.2	Pharmakokinetische Parameter von Piperacillin und Ciprofloxacin gemäß der Plasmaspiegelbestimmungen	89
4.3.3	Pharmakokinetische Parameter von Piperacillin und Ciprofloxacin gemäß der Dialysatspiegelbestimmungen	94
4.3.4	Antibiotische Effektivität von Piperacillin bei Patienten mit CVVHD/CVVHDF	97
4.3.5	Antibiotische Effektivität von Ciprofloxacin bei Patienten mit CVVHD/CVVHDF.....	104
5	Diskussion	112
5.1	Validität der Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Plasmaproben	112
5.2	Validität der Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Dialysatproben	117
5.3	Klinische Studie zur Untersuchung der Pharmakokinetik von Piperacillin und Ciprofloxacin bei Intensivpatienten mit CVVHD oder CVVHDF	119
5.3.1	Patientenkollektiv	119
5.3.2	Auswahl der Studienarzneimittel.....	121
5.3.3	Angewandte Nierenersatzverfahren.....	121
5.4	Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Piperacillin bei Patienten mit CVVHD/CVVHDF	123
5.5	Antibiotische Effektivität von Piperacillin bei Patienten mit CVVHD/CVVHDF	127
5.6	Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Ciprofloxacin bei Patienten mit CVVHD/CVVHDF	130
5.7	Antibiotische Effektivität von Ciprofloxacin bei Patienten mit CVVHD/CVVHDF	133

5.8	Grenzen der Studie.....	135
6	Ausblick	136
7	Zusammenfassung.....	137
8	Anhang	139
8.1	Abkürzungsverzeichnis	139
8.2	Abbildungsverzeichnis	142
8.3	Tabellenverzeichnis	144
8.4	Formelverzeichnis	147
8.5	Literaturverzeichnis	148

1 Einleitung

1.1 Akutes Nierenversagen

Das akute Nierenversagen (ANV) wurde bis in die Mitte des zwanzigsten Jahrhunderts besonders während Naturkatastrophen und Kriegen näher untersucht. Im zweiten Weltkrieg beschrieb Bywaters, ein englischer Arzt, vier Fälle verschütteter Patienten nach Bombenangriffen, die zwar gerettet werden konnten, aber im Krankenhaus an einem akuten Nierenversagen starben (1). Zu dieser Zeit lag die Mortalität eines Patienten mit diesem Krankheitsbild bei über 90 % (2). Erst mit der Möglichkeit einer schnellen Behandlung der Verletzten und der Entwicklung effektiver Dialyseverfahren konnte die Mortalität gesenkt werden (2). Während diese zu Beginn des Koreakrieges noch bei 80 % lag, konnte sie zu dessen Ende auf 50 % gesenkt werden (2;3). Auch bei Katastrophen wie den großen Erdbeben 1976 in der Nähe von Peking und 1999 in der Türkei starben 20 % der Opfer an einem akuten Nierenversagen (2).

Die Mortalitätsraten des ANV sind bis zu Beginn der 90er Jahre kontinuierlich auf 50 – 70 % angestiegen (4;5). Diese Entwicklung ist damit zu begründen, dass ein ANV heute oft nicht isoliert vorkommt, sondern häufig mit einem Multiorganversagen assoziiert ist (6). Die moderne Intensivmedizin trägt auch dazu bei, dass schwerkranke Patienten, die früher an ihrer Grunderkrankung gestorben wären, heute noch ein akutes Nierenversagen erleben (7).

Derzeit tritt ein akutes Nierenversagen bei etwa 5 – 7 % aller hospitalisierten Patienten auf (8). Bei Intensivpatienten ist es zu ca. 50 % mit einem septischen Schock assoziiert (9). Die Sterblichkeit bei Intensivpatienten mit einem akuten Nierenversagen liegt noch immer bei über 50 % (8-10).

Bei einem akuten Nierenversagen nimmt die Nierenfunktion rasch ab. Dieser Zustand kann über Stunden und Tage anhalten und ist prinzipiell reversibel (11). Der Schweregrad des ANV wird nach den RIFLE-Kriterien eingeteilt (12). Mit dem Akronym RIFLE als Klassifikationsschema werden das Risiko eines renalen Funktionsverlusts (Risk), ein bestehender Schaden der Nieren (Injury), ein Ausfall (Failure) sowie ein Verlust der Nierenfunktion (Loss) bis hin zu einem terminalen Nierenversagen wiedergegeben (end-stage kidney disease) (12) (siehe Tabelle 1). Das Klassifizierungssystem beinhaltet neben den drei Schweregraden der Nierenerkrankung, mit dem Verlust und dem terminalen Nierenversagen, zwei Resultate der Erkrankung. Die Schweregrade werden nach der Höhe des Kreatinin-Anstiegs und der Urinausscheidung eingeteilt, die Resultate nach der Dauer des Nierenversagens (12;13). Wenn für einen Patienten kein Ausgangswert der

Nierenfunktion bekannt ist, wird dieser mit der Modification of Diet in Renal Disease-Formel (MDRD) geschätzt (14).

Tabelle 1: Zusammenfassung der RIFLE-Kriterien (12;15).

Schweregrad ANV	GFR ^a	Urin
Risiko	Anstieg Krea _{Serum} ^b x 1,5 oder Akuter Anstieg $\geq 0,3$ mg/dl Abnahme GFR > 25 %	Ausscheidung < 5 ml/kg/h über einen Zeitraum von 6 Stunden
Schaden	Anstieg Krea _{Serum} x 2 oder Abnahme GFR > 50 %	Ausscheidung < 5 ml/kg/h in den letzten 12 Stunden
Ausfall	Anstieg Krea _{Serum} x 3 oder Krea _{Serum} ≥ 4 mg/dl Akuter Anstieg $\geq 0,5$ mg/dl oder Abnahme GFR > 75 %	Ausscheidung < 3 ml/kg/h über einen Zeitraum von 24 Stunden oder Anurie > 12 Stunden
Verlust	Durchgehendes ANV = kompletter Verlust der Nierenfunktion > 4 Wochen	
Terminales Nierenversagen	Terminales Nierenversagen (> 3 Monate)	

^a Glomeruläre Filtrationsrate

^b Kreatinin im Serum

Akutes Nierenversagen auf der Intensivstation

Obwohl das akute Nierenversagen zu den häufigsten Komplikationen hospitalisierter Patienten gehört, ist über die Epidemiologie nur wenig bekannt (13). Die Inzidenz liegt in der Bevölkerung der westlichen Welt bei etwa 2.100 Fällen, bezogen auf eine Population von einer Million Menschen (13). Zum Zeitpunkt der Krankenhausaufnahme beträgt die Inzidenz ca. 1 %, bei einem stationären Aufenthalt erhöht sie sich auf 2 – 5 % (11).

Die Prävalenz eines akuten Nierenversagens, das eine Nierenersatztherapie nötig macht, beträgt für Intensivpatienten 5 – 6 % mit einer durchschnittlichen Mortalität von 60 % (8;9;16-19). Bagshaw et al. wiesen bei Intensivpatienten eine Mortalität von 9 % für Patienten ohne Nierenversagen, gegenüber einer Mortalität von 24 % der Patienten mit akutem Nierenversagen nach. Bei diesen Patienten lag die Mortalität bezogen auf die RIFLE-Kategorien in der Kategorie Risiko (R) bei 18 %, bei einem Schaden (I) bei 28 % und bei einem Ausfall (F) der Nierenfunktion bei 33 % der Patienten (19).

Formen des akuten Nierenversagens

Das akute Nierenversagen wird in drei Formen eingeteilt:

- Prärenales Nierenversagen
- Intrarenales Nierenversagen
- Postrenales Nierenversagen

Dem prärenal Nierenversagen liegt in den meisten Fällen eine Reduktion des effektiv zirkulierenden Blutvolumens durch Krankheiten wie Herzinsuffizienz, Leberfunktionsstörungen oder einer Sepsis zugrunde. Die Nieren versuchen durch die Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems sowie der Ausschüttung von Katecholaminen und ADH das Blutvolumen durch eine Natrium- und Wasserretention zu stabilisieren (11). Renale Strukturen wie Glomeruli und Tubuluszellen bleiben im Gegensatz zu einem intrarenalen Nierenversagen, bei dem eine Schädigung der Gefäße, Glomeruli, Tubuli oder des Interstitiums vorliegt, intakt (11).

Beim intrarenalen Nierenversagen kann die Schädigung der Gefäße durch eine gesteigerte zytosolische Calciumfreisetzung, eine Schädigung des Endothels sowie durch Entzündungsmediatoren entstehen. Die renale Autoregulation wird durch erhöhte zytosolische Calciumspiegel, welche konstriktorisch auf die glatte Muskulatur wirken, gestört (20;21). Eine Schädigung des Endothels führt zu einem Funktionsverlust der endothelialen Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS). Die Bildung und Wirkung Stickstoffmonoxid-abhängiger Vasodilatoren wird herabgesetzt und eine durch Ischämie ausgelöste Schädigung der Niere kann nicht mehr verhindert werden (20;21).

Bei ischämischen Schädigungen der Tubuli kommt es zu einer verringerten Wiederaufnahme von Natrium. Das Tubulusepithel verliert seinen Bürstensaum, die Na^+/K^+ -ATPase verlässt die basolaterale Membran in Richtung Zytoplasma, so dass die Polarität der Tubuli verloren geht. In der Folge kommt es zu einem Zelluntergang durch Apoptose oder Nekrose (22).

Krankheitsbilder wie die Sepsis fördern Entzündungsprozesse, die über die Freisetzung von Endotoxinen eine Induktion der Stickstoffmonoxid-Synthase bewirken (Abbildung 1). Stickstoffmonoxid führt zu einer Vasodilatation der Gefäße, die die Nieren mit der Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron Systems (RAAS) zu kompensieren versuchen. Die entstehende Vasokonstriktion verstärkt eine Wasser- und Natrium-Retention und führt damit zu einem akuten Nierenversagen (23).

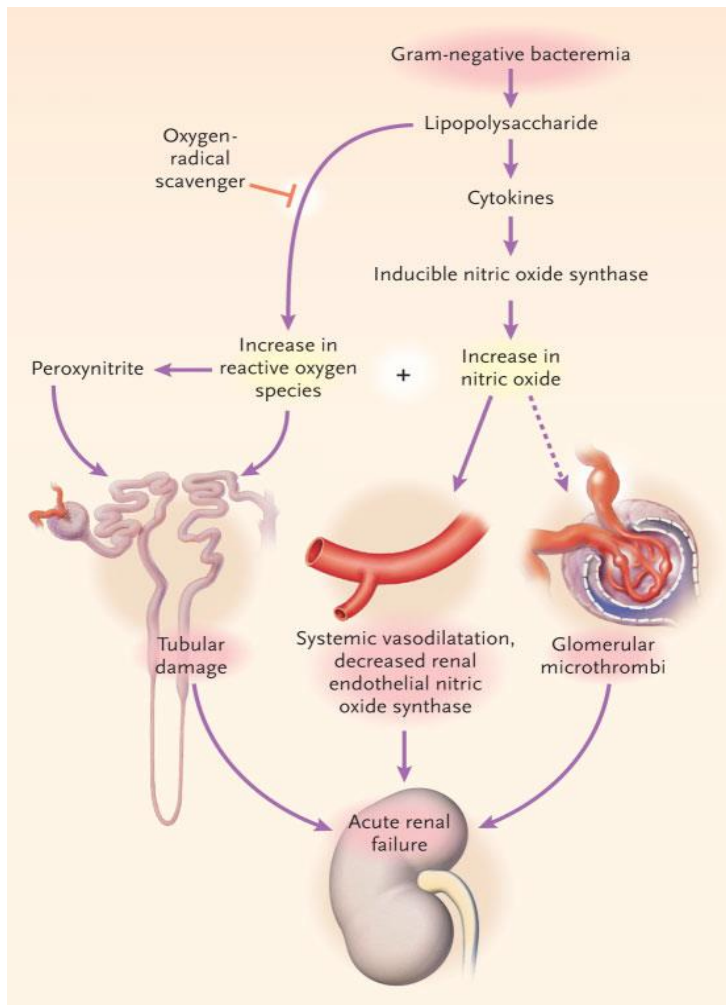


Abbildung 1: Entstehung des akuten Nierenversagens in der Sepsis (23).

Die Stickstoffmonoxid-Synthase trägt zur Bildung von radikalen Sauerstoffspezies bei, die in Form von Peroxynitrit tubuläre Schäden verursachen und damit ein akutes Nierenversagen induzieren (23).

Bei einem postrenalen Nierenversagen kommt es zu einer Abflussstörung aus der Niere, beispielsweise hervorgerufen durch Obstruktionen der Urethra durch Uretersteine oder maligne Tumore der Harnblase (11).

1.2 Sepsis und akutes Nierenversagen

Für 20 % der Patienten stellt die Sepsis den Aufnahmegrund für die Intensivstation dar und ist gleichzeitig die häufigste Todesursache auf nicht herzchirurgischen Intensivstationen (24). Eine Sepsis oder ein Septischer Schock sind für 50 % der akuten Nierenversagen auf Intensivstationen verantwortlich (9). Dabei tritt ein akutes Nierenversagen bei 19 % aller Patienten mit Sepsis, bei 23 % der Patienten mit schwerer Sepsis und bei über der Hälfte der Fälle mit einem septischen Schock auf (25).

Die Entwicklung eines akuten Nierenversagens während der Sepsis erhöht den Krankheitsgrad und die Mortalitätsrate betroffener Patienten. Es hat Auswirkungen auf andere Organfunktionen und verlängert den Aufenthalt der Patienten auf der Intensivstation (26).

Eine Sepsis entsteht aus einem systemischen inflammatorischen Response-Syndrom (SIRS). Dieses wird mit den in Tabelle 2 aufgelisteten Kriterien diagnostiziert, wobei mindestens zwei Kriterien erfüllt sein müssen (27).

Tabelle 2: Kriterien für die Diagnose eines SIRS (27).

Kriterium^a	Wert
Temperatur	> 38 °C oder < 36 °C
Herzfrequenz	> 90 Schläge pro Minute
Atemfrequenz	> 20 oder PaCO ₂ < 32 mm Hg
Leukozyten	> 12.000 /µl oder < 4000 /µl

^amindestens zwei der Kriterien müssen für die Diagnose eines SIRS erfüllt sein

Nach der Definition von Bone spricht man von einer Sepsis, wenn das SIRS durch eine nachgewiesene Infektion ausgelöst wurde. Sie stellt eine schwere Erkrankung dar, die den ganzen Körper betrifft und zu einem Multiorganversagen (MOV) führen kann (28). Dieses ist gekennzeichnet durch das Versagen von mindestens zwei Organsystemen gleichzeitig oder in rascher zeitlicher Abfolge (29).

Bereits ab dem Versagen eines Organs spricht man von einer schweren Sepsis, bei gleichzeitig bestehender Hypotension von einem septischen Schock. Eine Sepsis entsteht, wenn die Regulation der Immunantwort des Körpers auf die Infektion inadäquat ist und es im Verlauf zu physiologischen Änderungen kommt (30). Die erste angemessene Immunantwort auf eine Infektion wird verstärkt und verläuft ab diesem Zeitpunkt unreguliert (26).

Die Immunantwort des Körpers im Rahmen der Sepsis wird in pro- und antiinflammatorische Mechanismen unterteilt (30;31). Die Stärke der Immunantwort hängt von der Virulenz und der Masse der Erreger, den genetischen Faktoren des Patienten und dessen Komorbiditäten ab. Bei einem Patienten mit intaktem Immunsystem

und wenigen Komorbiditäten ist die proinflammatorische Phase stärker als bei einem stark vorerkrankten Patienten (32).

Dringt ein Pathogen in sterile Bereiche des Körpers ein, versucht dieser durch komplexe Abwehrmechanismen der Makrophagen und der neutrophilen Granulozyten den Erreger zu eliminieren (Abbildung 2). Eine Sepsis entsteht, wenn die Erreger überleben und die körpereigene Immunantwort dem Körper schadet (30). In der proinflammatorischen Phase am Beginn der Sepsis sind vor allem durch Makrophagen produzierte Zytokine, wie der Tumornekrose Faktor α (TNF- α) und Interleukin-1 (IL-1), für die Immunreaktion verantwortlich (31).

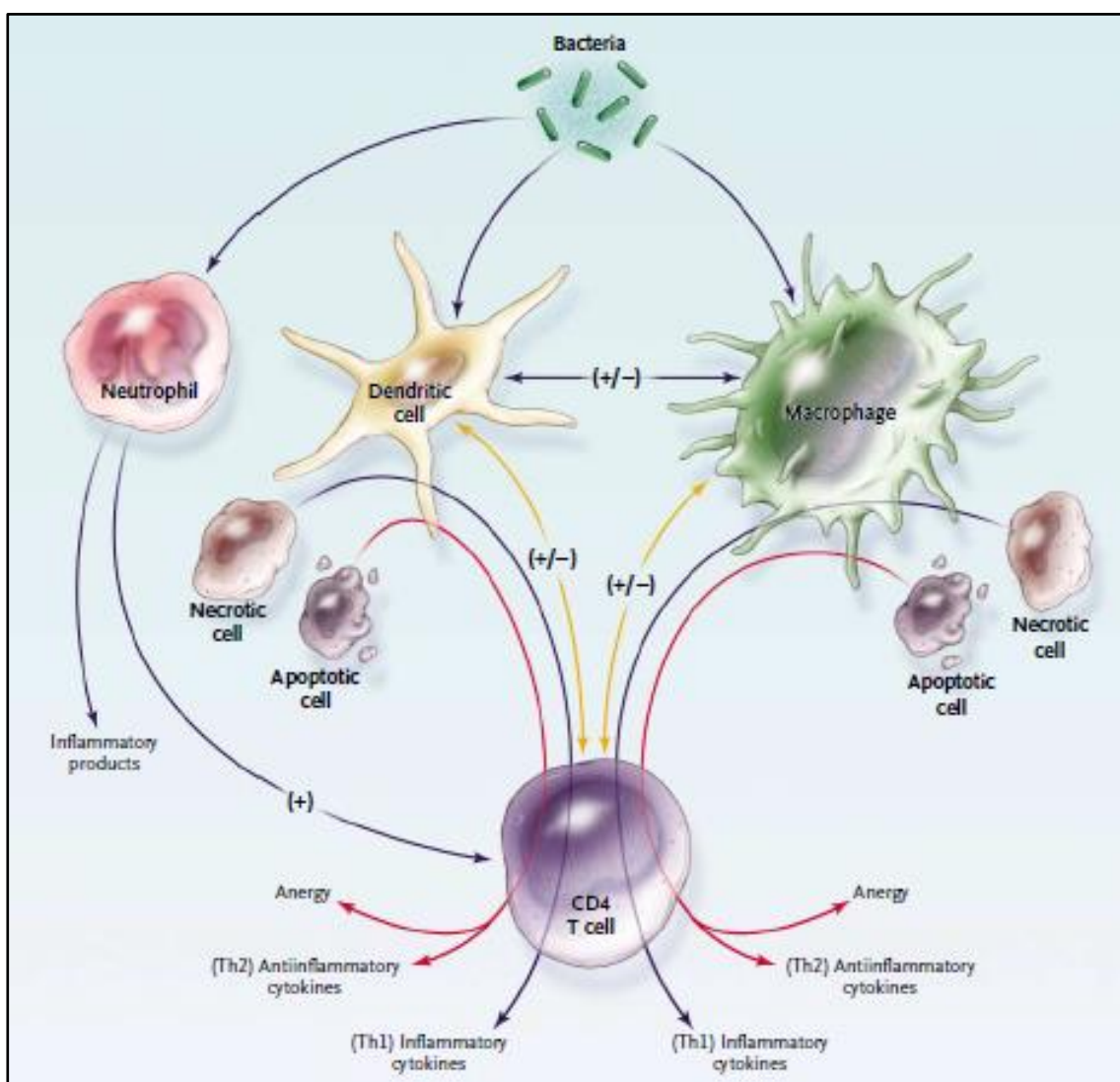


Abbildung 2: Antwort des Immunsystems auf Pathogene (31).

Makrophagen und dendritische Zellen verfügen als Antigen präsentierende Zellen (APC) über Toll-like Rezeptoren mit denen Pathogene wie Bakterien, Pilze und Viren erkannt werden (30;31;33;34). Nach ihrer Aktivierung durch Pathogene aktivieren Protein-Kinasen die Produktion von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen (34).

Sowohl Makrophagen als auch dendritische Zellen stimulieren CD4 T-Zellen. Diese induzieren über Th-1 Helfer-Zellen inflammatorische und über Th-2 Helfer-Zellen antiinflammatorische Zytokine. Die Aufnahme von apoptotischen Zellen in Makrophagen verschiebt das Gleichgewicht zu Gunsten der antiinflammatorischen Zytokine bis hin zu einer Einstellung der Zytokin-Produktion (31).

Während der Dauer der Erkrankung überwiegen zunehmend antiinflammatorische Mechanismen (35;36). Durch Interaktionen zwischen Lymphozyten und APC werden Th-2 Helferzellen aktiviert und das antiinflammatorisch wirkende IL-12 freigesetzt. Eine Abnahme der Zahl der Lymphozyten durch Apoptose verstärkt die Immunsuppression der Patienten und macht diese anfälliger für weitere Infektionen (31;37). Die Apoptose betrifft in der Sepsis vor allem Lymphozyten und gastrointestinale Epithelzellen (38). Der Grad der Apoptose von Lymphozyten korreliert mit dem Schweregrad der Sepsis und dem klinischen Resultat (37;39). Die beschriebenen antiinflammatorischen Prozesse werden auch als compensatory anti-inflammatory response syndrome (CARS) bezeichnet (40).

Die neutrophilen Granulozyten unterliegen weniger der Apoptose. Die kontinuierliche Freisetzung von löslichen toxischen Stoffen aus den neutrophilen Granulozyten verursacht Zell- und Gewebeschäden. Diese führen zur Schädigung der Organe und einer höheren Mortalität septischer Patienten (41;42).

1.3 Kontinuierliche Nierenersatzverfahren (CRRT)

Mit kontinuierlichen Nierenersatzverfahren (CRRT) werden endogene und exogene Stoffe über eine semipermeable Membran eliminiert (Abbildung 3). Blutzellen und Plasmaproteine werden auf der Blutseite zurückgehalten, kleine und mittelgroße Moleküle können die Filtermembran passieren. Der Stoffaustausch findet über Diffusion und Konvektion statt (11;43).

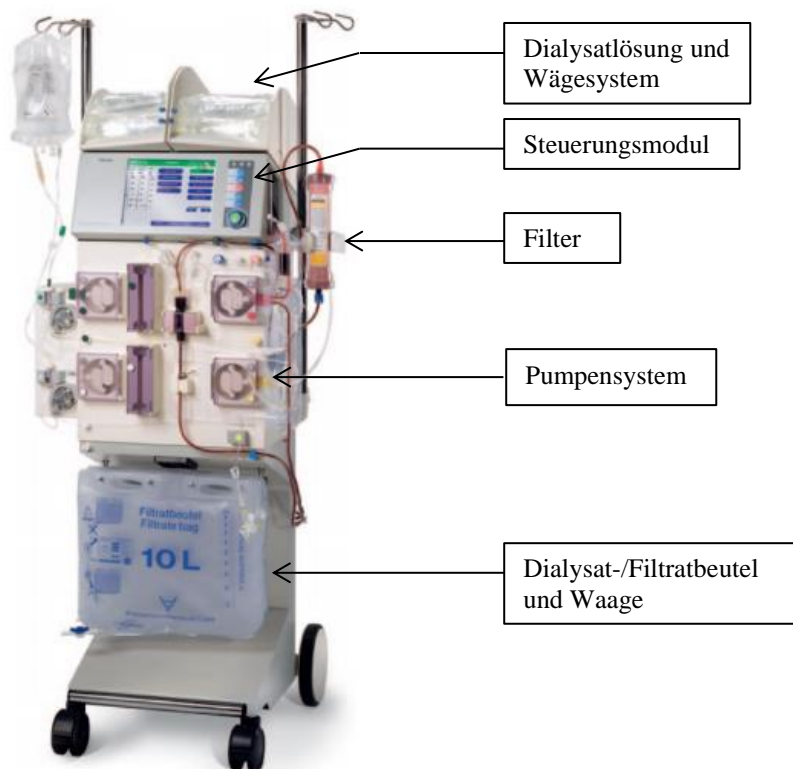


Abbildung 3: MultiFiltrate-System als Beispiel für ein kontinuierliches Nierenersatzverfahren (44).

Bei der Diffusion treten gelöste Substanzen durch den Konzentrationsgradienten aus dem Blut in das im Gegenstrom fließende Dialysat (Elektrolytlösung) über (Abbildung 4). Je größer der Konzentrationsunterschied der gelösten Substanz zwischen Blutseite und Dialysat ist, desto stärker wird die Substanz eliminiert. Diese Art des Verfahrens wird als kontinuierliche venovenöse Hämodialyse (CVVHD) bezeichnet (43).

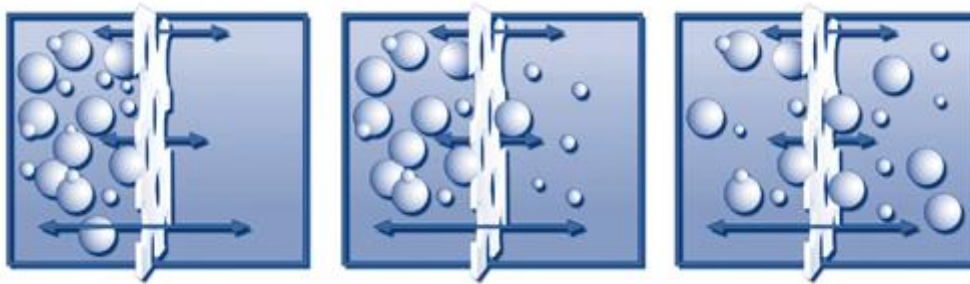


Abbildung 4: Blutreinigung der CVVHD mittels Diffusion (45). Der Stoffaustausch zwischen dem Blut und der im Gegenstrom fließenden Dialyselösung findet durch den Konzentrationsgradienten statt.

Bei der Konvektion werden die Stoffe mit Druck durch einen Filter gepresst (Abbildung 5). Das eliminierte Ultrafiltrat ist isotonisch und beinhaltet Stoffe, die durch die Poren des Filters gelangen können. Um den Flüssigkeitsverlust auszugleichen, wird dem Blut isotonische Substitut-Lösung zugefügt (43). Diese Art der Blutreinigung wird als kontinuierliche venovenöse Hämofiltration (CVVH) bezeichnet.



Abbildung 5: Blutreinigung der CVVH mittels Konvektion (45). Über einen Druckgradienten werden im Blut gelöste Teilchen durch die Dialysemembran in das Filtrat überführt.

Die Kombination aus Hämodialyse und Hämofiltration wird als kontinuierliche venovenöse Hämodiafiltration (CVVHDF) bezeichnet. Bei diesem kombinierten Verfahren werden kleine Moleküle vorwiegend durch Diffusion eliminiert, während Moleküle mittlere Größe (bis 50.000 Dalton) konvektiv ausgeschieden werden (11).

Trotz der geringeren Flussraten bei kontinuierlichen Verfahren arbeiten diese Verfahren ebenso effektiv wie eine intermittierende Dialyse (43). Aufgrund der geringeren Flussraten sind kontinuierliche Verfahren für hämodynamisch instabile Patienten besser geeignet (11;46).

1.3.1 Arzneimittelelimination bei CRRT

Kontinuierliche venovenöse Hämofiltration

Die kontinuierliche venovenöse Hämofiltration (CVVH) wird mit Blutflüssen von 100 – 150 ml/min und Ultrafiltrationsvolumina von 20 ml/min betrieben (11).

Die Elimination von Arzneistoffen über Konvektion ist abhängig von der Porengröße der Filtermembran und der freien, nicht an Plasmaeiweiß gebundenen Fraktion des Arzneistoffs (47). Die Fähigkeit eines Arzneistoffs über die semipermeable Membran eliminiert zu werden, wird durch den Siebkoeffizienten (S_c) ausgedrückt (48) (Formel 1). Dieser wird als Quotient der Arzneistoffkonzentration im Ultrafiltrat und der Konzentration im Plasma berechnet.

Formel 1: Berechnung des Siebkoeffizienten.

$$S_c = \frac{\text{Arzneistoff}_{\text{Ultrafiltrat}}}{\text{Arzneistoff}_{\text{Plasma}}}$$

Die Werte variieren zwischen 0 – 1. Ein hoher Wert besagt, dass die Substanz gut filtriert wird, wohingegen Arzneistoffe mit niedrigen Werten nur schlecht ausgeschieden werden. Bei der Hämofiltration kann das Substrat sowohl vor (Prädilution) als auch nach dem Filter (Postdilution) zugeführt werden. Wenn die Substratlösung nach dem Filter zugeleitet wird, errechnet sich die Clearance nach Formel 2. Sie ist abhängig von dem Ultrafiltrationsfluss (Q_f) und dem Siebkoeffizienten (S_c) (48).

Formel 2: Arzneistoffclearance für CVVH im Postdilutionsmodus

$$Cl_{CVVH}(\text{post}) = Q_f * S_c$$

Wird das Substrat vor dem Filter zugeführt, muss dieses aufgrund der Verdünnung des Bluts mit einem Korrekturfaktor (CF) in die Kalkulation eingerechnet werden. Der Korrekturfaktor setzt sich aus der Summe von Blutfluss (Q_b) und der Flussrate der Substitutionslösung (Q_{rep}) zusammen (Formel 3) (48).

Formel 3: Berechnung des Korrekturfaktors für die Prädilution bei CVVH

$$CF = \frac{Q_b}{(Q_b + Q_{rep})}$$

Das Produkt aus Formel 2 und dem Korrekturfaktor (Formel 3) ergibt die Arzneistoffclearance im Prädilutionsmodus (Formel 4) (48).

Formel 4: Arzneistoffclearance für CVVH im Prädilutionsmodus

$$Cl_{CVVH}(pre) = Q_f * S_c * CF$$

Die Clearance der Arzneistoffe im Prädilutionsmodus ist durch die Verdünnung des Bluts weniger effektiv als im Postdilutionsmodus, dafür kann die Standzeit der Filter durch die geringere Viskosität des Bluts verlängert werden. Die Clearance der CVVH ist proportional zum Ultrafiltrationsfluss (48).

Kontinuierliche venovenöse Hämodialyse

Bei der kontinuierlichen venovenösen Hämodialyse (CVVHD) wird ein Dialysatfluss von 25 – 40 ml/min bei einem Blutfluss von 100 – 150 ml/min genutzt. Durch den langsamen Dialysatfluss wird das Dialysat über das Konzentrationsgefälle mit endogenen und exogenen Stoffen angereichert (11).

Bei der CVVHD wird die Eigenschaft der Substanzen durch Diffusion über den Filter in das Dialysat zu gelangen als Sättigungskoeffizienten (S_d) ausgedrückt (Formel 5) (48). Dieser wird als Quotient der Arzneistoffkonzentration im Ultrafiltrat und der Konzentration im Plasma berechnet.

Formel 5: Berechnung des Sättigungskoeffizienten

$$S_d = \frac{\text{Arzneistoff}_{\text{Dialysat}}}{\text{Arzneistoff}_{\text{Plasma}}}$$

Da der Blutfluss bei diesem Verfahren um ein vielfaches höher als der Dialysatfluss (Q_d) ist, ist für die Clearance nur dieser und der Sättigungskoeffizient verantwortlich (Formel 6) (48).

Formel 6: Arzneistoffclearance der CVVHD

$$Cl_{CVVHD} \approx Q_d * S_d$$

Die Negativbilanz der Patienten wird über den Ultrafiltrationsfluss gesteuert, so dass auch bei der CVVHD ein Teil des Volumens über Konvektion eliminiert wird (49).

Kontinuierliche venovenöse Hämodiafiltration (CVVHDF)

Die kontinuierliche venovenöse Hämodiafiltration arbeitet mit Dialysatflüssen von 20 – 30 ml/min und Filtratflüssen von 10 - 15 ml/min. Als Kombination aus CVVH und CVVHD berechnet sich die Clearance nach Formel 7 (48).

Formel 7: Arzneistoffclearance der CVVHDF

$$Cl_{CVVHDF} = (Q_f + Q_d) * S_d$$

1.3.2 Dialysatoren

Bei kontinuierlichen Nierenersatzverfahren werden Polysulfon-, Acrylnitril- und Polyamidmembranen als Filter verwendet (50) (siehe Tabelle 3). Die Membranen sind semipermeabel und haben in der Regel eine innere Oberfläche von bis zu 2 m². Die Clearance der Filter wird durch ihre Länge und Dicke sowie durch ihre Porengröße bestimmt. Die Elimination der Arzneistoffe ist direkt proportional zu der inneren Oberfläche der Membranen (51). Der Cut off der Membranen, der Punkt ab dem Teilchen aufgrund der Porengröße des Filters nicht mehr eliminiert werden können, liegt bei 30.000 – 50.000 Dalton. Die meisten Antibiotika haben ein Molekulargewicht ≤ 2000 Da, so dass eine Elimination möglich ist (52).

Tabelle 3: Überblick über verschiedene Dialysatoren und deren technische Daten für die Nierenersatztherapie.

Hersteller	Name des Filters	Material	Kapillar- lumen [µm]	Kapillar- länge [cm]	Fläche [m²]	Füll- volumen [ml]
Fresenius	Ultraflux® AV 400 S	Polysulfon	220	27	0,75	52
	Ultraflux® AV 600 S	Polysulfon	220	27	1,4	100
	Ultraflux® AV 1000 S^a	Polysulfon	220	27	1,8	130
Amicon	Diafilter® 20	Polysulfon	250	17	0,4	38
	Diafilter® 30	Polysulfon	k.A	25	0,7	58
Gambro	Prismaflex HF 1000	Polysulfon	k.A	27	1,15	165
	Prismaflex HF 1400	Polysulfon	k.A	27	1,4	186
Gambro	Prismaflex® M60	Acrylnitril (AN 69 HF)	k.A	27	0,6	93
	Prismaflex® M100	Acrylnitril (AN 69 HF)	k.A	27	0,9	152
	Prismaflex® M150	Acrylnitril (AN 69 HF)	k.A	27	1,5	189
Hospal	Multiflow® 60	Acrylnitril (AN 69 HF)	240	28	0,9	65
Gambro	Polyflux® 2H	Polyamid, Polysulfon, Polyvinylpyrrolidon	k.A	k.A	0,2	17

^a in der vorliegenden Studie verwendeter Filter

k.A. keine Angabe

HF Hollow Fiber

Der Blut- und Dialysatfluss ist für die Filtrationsleistung mitentscheidend (11). Die Filtrationsleistung der Membranen nimmt zeitabhängig ab, da die Membranporen nach längerem Gebrauch durch Zelltrümmer und eine sich bildende Proteinschicht verstopft werden (53). Die Plasmaeiweißbindung der Arzneistoffe ist für ihre Elimination über die Filtermembranen entscheidend, da nur der freie Anteil der Arzneistoffe durch die Poren der Filter gelangen kann. Polysulfon- und Polyacrylnitrilmembranen gehören zu den am häufigsten verwendeten Filtern (54-56). Die verschiedenen Filtertypen interagieren unterschiedlich stark mit Arzneistoffen. Von Polyacrylnitril-Membranen ist beispielsweise bekannt, dass Arzneistoffe wie Levofloxacin an diese Filter durch Adsorption gebunden werden (53). Während die Permeabilität von Piperacillin und Tazobactam bei Polysulfonfiltern höher ist als bei Acrylnitrilmembranen (56) kann dieser Effekt für Ceftazidim (57) und Cefepim (58) nicht nachgewiesen werden. Meropenem wird durch Polysulfon- und Acrylnitrilmembranen gleichermaßen eliminiert (59). Eine Studie zur Adsorption von Vancomycin an Dialysefilter hat ergeben, dass diese bei Acrylnitrilmembranen ausgeprägter ist als bei Polyamid- und Polysulfonmembranen (60). Das Immunsystem erkennt die Filtermembranen als Fremdkörper und reagiert mit einer unspezifischen Immunantwort (11).

1.4 Antibiotikatherapie bei Intensivpatienten mit CRRT

Durch eine Antibiotikatherapie werden vermehrungsfähige, krankheitserregende Mikroorganismen mit selektiv wirkenden Arzneimitteln behandelt (61). Insbesondere bei Intensivpatienten mit lebensbedrohlichen Infektion erfolgt die initiale Antibiotikatherapie kalkuliert mit einem Antibiotikum oder einer Kombination mehrerer Substanzen, die zusammen ein breites Wirkungsspektrum ergeben. Für septische Patienten mit einer nosokomialen Infektion ohne Erregernachweis wird eine Antibiotikakombination aus einem Acylaminopenicillin mit β -Lactamase-Inhibitor und einem Fluorchinolon empfohlen (62). Die Kombination von Penicillinen und β -Lactamase-Inhibitoren erweitert das Wirkungsspektrum der Penicilline durch die Hemmung der β -Lactamase (61). Die Kombination aus Piperacillin und Tazobactam wird aufgrund ihrer Aktivität gegen eine Vielzahl von gramnegativen Stäbchen und grampositiven Kokken als Breitspektrum-Antibiotikum bezeichnet (63). Mit der Kombination aus Penicillinen und Fluorchinolonen entsteht eine synergistische Wirkung die besonders die Resistenzentwicklung bei Pseudomonas-Arten verringert (63). Bei schweren Infektionen sollte eine Empfindlichkeitstestung der Erreger vorgenommen werden (63). Anhand des resultierenden Antibiotogramms erfolgt eine Deeskalation der Therapie (62). Unter Abwägung pharmakokinetischer und pharmakodynamischer Faktoren kann nach der initialen Therapie mit Breitspektrum-Antibiotika mit hoher Wirkungsintensität eine gezielte gleich wirksame Antibiotikatherapie mit schmalere Wirkungsspektrum stattfinden (62;63). Durch eine frühzeitige Anpassung der Therapie an das Antibiotogramm können die Letalität der Patienten sowie die Therapiekosten gesenkt werden (64).

Antibiotika gehören bei der Behandlung von septischen Intensivpatienten zu den wichtigsten Arzneimitteln (65). Eine korrekte Dosierung ist bei diesen Patienten für den Krankheitsverlauf entscheidend. Unterdosierungen der Arzneimittel können zu einem Therapieversagen und steigenden Resistenzraten führen, bei Überdosierungen können vermehrt Nebenwirkungen auftreten sowie höhere Therapiekosten durch einen gesteigerten Antibiotikaverbrauch entstehen (66). Mit einer empirischen Dosierung der Antibiotika werden die therapeutisch angestrebten Wirkstoffspiegel häufig nicht erreicht (67). Durch die veränderte Pathophysiologie von Intensivpatienten mit Multiorganversagen und daraus resultierenden starken Veränderungen in den Verteilungsräumen wird ein Therapeutisches Drug Monitoring (TDM) notwendig (62;68). Bei einem TDM werden Arzneistoffspiegel bestimmt, klinisch interpretiert und als Empfehlung dem behandelnden Arzt mitgeteilt. Patientenindividuelle Wirkstoffspiegel werden meist nicht direkt am Wirkort des Arzneistoffs, sondern indirekt im Plasma oder dem Urin bestimmt. Die Dosierung des Arzneistoffs erfolgt anhand der gemessenen Spiegel. Bei einer kalkulierten Antibiotikatherapie ohne Erregernachweis beträgt die therapeutisch angestrebte Konzentration für Piperacillin einer MHK von 64

mg/l für das gesamte Dosierungsintervall (69-72) und für Ciprofloxacin einer AUC \geq 125 h (73).

Resistenzen

Während die 1940 – 1960er Jahre das goldene Zeitalter der Entwicklung von potenten Antibiotika darstellten, wird die moderne Medizin immer häufiger mit Resistenzen der Bakterien konfrontiert (74-76). Plasmid-vermittelte Resistenzen der Bakterien treten erst seit der Verwendung von Antibiotika vermehrt auf (77). Bei Intensivpatienten mit Infektionserregern, die gegen eine initiale empirische Antibiotikatherapie resistent sind, steigt die infektionsassoziierte Mortalität (78-80). Daher muss der unnötige Gebrauch von Antibiotika minimiert werden, um den Selektionsdruck der Bakterien zu reduzieren. Die Selektion resistenter Erreger wird durch zu lange Antibiotikatherapien, niedrige Wirkstoffspiegel am Ort der Infektion und Unterdosierungen verstärkt (78).

Bakterien werden als resistent gegenüber einem Antibiotikum bezeichnet, wenn dieses ihr Wachstum nicht hemmen kann (81). Unterschieden wird zwischen natürlichen Resistenzen, in denen der Bakterienstamm nicht dem Wirkungsspektrum des Antibiotikums entspricht, sowie mutationsbedingten Resistenzen, bei denen die Resistenzen spontan (primäre Resistenz) oder nach Kontakt mit dem Antibiotikum (sekundäre Resistenz) erworben werden (63).

Sekundäre Resistenzen können in Einschritt- und Vielschritt-Mutationen eingeteilt werden. Während die Resistenzentwicklung bei Vielschritt-Mutationen stufenweise erfolgt, treten Einschritt-Resistenzen rasch nach dem Erstkontakt mit dem Antibiotikum auf. Resistenzen können einen chromosomalen Ursprung haben oder extrachromosomal zwischen Bakterien über Resistenzplasmide übertragen werden (63).

Bei primären und sekundären Resistenzen können sich Bakterien mit verschiedenen Methoden gegen die Antibiotika schützen. Die Bildung bestimmter Enzyme führt zur Inaktivierung der Antibiotika. Durch Genmutationen in den Zielstrukturen wird die Bindungsmöglichkeit für Antibiotika herabgesetzt, so dass diese unwirksam werden (63).

Bakterien können die Zellpermeabilität soweit verändern, dass Antibiotika nicht in die Zelle aufgenommen oder durch synthetisierte Transporter direkt wieder aus der Zelle ausgeschleust werden. In beiden Fällen können keine zur Wachstumshemmung ausreichenden Antibiotikakonzentrationen aufgebaut werden (63).

Von Persistenz spricht man, wenn die Bakterien im infizierten Gewebe für das Antibiotikum unerreichbar sind. Gründe hierfür sind abgekapselte Bereiche (Abszesse), schlecht durchblutete Gewebe (Nekrosen) oder Biofilme, in die das Antibiotikum nicht eindringen kann. Veränderte pH-Werte an der Infektionsstelle durch Entzündungen können den gleichen Effekt haben (63).

1.4.1 Das Breitspektrumpenicillin Piperacillin/Tazobactam

Piperacillin/Tazobactam stellt eine Kombination aus Penicillin und β -Lactamase-Inhibitor dar. Der β -Lactamring der Penicilline ist für die antimikrobielle Wirksamkeit der Substanzen verantwortlich, während der Thiazolidin-Ring das natürliche Substrat D-Ala-D-Ala imitiert wodurch die Affinität zu bakteriellen Transpeptidasen entsteht. Durch Variationen an der 6-(RCO-)amino-Funktion lassen sich die pharmakokinetischen Eigenschaften der einzelnen Penicilline verändern (82). Die Einführung eines Acylureido-Substituenten wie bei Piperacillin erweitert das Wirkspektrum der Substanz, so dass auch gramnegative Problemkeime erfasst werden (Abbildung 6). Piperacillin ist nicht β -Lactamase stabil. Aus diesem Grund wird Piperacillin im klinischen Alltag mit dem β -Lactamase-Inhibitor Tazobactam kombiniert. Piperacillin ist säureempfindlich, so dass eine parenterale Applikation notwendig ist (82).

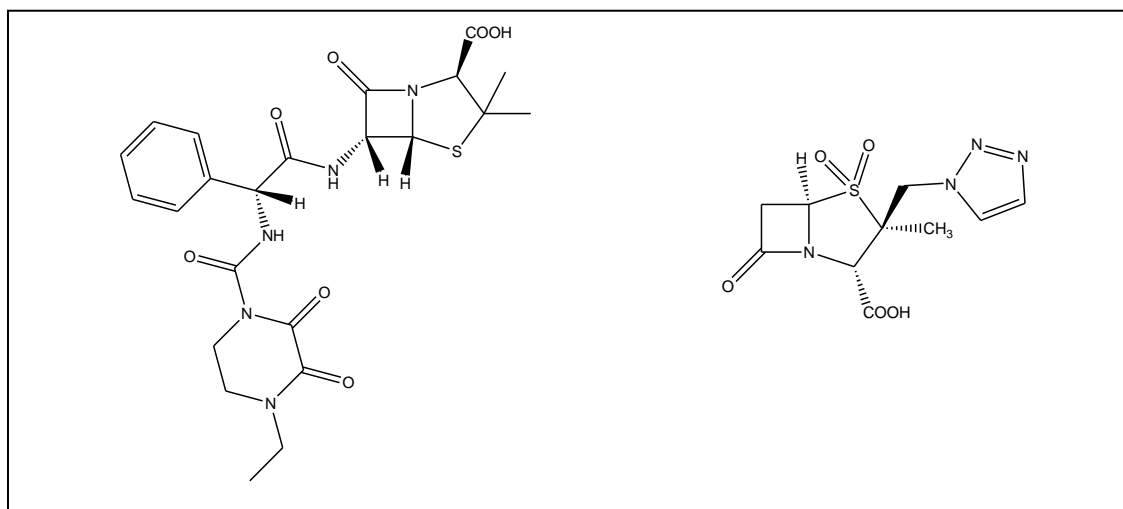


Abbildung 6: Struktur von Piperacillin (links) und Tazobactam (rechts).

Die Grundstruktur der Penicilline setzt sich aus den beiden Aminosäuren Cystein und Valin zusammen. Aufgrund ihrer strukturellen Ähnlichkeit zu D-Alanyl-D-Alanin gehen Penicilline unter Öffnung des β -Lactamrings kovalente Bindungen mit dem aktiven Zentrum der Transpeptidase ein und verhindern somit die Quervernetzung der einzelnen Peptidoglykanstränge (Abbildung 7). Die für die Peptidoglykan-Synthese erforderlichen Enzyme werden als Penicillin-bindende Proteine (PBP) bezeichnet. Penicilline wirken auf sich vermehrende Zellen, in denen die Mureinschicht gebildet wird, bakterizid (63;82).

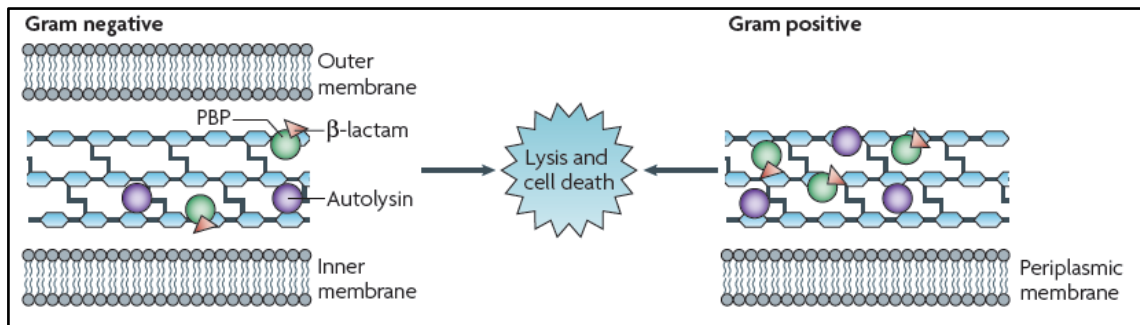


Abbildung 7: Die bakterielle Zellwand als Angriffspunkt für β -Laktam-Antibiotika (83).

Piperacillin/Tazobactam wird bei den in Tabelle 4 zugelassenen Indikationen angewendet. Die normale Tagesdosierung beträgt 4/0,5 g 3 - 4 mal täglich.

Tabelle 4: Zugelassene Anwendungsgebiete und Tagesdosierungen einer Therapie mit Piperacillin/Tazobactam (84).

Anwendungsgebiete	Tagesdosierung [g]
Nosokomiale Pneumonie	4/0,5 g 3 mal täglich
Komplizierte Harnwegsinfektionen	4/0,5 g 3 mal täglich
Intraabdominale Infektionen	4/0,5 g 3 mal täglich
Infektionen der Haut und Weichteile	4/0,5 g 3 mal täglich
Bakterielle Infektionen bei neutropenischen erwachsenen Patienten	4/0,5 g 4 mal täglich

Für Patienten mit einer eingeschränkten Nierenfunktion wird die Dosierung entsprechend angepasst (Tabelle 5) (84).

Tabelle 5: Dosierungsanpassung von Piperacillin/Tazobactam bei Nierenfunktionsstörungen (84).

Kreatinin-Clearance [ml/min]	Dosierung [g]
20 - 80	4/0,5 g 3 mal täglich
< 20	4/0,5 g 2 mal täglich
Patienten unter Hämodialyse	4/0,5 g 2 mal täglich
	LD ^a 2/0,25 g nach Hämodialyse

^a Loading Dose

Pharmakokinetik

Pharmakokinetische Parameter nierengesunder Patienten sind für Piperacillin in Tabelle 6 aufgeführt. Piperacillin besitzt eine Plasmaeiweißbindung (PEB) von 20 - 30 %. Die totale Clearance (Cl_t) entspricht 194 ± 43 ml/min, bei einer Halbwertszeit der Substanz ($t_{0,5}$) von 0,7 – 1,2 h. Das Verteilungsvolumen im Steady State (V_{dss}) beträgt $21 \pm 5,5$ l. Die Spitzenkonzentration (C_{max}) beträgt 259 ± 82 mg/l. Piperacillin wird schnell und in unveränderter Form ausgeschieden. 68% der Dosis werden im Urin wiedergefunden. Die Metabolisierungsrate für Piperacillin liegt deutlich unter 10 %. Die minimale Hemmkonzentration (MHK) beträgt für Piperacillin bei Problemkeimen wie *Pseudomonas aeruginosa* 16 mg/l (84;85).

Tabelle 6: Pharmakokinetische Parameter von Piperacillin bei Patienten mit normaler Nierenfunktion (84;85).

PEB	Cl_t	V_{dss}	$t_{0,5}$	C_{max}	MHK
[%]	[ml/kg/h]	[l]	[h]	[mg/l]	[mg/l]
20 - 30	194 ± 43	$21 \pm 5,5$	0,7 – 1,2	259 ± 82	16 ^a

^a Minimale Hemmkonzentration von *Pseudomonas aeruginosa*

Um ihre maximale Wirkung zu entfalten, muss die Konzentration zeitabhängiger Substanzen für die Zeit eines Dosierungsintervalls den vierfachen Wert der MHK des Erregers übersteigen (69-72).

Nebenwirkungen

Penicilline sind im Allgemeinen gut verträglich. Bei der Therapie mit Piperacillin/Tazobactam können schwere anaphylaktische Überempfindlichkeitsreaktionen auftreten. Sehr hohe Dosen von Piperacillin/ Tazobactam können Enzephalopathien auslösen (84).

1.4.2 Der Gyrasehemmer Ciprofloxacin

Eigenschaften

Die Wirksamkeit von Ciprofloxacin (Strukturformel in Abbildung 8) beruht auf einer Hemmung der bakteriellen Topoisomerasen II und IV (86-88). Die DNA liegt bei sich nicht teilenden Zellen in superhelikalen Strukturen vor, in denen die DNA durch Windungen in ihrer Größe komprimiert ist. Diese Strukturen müssen für die Zellteilung mit Hilfe der Topoisomerasen entwunden werden (82).

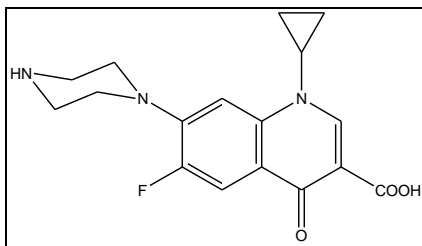


Abbildung 8. Struktur von Ciprofloxacin.

Gyrasehemmer bilden einen ternären Komplex aus DNA, dem Enzym Topoisomerase und dem Antibiotikum, so dass das Enzym kovalent an die DNA gebunden bleibt und ein Wiederverschließen der Stränge verhindert wird (82) (Abbildung 9). Bei gramnegativen Bakterien betrifft die Hemmung der DNA-Gyrase vor allem die Topoisomerase II, bei grampositiven Keimen kommt eine Hemmung der Topoisomerase IV hinzu. Während die Topoisomerase II den Ablauf der DNA-Transkription regelt, ist die Topoisomerase IV für die Trennung der neusynthetisierten Nucleinsäurestränge verantwortlich (63). Menschliche Topoisomerasen haben eine andere Struktur, so dass die bakterizide Wirkung der Gyrasehemmer selektiv auf Bakterien beschränkt bleibt (63).

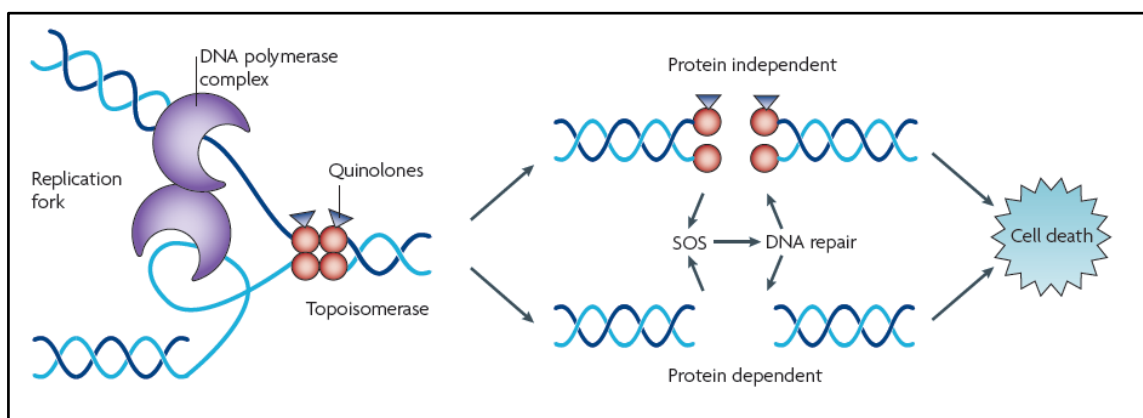


Abbildung 9: Die bakterielle DNA-Synthese als Angriffspunkt für Gyrasehemmer (83).

Bakterien bilden über die Expression von SOS-Genen DNA-Reparatur-Enzyme, die für Resistenzentwicklungen verantwortlich sind (83). Bakterielle Resistenzen gegen Gyrasehemmer entstehen, indem die Bakterien ihre Gene so weit verändern, dass die Bindungsaffinität der Topoisomerase zu den Chinolonen sinkt. Ein zweiter Resistenzmechanismus beruht auf der Verminderung der intrazellulären Antibiotika-Konzentration durch die Bildung von Efflux-Pumpen (63;89;90).

Anwendungsgebiete und Dosierung

Ciprofloxacin wird unter anderem bei den in Tabelle 7 aufgeführten Erkrankungen angewendet. Die normale Tagesdosierung beträgt 400 mg 2 – 3 mal täglich bei einer Gesamtbehandlungsdauer von 5 – 14 Tagen. In Ausnahmefällen kann die Therapie über einen längeren Zeitraum notwendig sein (91).

Tabelle 7: Zugelassene Anwendungsgebiete, Tagesdosierungen und Gesamtbehandlungsdauer einer Therapie mit Ciprofloxacin (91).

Anwendungsgebiete	Tagesdosierung	Gesamtbehandlungsdauer
Infektionen der unteren Atemwege	400 mg 2 - 3 mal täglich	7 - 14 Tage
Infektionen der oberen Atemwege	400 mg 2 - 3 mal täglich	7 - 14 Tage
Harnwegsinfektionen	400 mg 2 - 3 mal täglich	7 - 21 Tage
Infektionen des Genitaltraktes	400 mg 2 - 3 mal täglich	mindestens 14 Tage
Infektionen des Gastrointestinaltraktes und intraabdominelle Infektionen	400 mg 2 - 3 mal täglich	5 - 14 Tage
Infektionen der Haut und des Weichteilgewebes	400 mg 2 - 3 mal täglich	7 - 14 Tage
Infektionen der Knochen und Gelenke	400 mg 2 - 3 mal täglich	höchstens 3 Monate
Behandlung oder Prophylaxe von Infektionen bei neutropenischen Patienten	400 mg 2 - 3 mal täglich	Die Therapie sollte über den gesamten Zeitraum der Neutropenie fortgesetzt werden
Inhalation von Milzbranderregeren	400 mg 2 mal täglich	60 Tage ab Bestätigung der Bacillus anthracis-Exposition

Für Patienten mit einer eingeschränkten Nierenfunktion wird die Dosierung an diese angepasst (Tabelle 8).

Tabelle 8: Dosierungsanpassung von Ciprofloxacin bei Nierenfunktionsstörungen (91).

Kreatinin-Clearance [ml/min/1,73 m ²]	Dosierung [mg]
> 60	siehe übliche Dosierung
30 - 60	200 - 400 mg alle 12 Stunden
< 30	200 - 400 mg alle 24 Stunden
Patienten unter Hämodialyse	200 - 400 mg alle 24 Stunden (nach Hämodialyse)
Patienten unter Peritonealdialyse	200 - 400 mg alle 24 Stunden

Pharmakokinetik

Pharmakokinetische Parameter nierengesunder Patienten sind für Ciprofloxacin in Tabelle 9 aufgeführt. Ciprofloxacin besitzt eine Plasmaeiweißbindung (PEB) von 20 - 30 %. Die renale Clearance (Cl) entspricht 180 – 300 ml/kg/h bei einer Halbwertszeit der Substanz ($t_{0,5}$) von 4 - 5 h. Das Verteilungsvolumen (Vd) beträgt 2 – 3 l/kg Körpergewicht. Die Spitzenkonzentration (C_{\max}) erreicht Werte von 4,7 – 11,8 mg/l bei einer Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (AUC) von 11 – 23,8 mg h/l. Die minimale Hemmkonzentration (MHK) beträgt für Ciprofloxacin bei Problemkeimen wie *Pseudomonas aeruginosa* 0,5 mg/l und bei *Acinetobacter baumannii* 1 mg/l (91). Ciprofloxacin wird nach intravenöser Applikation zu 12 % in vier Metabolite umgewandelt. Diese werden wie Ciprofloxacin hauptsächlich renal eliminiert (91).

Tabelle 9: Pharmakokinetische Parameter von Ciprofloxacin bei Patienten mit normaler Nierenfunktion (91).

PEB	Cl	Vd	$t_{0,5}$	C_{\max}	AUC	MHK
[%]	[ml/kg/h]	[l/kg KG ^a]	[h]	[mg/l]	[mg h/l]	[mg/l]
20 - 30	180 - 300	2 - 3	4 - 5	4,7 - 11,8 ^b	11 - 23,8 ^b	0,5 ^c – 1 ^d

^a Körpergewicht

^b Werte wurden bei Kindern von 1 - 5 Jahren gemessen, entsprechen aber den Werten von Erwachsenen bei entsprechenden therapeutischen Dosen

^c Minimale Hemmkonzentration von *Pseudomonas aeruginosa*

^d Minimale Hemmkonzentration von *Acinetobacter baumannii*

Konzentrationsabhängige Antibiotika wirken über das Verhältnis der maximalen Plasmakonzentration (C_{\max}) zu der jeweiligen MHK. Dieser Quotient sollte einen Wert von 10 – 20 erreichen, um die Wirkung der Antibiotika zu optimieren (69;92;93).

Bei Ciprofloxacin ist das Verhältnis der Fläche unter der Kurve (AUC) zur MHK der wirkungsbestimmende Faktor. Dieses Verhältnis soll einen Wert > 125 h ergeben und wird als AUIC bezeichnet (61;94-97). Teilweise wird dieses Verhältnis auch mit Richtwerten > 250 h angegeben (73).

Interaktionen und Nebenwirkungen

Die wichtigsten Interaktionen mit anderen Substanzen resultieren aus der Inhibition des Cytochrom P450 Enzyms CYP 1A2, da auch Arzneistoffe wie Theophyllin, Clozapin, Ropinirol und Tizanidin über dieses Enzym metabolisiert werden (91). Gyrasehemmer sind meist gut verträglich, als Nebenwirkungen treten jedoch in seltenen Fällen zentralnervöse Störungen und QT-Zeit Verlängerungen auf (63).

1.4.3 Dosierung von Piperacillin/Tazobactam und Ciprofloxacin bei CRRT

Ein akutes Nierenversagen kann die Pharmakokinetik bei schwer kranken Intensivpatienten stark beeinflussen (51). Sie wird durch vier Faktoren bestimmt (Tabelle 10). Zu diesen zählen, neben den während der vorliegenden Studie (UMM062010FS) konstanten medikamentenspezifischen und membranspezifischen Faktoren, die variablen patientenspezifischen und verfahrensspezifischen Faktoren (50).

Tabelle 10: Pharmakokinetik beeinflussende Faktoren bei kontinuierlichen Nierenersatzverfahren (50).

Medikamentenspezifische Faktoren^a	Verfahrensspezifische Faktoren^b
Molekulargewicht	Nierenersatzverfahren
Elektrische Ladung	<i>Hämofiltration (CVVH)</i>
Proteinbindung	<i>Hämodialyse (CVVHD)</i>
Wasserlöslichkeit	<i>Hämodiafiltration (CVVHDF)</i>
Fettlöslichkeit	Dialysatfluss
Verteilungsvolumen	Ultrafiltrationsrate
Art der Elimination	Blutfluss
Gewebegängigkeit	
Membranspezifische Faktoren^a	Patientenspezifische Faktoren^b
Membranmaterial	Organfunktion
<i>Cellulose</i>	<i>Niere</i>
<i>Polysulfon</i>	<i>Leber</i>
<i>Polyacrylnitril</i>	<i>Herz</i>
<i>Polyamid</i>	Fettanteil
Größe der Oberfläche	Komorbidität
Porengröße	Zusätzliche Medikamente
Elektrische Ladung	
Ultrafiltrationskoeffizient	

^a konstante Faktoren der Studie UMM062010FS

^b variable Faktoren der Studie UMM062010FS

Antibiotika können in hydrophile und lipophile Substanzen eingeteilt werden. Die Verteilung hydrophiler Substanzen wie Piperacillin beschränkt sich auf das Plasma und den Extrazellularraum, wohingegen lipophile Substanzen wie Ciprofloxacin Plasmamembranen überwinden können und sich im Intrazellularraum verteilen (98).

Die meisten Penicilline weisen mit einem niedrigen Verteilungsvolumen, einer geringen Plasmaeiweißbindung und einer hohen renalen Clearance gute Voraussetzungen für eine Elimination über kontinuierliche Nierenersatzverfahren auf (52). Fluorchinolone unterscheiden sich untereinander in ihren pharmakokinetischen Eigenschaften. Sie haben eine geringe Plasmaeiweißbindung und ein relativ hohes Verteilungsvolumen

(> 1 l/kg). Die pharmakokinetischen Parameter von Ciprofloxacin variieren bei Intensivpatienten stark. Die renale Elimination beträgt in der Regel 50 - 60 % (52).

Die Clearance der Antibiotika wird durch die Art des Nierenersatzverfahrens, die eingestellten Flussraten von Blut und Dialysat sowie durch die Ultrafiltration bestimmt (50). Der Einfluss unterschiedlicher Verfahren auf die Elimination von Piperacillin/Tazobactam wird in Abbildung 10 dargestellt (56). Sowohl das verwendete Filtermaterial und dessen Porengröße als auch der Ultrafiltrationsfluss bestimmen die Menge der eliminierten Substanz. Bei konvektiv arbeitenden Verfahren wird Piperacillin/Tazobactam besser über Polysulfon- als über Acrylnitrilfilter eliminiert (Abbildung 10, Abbildung 11) (56). Filter aus Acrylnitril (AN69) adsorbieren Arzneistoffe durch ihre negative Ladung besonders gut (99).

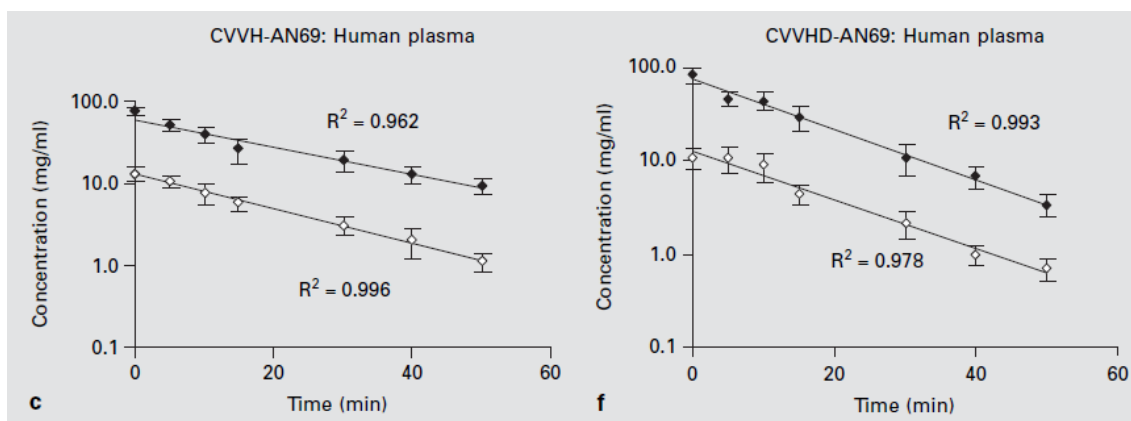


Abbildung 10: Elimination von Piperacillin/Tazobactam in humanen Plasma durch eine CVVH (links) und CVVHD (rechts) mit Acrylnitrilfilter; Piperacillin-Konzentration (schwarz), Tazobactam-Konzentration (weiß) (56).

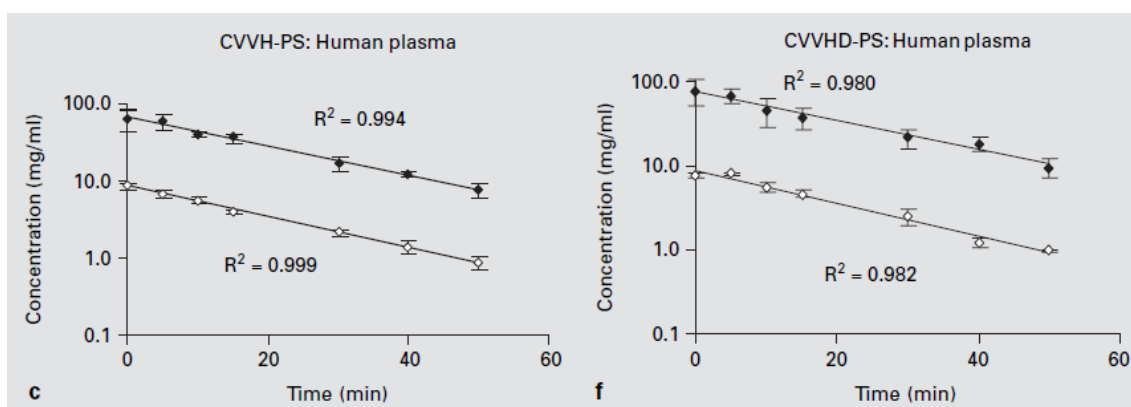


Abbildung 11: Elimination von Piperacillin/Tazobactam in humanen Plasma durch eine CVVH (links) und CVVHD (rechts) mit Polysulfonfilter; Piperacillin-Konzentration (schwarz), Tazobactam-Konzentration (weiß) (56).

Bei Krankheitsbildern wie einer Sepsis werden auch patientenspezifische Faktoren verändert. Neben dem akuten Nierenversagen kommt es bei einem Multiorganversagen auch zu Ausfällen von Lunge, Herz, Leber und dem blutbildenden System (100). Die Patienten leiden an einer Flüssigkeitsverschiebung aus dem intravasalen Kompartiment in den Extravasalraum (capillary leak), was zu schweren Ödemen führt (101). Bei einem Ausfall der Leber wird auch der Metabolismus von Arzneistoffen wie Ciprofloxacin beeinflusst (102).

Wegen der pharmakokinetischen sowie pharmakodynamischen Schwankungen stellt die Dosierung von Antibiotika bei Nierenersatzverfahren eine große Herausforderung dar. Die Dosierung der Antibiotika erfolgt aktuell empirisch bei diesen Patienten ohne zwischen den einzelnen kontinuierlichen Nierenersatzverfahren und den verschiedenen Filtertypen zu unterscheiden (103). Kontinuierliche Nierenersatzverfahren wie die kontinuierliche Hämodialyse (CVVHD) und Hämodiafiltration (CVVHDF), bei denen die Diffusion für die Ausscheidung der Antibiotika mitverantwortlich ist, eliminieren Antibiotika effektiver als konvektiv arbeitende Verfahren wie die kontinuierliche Hämofiltration (CVVH) (104-106). Für die Antibiotikadosierung bei kontinuierlicher venovenöser Hämofiltration und Hämodiafiltration wurden Studien durchgeführt, wohingegen diese für die kontinuierliche Hämodialyse weitgehend fehlen (102;107-117). Die Fallzahlen in diesen Studien betrugen 1 – 16 Probanden. Bei der größten Studie mit 16 Patienten wurden Acrylnitrilfilter verwendet, von denen bekannt ist, dass Arzneistoffe adsorbiert werden und die Ergebnisse nicht auf Polysulfonfilter übertragen werden können (99;111). Die in den Studien empfohlenen Antibiotikadosierungen variieren stark (Tabelle 11 und Tabelle 12).

Tabelle 11: Übersicht über klinische Studien bei Patientenkollektiven mit Nierenersatzverfahren und einer Antibiotikatherapie mit Piperacillin.

Autor und Publikationsjahr	Patienten-Anzahl	Verfahren	Filter	Oberfläche [m ²]	Blutfluss [ml/min]	Dialysat-fluss [l/h]	Ultra-filtration [ml/h]	Substitutat [ml/h]	Alter [Jahre]	SD	Gewicht [kg]	SD	Empfohlene Dosierung [g]
Valtonen 2001 (107)	6	CVVHDF	Polysulfon	0,7	100	1	800	-	54	± 13	90	± 12	3 x 4/0,5
	6	CVVHDF	Polysulfon	0,7	100	2	800	-	54	± 13	90	± 12	
Seyler 2011 (112)	16	CVVH/HDF	AN 69 ^a	-	150	-	26,6 ^b	-	62	± 16	-	-	4 x 4/0,5 oder kont. Infusion
Mueller 2002 (117)	8	CVVHD	AN 69 ^a	-	150	1,5	80 - 200	-	-	-	-	-	2 x 4/0,5 3 x 2/0,25
van der Werf 1997 (109)	9	CVVH	-	-	-	-	-	-	56	± 15	87	± 23	3 x 4/0,5 ^c
Capellier 1998 (108)	10	CVVH	Polysulfon	0,5	150	-	840	-	70	± 12	72	± 20	2 x 4/0,5
Arzuaga 2005 (111)	14	CVVH	AN 69 ^a	0,9	150 - 220	-	378 - 2650	-	57	± 6,9	76	± 3,5	3-4 x 4/0,5
Valtonen 2001 (107)	6	CVVH	Polysulfon	0,7	100	-	800	-	54	± 13	90	± 12	3 x 4/0,5

^a Acrylnitril-Hohlfasermembran^b Bezogen auf ein Körpergewicht von 70 kg^c Nach initialer Gabe der Kombination alternierende Gabe aus Kombination und Piperacillin mono, wegen möglicher Kumulation von Tazobactam

- keine Daten vorhanden

Tabelle 12: Übersicht über klinische Studien bei Patientenkollektiven mit Nierenersatzverfahren und einer Antibiotikatherapie mit Ciprofloxacin.

Autor und Publikationsjahr	Patienten-Anzahl	Verfahren	Filter	Oberfläche	Blutfluss	Dialysat-fluss	Ultra-filtration	Substituat	Alter		Gewicht		Empfohlene Dosierung
				[m²]	[ml/min]	[l/h]	[ml/h]	[ml/h]	[Jahre]	SD	[kg]	SD	[mg]
Spooner 2011 (116)	7	CVVHDF	AN 69HF	-	200	1 - 2	2000	3,35	58	± 17	-	-	2 x 400
Malone 2001 (110)	5	CVVHDF	AN 69HF	0,6	150	0,8 - 1	540 - 1440	-	47	± 18	97	± 16	2 x 200
Utrup 2010 (114)	1	CVVHDF	AN 69HF	-	100 - 130	1	1250 - 1500	-	45	-	185	-	2 x 800
Wallis 2001 (115)	6	CVVHDF	AN 69HF	-	200	1 - 2	-	-	62	± 12	82	± 26	3 x 200
Davies 1992 (113)	11	CVVHD	AN 69S	0,43	100 - 150	1 - 2	-	-	-	-	-	-	2-3 x 200
Malone 2001 (110)	5	CVVH	AN 69HF	0,6	150	-	540 - 1440	-	47	± 18	97	± 16	2 x 200 2 x 400
Bellmann 2002 (102)	8	CVVH	Polysulfon	0,71	-	-	-	-	-	-	-	-	2 x 200 ^b

^a Acrylnitril-Hohlfasermembran^b bei Leberinsuffizienz

- keine Daten vorhanden

Piperacillin/Tazobactam

Eine Untersuchung der Elimination von Piperacillin/Tazobactam konnte bei einer Dialyse mit CVVHD zeigen, dass bei 7 von 8 Patienten und einer Dosierung von 2 – 3 mal täglich 2/0,5 g – 4/0,5 g eine MHK von 32 mg/l für 50 % des Dosierungsintervalls überschritten wird (117). Während einer CVVH oder CVVHDF und einer Dosierung von 4/0,5 g 4 mal täglich erzielten nur 71 % der mit Piperacillin/Tazobactam behandelten Patienten Serumkonzentrationen, die zu mehr als 50 % des Dosierungsintervalls oberhalb der vierfachen MHK für Pseudomonaden liegen. Um therapeutisch wirksame Spiegel zu erreichen, wurde eine höhere Dosierung oder eine prolongierte Infusion der Antibiotikakombination vorgeschlagen (112).

Valtonen et al. untersuchten die Elimination von Piperacillin/Tazobactam bei 6 Patienten mit akutem Nierenversagen und einem Nierenersatz mit CVVH oder CVVHDF. Die Eliminationshalbwertszeit von Piperacillin war bei der CVVH mit $7,7 \pm 2,3$ Stunden länger als während der CVVHDF $6,7 \pm 1,9$ h. Es wurde eine Dosierung von 4/0,5 g 3 mal täglich empfohlen (107).

Bei neun Patienten mit Multiorganversagen und einer Nierenersatztherapie mit CVVH wurde bei einer Dosierung von 3 mal täglich 4/0,5 g Piperacillin/Tazobactam eine Kumulation von Tazobactam festgestellt. Daraus resultierte eine Dosierungsempfehlung einer initialen Gabe der Kombination aus Piperacillin und Tazobactam und anschließender alternierender Gabe aus fixer Kombination der Substanzen und Piperacillin als Monopräparat (109). Die Kumulation von Tazobactam trat in der Studie von Arzuaga et al. nicht auf (111). Während bei Patienten mit einer Kreatinin-Clearance von ≤ 50 ml/min die vorgegebene MHK von 64 mg/l überschritten wurde, war dies nur noch bei 17 % der Patienten mit einer Kreatinin-Clearance ≥ 50 ml/min der Fall. Die extrakorporale Clearance von Piperacillin/Tazobactam korrelierte in dieser Studie mit der Kreatinin-Clearance (111). Capellier et al. konnten in ihrer Studie mit einer Nierenersatztherapie (CVVH) nur einen geringen Anteil der Piperacillin-Dosis im Ultrafiltrat wiederfinden. Es wurde eine 2 mal tägliche Gabe von 4/0,5 g Piperacillin/Tazobactam empfohlen (108).

Ciprofloxacin

In der Studie von Davies et al. wurden Patienten mit akuten Nierenversagen und CVVHD untersucht. Die Auswertung der pharmakokinetischen Parameter ergab eine Dosierungsempfehlung von 200 mg Ciprofloxacin 2 – 3 mal täglich (113). Eine Dosierung von 200 mg 3 mal täglich bei einer CVVHDF ergab in der Studie von Wallis et al. eine AUC von 21 – 55 mg h/l. Die Elimination von Ciprofloxacin über die Hämodiafiltration betrug dabei nur 20 % der Dosis (115). Diese Ergebnisse von Wallis et al. entsprechen denen der Studie von Malone et al., in der für Patienten mit CVVHD und CVVHDF eine Clearance des extrakorporalen Verfahrens von 17 % berechnet wurde. Aufgrund der hohen totalen Clearance wird eine Dosierung von 400 mg/d vorgeschlagen

(110). Auch in der Studie von Bellmann et al. wurde nur ein Viertel des Ciprofloxacins durch die CVVH eliminiert (102). Die mittlere terminale Halbwertszeit betrug 14 Stunden. Es wurde eine Dosierung von 400 mg 2 mal täglich empfohlen. Diese Dosierung wurde in der Studie von Spooner et al. bei Patienten mit CVVHDF untersucht. 26 % der Ciprofloxacin-Dosis wurde durch das Nierenersatzverfahren eliminiert. Die Dosierung erreichte die angestrebten Zielwerte einer $AUC > 100$. Für Patienten mit einer zusätzlich eingeschränkten Leberfunktion wurde ein längeres Applikationsintervall vorgeschlagen (116). Um eine $AUC \geq 125$ h bei stark übergewichtigen kritisch kranken Patienten zu erreichen, empfahlen Utrup et al. bei einer kontinuierlicher Hämodiafiltration eine Dosierungen von 2 mal täglich 800 mg (114).

2 Zielsetzung

Kontinuierliche Nierenersatzverfahren erlangen eine immer größere Bedeutung in der Intensivbehandlung hämodynamisch instabiler Patienten mit akutem Nierenversagen. Infektionen zählen bei hämodialysepflichtigen Intensivpatienten zu den häufigsten Todesursachen. Speziell bei Patienten mit schweren Erkrankungen, wie einer Sepsis, ist eine wirksame und sichere Antibiotikatherapie besonders wichtig. Diese ist maßgeblich von einer korrekten Dosierung der Antibiotika abhängig.

In den Fachinformationen von Piperacillin/Tazobactam und Ciprofloxacin finden sich keine Dosierungsvorschläge für Patienten mit kontinuierlichen Nierenersatzverfahren. Einzelne in der Literatur beschriebene Studien zu der Dosierung von Piperacillin/Tazobactam und Ciprofloxacin bei kontinuierlichen Nierenersatzverfahren beschränken sich auf die kontinuierliche Hämofiltration (CVVH) und die kontinuierliche Hämodiafiltration (CVVHDF). Für die kontinuierliche Hämodialyse (CVVHD) wurden bisher nur wenige klinische Studien zu Antibiotikadosierungen durchgeführt. Die Dosierung der Antibiotika erfolgt aktuell empirisch ohne zwischen den einzelnen kontinuierlichen Nierenersatzverfahren und den verschiedenen Filtertypen zu unterscheiden. Um die Wirksamkeit und Sicherheit der Antibiotikatherapie zu gewährleisten, müssen aber Faktoren, wie die Pharmakodynamik und Pharmakokinetik des Antibiotikums, die Art des Hämodialyseverfahrens, die Art des Dialysefilters und der Zustand des Patienten, berücksichtigt werden.

Im Rahmen einer offenen, transversalen, prospektiven Pharmakokinetikstudie soll die antibiotische Wirkung von Piperacillin und Ciprofloxacin bei kontinuierlichen Hämodialyseverfahren (CVVHD, CVVHDF) mittels pharmakokinetischen Methoden bestimmt werden. Bei Intensivpatienten mit kontinuierlichen Hämodialyseverfahren, bei denen Piperacillin/Tazobactam, Ciprofloxacin oder einer Kombination dieser Antibiotika indiziert ist, werden die Antibiotikakonzentrationen im Plasma und Dialysat im Steady State gemessen. Unmittelbar vor einer Antibiotikainfusion (0 min) wird den Patienten Blut entnommen. Weitere Blutentnahmen erfolgen 30 Minuten nach der Infusion sowie nach 1, 2, 3, 4, 8, 12 und 24 Stunden. Sobald ein Filtratbeutel ausgetauscht wird, werden parallel zu den Blutproben Dialysatproben entnommen. Die Konzentrationen von Piperacillin und Ciprofloxacin werden nach einer Festphasenextraktion aus den Plasmaproben mit einer validierten HPLC Methode bestimmt. Für Piperacillin wird untersucht, ob die Plasmaspiegel der Patienten für das komplette Dosierungsintervall oberhalb der geforderten vierfachen MHK von 64 mg/l liegen. Für Ciprofloxacin wird untersucht, ob die Plasmaspiegel der Patienten den Quotienten aus AUC und MHK (AUC/MHK) ≥ 125 h erfüllen. Mit einer Fallzahl von zwanzig Patienten werden eventuelle

Unterdosierungen der Antibiotika ermittelt, die zu einer mangelnden Effektivität der Therapie und zu vermehrten Resistenzen führen.

Das Ziel der Studie ist die systematische Untersuchung der Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Piperacillin/Tazobactam und Ciprofloxacin bei Intensivpatienten mit CVVHD und CVVHDF. Aus den gewonnenen Ergebnissen der Studie sollen Dosierungsempfehlungen für die untersuchten Antibiotika unter Berücksichtigung des gewählten Nierenersatzverfahrens abgeleitet werden. Mit einem besseren Verständnis der Pharmakokinetik der Antibiotika bei kontinuierlichen Hämodialyseverfahren soll in Zukunft eine adäquate Behandlung kritisch kranker Patienten erfolgen und die Arzneimitteltherapiesicherheit (AMTS) gesteigert werden. Während der Studie werden die ausgewerteten Plasmaspiegel den behandelnden Ärzten mitgeteilt, damit eventuelle Dosierungsanpassungen direkt vorgenommen werden können.

3 Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Laborgeräte und Verbrauchsmaterialien

Zur Etablierung der Methoden und der sich anschließenden klinischen Studie wurden die in Tabelle 13 aufgeführten Materialien und Geräte verwendet.

Tabelle 13: Laborgeräte und Verbrauchsmaterialien.

<i>HPLC mit PDA Detektor</i>	
HPLC-Gerät	Waters Alliance 2695 Separations Modul (Waters, USA)
Detektor	Waters 2998 Photodioden Array Detector (PDA) (Waters, USA)
Datenaufnahme	Empower ² -Software Version 6.10.2001 (Waters, USA)
<i>Chromatographische Säulen</i>	
Analytische Säule	Perfect Bond 150 x 4,6 mm ODS-HD 5 µm (MZ-Analysentechnik, Mainz, Deutschland) Art.Nr. 150.4,6.1198N
Vorsäule	Perfect Bond 10 x 4,6 mm ODS-HD 5 µm (MZ-Analysentechnik, Mainz, Deutschland) Art.Nr. VK10.4,6.1198
<i>Festphasenextraktion</i>	
Vakuumkammer	Vacuum Manifold Chromabond® (Macherey Nagel, Düren, Deutschland)
Probenaufreinigung	Chromabond C18ec 1ml/100mg (Macherey Nagel, Düren, Deutschland) ChB. 31.264 Sorbent 0611/3

Geräte

Standzentrifuge	Heraeus Labofuge 400R Function Line (Heraeus GmbH, Hanau, Deutschland) Fabr. Nr 40283570
Einsätze für Standzentrifuge	Heraeus 5000 rpm # 8172 ChB. 002510
Vortex	Vortex IKA Minishaker MS2 (IKA, Wilmington, USA) Modellnummer: 03137514
Analytische Waage	Sartorius Feinwaage AC 2115 (Sartorius AG, Göttingen, Deutschland) Sr.Nr. 50606155
Magnetrührer	IKA Labortechnik RCT basic (IKA Laborgeräte, Staufen, Deutschland) Modellnummer: 872909
pH-Meter	Hanna Instruments pH 210 Microprocessor pH-Meter (Hanna Instruments, Bedfordshire, UK) Materialnummer 388288
Elektrode pH-Meter	Mettler Toledo InlabMicro pH 0-14 (Mettler Toledo, Gießen, Deutschland)
Ultraschallbad	Bandelin Electronic Sonorex DK 512 P Materialnummer 78300037690007
Gefrierschrank	Kirsch Froster 520 CR (Kirsch, Offenburg, Deutschland) Sr.Nr. 5000910101 Sr.Nr. 5000910102
Pipetten	Eppendorf Reference (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland)
Meßkolben	Meßkolben EM Techcolor 100 ml (Hirschmann, Eberstadt, Deutschland)
Bechergläser	Bechergläser VWR brand from Merck Boro 3.3 (VWR, Dublin, Irland)

Verbrauchsmaterialien

Pipettenspitzen	Tip One 1000 µl Blue Graduated Tip (Starlab Group, Hamburg, Deutschland) Lot A108447K Tip One 200 µl Yellow Tip (Starlab Group, Hamburg, Deutschland) Lot A109331Q-1250
Kurzwindeflaschen	Kurzwindeflaschen 1,5 ml Klarglas (MZ-Analysentechnik, Mainz, Deutschland)
Kurzwindekappe	Kurzwindekappe PP 9 mm blau Silicon (MZ-Analysentechnik, Mainz, Deutschland)
Cryo-Vials	Nunc Cryo Tube Vials 4,5 ml (Thermo Electron LED GmbH, Langenselbold; Deutschland) Art.Nr. 337516
Reaktionsgefäße mit Schnappdeckel	Rotilabo® Reaktionsgefäße 2 ml farblos Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland) Art.Nr. NA16.1
S-Monovette	Coagulation 4,3 ml Monovette (Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland)
Adapter weiblich weiblich	Luer Lock Adapter weibl/weibl (Angiokard Medizintechnik GmbH, Friedeburg, Deutschland) Art.Nr. CR1020
Urinröhrchen	Urine Z 8,5 ml Monovette (Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland)

Art.Nr.= Artikelnummer

ChB.= Chargen Bezeichnung

Fabr.Nr. = Fabrikatnummer

Sr.Nr. = Seriennummer

3.1.2 Dialysesystem, Filter und Dialyselösungen

Für die kontinuierliche Hämodialyse und die kontinuierliche Hämodiafiltration wurden die in Tabelle 14 aufgeführten Systeme, Filter und Dialyselösungen verwendet.

Tabelle 14: Dialysesysteme, Dialysefilter und Dialyselösungen.

<i>Dialysesystem</i>	
multiFiltrate CVVHD/CVVHDF	multiFiltrate-System (Fresenius Medical Care Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland)
CVVHD-Kassetten	multiFiltrate – Kit Ci-Ca CVVHD 1000 (Fresenius Medical Care Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland) Art.Nr. 5039011
CVVHDF-Kassetten	multiFiltrate – Kit 8 CVVHDF 1000 (Fresenius Medical Care Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland) Art.Nr. 5038871
<i>Filter</i>	
Polysulfon-Membran	Ultraflux®-Filter AV 1000 S (Fresenius Medical Care Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland) Art.Nr. 5008981
<i>Dialyselösungen</i>	
CiCa Dialysate K2	CiCa Dialysate K2 (Fresenius Medical Care Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland) Art.Nr. 9689201
Natriumcitrat 4 %	Sodium Citrate 4 % (Fresenius Medical Care Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland) Art.Nr. E2011
Multibic HF-Lsg	Multibic® potassium-free/2/3/4-Lösung (Fresenius Medical Care Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland) Art.Nr. 9678201 (Kalium frei) Art.Nr. 9679201 (2 mmol/l Kalium) Art.Nr. 9672201 (3 mmol/l Kalium) Art.Nr. 9673201 (4 mmol/l Kalium)

3.1.3 Chemikalien und Referenzsubstanzen

Tabelle 15 zeigt die verwendeten Chemikalien und Referenzsubstanzen.

Tabelle 15: Chemikalien und Referenzsubstanzen.

<i>Chemikalien</i>	
Kaliumdihydrogenphosphat	Merck, Darmstadt, Deutschland ChB. A0185177031
Dinatriumhydrogenphosphat-Dodecahydrat	Merck, Darmstadt, Deutschland ChB. A631379545
Natriumdihydrogenphosphat-Dihydrat	Applichem, Darmstadt, Deutschland ChB. 9Q006933
Natronlauge 0,5 mol/l	Merck, Darmstadt, Deutschland ChB. HC957314
Wasser - demineralisiert	Applichem, Darmstadt, Deutschland ChB. 2A003095
Acetonitril Optigrade	LGC-Promochem, Wesel, Deutschland ChB. 121785; 113008
Methanol	Fisher Chemical, Loughborough, UK ChB. 1173712
Humanplasma	FFP aus Blutspenden, Transfusionszentrale Universitätsmedizin Mainz, Deutschland
ChB.= Chargenbezeichnung	
<i>Referenzsubstanzen</i>	
Piperacillin/Tazobactam Stragen 4 g/0,5 g	Stragen Pharma GmbH, Köln, Deutschland ChB. 1PT11001G ChB. 1PT1022G ChB. 1PT11075G ChB. 1PT11110G
Penicillin Grünenthal 10 Millionen I.E.	Grünenthal GmbH, Aachen, Deutschland ChB. 151A01
Ciprofloxacin Kabi Infusionslösung	Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland ChB. 15EE076F2
ChB.= Chargenbezeichnung	

3.1.4 Stammlösungen, Kalibrations- und Qualitätskontrollstandards für die HPLC-Untersuchung

Die Stammlösungen, Kalibratoren, Kontrollen sowie der interne Standard wurden aus den in Kapitel 3.1.3 beschriebenen Fertigarzneimitteln hergestellt.

Die Trockensubstanz Piperacillin/Tazobactam 4 g/0,5 g wurde mit 20 ml Wasser gelöst. Ein Milliliter dieser Stammlösung wurde mit Wasser auf ein Volumen von 200 ml aufgefüllt. Es ergab sich eine Konzentration von 1 µg Piperacillin /µl.

Für Ciprofloxacin wurden zwei Konzentrationen (0,1 µg/µl und 0,01 µg/µl) aus der applikationsfertigen Infusionslösung hergestellt. Dazu wurden 5 ml bzw. 0,5 ml Infusionslösung mit Wasser auf ein Volumen von 100 ml verdünnt.

Die Penicillin G-Trockensubstanz wurde mit 60 ml Wasser gelöst. Ein Milliliter der Lösung wurde mit Wasser auf ein Volumen von 100 ml aufgefüllt. Die Endkonzentration entsprach 1 µg/µl.

Für die Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Plasmaproben wurden aus den Stammlösungen Standards für die Methodenvvalidierung hergestellt (Tabelle 16). Dazu wurden definierte Volumen der Stammlösungen mit Wasser zu 1 ml verdünnt. Für die Kalibrationsgeraden wurden sieben Standards sowie Blank- (reine Plasmaproben) und Zero-Proben (Plasma mit internem Standard) hergestellt. Die Standards mit den römischen Zahlen II und VI wurden für die Stabilitäts- und Genauigkeits-Untersuchungen verwendet.

Tabelle 16: Zusammensetzung der Standards zur Bestimmung von Piperacillin- und Ciprofloxacin-Plasmaproben.

	Std I	Std II	Std III	Std IV	Std V	Std VI	Std VII	Blank	Zero
Piperacillin (µl)	30	50	100	200	300	400	500		
Ciprofloxacin (µl)				40	60	80	100		
Ciprofloxacin (µl)	50	100	200						
Penicillin G (µl)	50	50	50	50	50	50	50		50
Plasma (µl)	350	350	350	350	350	350	350	350	350
Wasser (µl)	520	450	300	360	240	120		650	600

Nach der Festphasenextraktion wurden die Proben homogenisiert und im Autosampler der HPLC bei 4 °C bis zu ihrer Analyse aufbewahrt.

Für die Kalibrationsgeraden der Dialysatproben wurden sieben Standards sowie Blank- (reine Dialysatproben) und Zero-Proben (Dialysat mit internem Standard) hergestellt (Tabelle 17). Die Standards mit den römischen Zahlen II und VI wurden für die Stabilitäts- und Genauigkeits-Untersuchungen verwendet.

Tabelle 17: Zusammensetzung der Standards zur Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Dialysat.

	Std I	Std II	Std III	Std IV	Std V	Std VI	Std VII	Blank	Zero
Piperacillin (µl)	30	50	100	200	300	400	500		
Ciprofloxacin (µl)				40	60	80	100		
Ciprofloxacin (µl)	50	100	200						
Penicillin G (µl)	50	50	50	50	50	50	50		50
Dialysat (µl)	870	800	650	710	590	470	350	1000	950

Die Proben wurden homogenisiert und anschließend im Autosampler der HPLC bei 4 °C bis zu ihrer Analyse aufbewahrt.

3.2 Methoden

3.2.1 Probennahme und Probenvorbereitung von Blut- und Dialysatproben

Während der kontinuierlichen Nierenersatztherapie wurden den Probanden im Steady State der Piperacillin/Tazobactam, Ciprofloxacin Therapie über einen Zeitraum von 24 Stunden Blutproben entnommen. Ein Volumen von 6 ml Blut wurde jeweils unmittelbar vor der nächsten Antibiotikainfusion (0h), 30 min nach der Infusion sowie nach 1, 2, 3, 4, 8, 12 und 24 Stunden entnommen. Dies entsprach einem Gesamtvolumen von 54 ml Blut pro Patient. Die Blutproben wurden aus einem bereits liegenden venösen Zugang ohne zusätzliche Punktion entnommen. Die Studiendauer pro Patient beträgt 24 Stunden.

Zeitgleich wurden 10 ml Dialysatproben entnommen, wenn der Dialysatbeutel routinemäßig durch das Pflegepersonal gewechselt wurde. Dementsprechend erfolgte die Probennahme in Zeitintervallen von 3 - 5 Stunden.

Unmittelbar nach der Blutentnahme wurden die Blutproben für zehn Minuten in der Standzentrifuge bei 4000 Umdrehungen pro Minute (rpm) und einer Temperatur von 4 °C zentrifugiert. Das Plasma wurde mit Eppendorfpipetten aus den verwendeten S-Monovetten in Cryo-Vials abpipettiert und bis zur Analyse der Proben bei -20 °C in einem Tiefkühlschrank aufbewahrt.

3.2.2 Berechnung der pharmakokinetischen Parameter von Piperacillin/Tazobactam und Ciprofloxacin

Die Erstellung der Konzentrations-Zeit-Kurven für Piperacillin und Ciprofloxacin erfolgte sowohl mit Microsoft Excel 2010 als auch mit Hilfe des von Dr. Stefan W. Toennes entwickelten Kinetikprogramms „Autokinetic v3.2“.

Für die Elimination der Antibiotika wurde eine Kinetik erster Ordnung angenommen. Der Konzentrations-Zeit-Verlauf ließ sich mit einem offenen Zwei-Kompartiment-Modell nach prolongierter intravasaler Applikation über dreißig Minuten beschreiben. Im Anschluss an die Absorption über zwanzig Minuten erfolgte die Elimination aus dem zentralen Kompartiment sowie die Verteilung des Arzneistoffs in ein peripheres Kompartiment (118;119).

Die Berechnung der Geschwindigkeitskonstante der Elimination (λ_z) erfolgte über die halblogarithmische Darstellung der Plasmakonzentrationen gegen die Zeit. Aus der Steigung der Geraden, berechnet aus den letzten drei Messwerten des Dosierungsintervalls, wurde λ_z ermittelt (Formel 8). Die Geschwindigkeitskonstante der Verteilung (λ_i) wurde über die Residuenmethode bestimmt. Dabei wurde durch die

Bildung der Differenzen aus den gemessenen Plasmakonzentrationen und den Werten der rückextrapolierten Gerade die Gerade mit der Konstante λ_i ermittelt. (118;119).

Formel 8: Geradengleichung der Eliminationsgeraden

$$\ln C = \ln C_0 - k * t$$

c = Konzentration

k = Geschwindigkeitskonstante

t = Zeit

Die weiteren pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Kennzahlen wurden nach den Formeln 9-16 in Tabelle 18 berechnet (118;119).

Tabelle 18: Berechnung der pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Kennzahlen anhand der Auswertung der Plasmakonzentrationen.

Pharmakokinetische Kennzahlen	Formel
<i>Formel 9: Berechnung der Halbwertszeit</i>	$t_{0,5} = \ln 2 / \lambda_z$
<i>Formel 10: Verteilungsvolumen des zentralen Kompartiments (V_1)</i>	$V_1 = D / C_0$
<i>Formel 11: Verteilungsvolumen des peripheren Kompartiments (V_2)</i>	$V_2 = \left(\frac{k_{12}}{k_{21}} \right) V_1$
<i>Formel 12: Verteilungsvolumen im Steady State ($V_{d_{ss}}$)</i>	$V_{d_{ss}} = V_1 + V_2$
<i>Formel 13: Berechnung der totalen Clearance</i>	$Cl_t = \lambda_z * V$ oder $Cl_t = \frac{D}{AUC}$
<i>Formel 14: Berechnung der AUC</i>	$AUC_{SS,\tau} = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n (C_{i-1} + C_i)(t_i - t_{i-1})$
<i>Formel 15: Berechnung der AUMC</i>	$AUMC_{SS,\tau} = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n (C_{i-1} * t_{i-1} + C_i * t_i)(t_i - t_{i-1})$
<i>Formel 16: Berechnung der MRT</i>	$MRT = \frac{AUMC}{AUC}$

Die Auswertung der gemessenen Dialysatkonzentrationen erfolgte mit Microsoft Excel 2010. Das Sammelintervall der Dialysatproben wurde so gewählt, dass nach einem routinemäßigen Tausch der Filtratbeutel Proben entnommen wurden. Die Probe beinhaltete einen Durchschnittswert des ausgeschiedenen Antibiotikums über ein Zeitintervall. Die ermittelten Konzentrationen wurden mit dem Volumen des Dialysatbeutels multipliziert, um die Menge der eliminierten Substanz zu ermitteln.

Die Dialyse-Clearance ($Cl_{Dialyse}$) wurde aus dem Quotienten der kumulativ ausgeschiedenen Menge im Filtrat ($A_{e,\tau}$) und der $AUC_{SS,\tau}$ bestimmt (Formel 17).

Formel 17: Clearance der Dialyse

$$Cl_{Dialyse} = \frac{A_{e,\tau}}{AUC_{SS,\tau}}$$

Die extrarenale Clearance ($Cl_{extrarenal}$) wurde als die Differenz der totalen und der Clearance der Dialyse berechnet (Formel 18).

Formel 18: Berechnung der extrarenalen Clearance

$$Cl_{extrarenal} = Cl_{total} - Cl_{Dialyse}$$

Die Kreatinin-Clearance der Studienpatienten wurde aus dem gemessenen Serumkreatinin sowohl nach der Formel von Cockcroft-Gault (Formel 19) als auch nach der MDRD-Formel (Formel 20) berechnet. Neben dem Korrekturfaktor für das weibliche Geschlecht berücksichtigt die MDRD-Formel auch die ethnische Herkunft.

Formel 19: Cockcroft-Gault-Formel

$$C_{CR} = \frac{(140 - \text{Alter}) * \text{Gewicht}}{72 * S_{CR}} * 0,85^a$$

^a falls weibliches Geschlecht

Formel 20: Modifikation of Diet in Renal Disease (MDRD-Formel)

$$eGFR(ml/min)/1,73 m^2 = 186 * (S_{Cr})^{-1,154} * (\text{Alter})^{-0,203} * (0,742^a) * (1,21^b)$$

eGFR = errechnete glomeruläre Filtrationsrate

S_{Cr} = Serum Kreatinin

^a falls weibliches Geschlecht

^b falls schwarze Hautfarbe

Die Ergebnisse der MDRD-Formel wurden auf die Körperoberfläche der Patienten umgerechnet um diese mit der Formel nach Cockcroft-Gault vergleichen zu können.

3.2.3 Berechnung der Effektivität von Piperacillin/Tazobactam und Ciprofloxacin

Aus den gemessenen Konzentrations-Zeit-Verläufen von Piperacillin wurde das Unterschreiten der vierfachen MHK abgelesen. Für Ciprofloxacin wurde die AUC als Quotient der Fläche unter der Kurve (AUC_{24h}) und der MHK bestimmt (siehe Formel 21). Als weitere Kennzahl der Effektivität von Ciprofloxacin wurde der Quotient der Spitzenkonzentration (C_{max}) und der MHK berechnet.

Formel 21: Berechnung der AUC

$$AUC = \frac{AUC_{24h}}{MHK}$$

3.2.4 Festphasenextraktion zur quantitativen Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin aus Plasmaproben

Die Aufbereitung der Analyten aus Plasmaproben erfolgte analog einer Methode von Denooz und Charlier aus dem Jahr 2008 (120). Die Methode wurde seinerzeit entwickelt, um verschiedene β -Lactam-Antibiotika aus Plasmaproben zu isolieren. Neben den β -Lactam-Antibiotika Piperacillin und Penicillin G konnte auch Ciprofloxacin mit dieser Methode von den Plasmabestandteilen getrennt werden. Abweichend von der beschriebenen Methode wurden anstelle der C_{18} sep-pak Kartuschen, Chromabond C_{18} ec-Kartuschen verwendet. Die Interaktionen mit der stationären Phase beruhen vorwiegend auf van der Waals Kräften (121). Der pK_a -Wert von Piperacillin beträgt 4,14 (122), der von Penicillin G 2,73 (122) und der von Ciprofloxacin 6,0 (123). Die Extraktion erfolgte in einer Vakuum-Kammer mit einem angelegten Vakuum von 5 mm Hg.

Herstellung der Spülpuffer

Die Puffer wurden ebenfalls nach der Methode von Denooz und Charlier hergestellt (120). Für den ersten Puffer (A) wurden 9,1 g Kaliumdihydrogenphosphat, für den zweiten Puffer (B) 11,9 g Dinatriumhydrogenphosphat in einem Liter Wasser gelöst. Aus der Mischung von 197 ml Puffer A und 803 ml Puffer B wurde der Spülpuffer für die Festphasenextraktion hergestellt. Dessen pH-Wert wurde auf 7,4 eingestellt. Ein zweiter Spülpuffer wurde aus einer Mischung des erstens Puffers mit fünf Prozent Methanol (V/V) hergestellt.

Festphasenextraktion

Die Plasmaproben in den Cryo-Vials wurden aufgetaut. 1 ml des abgetrennten Plasmas wurde mit 50 μ l internem Standard gemischt. Die Mischung wurde im Anschluss zu

gleichen Teilen mit Wasser verdünnt, um die Viskosität der Proben herabzusetzen und somit einen homogenen Durchfluss durch die Kartuschen zu gewährleisten (121).

Die stationäre Phase der Kartuschen wurde zweifach mit Methanol und anschließend mit der gleichen Menge Spülpuffer konditioniert (Abbildung 12). Methanol wirkt bei der Konditionierung des unpolaren C₁₈-Materials als Lösungsvermittler. Durch den langsamen Fluss durch die Kartusche gelangt Methanol und später der Spülpuffer in die Poren der Säule und entfaltet die C₁₈-Ketten (121). Nach der Konditionierung wurde die Probe auf die stationäre Phase aufgetragen und durch den konstanten Unterdruck des Vakuums auf der Säule extrahiert.

Die Analyten wurden durch vier sich anschließende Waschschritte von den Plasmabestandteilen getrennt. Anschließend wurden die Analyten mit Methanol in die für die HPLC bestimmten Kurzugwindeflaschen eluiert.

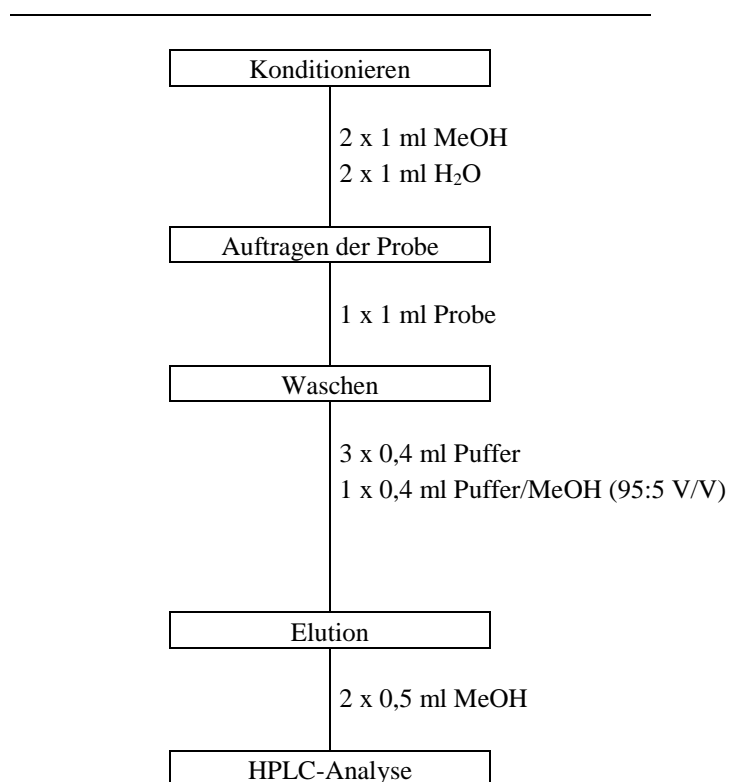


Abbildung 12: Schematische Darstellung der Festphasenextraktion der Plasmaproben für die Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin.

3.2.5 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie mit UV-Detektion zur quantitativen Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Plasma- und Dialysatproben

Die Bestimmung der Analyten erfolgte analog der Methode zur Bestimmung von Piperacillin und Tazobactam von Arzuaga et al. (124). Diese wurde durch die Kombination mit der vorangegangenen Festphasenextraktion für die Bestimmung von Ciprofloxacin in Plasmaproben weiterentwickelt und für beide Analyten validiert. Für die Elution der Analyten wurde ein Gemisch aus Phosphatpuffer und Acetonitril verwendet. Bei der Herstellung wurden 6,8 g Natriumdihydrogenphosphat in 1 l Wasser gelöst. Der pH-Wert wurde mit 1 molarer Natriumhydroxid-Lösung auf 6,1 eingestellt. 820 ml des hergestellten Puffers gemischt mit 180 ml Acetonitril ergaben den fertigen Eluenten (124). Die Analyse erfolgte unmittelbar nach dem Auftauen. In den HPLC-Lauf wurden Leer-Proben (Blanks) integriert, um eventuelle Verschleppungen oder Interferenzen zu identifizieren. Qualitätskontrollproben wurden integriert, um die Validität des Verfahrens zu gewährleisten. Die Messung einer Probe erfolgte innerhalb von zwanzig Minuten bei einem Fluss des Eluenten von 1,5 ml/min. Piperacillin und Penicillin G wurden bei 228 nm detektiert, Ciprofloxacin bei 280 und 315 nm. Die Konzentration der Arzneistoffe wurde durch das Verhältnis der Fläche unter der Kurve des Analyten zu seinem internen Standard bestimmt (Tabelle 19).

Tabelle 19: Chromatographische Bedingungen für die Bestimmung der Plasma- und Dialysatproben.

Analytische Säule	10 cm x 4,6 mm
Vorsäule	1 cm x 4,6 mm
Stationäre Phase	Perfect Bond ODS-HD 5 µm
Mobile Phase	Acetonitril/Phosphatpuffer pH 6,1
	180:820 isokratisch
Flussrate	1,5 ml/min
Temperatur des Autosamplers	4 °C
Temperatur der Säule	17 °C
Detektionswellenlängen	228 nm (Piperacillin und Penicillin)
	280 nm (Ciprofloxacin)
	315 nm (Ciprofloxacin)
Injektionsvolumen	50 µl
Auswertung	Peakflächen-Verhältnis der Analyten (Ciprofloxacin; Piperacillin) zum internen Standard (Penicillin)

3.2.6 Validierung der analytischen Methode zur Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Plasmaproben

Die Validierung der Methode orientierte sich an den Vorgaben der EMA Guideline on Validation of Bioanalytical Methods (125). Die Prinzipien der Good Clinical Practice (126) wurden berücksichtigt. Die Methode wurde hinsichtlich ihrer Selektivität, ihrer Genauigkeit und Richtigkeit und der Stabilität der Analyten validiert.

Linearität

Für die Linearitätsbestimmung wurden jeweils sieben Plasma-Standards in Konzentrationen zwischen 30 – 500 mg/l für Piperacillin (30, 50, 100, 200, 300, 400, 500 mg/l) und 0,5 – 10 mg/l für Ciprofloxacin (0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 mg/l) sowie eine Plasma-Leerprobe (Blank) und eine Nullprobe (Plasma mit internem Standard (IS)) verwendet. Die Standards wurden an drei verschiedenen Tagen frisch hergestellt und jeweils dreifach bestimmt. Das Verhältnis der Fläche unter der Kurve (AUC) von Analyt (Piperacillin/Ciprofloxacin) zu Penicillin G (IS) wurde gegen die theoretische Konzentration aufgetragen. Die Absorption wurde für Piperacillin bei 228 nm und für Ciprofloxacin bei 280 nm sowie bei 315 nm gemessen. Für Ciprofloxacin wurde die Linearität bei beiden Absorptionsmaxima bestimmt, um die Wahrscheinlichkeit auftretender Interferenzen mit den Patientenplasmabestandteilen durch die Messung in einem zusätzlich höheren Absorptionsbereich minimieren zu können.

Richtigkeit und Genauigkeit

Die Richtigkeit und Genauigkeit der Methode wurde innerhalb eines (Intra-Day) und zwischen verschiedenen Analysentagen (Inter-Day) bestimmt. Vier Qualitätskontroll-Standards (QK) in Konzentrationen von 30 – 400 mg/l für Piperacillin (30, 50, 200, 400 mg/l) und 0,5 – 8 mg/l für Ciprofloxacin (0,5, 1, 4, 8 mg/l) wurden dafür hergestellt. Diese decken den niedrigen, mittleren und hohen Konzentrationsbereich sowie die untere Nachweisgrenze der Kalibrationsgerade ab. Alle Konzentrationen wurden fünffach hergestellt und doppelt bestimmt.

Die Richtigkeit entsprach der prozentualen Abweichung des gefundenen Wertes von der theoretischen Konzentration. Die Genauigkeit wurde als relative Standardabweichung (RSD) der Messungen einer Konzentration in Prozent angegeben. Die Grenzwerte der erlaubten Abweichungen lagen für die niedrigen, mittleren und hohen Qualitätskontroll-Standards bei $\pm 15 \%$ und für den Wert der unteren Nachweisgrenze (LOQ) bei $\pm 20 \%$ der theoretischen Konzentration.

Auswirkung der Verdünnung der Plasmaproben auf die Bestimmung von Richtigkeit und Genauigkeit der Methode

Hohe Plasmakonzentrationen der Patientenproben konnten die Kapillaren der Festphasenextraktions-Kartuschen verstopfen. Eine Verdünnung der Plasmaproben mit Wasser konnte aus diesem Grund notwendig sein. Sechs Qualitätskontroll-Standards wurden zu gleichen Teilen mit Wasser verdünnt und anhand der Kalibrationsgeraden ausgewertet. Eine Abweichung des Gehalts wurde bis $\pm 15 \%$ der theoretischen Konzentration toleriert.

Selektivität

Die Selektivität der Methode wurde mit fünf Leerplasma-Proben bestimmt. Eventuell auftretende Interferenzen sollten in ihrer Fläche nicht größer als 20 % der Analyten-Peaks sowie 5 % des internen Standards sein.

Stabilität

Die Stabilität wurde mit den Qualitätskontroll-Standards II und VI untersucht. Der ermittelte Gehalt sollte im Bereich von $\pm 15 \%$ des Ausgangswertes liegen. Die Proben sollten während der Stabilitätsuntersuchungen den gleichen Bedingungen wie die Patientenproben unterliegen. Aus diesem Grund wurde die Stabilität bei 4 °C im Autosampler, bei -20 °C im Tiefkühlschrank sowie nach zweifachem Einfrieren und anschließendem Auftauen der Proben bestimmt.

Die Langzeit-Stabilität der Qualitätskontroll-Standards wurde über einen Zeitraum von zwei Monaten kontrolliert. Der Gehalt des ersten Messzeitpunktes wurde als Ausgangswert für die 30- und 60-Tagesmessungen verwendet. Die Werte der Richtigkeit wurden für den Ausgangswert auf 100 % festgelegt.

Während der Analyse der Patientenproben lagerten diese bei 4 °C im Autosampler der HPLC. Um die Einflüsse dieser Temperatur auf die Plasmaproben zu untersuchen, wurden Qualitätskontroll-Standards für 24 Stunden in der HPLC aufbewahrt und anschließend analysiert. Der Gehalt sollte die Grenzwerte von $\pm 15 \%$ nicht überschreiten.

Unmittelbar nach der Probenentnahme wurden die Patientenproben zentrifugiert und das abgetrennte Plasma bei -20 °C eingefroren und im Anschluss an die letzte Probenentnahme des jeweiligen Patienten ausgewertet. Der Einfluss des Einfrierens und des sich anschließenden Wiederauftauens wurde ebenfalls in einer Stabilitätsuntersuchung berücksichtigt. Jeweils zwei Qualitätskontroll-Standards (QK) wurden dreifach analysiert. In jedem der zwei Zyklen wurden die Proben für mindestens zwölf Stunden tiefgekühlt.

3.2.7 Validierung der analytischen Methode zur Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Dialysatproben

Die Validierung der Dialysatproben erfolgte analog der Methode der Plasmavalidierung. Die Dialysatproben wurden nicht verdünnt, so dass die Auswirkungen der Verdünnung der Dialysatproben auf die Bestimmung von Richtigkeit und Genauigkeit der Methode nicht durchgeführt wurde. Die Absorption wurde für Piperacillin bei 228 nm und für Ciprofloxacin bei 280 nm gemessen.

3.2.8 Klinische Studie zur Untersuchung der Pharmakokinetik von Piperacillin und Ciprofloxacin bei Intensivpatienten mit CVVHD oder CVVHDF

Die Pharmakokinetik von Ciprofloxacin und Piperacillin wurde in einer klinischen Studie (UMM062010FS) mit der EudraCT-Nr. 2010-021369-66 nach dem Arzneimittelgesetz (127) untersucht. Die Studie wurde in Zusammenarbeit der Klinik für Anästhesiologie und der Apotheke der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg Universität durchgeführt.

Studienziele

In der Pharmakokinetikstudie sollten die auf der anästhesiologischen Intensivstation üblichen Dosierungen von Piperacillin/Tazobactam und Ciprofloxacin bei kontinuierlichen Nierenersatzverfahren untersucht werden. Über einen Zeitraum von jeweils 24 Stunden wurden Blut- und Dialysatproben der Patienten gesammelt und im Anschluss mittels einer etablierten HPLC-Methode untersucht. Mit einer Fallzahl von zwanzig Patienten sollte auf eventuelle Unterdosierungen der Antibiotika geprüft werden, die zu einem Nichtansprechen der Therapie und zu vermehrten Resistenzen führen.

Das Ziel der Studie war die systematische Untersuchung der Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Piperacillin/Tazobactam und Ciprofloxacin bei Intensivpatienten mit CVVHD und CVVHDF. Aus den gewonnenen Ergebnissen der Studie sollten Dosierungsempfehlungen für die untersuchten Antibiotika unter Berücksichtigung des gewählten Nierenersatzverfahrens abgeleitet werden. Mit einem besseren Verständnis der Pharmakokinetik der Antibiotika bei kontinuierlichen Hämodialyseverfahren kann in Zukunft eine adäquate Behandlung kritisch kranker Patienten erfolgen und die Arzneimitteltherapiesicherheit (AMTS) gesteigert werden. Während der Studie wurden die ausgewerteten Plasmaspiegel den behandelnden Ärzten mitgeteilt, damit eventuelle Dosierungsanpassungen direkt vorgenommen werden konnten.

Studiendesign

Es handelt sich um eine offene, transversale, prospektive und analytische Pharmakokinetikstudie.

Studienablauf

In die Studie wurden Patienten eingeschlossen, die mit Piperacillin/Tazobactam, Ciprofloxacin oder einer Kombination dieser Antibiotika behandelt wurden. Die studienbedingten Untersuchungen wurden frühestens einen Tag nach der ersten Antibiotikagabe begonnen, um eine Messung der Wirkstoffspiegel im Steady State zu gewährleisten. Die Auswahl der Antibiotika sowie die Steuerungsparameter des Nierenersatzverfahrens blieben von der Studienteilnahme unberührt. Während der kontinuierlichen Nierenersatztherapie wurden den Patienten über einen Zeitraum von einem Tag Blut- und Dialysatproben entnommen.

Unmittelbar vor der nächsten Antibiotikainfusion (0 min) wurde ein Volumen von 6 ml Blut entnommen. Weitere Blutentnahmen erfolgten 30 Minuten nach der Infusion sowie nach 1, 2, 3, 4, 8, 12 und 24 Stunden. Die Proben wurden aus einem bereits liegenden venösen Zugang entnommen. Sobald ein Filtratbeutel ausgetauscht wurde, wurden parallel zu den Blutproben Dialysatproben entnommen.

Unmittelbar nach der Entnahme der Probe wurden diese zentrifugiert. Das Plasma wurde abgetrennt und die Proben bis zu ihrer Untersuchung bei -20 °C tiefgekühlt. Die Analyse der Proben erfolgte nach den in Kapitel 3.2.5 vorgestellten Methoden. Die gemessenen Plasmaspiegel wurden dem behandelnden Arzt mitgeteilt. Eine eventuell resultierende Dosierungsanpassung oblag der Verantwortung des Arztes.

Einschluss- und Ausschlusskriterien für die Studie

Intensivpatienten der Klinik für Anästhesiologie mit laufender kontinuierlichen Nierenersatztherapie und der entsprechenden Antibiotikatherapie wurden in die Studie eingeschlossen, wenn sie selbst oder ihre rechtlichen Betreuer die Patienteninformation gelesen und die Einwilligungserklärung unterschrieben hatten. Patienten unter 18 Jahren sowie Patienten, die an einer anderen klinischen Prüfung teilnahmen, wurden nicht in die Studie aufgenommen. Die ethnische Abstammung und das Geschlecht waren für die Studie nicht relevant.

Die Patienten und ihre rechtlichen Betreuer konnten die Studie zu jedem Zeitpunkt und aus jedem Grund beenden. Dem Prüfer oblag das Recht und die Pflicht die Antibiotikabehandlung bei unerwünschten Effekten abubrechen, sobald das Risiko–Nutzen-Verhältnis dies erforderte.

Studienpatienten, die die Studie abgebrochen haben, wurden solange ersetzt, bis die vorgesehene Fallzahl erreicht wurde.

Statistische und analytische Planung

Die statistische Fallzahlplanung wurde in Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Informatik der Universitätsmedizin Mainz vorgenommen.

Um eine adäquate Fallzahl für die Studie zu planen, bedurfte es zweier Informationen. Zum einen sollte bekannt sein in welchem Zielbereich die Plasmaspiegel der ausgewählten Antibiotika optimalerweise liegen sollten. Zum anderen musste die Streuung der Plasmawerte der einzelnen Patienten zu jedem Zeitpunkt der Plasmamessung bekannt sein. Bisher gab es aufgrund der geringen Anzahl durchgeführter Studien keine ausreichenden Informationen, so dass keine zielgerichtete Fallzahlplanung durchgeführt werden konnte.

Über eine geeignete Fallzahl sollten folgende Parameter kontrolliert werden: Die Breite des Konfidenzintervalls und das „Auflösevermögen“ der Studie, das heißt die Größe des Effekts, die mit hoher Wahrscheinlichkeit (80 %) aufgelöst werden konnte.

Zu jedem Messzeitpunkt wurden die Mittelwerte der Plasmawerte bestimmt. Begleitend dazu wurde ein 95 % - Konfidenzintervall konstruiert. Idealerweise sollte sich dieses mit dem optimalen Bereich des Plasmaspiegels decken, das heißt die Patienten wären in diesem Falle mit 95 %iger Wahrscheinlichkeit im therapeutischen Bereich. Mittels der Fallzahl wurde erreicht, dass die Konfidenzintervalle nicht zu groß wurden. Je größer die Fallzahl gewählt wurde, desto kleiner wurden die Intervalle. Hierfür wurde als Standardabweichung (σ) angegeben wie groß die Konfidenzintervalle maximal werden sollten.

Bei einer Fallzahl von 20 Patienten erreichte man mit 95%iger Wahrscheinlichkeit, dass die Entfernung der Grenzen des Konfidenzintervalls von dessen Mittelpunkt, das heißt vom beobachteten Mittelwert, nicht breiter war als 0,59 Standardabweichungen.

Bei einer Fallzahl von 15 erreichte man mit 95%iger Wahrscheinlichkeit, dass die Entfernung der Grenzen des Konfidenzintervalls vom Mittelpunkt des Konfidenzintervalls nicht breiter war als 0,72 Standardabweichungen.

Bei einer Fallzahl von 10 erreichte man mit 95 %iger Wahrscheinlichkeit, dass die Entfernung der Grenzen des Konfidenzintervalls vom Mittelpunkt des Konfidenzintervalls nicht breiter war als 0,98 Standardabweichungen.

Ein hinreichend großes Auflösevermögen war aus folgenden Gründen von Bedeutung: Idealerweise sollte der gemessene Plasmaspiegel im Zielbereich liegen. Falls er jedoch vom erwarteten Bereich zu stark abweicht, sollte dieses auch festgestellt werden können. Das Auflösevermögen sollte dabei als jene Effektstärke (angegeben in Einheiten der Standardabweichung) verstanden werden, die sich bei gegebener Fallzahl und bei vorher festgelegter Power ergab. Sie ließ sich über die Fallzahl kontrollieren. Je größer die Fallzahl gewählt wurde, desto kleinere Effekte konnten nachgewiesen werden. Die Wahrscheinlichkeit einen Effekt einer vorgegebenen Größenordnung zu erkennen ist die sogenannte Power und sollte auf 80 % festgesetzt werden. Ist die Standardabweichung unbekannt werden für die Effektstärke Erfahrungsgrößen verwendet. Es konnten sowohl Abweichungen oberhalb des Bereichs (Überdosierung) als auch Abweichungen nach unten (Unterdosierung) festgestellt werden. In der vorliegenden Studie waren Unterdosierungen von größerem Interesse, da diese zu Therapieversagen und höheren Resistenzen der Bakterien führen können. Aufgrund der kontinuierlichen Dialyseverfahren war die Wahrscheinlichkeit für eine verstärkte Arzneistoff-Elimination größer als für eine Kumulation. Die Studie beschränkte sich auf diese einseitige Situation, um die benötigte Fallzahl zu verringern.

Für die Effektstärke d gibt es Erfahrungswerte. Nach Cohen (128) indiziert $d = 0,2$ einen kleinen Effekt, $d = 0,5$ einen mittleren und $d = 0,8$ einen starken Effekt. Legt man ein Signifikanzniveau von 0,05 und 80 % Power zugrunde, ergab sich für folgende Fallzahlen N folgende Effektstärke d :

$N = 10$ liefert $d = 1,21$

$N = 15$ liefert $d = 0,92$

$N = 20$ liefert $d = 0,816$

Mit $N = 20$ erreichte man die Fallzahl, mit der man Abweichungen des Plasmaspiegels von Idealbereich feststellen konnte. Diese Abweichungen lagen aufgrund ihrer Effektstärke nach Cohen (128) an der Grenze, ab der man von einem starken Effekt, das heißt von einer starken Abweichung, spricht. Bei zehn Fällen hätten nur sehr starke Abweichungen vom Zielbereich ($d = 1,21$) nachgewiesen werden können.

Somit erschien eine angestrebte Fallzahl von 20 als sinnvoll.

Statistische Datenanalyse

Die statistische Datenanalyse der Plasmakonzentrationen erfolgte mit IBM SPSS Statistics Version 20.

Für Piperacillin wurde in der vorliegenden Arbeit untersucht, ob die Plasmaspiegel der Patienten für das komplette Dosierungsintervall oberhalb der geforderten vierfachen MHK von 64 mg/l liegen. Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 5\%$ und einer Fallzahl von $n = 20$ wurde ein einseitiger t-Test durchgeführt. Mit diesem Test wurde geprüft ob sich der Mittelwert der Plasmakonzentrationen nach 8 Stunden von der vorgegebenen Grenze von 64 mg/l unterscheidet.

Für Ciprofloxacin wurde untersucht, ob die Plasmaspiegel der Patienten die geforderte AUC von 125 Stunden überschreiten. Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 5\%$ und einer Fallzahl von $n = 19$ wurde ein einseitiger t-Test durchgeführt. Mit diesem Test wurde geprüft, ob sich der Mittelwert der berechneten AUC von der vorgegebenen Grenze von 125 Stunden unterscheidet.

In einem Test auf die Binomialverteilung der Stichprobe wurde die Nullhypothese getestet. Als Nullhypothese wurde für Piperacillin angenommen, dass die erhaltenen Plasmaspiegel nach acht Stunden ≤ 64 mg/l sind. Für Ciprofloxacin entsprach die Hypothese AUC-Werten ≤ 125 Stunden. Mit dem Verfahren von Pearson und Clopper wurde die obere und die untere Grenze der Konfidenzintervalle berechnet. Das ermittelte Konfidenzintervall zeigt an in welchem Bereich mit 95 % Wahrscheinlichkeit der Anteil an Personen mit Unterdosierungen liegt.

Beachtung von ethischen, behördlichen und administrativen Aspekten

Die Studie wurde gemäß den Leitlinien der Klinischen Prüfung nach GCP (126), den geltenden gesetzlichen Bestimmungen sowie dem Prüfplan, dem der Sponsor zugestimmt hat und der durch die unabhängige Ethikkommission genehmigt wurde, durchgeführt. Die Deklaration von Helsinki (129) wurde eingehalten. Jedes überarbeitete Formblatt zur schriftlichen Einwilligungserklärung und jede neue schriftliche Information wurde vor ihrer Verwendung von der unabhängigen Ethikkommission bewertet.

Die Studienteilnehmer oder ihre gesetzlichen Betreuer erklärten freiwillig ihre Bereitschaft an der klinischen Prüfung teilzunehmen, nachdem sie über alle Gesichtspunkte der klinischen Prüfung informiert wurden, die für die Teilnahmeentscheidungen maßgeblich waren.

Die Einwilligung nach dem Aufklärungsgespräch wurde mittels einer schriftlichen, eigenhändig datierten und unterzeichneten Einwilligungserklärung dokumentiert. Jeder Patient erhielt eine Identifikationsnummer, um die Identität der Prüfungsteilnehmer zu schützen. Diese wurde pseudonymisiert eingesetzt, wenn der Prüfer über unerwünschte Ereignisse oder andere prüfungsbezogene Daten berichtete.

Berechnung des Apache II- und des TISS-28-Scores als Marker für den Schweregrad der Erkrankung

Als Marker für den Schweregrad der Erkrankung wurde der Apache II- sowie der TISS-28-Score berechnet (130;131). Der TISS-28-Score (Therapeutic Intervention Scoring System) wurde routinemäßig einmal täglich durch die Mitarbeiter der Intensivstation erhoben und in der elektronischen Patientenakte dokumentiert. In dem Score werden 28 therapeutische, diagnostische und pflegerische Maßnahmen abgefragt, die Aufschluss über den Krankheitsverlauf des Patienten geben. Der Apache-II-Score (Acute Physiology And Chronic Health Evaluation) wurde aus den Einträgen in der elektronischen Patientenakte erhoben. Er beinhaltet neben physiologischen Daten auch Angaben zu Alter und Vorerkrankungen der Patienten. Der Score gibt Auskunft über die Überlebenswahrscheinlichkeit des Patienten. Bei der Berechnung des Scores wurde für den Einsatz extrakorporaler Ersatzverfahren jeweils die höchste Punktzahl vergeben.

Durchführung der Nierenersatztherapie

Die Durchführung der Nierenersatztherapie erfolgte durch die Stationsärzte anhand einer stationseigenen Arbeitsanweisung. Die Nierenersatztherapie wurde mit einem Flüssigkeitsumsatz von 25 ml/kg Körpergewicht durchgeführt. Die Auswahl des Modus der Nierenersatztherapie (CVVHD oder CVVHDF) erfolgte als Entscheidung des Arztes basierend auf dem Krankheitsbild. Die Dialyse wurde mit einem Multifiltrate-System und Polysulfon-Filtern durchgeführt. Die verwendeten Filter hatten eine innere Oberfläche von 1,8 m² mit einem Füllvolumen von 130 ml Blut und Filtrat. Als Doppellumenzugang wurde ein Shaldonkatheter oder ein Demerskatheter verwendet. Als lokale Antikoagulation innerhalb des Dialysesystems wurde bei der CVVHD standardmäßig Natriumcitratlösung verwendet. Durch Calcium wird die Gerinnungsaktivierung des Bluts gehemmt. Um das ionisierte Calcium des Körpers im Normbereich zu halten, wurde dem Blut nach der Passage des Filters Calcium substituiert. Als zusätzliche Antikoagulation konnte Heparin verwendet werden. Bei Patienten mit einer Heparininduzierten Thrombozytopenie Typ II (HIT II) wurde der direkte Thrombininhibitor Argatroban eingesetzt.

Laborparameter

Im Rahmen des stationären Aufenthalts der Patienten wurden täglich die klinischen Laborwerte vom Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin bestimmt. Für die Studie relevante Ergebnisse wurden dem Laborprogramm Lauris entnommen.

3.2.9 Dokumentation der Patientendaten

Die Dokumentation aller relevanten Patientendaten erfolgte mit Copra[®], einer CPOE-Software (Computerized Physician Order Entry System). In dieser elektronischen Patientenakte wurde neben den Vitalparametern, den körperlichen Untersuchungen, der Begleitmedikation und den Laborwerten auch das Nierenersatzverfahren mit den dazugehörigen Parametern dokumentiert. Die Daten waren jederzeit elektronisch abrufbar.

4 Ergebnisse

Die etablierte HPLC-Methode erlaubte eine sichere Bestimmung der untersuchten Antibiotika aus biologischen Matrices und war für die Studie geeignet. Durch die zusätzliche Festphasenextraktion war die Bestimmung der Substanzen aus Plasma aufwendiger. Eine simultane Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin war möglich. Die Analyten wiesen im Plasma eine größere Stabilität auf als in der elektrolytreichen Dialysatlösung.

4.1 Validierung der Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Plasmaproben

Zur Bestimmung der ausgewählten Antibiotika in Plasmaproben wurde eine HPLC-Methode entwickelt. In der Literatur fanden sich keine Methoden zur parallelen Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin. Um eine schnelle Analyse der Patientenproben für das TDM zu erreichen, wurden zwei publizierte Methoden kombiniert, so dass beide Antibiotika mit der gleichen Methode simultan analysiert werden konnten (120;124).

4.1.1 HPLC-Chromatogramme

Exemplarisch dargestellt ist das Chromatogramm einer mittleren Plasma-Probenkonzentration (Standard 3) der Kalibrationsgerade. Abbildung 13 zeigt die beiden Analyten Ciprofloxacin und Piperacillin sowie den internen Standard Penicillin G in einer dreidimensionalen Darstellung des Photodioden-Array-Detektors. Die Arzneistoffe sind deutlich von den Bestandteilen des Plasmas getrennt und weisen längere Retentionszeit als diese auf.

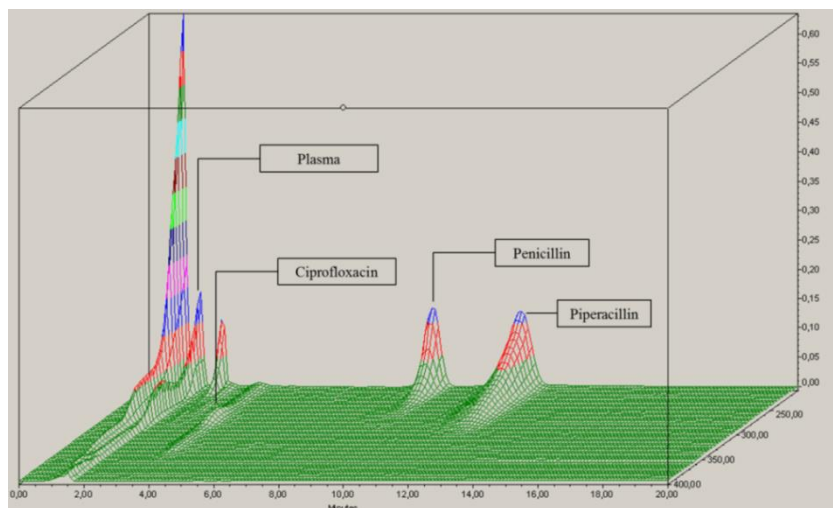


Abbildung 13: 3D Chromatogramm - Std 3; Kalibrationsgerade I.

In Abbildung 14 ist ein beispielhaftes Chromatogramm der beiden Analyten und des internen Standards Penicillin zweidimensional dargestellt. Die Aufnahme des Chromatogramms erfolgte bei 228 nm.

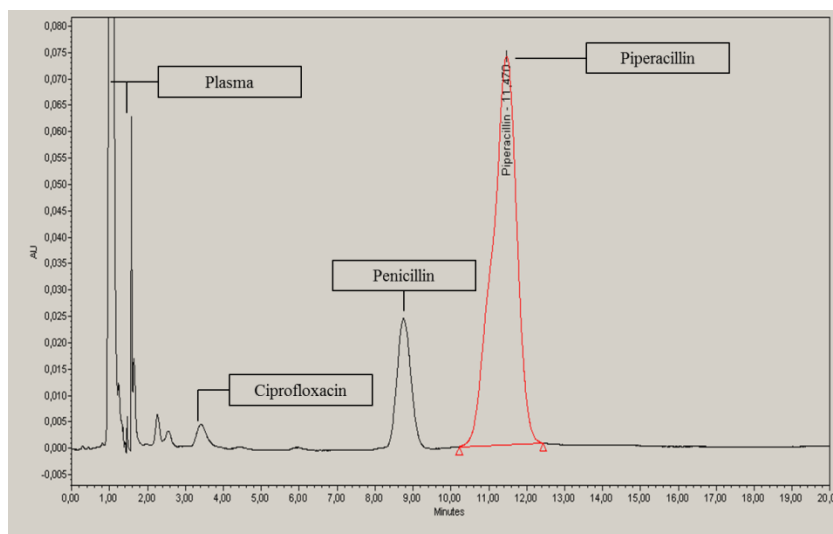


Abbildung 14: 2D Chromatogramm - Std 3; 228 nm; Kalibrationsgerade I.

Beispielhafte Chromatogramme der Bestimmung von Ciprofloxacin sind bei 280 nm (Abbildung 15) und 315 nm (Abbildung 16) dargestellt.

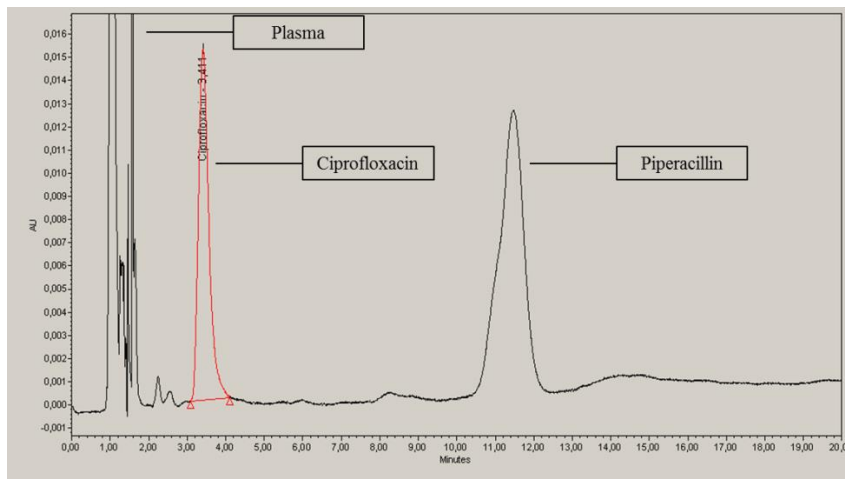


Abbildung 15: 2D Chromatogramm - Std 3; 280 nm; Kalibrationsgerade I.

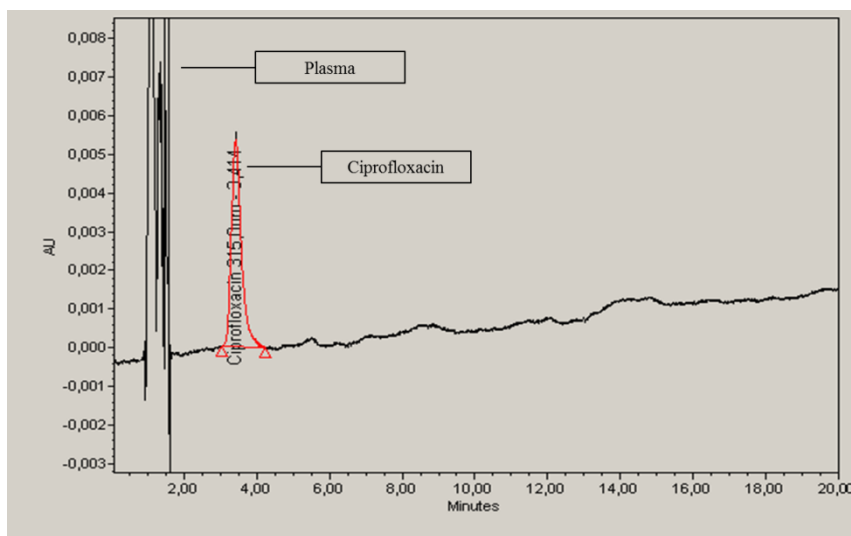


Abbildung 16: 2D Chromatogramm - Std 3; 315 nm; Kalibrationsgerade I.

4.1.2 Linearität, Richtigkeit und Genauigkeit

Die Ergebnisse der Linearitätsbestimmung sind in Tabelle 20 aufgeführt. In den Spalten I bis III sind die jeweiligen Einzelmessungen der Kalibrationsgerade der Analyten dargestellt. Die Geradengleichung konnte mit der Formel $y = ax + b$ beschrieben werden.

Tabelle 20: Linearitätsbestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Plasmaproben anhand der Kalibrationsgeraden I – III.

<i>Formel: $y = ax + b$</i>	I	II	III	Mittelwert
Piperacillin 228 nm				
<i>a</i>	0,0539	0,0614	0,0487	0,0547
<i>b</i>	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
<i>r</i> ²	0,9998	0,9965	0,9981	0,9981
Ciprofloxacin 280 nm				
<i>a</i>	0,2661	0,2779	0,2544	0,2661
<i>b</i>	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
<i>r</i> ²	0,9977	0,9977	0,9987	0,9980
Ciprofloxacin 315 nm				
<i>a</i>	0,0900	0,0983	0,0868	0,0917
<i>b</i>	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
<i>r</i> ²	0,9973	0,9961	0,9991	0,9975

Die Kalibrationsgerade der Gehaltsbestimmung ergab sich aus den in Tabelle 20 aufgeführten Mittelwerten.

Die Linearitätsbestimmung ergab für Piperacillin eine Geradengleichung von $y = 0,055x$. Mit einem Korrelationskoeffizienten von $r^2 = 0,998$ war die erhaltene Ursprungsgerade linear (Abbildung 17).

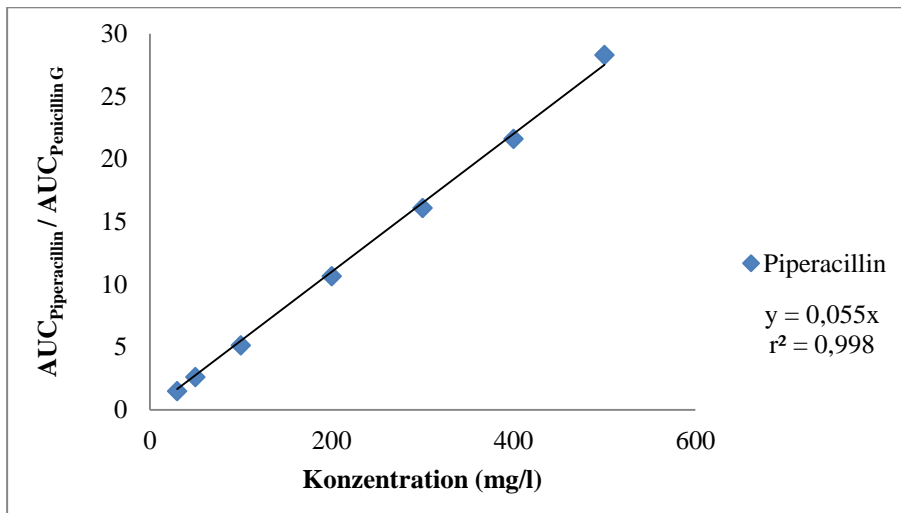


Abbildung 17: Kalibrationsgerade von Piperacillin-Plasmaproben bei 228 nm, dargestellt sind die Mittelwerte der drei Messungen.

Die in Abbildung 18 dargestellte Ursprungsgerade von Ciprofloxacin enthält die Mittelwerte der Messung bei 280 nm. Sie hatte einem Korrelationskoeffizienten von $r^2 = 0,9997$ und konnte mit der Geradengleichung $y = 0,2661x$ beschrieben werden.

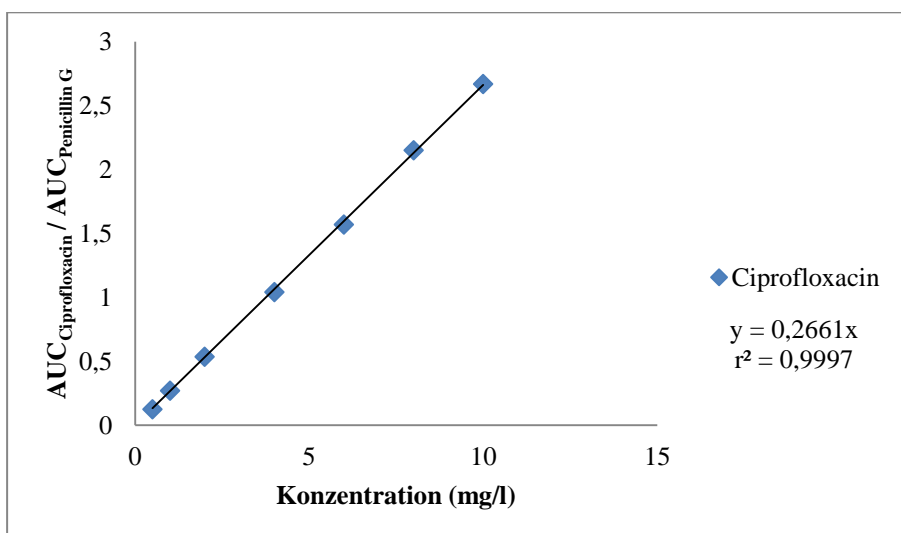


Abbildung 18: Kalibrationsgerade von Ciprofloxacin-Plasmaproben bei 280 nm, dargestellt sind die Mittelwerte der drei Messungen.

Die Mittelwerte der Messung bei 315 nm ergaben für Ciprofloxacin die Geradengleichung $y = 0,0917x$ mit dem Korrelationskoeffizienten $r^2 = 0,9993$ (Abbildung 19).

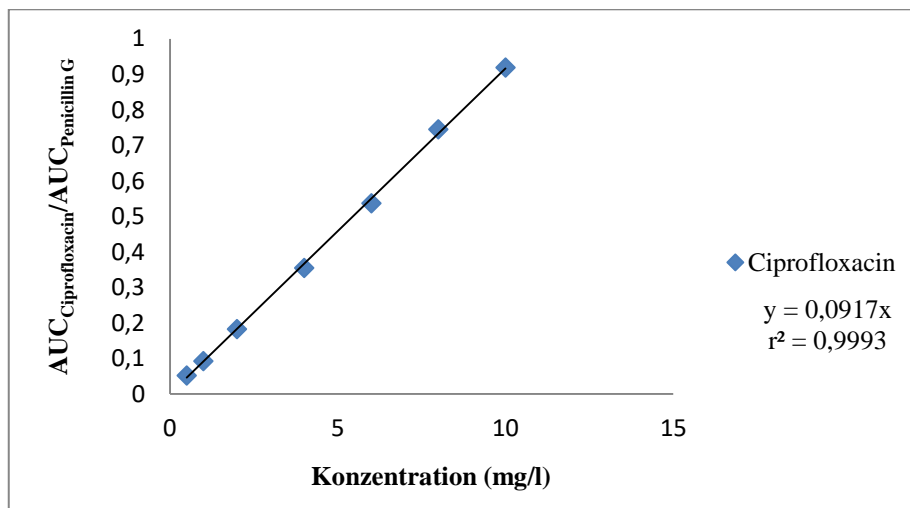


Abbildung 19: Kalibrationsgerade von Ciprofloxacin-Plasmaproben bei 315 nm; dargestellt sind die Mittelwerte der drei Messungen.

Die Konzentrationen der Kalibrations-Standards befanden sich wie in der Guideline on Bioanalytical Method Validation gefordert in einem Bereich von ± 15 % des theoretischen Gehalts der Standards (± 20 % für den Standard der unteren Nachweisgrenze) (125).

Für Piperacillin betrugen die Genauigkeitsabweichungen innerhalb eines und zwischen verschiedenen Analysentagen bei allen Proben < 5 %. Die prozentuale Abweichung der Richtigkeit war bei den Qualitätskontroll-Proben der unteren Nachweisgrenze < 15 % und bei den übrigen Standards < 9 %.

Für die Bestimmung der Ciprofloxacin-Proben war die Abweichung der Genauigkeit von der theoretischen Konzentration bei beiden Wellenlängen < 10 %, bei einer Abweichung in der Richtigkeit von < 4 %. Die Ergebnisse sind in Tabelle 21 zusammengefasst.

Tabelle 21: Präzision und Genauigkeit der Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Plasmaproben.

		Theoretischer Gehalt	Berechneter Gehalt		Genauigkeit ^a	Richtigkeit ^a
		[mg/l]	[mg/l]	SD	RSD [%]	[%]
Piperacillin	LOQ ^c	30	26,11	1,08	4,14	-12,96
228 nm		50	48,85	1,44	2,94	-2,31
Inter Day (n ^b = 15)		200	188,31	4,33	2,30	-5,84
		400	376,29	13,07	3,47	-5,93
Piperacillin	LOQ ^c	30	26,18	1,26	4,80	-12,74
228 nm		50	48,61	1,60	3,29	-2,77
Intra Day (n ^b = 10)		200	187,51	4,49	2,39	-6,24
		400	367,05	9,64	2,63	-8,24
Ciprofloxacin	LOQ ^c	0,5	0,50	0,04	8,99	-0,60
280 nm		1	1,03	0,09	8,49	2,95
Inter Day (n ^b = 15)		4	3,93	0,18	4,47	-1,70
		8	7,86	0,35	4,40	-1,75
Ciprofloxacin	LOQ ^c	0,5	0,50	0,04	8,02	-0,44
280 nm		1	1,04	0,09	8,82	3,91
Intra Day (n ^b = 10)		4	3,98	0,19	4,74	-0,59
		8	7,94	0,38	4,81	-0,80
Ciprofloxacin	LOQ ^c	0,5	0,50	0,03	5,05	-0,96
315 nm		1	1,03	0,05	5,10	3,04
Inter Day (n ^b = 15)		4	4,03	0,18	4,41	0,69
		8	7,97	0,43	5,37	-0,43
Ciprofloxacin	LOQ ^c	0,5	0,50	0,02	4,95	-0,37
315 nm		1	1,04	0,06	5,72	3,88
Intra Day (n ^b = 10)		4	4,08	0,17	4,05	1,87
		8	8,11	0,41	5,11	1,35

^a Angegeben sind die prozentualen Abweichungen der Genauigkeits- und Richtigkeits- Bestimmungen^b Anzahl der gemessenen Standards^c Limit of quantification = untere Nachweisgrenze

4.1.3 Effekte der Plasmaverdünnung auf die Bestimmung von Richtigkeit und Genauigkeit der Methode

Eine Verdünnung der Proben mit Wasser war möglich. Sowohl die Werte für die Richtigkeit als auch für die Genauigkeit lagen in dem geforderten Bereich von $\pm 15\%$ (Tabelle 22).

Tabelle 22: Effekte der Plasmaverdünnung auf die Bestimmung von Richtigkeit und Genauigkeit der Plasmaproben.

	Theoretischer Gehalt	Berechneter Gehalt		Genauigkeit ^a	Richtigkeit ^a
	[mg/l]	[mg/l]	SD	RSD [%]	[%]
Piperacillin	50	45,32	2,69	5,94	-9,35
228 nm	400	353,00	4,50	1,28	-11,75
Ciprofloxacin	1	0,94	0,13	13,37	-6,37
280 nm	8	7,20	0,22	2,99	-9,84

^a Angegeben sind die prozentualen Abweichungen der Genauigkeits- und Richtigkeitsbestimmungen

4.1.4 Selektivität und Nachweisgrenze

Interferenzen mit anderen Arzneimitteln traten in der Methode von Arzuaga et al. nicht auf (124). Aufgrund der Vielzahl der auf der Intensivstation verwendeten Arzneimittel wurden keine Versuche zu möglichen Interferenzen mit der Begleitmedikation durchgeführt. Um auf mögliche Interferenzen bei der Bestimmung von Ciprofloxacin reagieren zu können, wurden zwei Wellenlängen validiert (280 nm, 315 nm).

Nach hohen Analyt-Konzentrationen wurden, um Verschleppungen der Analyten oder des internen Standards während der Validierung registrieren zu können, Blank-Proben in den HPLC-Lauf integriert. Während der Validierung wurden keine Verschleppungen registriert.

Die Nachweisgrenze der Analyten entsprach dem niedrigsten Standard der Kalibrationsgerade (LOQ). Weiterführende Versuche zur Bestimmung niedrigerer Konzentrationen wurden nicht unternommen, da diese für die Studie nicht relevant waren. Die Grenzwerte wurden so gewählt, dass der klinisch relevante Konzentrationsbereich der Antibiotika quantifizierbar war. Für Piperacillin entsprach dieser dem vierfachen Wert der minimalen Hemmkonzentration (MHK) relevanter Erreger (132). Die MHK von Pseudomonaden beträgt für Piperacillin 16 mg/l (132). Die sich daraus ergebende Konzentrationsgrenze beträgt > 64 mg/l. Die Nachweisgrenze wurde mit 30 mg/l auf etwa die Hälfte dieses Grenzwertes festgelegt.

Mit 30 mg/l war der Peak mindestens fünfmal höher als das Signal der Basislinie. Der untere Grenzwert entsprach etwa 10 % der zu erwartenden Maximalkonzentration von 500 mg/l (133).

Die MHK von Ciprofloxacin für Pseudomonaden beträgt 0,5 mg/l (132;134). Die angestrebte Spitzenkonzentration entspricht ungefähr dem zehn- bis zwanzigfachen Wert der unteren Nachweisgrenze von 0,5 mg/l.

In einer Konzentration von 0,5 mg/l war der Peak mindestens fünfmal höher als das Signal der Basislinie. Der untere Grenzwert entsprach etwa 5 % der zu erwartenden Maximalkonzentration von 10 mg/l (133;134).

4.1.5 Stabilität

Die Ergebnisse der Piperacillin-Gehaltsbestimmungen sind in Tabelle 23 dargestellt. Nach 60 Tagen betrug der Gehalt ≥ 90 % des Ausgangswertes. Die Qualitätskontrollproben konnten für zwei Monate verwendet werden. Für den untersuchten Zeitraum blieb die Abweichung der Genauigkeit ≤ 10 %.

Tabelle 23: Stabilitätsdaten von Piperacillin-Plasmaproben mit internem Standard über einen Zeitraum von zwei Monaten bei einer Temperatur von -20 °C.

	Theoretischer Gehalt [mg/l]	Berechneter Gehalt [mg/l]	SD	Genauigkeit ^a RSD [%]	Richtigkeit ^b [%]
Tag 0					
Piperacillin	50	50,72	1,98	3,89	100,00
228 nm	400	401,40	6,45	1,61	100,00
Tag 30					
Piperacillin	50,72 ^c	48,37	1,06	2,18	95,35
228 nm	401,4 ^c	403,06	2,97	0,74	100,41
Tag 60					
Piperacillin	50,72 ^c	52,04	4,90	9,41	102,59
228 nm	401,4 ^c	367,90	9,20	2,50	91,66

^a Angegeben ist die prozentuale Abweichung der Genauigkeitsbestimmungen

^b Der Wert der Richtigkeit wird für Tag 0 mit 100 % angegeben

^c Der Gehalt bezieht sich auf den Ausgangswert von Tag 0

Die Ergebnisse der Stabilitätsuntersuchung der Ciprofloxacin-Plasmaproben über einen Zeitraum von zwei Monaten sind in Tabelle 24 zusammengefasst. Die Genauigkeitsabweichung betrug nach zwei Monaten 9,9 %. Der ermittelte Gehalt betrug nach zwei Monaten noch ≥ 85 % des Ausgangswertes. Die Ciprofloxacin-Proben konnten

über zwei Monate gelagert werden. Der Gehalt des Plasmastandards mit der Konzentration von 8 mg/l betrug nach zwei Monaten 109,5 % der Ausgangskonzentration.

Tabelle 24: Stabilitätsdaten von Ciprofloxacin-Plasmaproben mit internem Standard über einen Zeitraum von zwei Monaten bei einer Temperatur von -20 °C.

	Theoretischer Gehalt [mg/l]	Berechneter Gehalt [mg/l]	SD	Genauigkeit ^a RSD [%]	Richtigkeit ^b [%]
Tag 0					
Ciprofloxacin	1	0,92	0,03	3,33	100,00
280 nm	8	8,19	0,24	2,97	100,00
Tag 30					
Ciprofloxacin	0,92 ^c	0,89	0,04	4,10	96,40
280 nm	8,19 ^c	7,63	0,25	3,32	93,09
Tag 60					
Ciprofloxacin	0,92 ^c	1,01	0,10	9,87	109,50
280 nm	8,19 ^c	7,04	0,14	1,99	85,97

^a Angegeben ist die prozentuale Abweichung der Genauigkeitsbestimmungen

^b Der Wert der Richtigkeit wird für Tag 0 mit 100 % angegeben

^c Der Gehalt bezieht sich auf den Ausgangswert von Tag 0

Während der Analyse der Patientenproben lagerten diese bei 4 °C im Autosampler der HPLC. Um die Einflüsse bei dieser Temperatur auf die Plasmaproben zu untersuchen, wurden die Standards für 24 Stunden in der HPLC aufbewahrt und anschließend analysiert. Die Daten der Piperacillin-Auswertung sind in Tabelle 25 dargestellt. Der Gehalt der Proben betrug nach 24 Stunden ≥ 95 % des Ausgangswertes, bei einer Streuung der Werte von < 5 %. Die Plasma-Proben konnten für einen Tag im Autosampler der HPLC gelagert werden, ohne dass Fehler resultierten.

Tabelle 25: Stabilitätsdaten für Piperacillin-Plasmaproben bei 4 °C im Autosampler der HPLC.

	Theoretischer Gehalt	Berechneter Gehalt		Genauigkeit ^a	Richtigkeit ^b
	[mg/l]	[mg/l]	SD	RSD [%]	[%]
0 Stunden					
Piperacillin	50	48,37	1,06	2,18	100,00
228 nm	400	403,06	2,97	0,74	100,00
24 Stunden					
Piperacillin	48,37 ^c	46,78	2,05	4,38	96,72
228 nm	403,06 ^c	395,39	15,52	3,92	98,10

^a Angegeben ist die prozentuale Abweichung der Genauigkeitsbestimmungen^b Der Wert der Richtigkeit wird für Tag 0 mit 100 % angegeben^c Der Gehalt bezieht sich auf den Ausgangswert von Stunde 0

Die Auswertung der Ciprofloxacin-Daten ist in Tabelle 26 dargestellt. Die Streuung der Werte betrug maximal 4,2 %. Der Gehalt betrug nach 24 Stunden ≥ 95 %. Die Proben konnten für einen Tag im Autosampler der HPLC gelagert werden, ohne dass Fehler resultierten.

Tabelle 26: Stabilitätsdaten für Ciprofloxacin-Plasmaproben bei 4 °C im Autosampler der HPLC.

	Theoretischer Gehalt	Berechneter Gehalt		Genauigkeit ^a	Richtigkeit ^b
	[mg/l]	[mg/l]	SD	RSD [%]	[%]
0 Stunden					
Ciprofloxacin	1	0,89	0,04	4,10	100,00
280 nm	8	7,63	0,25	3,32	100,00
24 Stunden					
Ciprofloxacin	0,89 ^c	0,85	0,02	2,82	95,39
280 nm	7,63 ^c	7,66	0,32	4,13	100,47

^a Angegeben ist die prozentuale Abweichung der Genauigkeitsbestimmungen^b Der Wert der Richtigkeit wird für Tag 0 mit 100 % angegeben^c Der Gehalt bezieht sich auf den Ausgangswert von Stunde 0

Der Einfluss des Einfrierens und des sich anschließenden Wiederauftauens wurde geprüft. Jeweils zwei Qualitätskontroll-Standards (QK) wurden dreifach analysiert. In jedem der zwei Zyklen wurden die Proben für mindestens zwölf Stunden tiefgekühlt. Die Ergebnisse der Bestimmung von Piperacillin sind in Tabelle 27 dargestellt. Der Gehalt variierte zwischen 100 % und 89 % bei einem maximalen Variationskoeffizient (RSD) von 11,4 %.

Tabelle 27: Stabilitätsdaten für Piperacillin-Plasmaproben nach mehrmaligem Einfrieren und anschließenden Auftauen.

	Theoretischer Gehalt	Berechneter Gehalt		Genauigkeit ^a	Richtigkeit ^b
	[mg/l]	[mg/l]	SD	RSD [%]	[%]
Zyklus 0					
Piperacillin	50	48,37	1,06	2,18	100,00
228 nm	400	403,06	2,97	0,74	100,00
Zyklus 1					
Piperacillin	48,37 ^c	46,33	4,44	9,60	95,78
228 nm	403,06 ^c	362,13	8,79	2,43	89,85
Zyklus 2					
Piperacillin	48,37 ^c	46,39	5,25	11,32	95,91
228 nm	403,06 ^c	366,32	6,32	1,73	90,88

^a Angegeben ist die prozentuale Abweichung der Genauigkeitsbestimmungen

^b Der Wert der Richtigkeit wird für Tag 0 mit 100 % angegeben

^c Die ermittelten Werte beziehen sich auf den Gehalt von Zyklus 0

Die Ergebnisse der Bestimmung von Ciprofloxacin sind in Tabelle 28 dargestellt. Die Ciprofloxacin-Proben konnten maximal einmal eingefroren und wieder aufgetaut werden. Nach zwei Einfrierzyklen betrug der Gehalt ≤ 80 % bei einem Variationskoeffizienten (RSD) von 10,1 %.

Tabelle 28: Stabilitätsdaten für Ciprofloxacin-Plasmaproben nach mehrmaligem Einfrieren und anschließenden Auftauen.

	Theoretischer Gehalt	Berechneter Gehalt		Genauigkeit ^a	Richtigkeit ^b
	[mg/l]	[mg/l]	SD	RSD [%]	[%]
Zyklus 0					
Ciprofloxacin	1	0,89	0,04	4,10	100,00
280 nm	8	7,63	0,25	3,32	100,00
Zyklus 1					
Ciprofloxacin	0,89 ^c	0,72	0,07	10,09	85,28
280 nm	7,63 ^c	6,90	0,33	4,72	90,55
Zyklus 2					
Ciprofloxacin	0,89 ^c	0,70	0,06	8,66	79,16
280 nm	7,63 ^c	6,70	0,46	6,84	87,82

^a Angegeben ist die prozentuale Abweichung der Genauigkeitsbestimmung

^b Der Wert der Richtigkeit wird für Tag 0 mit 100 % angegeben

^c Die ermittelten Werte beziehen sich auf den Gehalt von Zyklus 0

4.2 Validierung der Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Dialysatproben

Die Methodenvalidierung der Dialysatproben erfolgte analog der Methodenvalidierung der Plasmaproben.

4.2.1 HPLC-Chromatogramme

Wie bei den Ergebnissen der Plasmavalidierung ist das Chromatogramm einer mittleren Dialysat-Probenkonzentration (Standard 3) der Kalibrationsgerade dargestellt. Abbildung 20 zeigt die beiden Analyten Ciprofloxacin und Piperacillin sowie den internen Standard Penicillin G in einer dreidimensionalen Darstellung des Photodioden-Array-Detektors. Die Arzneistoffe sind deutlich von den Bestandteilen des Dialysats getrennt und weisen längere Retentionszeiten als diese auf.

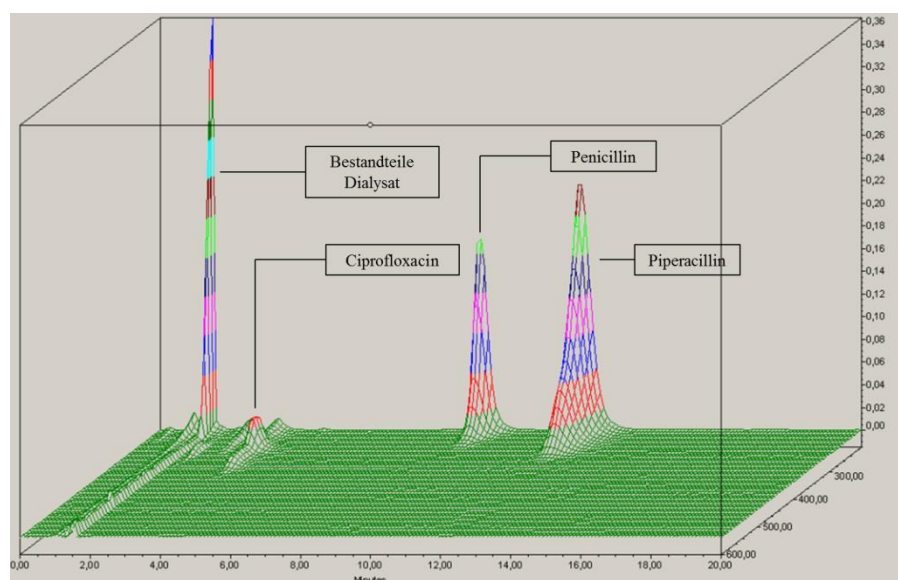


Abbildung 20: 3D Chromatogramm - Std 3, Kalibrationsgerade I.

In Abbildung 21 ist ein beispielhaftes Chromatogramm der beiden Analyten und des internen Standards Penicillin zweidimensional dargestellt. Die Aufnahme des Chromatogramms erfolgte bei 228 nm.

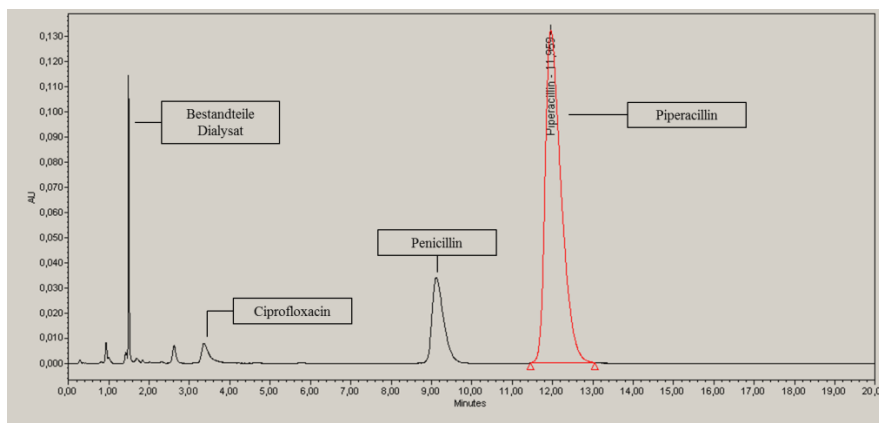


Abbildung 21: 2D Chromatogramm - Std 3; 228 nm; Kalibrationsgerade I.

In Abbildung 22 ist ein beispielhaftes Chromatogramm der beiden Analyten zweidimensional dargestellt. Die Aufnahme des Chromatogramms erfolgte bei 280 nm.

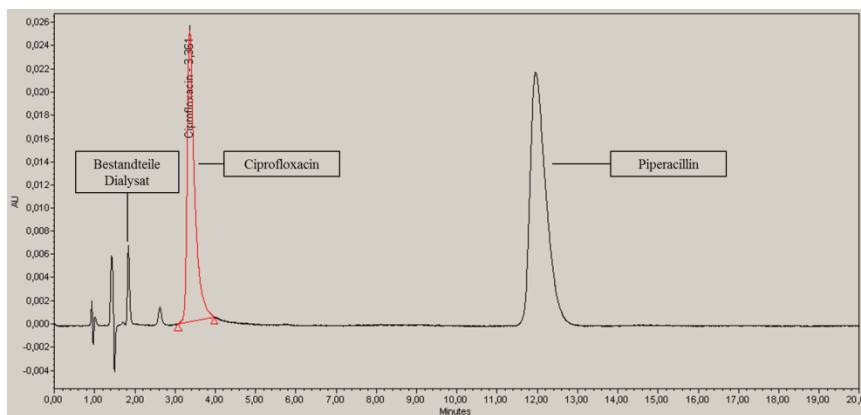


Abbildung 22: 2D Chromatogramm - Std 3; 280 nm; Kalibrationsgerade I.

4.2.2 Linearität, Richtigkeit und Genauigkeit

Die Ergebnisse der Linearitätsbestimmung sind in Tabelle 29 aufgeführt. In den Spalten I bis III werden die jeweiligen Einzelmessungen der Kalibrationsgerade der Analyten dargestellt. Die Geradengleichung ließ sich mit der Formel $y = ax + b$ beschreiben.

Tabelle 29: Bestimmung der Linearität von Piperacillin und Ciprofloxacin in Dialysatproben anhand der Kalibrationsgeraden I - III.

Formel: $y = ax + b$	I	II	III	Mittelwert
Piperacillin				
a	0,053	0,0589	0,0519	0,0550
b	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
r^2	0,9999	0,9992	0,9998	0,9998
Ciprofloxacin				
a	0,2575	0,275	0,2553	0,2560
b	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
r^2	0,9994	0,9968	0,9992	0,9973

Für Piperacillin ergab sich eine Ursprungsgerade mit der Geradengleichung $y = 0,055x$, für Ciprofloxacin betrug diese $y = 0,2560x$. Die gemessenen Konzentrationen der Standards lagen in einem Bereich von $\pm 15\%$ der theoretischen Konzentration der Standards ($\pm 20\%$ für den Standard der unteren Nachweisgrenze).

Die Kalibrationsgerade ergab sich aus den in Tabelle 29 aufgeführten Mittelwerten. Sie war gemäß der linearen Regressionsanalyse mit einem Korrelationskoeffizienten von $r^2 = 0,999$ für Piperacillin (Abbildung 23) und $r^2 = 0,999$ für Ciprofloxacin (Abbildung 24), linear.

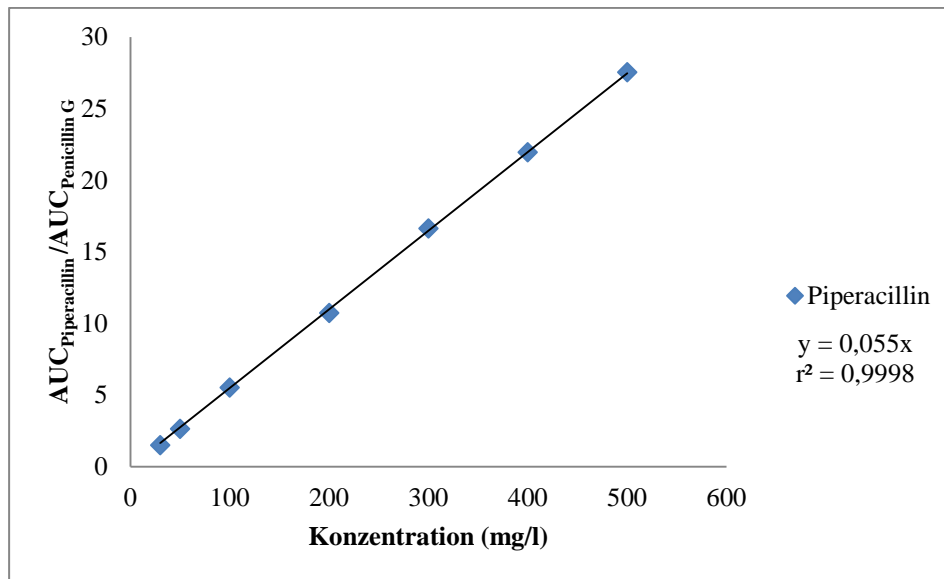


Abbildung 23: Kalibrationsgerade für die Bestimmung von Piperacillin-Dialysatproben.

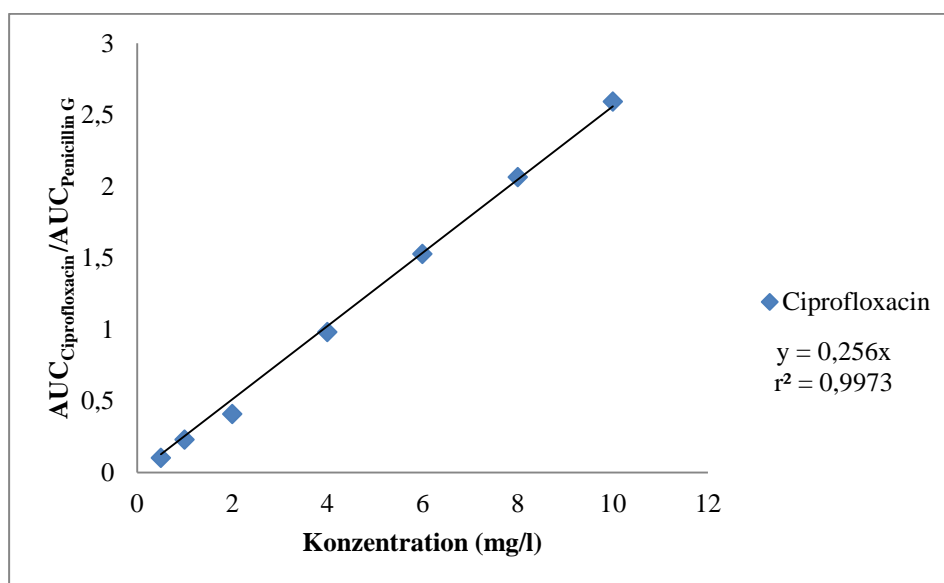


Abbildung 24: Kalibrationsgerade für die Bestimmung von Ciprofloxacin-Dialysatproben.

Für Piperacillin waren die Genauigkeitsabweichungen innerhalb eines und zwischen verschiedenen Analysentagen für alle Proben < 7 %. Die prozentuale Abweichung der Richtigkeit war für alle Standards der Qualitätskontroll-Proben < 6 %.

Für die Bestimmung der Ciprofloxacin-Proben betrug die Abweichung der Genauigkeit von der theoretischen Konzentration < 5 % bei einer Abweichung der Richtigkeit von < 10 %. Die Ergebnisse sind in Tabelle 30 aufgeführt.

Tabelle 30: Präzision und Genauigkeit der Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Dialysatproben.

		Theroretischer Gehalt	Berechneter Gehalt		Genauigkeit ^a	Richtigkeit ^a
		[mg/l]	[mg/l]	SD	RSD [%]	[%]
Piperacillin 228 nm	LOQ ^c	30	30,47	1,22	4,00	1,57
		50	50,68	2,41	4,75	1,36
		200	199,21	12,45	6,25	-0,40
		400	401,29	23,10	5,76	0,32
Piperacillin 228 nm	LOQ ^c	30	29,68	0,15	0,50	-1,07
		50	48,93	0,65	1,33	-2,13
		200	189,88	2,51	1,32	-5,06
		400	384,86	7,94	2,06	-3,78
Ciprofloxacin 280 nm	LOQ ^c	0,5	0,45	0,02	4,25	-9,27
		1	0,92	0,02	2,52	-8,18
		4	4,04	0,13	3,31	0,99
		8	8,20	0,32	3,86	2,47
Ciprofloxacin 280 nm	LOQ ^c	0,5	0,46	0,02	3,39	-7,25
		1	0,93	0,02	2,00	-7,40
		4	4,01	0,14	3,43	0,33
		8	8,03	0,21	2,59	0,43

^a Angegeben sind die prozentualen Abweichungen der Genauigkeits- und Richtigkeits- Bestimmungen

^b Anzahl der gemessenen Standards

^c Limit of quantification = untere Nachweisgrenze

4.2.3 Selektivität und Nachweisgrenze

Während der Validierung wurden keine Verschleppungen registriert. Die Nachweisgrenze (LOQ) der Analyten entsprach dem niedrigsten Standard der Kalibrationsgerade. Die Grenzwerte wurden so gewählt, dass der klinisch relevante Konzentrationsbereich quantifizierbar war. Für Piperacillin entsprach dieser dem vierfachen Wert der minimalen Hemmkonzentration (MHK) relevanter Erreger (132). Die MHK von Pseudomonaden beträgt für Piperacillin 16 mg/l (132). Somit ergab sich ein Konzentrationsbereich > 64 mg/l. Die Nachweisgrenze wurde mit 30 mg/l auf etwa die Hälfte dieses Grenzwertes festgelegt.

Mit 30 mg/l war der Peak mindestens fünfmal höher als das Signal der Basislinie. Der untere Grenzwert entsprach etwa 10 % der zu erwartenden Maximalkonzentration von 500 mg/l (133).

Die MHK von Ciprofloxacin für Pseudomonaden beträgt 0,5 mg/l (132;134). Die angestrebte Spitzenkonzentration entsprach dem zehn- bis zwanzigfachen Wert der unteren Nachweisgrenze von 0,5 mg/l.

Mit 0,5 mg/l war der Peak mindestens fünfmal höher als das Signal der Basislinie. Der untere Grenzwert entsprach etwa 5 % der zu erwartenden Maximalkonzentration von 10 mg/l (133;134).

4.2.4 Stabilität

Die Ergebnisse der Piperacillin-Gehaltsbestimmungen sind in Tabelle 31 dargestellt. Nach 60 Tagen betrug der Gehalt 99 % des Ausgangswertes. Die Qualitätskontrollproben konnten über zwei Monate gelagert werden ohne dass Fehler resultierten. Für den untersuchten Zeitraum blieb die Abweichung der Genauigkeit $< 1 \%$.

Tabelle 31: Stabilitätsdaten von Piperacillin-Dialysatproben mit internem Standard über einen Zeitraum von zwei Monaten bei einer Temperatur von $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

	Theoretischer Gehalt [mg/l]	Berechneter Gehalt [mg/l]	SD	Genauigkeit ^a RSD [%]	Richtigkeit ^b [%]
Tag 0					
Piperacillin	50	46,62	0,14	0,31	100,00
228 nm	400	371,40	1,36	0,37	100,00
Tag 30					
Piperacillin	46,62 ^c	46,56	0,21	0,45	99,88
228 nm	371,40 ^c	370,51	1,50	0,41	99,76
Tag 60					
Piperacillin	46,62 ^c	46,53	0,45	0,97	99,82
228 nm	371,40 ^c	375,00	1,49	0,40	100,97

^a Angegeben ist die prozentuale Abweichung der Genauigkeitsbestimmungen

^b Der Wert der Richtigkeit der Ausgangsprobe entspricht 100 %

^c Der Gehalt bezieht sich auf den Ausgangswert von Tag 0

Die Ergebnisse der Ciprofloxacin-Gehaltsbestimmungen sind in Tabelle 32 aufgeführt. Nach 60 Tagen blieb der Gehalt für den Standard mit der Konzentration $1\text{ mg/l} \geq 90 \%$ des Ausgangswertes. Der Gehalt des Standards mit der Konzentration 8 mg/ml betrug bereits nach einem Monat $\leq 70 \%$. Die Qualitätskontrollproben mussten frisch zubereitet werden. Die Abweichung in der Genauigkeit blieb für den untersuchten Zeitraum $\leq 9 \%$.

Tabelle 32: Stabilitätsdaten von Ciprofloxacin-Dialysatproben mit internem Standard über einen Zeitraum von zwei Monaten bei einer Temperatur von -20 °C.

	Theoretischer Gehalt	Berechneter Gehalt		Genauigkeit ^a	Richtigkeit ^b
	[mg/l]	[mg/l]	SD	RSD [%]	[%]
Tag 0					
Ciprofloxacin	1	0,94	0,02	1,98	100,00
280 nm	8	8,11	0,11	1,34	100,00
Tag 30					
Ciprofloxacin	0,94 ^c	0,86	0,03	3,05	91,28
280 nm	8,11 ^c	5,65	0,43	7,54	69,76
Tag 60					
Ciprofloxacin	0,94 ^c	0,86	0,03	3,74	90,97
280 nm	8,11 ^c	5,37	0,44	8,12	66,31

^a Angegeben ist die prozentuale Abweichung der Genauigkeitsbestimmungen

^b Der Wert der Richtigkeit der Ausgangsprobe entspricht 100 %

^c Der Gehalt bezieht sich auf den Ausgangswert von Tag 0

Die Stabilität der Proben wurde im Autosampler bei 4 °C bestimmt. Die Auswertung der Daten von Piperacillin ist in Tabelle 33 dargestellt. Der Gehalt der Proben betrug nach 24 Stunden ≥ 99 % des Ausgangswertes bei einer Streuung der Werte von ≤ 1 %. Die Plasma-Proben konnten für einen Tag im Autosampler der HPLC gelagert werden, ohne dass Fehler resultierten.

Tabelle 33: Stabilitätsdaten für Piperacillin-Dialysatproben bei 4 °C im Autosampler der HPLC.

	Theoretischer Gehalt	Berechneter Gehalt		Genauigkeit ^a	Richtigkeit ^b
	[mg/l]	[mg/l]	SD	RSD [%]	[%]
0 Stunden					
Piperacillin	50,00	46,62	0,14	0,31	100,00
228 nm	400,00	371,40	1,36	0,37	100,00
24 Stunden					
Piperacillin	46,62 ^c	46,16	0,30	0,64	99,02
228 nm	371,40 ^c	367,94	1,41	0,38	99,07

^a Angegeben ist die prozentuale Abweichung der Genauigkeitsbestimmungen

^b Der Wert der Richtigkeit der Ausgangsprobe entspricht 100 %

^c Der Gehalt bezieht sich auf den Ausgangswert von Stunde 0

Die Auswertung der Daten von Ciprofloxacin ist in Tabelle 34 dargestellt. Der Gehalt der Proben betrug nach 24 Stunden ≥ 99 % des Ausgangswertes bei einer Streuung der Werte von ≤ 3 %. Die Plasma-Proben konnten für einen Tag im Autosampler der HPLC gelagert werden, ohne dass Fehler resultierten.

Tabelle 34: Stabilitätsdaten für Ciprofloxacin-Dialysatproben bei 4 °C im Autosampler der HPLC.

	Theoretischer Gehalt	Berechneter Gehalt		Genauigkeit ^a	Richtigkeit ^b
	[mg/l]	[mg/l]	SD	RSD [%]	[%]
0 Stunden					
Ciprofloxacin	0,94	0,94	0,02	1,98	100,00
280 nm	8,11	8,11	0,11	1,34	100,00
24 Stunden					
Ciprofloxacin	0,94 ^c	0,95	0,02	2,33	100,66
280 nm	8,11 ^c	8,05	0,10	1,24	99,36

^a Angegeben ist die prozentuale Abweichung der Genauigkeitsbestimmungen

^b Der Wert der Richtigkeit der Ausgangsprobe entspricht 100 %

^c Der Gehalt bezieht sich auf den Ausgangswert von Stunde 0

Der Einfluss des Einfrierens und des Auftauens wurde geprüft. Die Ergebnisse für Piperacillin sind in Tabelle 35 dargestellt. Der Gehalt betrug nach der Messung ≥ 97 % bei einer maximalen Abweichung der Genauigkeit von ≤ 1 %.

Tabelle 35: Stabilitätsdaten für Piperacillin-Dialysatproben nach mehrmaligem Einfrieren und anschließenden Auftauen.

	Theoretischer Gehalt	Berechneter Gehalt		Genauigkeit ^a	Richtigkeit ^b
	[mg/l]	[mg/l]	SD	RSD [%]	[%]
Zyklus 0					
Piperacillin	50	46,62	0,14	0,31	100,00
228 nm	400	371,40	1,36	0,37	100,00
Zyklus 1					
Piperacillin	46,62 ^c	46,70	0,33	0,70	100,19
228 nm	371,40 ^c	367,34	1,09	0,30	98,91
Zyklus 2					
Piperacillin	46,62 ^c	46,59	0,19	0,41	99,95
228 nm	371,40 ^c	363,74	3,28	0,90	97,94

^a Angegeben ist die prozentuale Abweichung der Genauigkeitsbestimmungen

^b Der Wert der Richtigkeit der Ausgangsprobe entspricht 100 %

^c Die ermittelten Werte beziehen sich auf den Gehalt von Zyklus 0

Die Ergebnisse für Ciprofloxacin sind in Tabelle 36 dargestellt. Der Gehalt lag bei ≥ 95 % während des ersten und ≥ 86 % während des zweiten Zyklus. Die maximale Abweichung der Genauigkeit betrug ≤ 4 %.

Tabelle 36: Stabilitätsdaten für Ciprofloxacin-Dialysatproben nach mehrmaligem Einfrieren und anschließenden Auftauen.

	Theoretischer Gehalt	Berechneter Gehalt		Genauigkeit ^a	Richtigkeit ^b
	[mg/l]	[mg/l]	SD	RSD [%]	[%]
Zyklus 0					
Ciprofloxacin	1	0,94	0,02	1,98	100,00
280 nm	8	8,11	0,11	1,34	100,00
Zyklus 1					
Ciprofloxacin	0,94 ^c	0,97	0,03	2,76	103,33
280 nm	8,11 ^c	7,72	0,07	0,94	95,30
Zyklus 2					
Ciprofloxacin	0,94 ^c	0,94	0,03	2,91	99,78
280 nm	8,11 ^c	6,99	0,21	3,05	86,22

^a Angegeben ist die prozentuale Abweichung der Genauigkeitsbestimmungen

^b Der Wert der Richtigkeit der Ausgangsprobe entspricht 100 %

^c Die ermittelten Werte beziehen sich auf den Gehalt von Zyklus 0

4.3 Pharmakokinetik von Piperacillin und Ciprofloxacin bei Intensivpatienten mit kontinuierlichen Hämodialyseverfahren

4.3.1 Patientenkollektiv

In einen Zeitraum von zwölf Monaten wurden vierundzwanzig Patienten in die UMM-Studie eingeschlossen von denen siebzehn beide untersuchten Antibiotika in Kombination erhielten. Patientenindividuelle Angaben zu Alter, Größe und Gewicht sowie Diagnosen und Scores, die den Krankheitsgrad des Patienten abschätzen, sind in Tabelle 37 zusammengefasst.

Tabelle 37: Demografische Daten des Patientenkollektivs.

Patient [Nr]	Alter [Jahre]	Größe [cm]	Gewicht [kg]	Geschlecht ^a [m/w]	Diagnose	Apache Score ^b	Tiss 28 Score ^c	Klinisches Outcome
1	72	185	90	m	Schwere Sepsis, ARDS ^d	45	45	verstorben
2	75	163	75	m	SIRS ^e	29	38	verlegt
3	75	170	75	m	Pneumonie	42	43	verlegt
4	77	170	95	m	Hämorrhagischer Schock	24	26	verlegt
5	78	172	120	m	Hämorrhagischer Schock	32	41	verlegt
6	53	172	105	m	Pneumonie, Sepsis	27	32	verlegt
7	70	178	50	m	Septischer Schock, Pneumonie	21	41	verstorben
8	56	157	50	w	Sepsis	24	37	verstorben
9	53	180	140	m	SIRS, Leberzirrhose	23	39	verstorben
10	58	175	69	m	Sepsis, Lebertransplantatdysfunktion	16	36	verlegt
11	60	160	45	w	Sepsis	30	39	verlegt
12	70	178	95	m	Septischer Schock	29	59	verlegt
13	48	190	104	m	Leberversagen	28	39	verlegt
14	60	179	70	w	Septischer Schock	19	35	verlegt

Patient [Nr]	Alter [Jahre]	Größe [cm]	Gewicht [kg]	Geschlecht ^a [m/w]	Diagnose	Apache Score ^b	Tiss 28 Score ^c	Klinisches Outcome
15	61	174	105	m	Sepsis	21	35	verlegt
16	75	157	64	w	Septischer Schock	29	42	verlegt
17	28	172	80	m	Sepsis, Leberzirrhose	22	33	verlegt
18	68	160	80	w	Schwere Sepsis, ARDS	28	31	verstorben
19	54	170	120	w	Septischer Schock	42	45	verstorben
20	76	180	90	m	Septischer Schock	30	35	verlegt
21	50	185	150	m	Fournier-Gangrän	26	36	verstorben
22	65	175	100	m	SIRS, TRALI ^f	34	50	verlegt
23	69	172	106	m	ARDS	39	32	verstorben
24	73	156	59	w	Hämorrhagischer Schock, Leberversagen	33	40	verstorben
Mittelwert	64	172	89			29	39	
SD	12	9	27			7,5	6,8	

^a m/w = männlich/weiblich

^b Apache = Acute Physiology And Chronic Health Evaluation (am Tag der Probenentnahme)

^c TISS 28 = Therapeutic Intervention Scoring System (am Tag der Probenentnahme)

^d ARDS = Acute Respiratory Distress Syndrome

^e SIRS = Systemic Inflammatory Response Syndrome

^f TRALI = Transfusionsassoziierte akute Lungeninsuffizienz

Die häufigste Diagnose der eingeschlossenen Patienten in die Studie war ein septischer Schock begleitet von einem akuten Nierenversagen. Bei fünf Patienten wurde zusätzlich zu dem akuten Nierenversagen eine Leberzirrhose oder ein Leberversagen diagnostiziert.

Für das Studienkollektiv wurde ein durchschnittlicher Apache-II-Score von $29 \pm 7,5$ Punkten sowie ein TISS-28-Score von $39 \pm 6,8$ Punkten berechnet. Das klinische Outcome der Patienten wurde bis zum Ende des Aufenthalts auf der Intensivstation dokumentiert. Von den 24 in die Studie aufgenommenen Patienten verstarben 9 Patienten noch während ihres Aufenthalts auf der Intensivstation.

Das Durchschnittsalter der Patienten lag bei 64 ± 12 Jahren, bei einer Geschlechterverteilung von siebzehn männlichen zu sieben weiblichen Patienten. Das Durchschnittsgewicht betrug 89 ± 27 kg bei einer Größe von 172 ± 9 cm. Ausgewählte Laborparameter der Patienten sind in Tabelle 38 zusammengestellt.

Die mit der MDRD-Formel berechnete GFR wurde auf die Körperoberfläche der Patienten umgerechnet, um diese mit den Ergebnissen nach Cockcroft-Gault vergleichen zu können. Die Mittelwerte der Kreatinin-Clearance unter der laufenden Nierenersatztherapie betrugen nach der MDRD-Formel 59 ± 44 ml/min und nach der Cockcroft-Gault-Formel 63 ± 38 ml/min. Die Ergebnisse sind für die einzelnen Patienten in Tabelle 38 zusammengefasst.

Die Leberfunktion wurde mit den routinemäßig gemessenen Bilirubin-Werten dokumentiert. Diese betrugen im Durchschnitt $4,8 \pm 5,3$ mg/dl. Bei elf Patienten überschritt der Laborwert den Referenzbereich (0,2 - 1,2 mg/dl). Die Funktion der Leber ist für die Metabolisierung von Ciprofloxacin von Relevanz.

Der Albumin-Wert dient als Marker für den an Plasmaeiweiß gebundenen Arzneistoffanteil. Eine Laborkontrolle des Albuminwertes wurde nicht standardmäßig durchgeführt. Bei zehn Probanden lag ein Laborwert für den Studientag selbst, den vorangegangen oder den nächsten Tag vor. Für fünf weitere Patienten gab es eine Bestimmung in der Woche des TDM. Die übrigen Werte waren entweder älter oder nicht vorhanden. Bei keinem der untersuchten Probanden lag der bestimmte Laborwert in dem vorgegebenen Referenzbereich von 34 – 48 g/l. Der Mittelwert betrug 17 ± 6 g/l.

Tabelle 38: Ausgewählte Laborparameter der Patienten.

Patient	Kreatinin	Kreatinin Clearance		Bilirubin	Albumin	Hämatokrit
[Nr]	[mg/dl]	[ml/min] Cockcroft- Gault	[ml/min] MDRD	[mg/dl]	[g/l]	[%]
1	2,84	30	27	2,36	23 ^b	29,5
2	1,11	61	68	1,37	k.m.	33,5
3	1,20	56	63	1,01	18 ^b	29,2
4	2,91	29	25	0,55	15 ^b	27,0
5	2,60	40	32	5,70	k.m.	31,3
6	1,95	65	45	k.m	k.m.	24,0
7	0,81	60	88	3,55	30 ^c	31,9
8	0,75	66	68	8,92	16 ^a	25,2
9	2,39	71	42	14,90	32 ^a	30,1
10	3,30	24	20	5,59	15 ^a	28,7
11	0,59	72	89	0,47	13 ^b	28,9
12	4,31	21	17	18,47	19 ^c	27,6
13	0,71	187	158	5,65	18 ^a	29,0
14	1,22	54	49	0,39	15 ^a	31,5
15	2,22	52	38	9,97	18 ^a	29,3
16	0,69	71	79	0,42	23 ^b	34,6
17	1,81	69	50	12,03	14 ^a	26,5
18	0,95	72	61	2,03	11 ^c	37,9
19	2,74	45	24	0,45	11 ^a	27,0
20	0,50	160	209	0,40	17 ^a	29,1
21	3,28	57	31	1,14	15 ^c	31,1
22	1,73	60	50	11,45	17 ^a	30,8
23	2,02	52	44	1,63	8 ^c	33,4
24	1,44	32	35	2,11	9 ^c	34,8
Gesamt	Mittelwert	63	59	4,81	17	30,0
	SD	38	44	5,3	6	3,3

^a Messwert am Tag der Studie ± ein Tag^b Messwert in der Woche der Studie^c Messwert zu einem anderen Zeitpunkt

k.m. = Kein Messwert

Von den in die Studie eingeschlossenen Patienten wurden 21 mit einer kontinuierlichen veno-venösen Hämodialyse (CVVHD) und 3 mit kontinuierlicher veno-venöser Hämodiafiltration (CVVHDF) dialysiert. Die patientenindividuellen Einstellungen des Nierenersatzverfahrens sowie die individuelle Antikoagulation sind in Tabelle 39 aufgeführt.

Die CVVHD wurde mit Blutflüssen von 100 – 120 ml/min und einem Dialysatfluss von 2 – 2,2 l/h eingestellt und mit Citrat antikoaguliert. Neben der lokalen Antikoagulation bekamen die Patienten eine individuelle, systemische Antikoagulation mit Fragmin®, Clexane®, fraktioniertem Heparin oder Argatroban. Bei der CVVHDF wurden Blutflüsse bis 150 ml/min, ein Dialysatfluss zwischen 1,3 l/h und 2,6 l/h und ein Substitutfluss von 700 – 800 ml/h eingestellt. Der Ultrafiltrationsfluss wurde bei beiden Verfahren nach dem jeweiligen Bilanzziel gewählt. Mit Ausnahme von Patient 4 waren alle Studienteilnehmer an- oder oligurisch.

Tabelle 39: Kennzahlen des Nierenersatzverfahrens für das Patientenkollektiv.

Patient [Nr]	Urin [ml/12 h]	Art des Nierenersatzverfahrens	Filter	Antikoagulation	Blutfluss [ml/min]	Dialysatfluss [l/h]	Ultrafiltrationsfluss [ml/h]	Substitut [ml/h]
1	0	CVVHD	Ultraflux AV 1000 S	Citrat/Heparin EH	120	2	300	
2	60	CVVHD	Ultraflux AV 1000 S	Citrat/Clexane®	100	2	150	
3	60	CVVHD	Ultraflux AV 1000 S	Citrat/Fragmin®	100	2	250	
4	640	CVVHD	Ultraflux AV 1000 S	Citrat/Argatroban EH	100	2	150	
5	0	CVVHD	Ultraflux AV 1000 S	Citrat/Fragmin®	120	2	300	
6	0	CVVHD	Ultraflux AV 1000 S	Citrat/Fragmin®	100	2,2	200	
7	115	CVVHDF	Ultraflux AV 1000 S	Argatroban EH	150	1,6	400/300	800
8	0	CVVHD	Ultraflux AV 1000 S	Citrat/Argatroban EH	100	2	200/150	
9	0	CVVHD	Ultraflux AV 1000 S	Citrat/Argatroban EH	120	2,2	100	
10	0	CVVHD	Ultraflux AV 1000 S	Citrat/Fragmin®	100	2	200	
11	150	CVVHD	Ultraflux AV 1000 S	Citrat/Fragmin®	100	2	100/200	
12	50	CVVHD	Ultraflux AV 1000 S	Citrat/Heparin EH	100	2	100/150	
13	0	CVVHD	Ultraflux AV 1000 S	Citrat/Fragmin®	100	2	150/200	
14	150	CVVHDF	Ultraflux AV 1000 S	Heparin EH	150	2,4/1,3	200	800/700
15	120	CVVHD	Ultraflux AV 1000 S	Citrat/Argatroban EH	100	2	450/250	
16	0	CVVHD	Ultraflux AV 1000 S	Citrat/Heparin®	100	2	150/200	
17	0	CVVHD	Ultraflux AV 1000 S	Citrat/Fragmin®	100/120	2	200	
18	0	CVVHD	Ultraflux AV 1000 S	Citrat/Heparin EH	100/110	2	200/100	
19	60	CVVHD	Ultraflux AV 1000 S	Heparin EH	150	2	50/300	
20	0	CVVHD	Ultraflux AV 1000 S	Citrat/Heparin EH	100	2,1	200/300	
21	0	CVVHD / CVVHDF	Ultraflux AV 1000 S	Citrat/Heparin EH	100	2,6/1,5	200	700
22	0	CVVHD	Ultraflux AV 1000 S	Citrat/Heparin EH	100	2	200	
23	0	CVVHD	Ultraflux AV 1000 S	Heparin EH	120	2,4	200	
24	0	CVVHD	Ultraflux AV 1000 S	Citrat/Heparin EH	100/120	2	150	

EH: Eigenherstellung Apotheke der Universitätsmedizin

Das Therapeutische Drug Monitoring fand für die meisten Patienten zwischen dem dritten und vierten Tag der antibiotischen Therapie statt. Die Angaben für Piperacillin sind in Tabelle 40 dargestellt, die für Ciprofloxacin in Tabelle 41.

Tabelle 40: Dosierung und Zeitpunkt des TDM von Piperacillin.

Patient. [Nr]	Dosis ^a [g]	CRR ^b	Piperacillin Therapie		TDM ^c	
			Beginn	Ende	Datum	Therapietag
1	4	CVVHD	12.02.2010	18.02.2010	14.02.2010	3
2	4	CVVHD	09.04.2011	12.04.2011	12.04.2011	4
3	4	CVVHD	27.04.2011	03.05.2011	29.04.2011	3
4	4	CVVHD	28.05.2011	01.06.2011	01.06.2011	5
5	4	CVVHD	30.05.2011	02.06.2011	01.06.2011	3
6	4	CVVHD	04.06.2011	07.06.2011	07.06.2011	4
7	4	CVVHDF	19.06.2011	24.06.2011	21.06.2011	3
8	4	CVVHD	04.07.2011	11.07.2011	05.07.2011	2
9	4	CVVHD	04.07.2011	11.07.2011	07.07.2011	4
10	4	CVVHD	29.07.2011	31.07.2011	31.07.2011	2
12	4	CVVHD	08.08.2011	11.08.2011	10.08.2011	3
13	4	CVVHD	16.08.2011	22.08.2011	18.08.2011	3
14	4	CVVHDF	08.09.2011	13.09.2011	10.09.2011	3
16	4	CVVHD	21.09.2011	03.10.2011	29.09.2011	9
17	4	CVVHD	04.10.2011	07.10.2011	05.10.2011	2
18	4	CVVHD	11.10.2011	18.10.2011	13.10.2011	3
19	4	CVVHD	02.11.2011	09.11.2011	03.11.2011	2
21	4	CVVHDF	10.12.2011	14.12.2011	14.12.2011	5
22	4	CVVHD	01.01.2012	08.01.2012	03.01.2012	3
23	4	CVVHD	20.01.2012	27.01.2012	24.01.2012	5
24	4	CVVHD	30.01.2012	06.02.2012	04.02.2012	6
Gesamt		Mittelwerte				3,50
		Median				3,5
		SD				0,71

^a Bei einem Dosierungsintervall von 8 Stunden

^b Art des Nierenersatzverfahren (Continuous Renal Replacement Therapy)

^c Therapeutisches Drug Monitoring

Tabelle 41: Dosierung und TDM von Ciprofloxacin.

Patient [Nr]	Dosis ^a [mg]	CRRT ^b	Ciprofloxacin Therapie		TDM ^c	TDM ^c
			Beginn	Ende	Datum	Therapietag
1	200	CVVHD	12.02.2011	18.02.2011	14.02.2011	3
2	200	CVVHD	09.04.2011	12.04.2011	12.04.2011	4
3	200	CVVHD	27.04.2011	03.05.2011	29.04.2011	3
5	200	CVVHD	30.05.2011	02.06.2011	01.06.2011	3
6	400	CVVHD	04.06.2011	07.06.2011	07.06.2011	4
7	200	CVVHDF	19.06.2011	24.06.2011	21.06.2011	3
9	200	CVVHD	04.07.2011	11.07.2011	07.07.2011	4
10	200	CVVHD	29.07.2011	01.08.2011	31.07.2011	2
11	200	CVVHD	30.07.2011	05.08.2011	04.08.2011	5
12	200	CVVHD	08.08.2011	11.08.2011	10.08.2011	3
14	200	CVVHDF	08.09.2011	13.09.2011	10.09.2011	3
15	200	CVVHD	23.09.2011	04.10.2011	28.09.2011	6
16	200	CVVHD	26.09.2011	04.10.2011	29.09.2011	4
17	200	CVVHD	04.10.2011	07.10.2011	05.10.2011	2
18	200	CVVHD	11.10.2011	18.10.2011	13.10.2011	3
19	200	CVVHD	02.11.2011	09.11.2011	03.11.2011	2
20	200	CVVHD	12.11.2011	21.11.2011	16.11.2011	5
22	200	CVVHD	01.01.2012	08.01.2012	03.01.2012	3
23	200	CVVHD	20.01.2012	24.01.2012	24.01.2012	5
24	200	CVVHD	30.01.2012	06.02.2011	04.02.2012	6
Gesamt		Mittelwert				3,33
		Median				3
		SD				0,58

^a Bei einem Dosierungsintervall von 12 Stunden^b Art des Nierenersatzverfahren (Continuous Renal Replacement Therapy)^c Therapeutisches Drug Monitoring

4.3.2 Pharmakokinetische Parameter von Piperacillin und Ciprofloxacin gemäß der Plasmaspiegelbestimmungen

Die gemessenen und berechneten pharmakokinetischen Parameter von Piperacillin in Plasmaproben sind in Tabelle 42 für jeden Studienteilnehmer dargestellt. Die gemessenen Spitzenspiegel lagen im Durchschnitt bei 249 ± 118 mg/l bei gemessenen Minimalkonzentrationen von 54 ± 24 mg/l. Das Verteilungsvolumen im Steady State betrug 25 ± 15 l bei einer totalen Clearance von 94 ± 47 ml/min. Es wurde eine Halbwertszeit von $7,6 \pm 4,5$ Stunden ermittelt. Die mittlere Verweildauer von $1,6 \pm 0,4$ Stunden wurde aus der Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve 836 ± 294 mg l⁻¹ h, und der Fläche unter der Kurve des ersten Moments, 2633 ± 910 mg l⁻¹ h², errechnet.

Tabelle 42: Pharmakokinetische Kennzahlen für Piperacillin. Die Minimal- und Maximalkonzentrationen stellen Messwerte dar, die weiteren Parameter wurden berechnet.

Patient [Nr]	Dosis ^a [g]	CRRT ^b	C _{max} [mg/l]	C _{min} [mg/l]	t _{0,5} ^c [h]	Vd ₁ ^d [l]	Vd ₂ ^e [l]	Vd _{ss} [l]	Vd _{ss} [l/kg]	AUC ^{SS} _τ [mg l ⁻¹ h]	AUMC ^{SS} _τ [mg l ⁻¹ h ²]	MRT [h]	Cl _{total} [ml/min]
1	4	CVVHD	90	43	4,3	42,0	6,0	48,0	0,5	357	1072	2,1	187
2	4	CVVHD	187	14	2,2	0,8	5,0	5,8	0,1	442	1029	1,0	151
3	4	CVVHD	481	83	5,0	0,2	1,7	1,9	0,0	1201	3558	0,7	56
4	4	CVVHD	101	12	2,5	27,1	10,4	37,5	0,4	287	757	2,2	232
5	4	CVVHD	236	72	9,5	12,4	11,4	23,8	0,2	937	3229	1,5	71
6	4	CVVHD	223	60	5,3	17,9	6,7	24,6	0,2	804	2511	2,1	83
7	4	CVVHDF	490	85	7,0	0,9	9,8	10,8	0,2	1191	3596	1,3	56
8	4	CVVHD	299	75	5,0	8,2	7,9	16,1	0,3	1074	3353	2,0	62
9	4	CVVHD	153	60	12,9	22,1	13,5	35,6	0,3	740	2595	1,3	90
10	4	CVVHD	442	70	5,3	0,5	5,9	6,3	0,1	1187	3618	1,2	56
12	4	CVVHD	199	82	5,6	19,2	0,4	19,5	0,2	998	3406	2,1	67
13	4	CVVHD	262	58	13,4	7,8	27,8	35,6	0,3	710	2277	1,2	94
14	4	CVVHDF	140	14	19,2	19,2	45,5	64,7	0,9	461	1493	0,9	145
16	4	CVVHD	183	61	6,3	18,8	7,5	26,3	0,4	756	2407	1,9	88
17	4	CVVHD	383	66	1,6	3,0	1,6	4,7	0,1	1344	3500	1,7	50
18	4	CVVHD	228	62	6,3	11,3	9,6	20,9	0,3	944	3104	1,9	71
19	4	CVVHD	181	59	14,9	21,4	11,4	32,8	0,3	822	2899	1,2	81
21	4	CVVHDF	159	45	8,0	7,0	21,6	28,6	0,2	731	2614	1,8	91
22	4	CVVHD	274	60	6,8	9,6	14,3	24,0	0,2	831	2634	1,8	80
23	4	CVVHD	179	50	6,4	15,2	14,8	30,0	0,3	630	2050	1,8	106
24	4	CVVHD	339	11	12,1	9,7	13,4	23,1	0,4	1101	3597	1,3	61
Gesamt		Mittelwert	249	54	7,6	13,1	11,7	24,8	0,3	836	2633	1,6	94
		Median	226	60	6,4	11,9	10,1	24,3	0,3	827	2633	1,7	82
		SD	118	23	4,5	10,4	10,1	15,1	0,2	294	910	0,4	47

^a Bei einem Dosierungsintervall von 8 Stunden

^b Nierenersatzverfahren (Continuous Renal Replacement Therapy)

^c Biologische Halbwertszeit

^{d,e} Scheinbares Verteilungsvolumen im zentralen (Vd₁) und peripheren Kompartiment (Vd₂)

Die gemessenen und berechneten pharmakokinetischen Parameter von Ciprofloxacin in Plasmaproben von hämodialysierten Intensivpatienten sind in Tabelle 43 für jeden Studienteilnehmer dargestellt. Die gemessenen Spitzenspiegel lagen im Durchschnitt bei $5,24 \pm 2,66$ mg/l bei einer gemessenen Minimalkonzentrationen von $1,6 \pm 1$ mg/l. Das Verteilungsvolumen im Steady State betrug $66,8 \pm 34,8$ l bei einer totalen Clearance von 154 ± 107 ml/min. Es wurde eine Halbwertszeit von $19,9 \pm 15,4$ Stunden ermittelt. Die mittlere Verweildauer von $2,7 \pm 3,2$ Stunden wurde aus der Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve 31 ± 15 mg l⁻¹ h und der Fläche unter der Kurve des ersten Moments 159 ± 84 mg l⁻¹ h² errechnet. Der therapeutische Bereich wurde für Ciprofloxacin über das Verhältnis der Fläche unter der 24 Stunden Kurve (AUC) zur minimalen Hemmkonzentration (MHK) bestimmt. Die berechnete AUC eines Intervalls von zwölf Stunden (AUC) wurde dazu verdoppelt.

Die AUC wurde in der UMM-Studie mit der Trapezregel für das Dosierungsintervall im Steady State bestimmt. Bis zu 20 % des Therapieintervalls wurden entsprechend den Vorgaben der FDA extrapoliert (119). Abweichend davon wurde aus Plausibilitätsgründen bei den Patienten 3 und 15 mit 41 % und 33 % ein größerer Anteil der Kurve extrapoliert (Abbildung 25, Abbildung 26).

Tabelle 43: Pharmakokinetische Kennzahlen für Ciprofloxacin. Die Minimal- und Maximalkonzentrationen stellen Messwerte dar, die weiteren Parameter wurden berechnet.

Patient [Nr]	Dosis ^a [mg]	CRRT ^b	C _{max} [mg/l]	C _{min} [mg/l]	t _{0,5} ^c [h]	Vd ₁ ^d [l]	Vd ₂ ^e [l]	Vd _{ss} [l]	Vd _{ss} [l/kg]	AUC ^{SS} _τ [mg l ⁻¹ h]	AUMC ^{SS} _τ [mg l ⁻¹ h ²]	MRT [h]	Cl _{total} [ml/min]
1	200	CVVHD	3,04	1,08									
2	200	CVVHD	2,44	0,73	33,2	14,2	100,3	114,6	1,5	17	92	1,1	200
3	200	CVVHD	9,27	3,60	8,7	8,9	16,4	25,3	0,3	54	261	2,9	62
5	200	CVVHD	2,55	1,21	23,7	42,4	76,3	118,8	1,0	17	93	1,7	192
6	400	CVVHD	10,09	0,40	5,4	2,5	26,5	29,1	0,3	17	60	1,4	394
7	200	CVVHDF	8,34	2,61	16,4	8,0	26,1	34,1	0,7	52	279	2,1	64
9	200	CVVHD	5,24	1,24	25,0	21,2	40,2	61,4	0,4	30	144	1,3	112
10	200	CVVHD	5,47	1,15	13,9	30,1	35,9	66,0	1,0	27	132	2,3	123
11	200	CVVHD	9,36	1,79	9,2	18,5	15,2	33,7	0,7	43	194	2,8	77
12	200	CVVHD	8,89	4,00	20,8	21,7	9,0	30,8	0,3	64	349	1,8	52
14	200	CVVHDF	6,63	2,21	43,6	13,8	44,6	58,4	0,8	38	210	1,0	87
15	200	CVVHD	3,86	1,45	29,5	30,4	51,6	81,9	0,8	26	140	1,4	128
16	200	CVVHD	2,95	0,71	5,6	55,6	21,0	76,7	1,2	15	67	3,3	221
17	200	CVVHD	3,89	1,36	8,3	39,5	23,3	62,7	0,8	23	112	3,0	143
18	200	CVVHD	4,37	2,08	1,5	35,2	1,0	36,1	0,5	32	171	15,5	105
19	200	CVVHD	3,76	1,88	63,0	50,9	17,5	68,3	0,6	34	192	0,7	99
20	200	CVVHD	2,31	0,24	5,6	68,8	71,3	140,1	1,6	8	32	3,2	432
22	200	CVVHD	4,21	2,50	28,9	35,9	24,7	60,6	0,6	35	193	1,4	96
23	200	CVVHD	2,02	0,73	11,1	77,3	44,4	121,7	1,1	13	66	2,7	253
24	200	CVVHD	6,00	1,11	23,8	26,1	22,6	48,6	0,8	42	227	1,6	80
Gesamt		Mittelwert	5,24	1,60	19,9	31,6	35,2	66,8	0,8	31	159	2,7	154
		Median	4,29	1,30	16,4	30,1	26,1	61,4	0,8	30	144	1,8	112
		SD	2,66	1,00	15,4	20,5	25,2	34,8	0,4	15	84	3,2	107

^a Bei einem Dosierungsintervall von 12 Stunden

^b Nierenersatzverfahren (Continuous Renal Replacement Therapy)

^c Biologische Halbwertszeit

^{d,e} Scheinbares Verteilungsvolumen im zentralen (Vd₁) und peripheren Kompartiment (Vd₂)

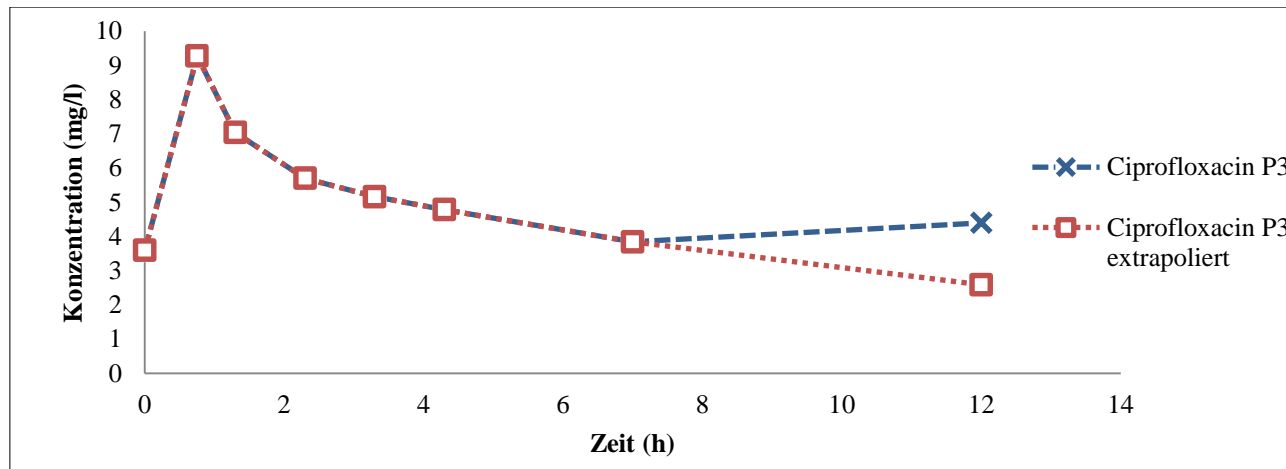


Abbildung 25: Vergleich der gemessenen und extrapolierten Konzentrations-Zeit-Profile von Patient 3.

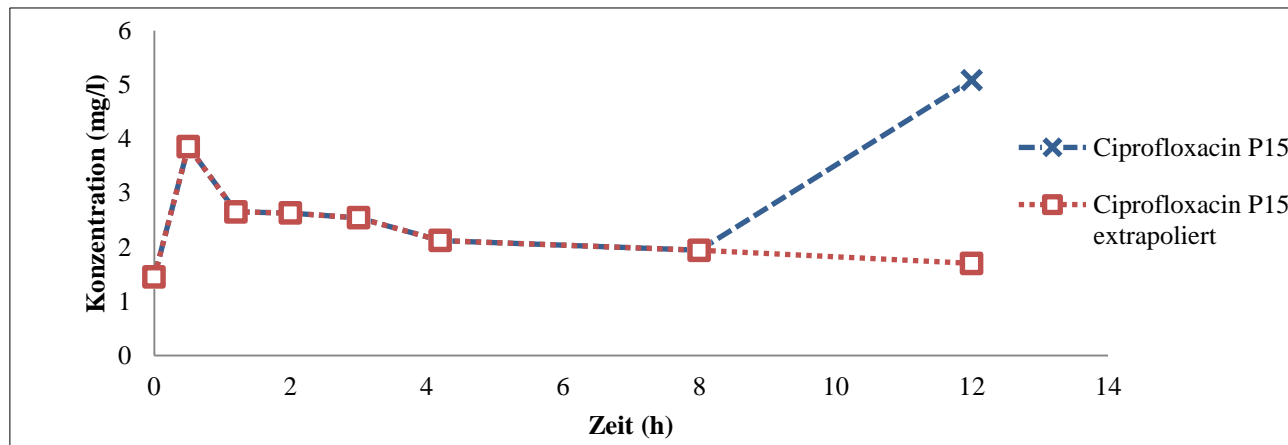


Abbildung 26: Vergleich der gemessenen und extrapolierten Konzentrations-Zeit-Profile von Patient 15.

4.3.3 Pharmakokinetische Parameter von Piperacillin und Ciprofloxacin gemäß der Dialysatspiegelbestimmungen

Im Unterschied zu den Plasmaproben wurden die Dialysatproben nicht zu einem festen Zeitpunkt sondern zum Zeitpunkt des Wechsels des Filtratbeutels gesammelt. In der Auswertung der Dialysatproben wurde die ausgeschiedene Menge der beiden Antibiotika gegen die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve des Sammelintervalls aufgetragen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 44 aufgeführt.

Tabelle 44: Berechnete Dialyseclearance von Piperacillin und Ciprofloxacin für die Patienten des untersuchten Kollektivs.

Patient [Nr]	Piperacillin [ml/min]	Ciprofloxacin [ml/min]
1	29	n.b.
2	38	35
3	17	21
4	25	n.d.
5	24	14
6	40	29
7	31	17
8	57	n.d.
9	45	32
10	23	25
11	n.d.	31
12	11	10
13	21	n.d.
14	15	20
15	n.d.	41
16	37	37
17	23	29
18	24	32
19	22	10
20	n.d.	17
21	6	n.d.
22	31	31
23	45	19
24	12	15
Mittelwert	27	24
SD	13	9

n.b.: nicht bewertbar

n.d.: nicht bestimmt

Für Piperacillin beziehungsweise Ciprofloxacin wurde im Mittel eine Dialyseclearance von 27 ml/min und 24 ml/min bestimmt. Die Standardabweichungen betrugen 13 ml/min und 9 ml/min. Für Piperacillin wurde bei Patient 21 ein Minimalwert von 6 ml/min bestimmt. Bei Ciprofloxacin hatten die Patienten 12 und 19 mit 10 ml/min die

niedrigste Clearance. Die höchsten Clearance-Werte konnten mit 45 ml/min bei Patient 23 für Piperacillin und mit 41 ml/min bei Patient 15 für Ciprofloxacin nachgewiesen werden. Patient 1 wurde in der Ciprofloxacin-Auswertung nicht berücksichtigt. Aus der geringen Plasmakonzentration berechnete sich eine Clearance von 242 ml/min. Der Patient wurde zusätzlich zu dem extrakorporalen Nierenersatzverfahren mit einer extrakorporalen Membran-Oxygenierung (ECMO) behandelt. Die normale Clearance von Piperacillin könnte darauf hinweisen, dass Ciprofloxacin von dem zusätzlichen Filter der ECMO adsorbiert wurde.

In Tabelle 45 wird die Berechnung der extrarenalen Clearance von Piperacillin dargestellt. Diese ergibt sich aus der Differenz von totaler Clearance und der Clearance des Nierenersatzverfahrens. Während die extrarenale Clearance von 5 ml/min bei Patient 8 gegenüber der Clearance des Nierenersatzverfahrens vernachlässigt werden konnte machte diese bei Patient 4 mit 207 ml/min den Hauptanteil der Piperacillin-Clearance aus. Insgesamt ergab sich für die Patienten ein Mittelwert von 67 ± 48 ml/min für die extrarenale Clearance im Vergleich zu 27 ± 13 ml/min für die Clearance des Nierenersatzverfahrens.

Tabelle 45: Berechnung der extrarenalen Clearance von Piperacillin für die Patienten des untersuchten Kollektivs.

Patient [Nr]	Cl _{CRRT} [ml/min]	Cl _{total} [ml/min]	Cl _{extrarenal} [ml/min]
1	29	187	158
2	38	151	113
3	17	56	39
4	25	232	207
5	24	71	47
6	40	83	43
7	31	56	25
8	57	62	5
9	45	90	45
10	23	56	33
12	11	67	56
13	21	94	73
14	15	145	130
16	37	88	51
17	23	50	27
18	24	71	46
19	22	81	59
21	6	91	85
22	31	80	50
23	45	106	61
24	12	61	49
Mittelwert	27	94	67
SD	13	47	48

In Tabelle 46 wird die Berechnung der extrarenalen Clearance von Ciprofloxacin dargestellt. Während die Clearance des Nierenersatzverfahrens für Piperacillin und Ciprofloxacin, mit durchschnittlichen Werten von 24 und 27 ml/min vergleichbar war, wurde Ciprofloxacin in einem größeren Rate extrarenal ausgeschieden. Die extrarenale Clearance war mit 415 ml/min bei Patient 20 am höchsten und mit 41 ml/min bei Patient 3 am geringsten. Für die ausgewerteten Probanden ergab sich ein Mittelwert von 129 ± 107 ml/min für die extrarenale Clearance im Vergleich zu 24 ± 9 ml/min für die Clearance des Nierenersatzverfahrens.

Tabelle 46: Berechnung der extrarenale Clearance von Ciprofloxacin für die Patienten des untersuchten Kollektivs.

Patient [Nr]	Cl _{CRRT} [ml/min]	Cl _{total} [ml/min]	Cl _{extrarenal} [ml/min]
1	-	-	-
2	35	200	166
3	21	62	41
5	14	192	178
6	29	394	365
7	17	64	47
9	32	112	79
10	25	123	98
11	31	77	46
12	10	52	42
14	20	87	67
15	41	128	87
16	37	221	184
17	29	143	114
18	32	105	73
19	10	99	89
20	17	432	415
22	31	96	64
23	19	253	234
24	15	80	65
Mittelwert	24	154	129
SD	9	107	107

4.3.4 Antibiotische Effektivität von Piperacillin bei Patienten mit CVVHD/CVVHDF

In Tabelle 47 sind für Piperacillin die Mittelwerte der gemessenen Plasmakonzentrationen des Gesamtkollektivs mit der jeweiligen Standardabweichung aufgelistet.

Tabelle 47: Mittelwerte der Plasmakonzentrationen von Piperacillin des Gesamtkollektivs in Plasma.

Zeit [h]	Piperacillin		
	Konzentration [mg/l]	SD [mg/l]	RSD [%]
0,00	65	43	0,67
0,51	232	106	0,46
1,01	166	92	0,56
2,01	125	44	0,36
3,07	107	43	0,40
4,03	93	34	0,37
7,12	65	24	0,36
10,70	98	43	0,44
23,41	65	37	0,56

Die Mittelwerte der Plasmakonzentrationen von Piperacillin lagen für das komplette Applikationsintervall über der geforderten vierfachen MHK (64 mg/l). In Abbildung 27 sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichung zusammen mit den MHK-Werten dargestellt.

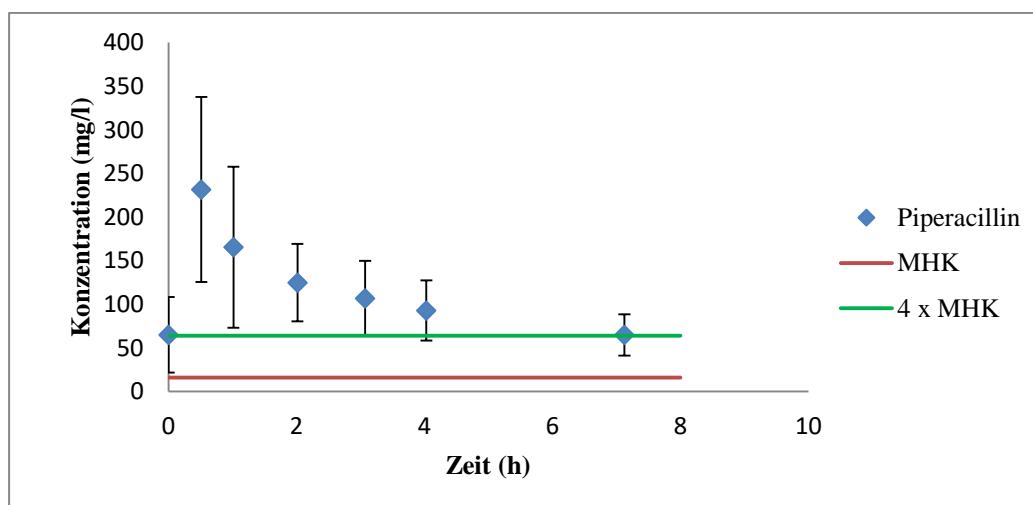


Abbildung 27: Mittelwerte und Standardabweichungen der Piperacillin-Spiegel in Plasma für das Gesamtkollektiv mit der einfachen und vierfachen MHK von *Pseudomonas aeruginosa*.

Die individuellen Konzentrations-Zeit-Verläufe sind in Abbildung 28 dargestellt. Neben den blau eingefärbten Plasmakurven der einzelnen Patienten werden die mittleren Plasmaspiegel des gesamten Patientenkollektivs grün dargestellt.

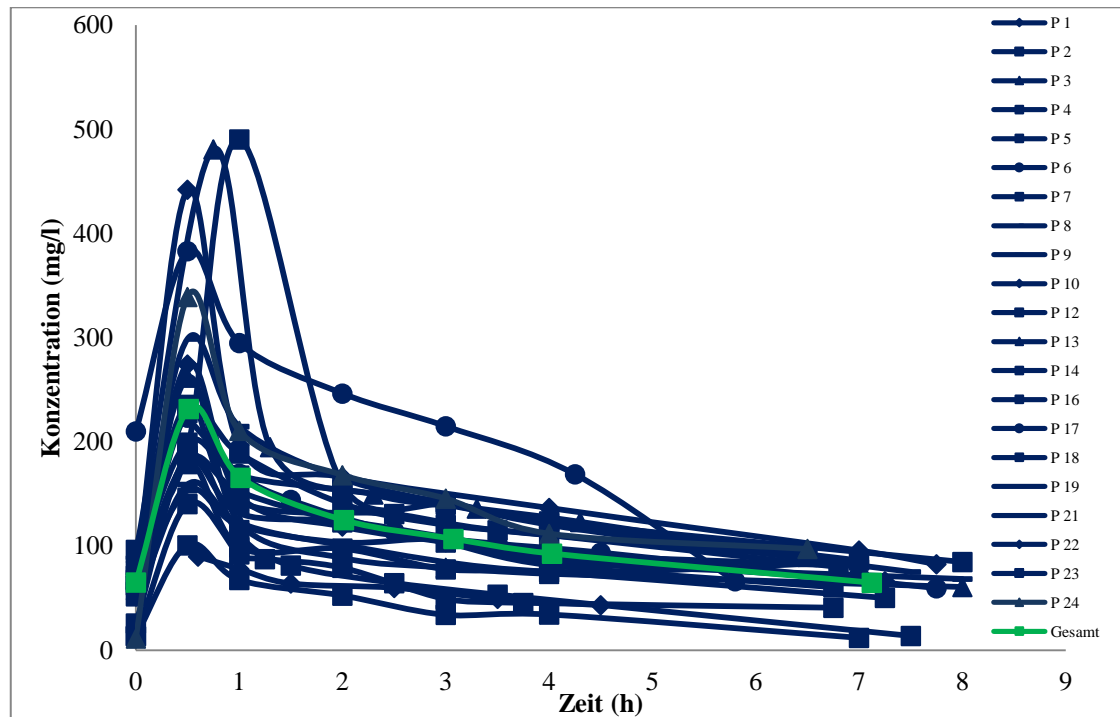


Abbildung 28: Plasmaspiegelverläufe von Piperacillin für individuelle Patienten und Mittelwerte des Patientenkollektivs.

Von den 21 in der Studie mit Piperacillin behandelten Patienten erreichten elf Wirkstoffspiegel über 64 mg/l für das gesamte Zeitintervall. Bei vier der zehn unterdosierten Patienten lagen die Piperacillinspiegel für mehr als die Hälfte des Applikationsintervalls unterhalb dieser Grenze.

In Abbildung 29 werden die für das Patientenkollektiv erreichten MHK-Werte prozentual dargestellt. Während bei 90 % der Probanden die erreichten Piperacillin Plasmaspiegel über der MHK von 16 mg/l lagen, waren dies nur noch 81 % bzw. 52 % bei einer MHK von 32 mg/l bzw. 64 mg/l.

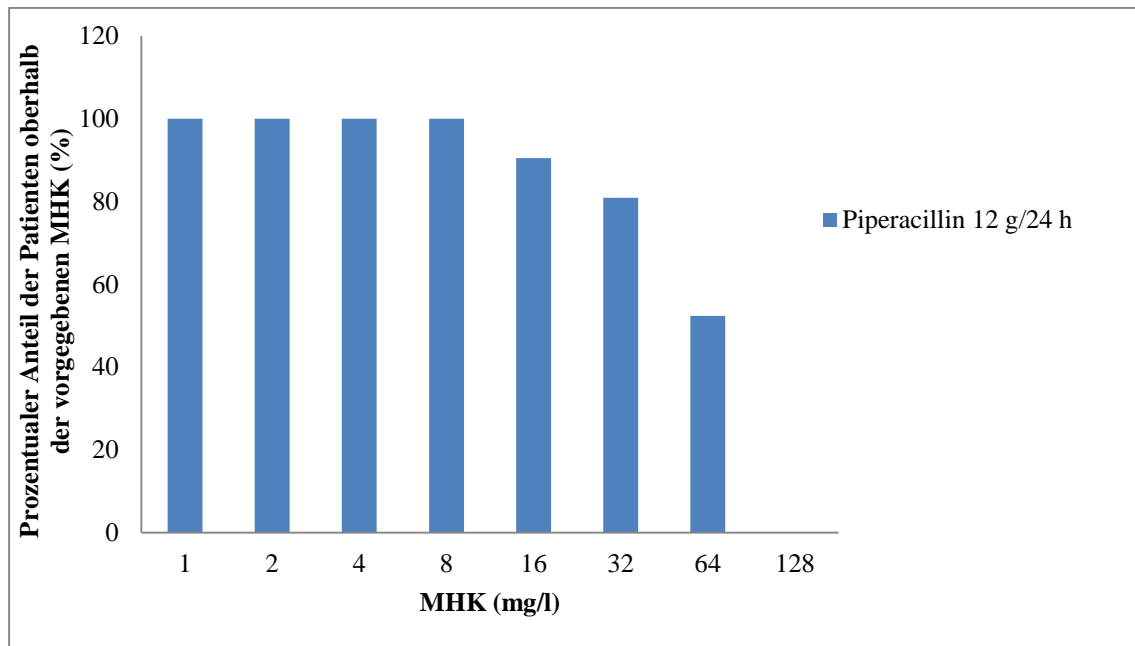


Abbildung 29: Prozentualer Anteil der Patienten mit Plasmakonzentrationen von Piperacillin oberhalb verschiedener MHK-Werte für das gesamte Dosierungsintervall.

In Tabelle 48 wird die berechnete Arzneistoffclearance von Piperacillin pro Patient dargestellt. Die Ergebnisbewertung erfolgt in drei Kategorien. Eine hohe Arzneistoffclearance von Piperacillin führt zu einem schnellen Unterschreiten der MHK von 64 mg/l. Eine Piperacillin-Clearance > 100 ml/min ist rot dargestellt, eine Clearance zwischen 70 und 100 ml/min in gelb und ein Wert < 70 ml/min in grün. Die Ergebnisse unterliegen großen interindividuellen Schwankungen. Während die Plasmaspiegel von Piperacillin bei den fünf Patienten mit einer Arzneistoffclearance > 100 ml/min die angestrebte MHK von 64 mg/l während des Dosierungsintervalls von acht Stunden unterschreiten, ist dies nur bei einem der sieben Patienten mit einer Arzneistoffclearance < 70 ml/min der Fall.

Tabelle 48: Totale Arzneistoffclearance von Piperacillin und Kreatininclearance für die einzelnen Patienten.

Patient	Dosierung	CRRT ^a	MHK ^b	C _{max}	C _{min} ^c	Cl _{Krea}	Cl _{Total}
[Nr]	[g]		[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[ml/min]	[ml/min]
1	4	CVVHD	64	90	19 ^d	30	187
2	4	CVVHD	64	187	14	61	151
3	4	CVVHD	64	481	71	56	56
4	4	CVVHD	64	101	8	29	232
5	4	CVVHD	64	236	83	40	71
6	4	CVVHD	64	223	55	65	83
7	4	CVVHDF	64	490	85	60	56
8	4	CVVHD	64	299	70	66	62
9	4	CVVHD	64	153	68	71	90
10	4	CVVHD	64	442	83	24	56
12	4	CVVHD	64	199	78	21	67
13	4	CVVHD	64	262	61	187	94
14	4	CVVHDF	64	140	39	54	145
16	4	CVVHD	64	183	52	71	88
17	4	CVVHD	64	383	27	69	50
18	4	CVVHD	64	228	70	72	71
19	4	CVVHD	64	181	77	45	81
21	4	CVVHDF	64	159	70	57	91
22	4	CVVHD	64	274	62	60	80
23	4	CVVHD	64	179	46	52	106
24	4	CVVHD	64	339	89	32	61
Mittelwert	-	-	64	249	58	58	94

^a Kontinuierliches Nierenersatzverfahren

^b Vierfacher MHK-Wert von Pseudomonaden für Piperacillin

^c Bis zu 20 % der Werte können extrapoliert sein

^d Die Hälfte des Intervalls wurde extrapoliert

Abbildung 30 zeigt die mittleren Plasmaspiegel von Piperacillin in Abhängigkeit von der Clearance. Während die Patienten mit einer Clearance < 70 ml/min für das gesamte Dosierungsintervall von acht Stunden mit ihren Plasmaspiegeln über der geforderten MHK von 64 mg/l lagen, traf dies für die beiden anderen Kollektive nicht zu. Das Kollektiv mit einer Clearance > 100 ml/min unterschritt den Schwellenwert schon nach zwei bis drei Stunden.

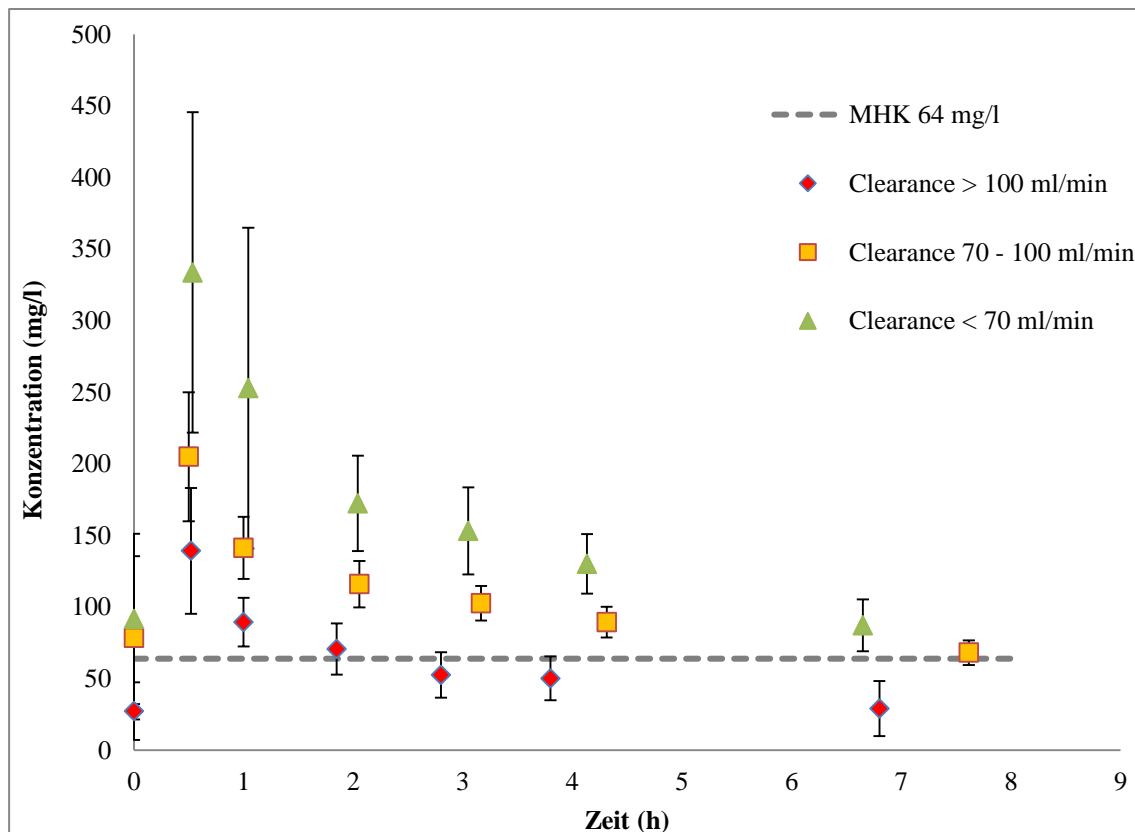


Abbildung 30: Mittlere Plasmaspiegel von Piperacillin in Abhängigkeit von der Arzneistoffclearance.

Statistische Berechnungen der antibiotischen Effektivität von Piperacillin bei Patienten mit CVVHD/CVVHDF

Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 5 \%$ und einer Fallzahl von $n = 20$ wurde für Piperacillin Patienten ein einseitiger t-Test durchgeführt. Mit diesem Test wurde geprüft, ob sich der Mittelwert der Plasmakonzentrationen nach 8 Stunden von der vorgegebenen Grenze von 64 mg/l unterschied. In der Studie sollten bevorzugt Unterdosierungen nachgewiesen werden, so dass der p-Wert für den einseitigen Test 0,15 betrug. Mit einem Signifikanzniveau von 0,025 bei einem konfirmatorischen Test pro Analyt überschritten die ermittelten Plasmakonzentrationen die Grenze von 64 mg/l im Mittel nicht signifikant. Die Antibiotikakonzentration war nicht ausreichend, um die Grenze der vierfachen MHK von 64 mg/l signifikant überschreiten zu können. Die Ergebnisse des durchgeführten t-Test sind für Piperacillin in Tabelle 49 dargestellt.

Tabelle 49: T-Test für Mittelwertsdifferenzen von Piperacillin.

	Anzahl der Messwerte	Mittelwert [mg/l]	Standard- Abweichung [mg/l]	Standard- fehler des Mittelwertes		
Plasma- konzentration nach 8 Stunden	21	58,45	24,34	5,31		

		Testwert = 64 mg/l				
	T ^a	df ^b	Signifikanz (zweiseitig)	Mittlere Differenz	95 % Konfidenzintervall der Differenz	
					Untere Grenze	Obere Grenze
Plasma- konzentration nach 8 Stunden	-1,045	20	0,31	-5,55	-16,63	5,53

^a Teststatistik des t-Werts

^b Anzahl der Freiheitsgrade

In einem Test auf die Binomialverteilung der Stichprobe wurde die Nullhypothese getestet. Als Nullhypothese wurde für Piperacillin angenommen, dass die erhaltenen Plasmaspiegel nach acht Stunden ≤ 64 mg/l sind (Tabelle 50).

Tabelle 50: Berechnung des Pearson-Clopper für Piperacillin.

Nullhypothese	Test	Signifikanz	Entscheidung
Die durch Plasmakonzentration nach 8 Stunden ≤ 64 und > 64 definierten Kategorien treten mit den Wahrscheinlichkeiten 0,5 und 0,5 auf.	Test auf Binomialverteilung einer Stichprobe	1,000 ¹	Nullhypothese beibehalten

Asymptotische Signifikanzen werden angezeigt. Das Signifikanzniveau ist 0,05 .

¹ Für diesen Test wird die exakte Signifikanz angezeigt.

Konfidenzintervall	Parameter	Schätzer	95 % Konfidenzintervall	
			Minimum	Maximum
Erfolgsrate der Binomialverteilung einer Stichprobe (Clopper-Pearson)	Wahrscheinlichkeit (Plasmakonzentration nach 8 Stunden ≤ 64)	0,48	0,26	0,70

Für Piperacillin lag bei einer berechneten Untergrenze von 0,26 und einer Obergrenze von 0,7 der Wert unterdosierter Patienten mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % zwischen 26 - 70 % des Patientenkollektivs.

Für das Kollektiv wurde die Nullhypothese beibehalten. Die Plasmaspiegel waren nicht ausreichend, um therapeutisch optimale Spiegel zu erzielen.

4.3.5 Antibiotische Effektivität von Ciprofloxacin bei Patienten mit CVVHD/CVVHDF

In Tabelle 51 sind für Ciprofloxacin die Mittelwerte der gemessenen Plasmakonzentrationen des Gesamtkollektivs mit der jeweiligen Standardabweichung aufgelistet.

Tabelle 51: Mittelwerte der Plasmakonzentrationen von Ciprofloxacin des Gesamtkollektivs in Plasma.

Zeit [h]	Ciprofloxacin		
	Konzentration [mg/l]	SD [mg/l]	RSD [%]
0,00	1,68	1,00	0,60
0,51	5,05	2,61	0,52
1,03	3,73	2,06	0,55
2,02	3,08	1,55	0,50
3,02	2,82	1,53	0,54
3,98	2,62	1,34	0,51
7,22	2,20	1,20	0,55
10,77	2,09	1,39	0,67
23,52	1,81	1,26	0,69

Abbildung 31 zeigt die Mittelwerte der Plasmaspiegel für das Patientenkollektiv von Ciprofloxacin mit den jeweiligen Standardabweichungen.

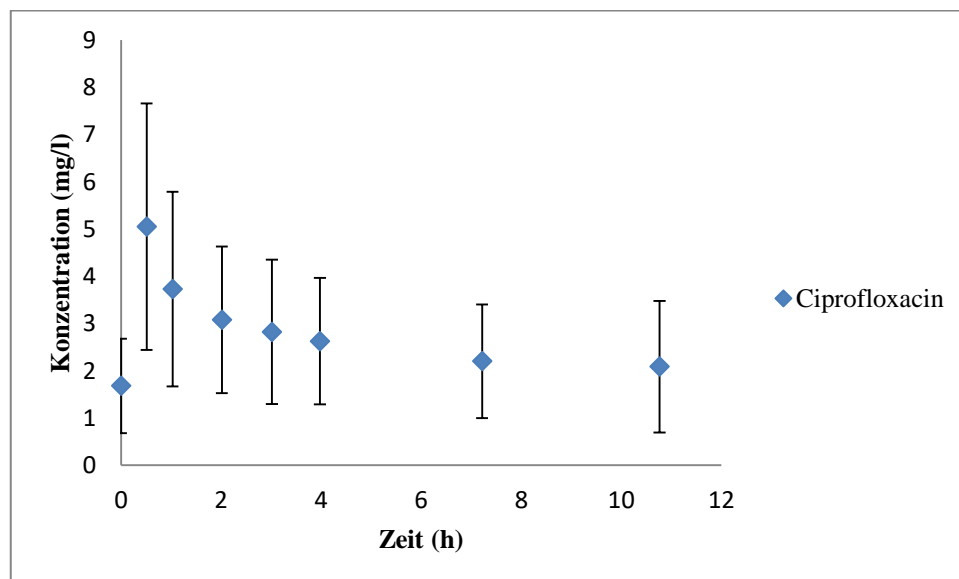


Abbildung 31: Mittelwerte und Standardabweichungen der Ciprofloxacin Plasmaspiegel.

Auch bei den Plasmaspiegeln von Ciprofloxacin wurden patientenindividuell sehr unterschiedliche Kurvenverläufe gemessen. Die Spitzenkonzentrationen schwankten zwischen 2 – 10 mg/l bei einem Mittelwert von 5,2 mg/l. Mit Ausnahme von Proband 6 mit einer Dosierung von zwei mal täglich 400 mg Ciprofloxacin erhielten alle Patienten zweimal 200 mg Ciprofloxacin. Die individuellen Arzneistoffspiegel werden in Abbildung 32 dargestellt. Neben den in blauer Farbe dargestellten Ciprofloxacinspiegeln der einzelnen Patienten ist die Kurve der Mittelwerte grün eingefärbt.

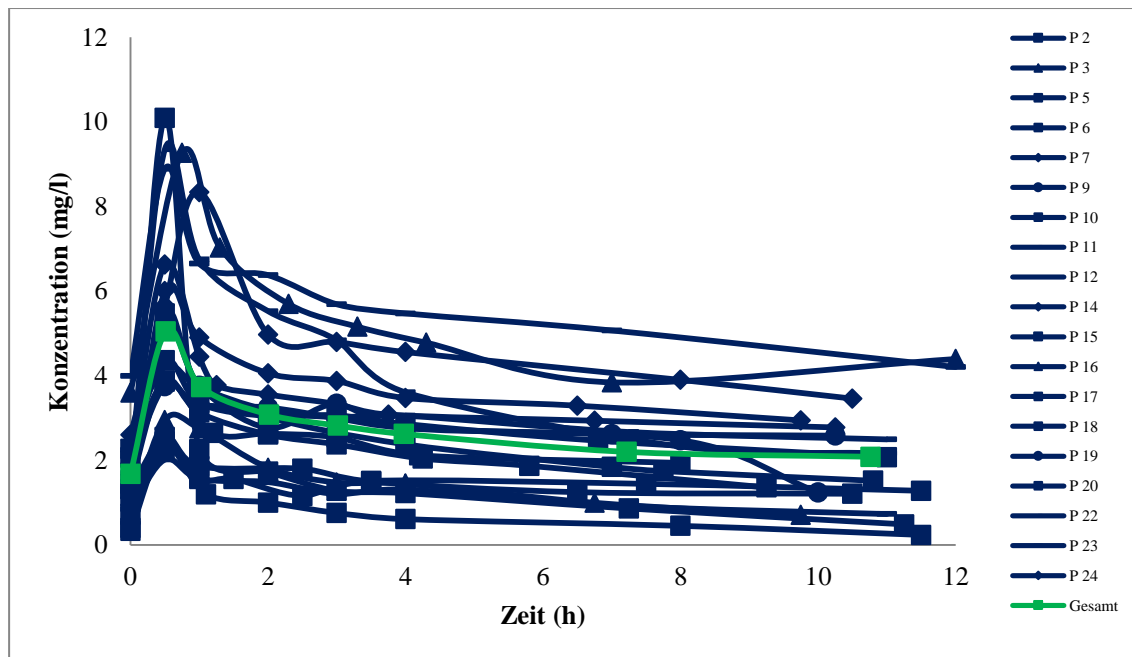


Abbildung 32: Plasmaspiegelverläufe von Ciprofloxacin für individuelle Patienten und Mittelwerte des Patientenkollektivs.

Für Ciprofloxacin als konzentrationsabhängig wirkendes Antibiotikum war das Verhältnis der Fläche unter der 24-Stunden-Kurve zu der MHK (AUC) entscheidend. Der Quotient sollte mindestens Werte > 125 h, im Idealfall Werte > 250 h ergeben (73). Die EUCAST gibt für Ciprofloxacin bei einer gezielten Therapie gegen Pseudomonaden sowie einer kalkulierten Therapie ohne Keimnachweis einen MHK-Wert von 0,5 mg/l vor (132). Von zwanzig Patienten erreichten bei dieser MHK neun Patienten einen Wert > 125 h, nur ein Patient erreichte einen Wert > 250 h (Tabelle 52). Betrachtet man das Verhältnis der Maximalkonzentration zu der minimalen Hemmkonzentration erreichten 17 Patienten einen Quotient ≥ 5 . Von diesen Patienten hatten neun einen Quotienten ≥ 10 . Die in grüner Farbe dargestellten Quotienten entsprechen den optimalen Spiegeln. Die roten Quotienten liegen unterhalb der angestrebten Zielwerte. In gelber Farbe dargestellte Quotienten erreichen Werte ≥ 5 . Diese entsprechen den Vorgaben für den minimalen therapeutischen Bereich.

In Tabelle 53 werden die Ergebnisse eines MHK-Wertes von *Acinetobacter baumannii* (1 mg/l) dargestellt. Mit diesem Grenzwert erreichte lediglich ein Patient eine $AUIC \geq 125$ h. Von 9 Patienten, deren Quotient der $C_{\max}/MHK \geq 5$ ergab, war dieser bei nur einem Patienten ≥ 10 .

Tabelle 52: Effektivität von Ciprofloxacin berechnet für die MHK einer kalkulierten Therapie ohne Erregernachweis (0,5 mg/l).

Patient [Nr]	Dosierungs- Intervall	CRRT	MHK ^a [mg/l]	C _{max} [mg/l]	AUC ^b [mg l ⁻¹ h]	AUC _{24 h} [mg l ⁻¹ h]	AUIC [h]	C _{max} /MHK
1	200 mg 2x/d	CVVHD	0,5	3,04	n.b.	n.b.		6,1
2	200 mg 2x/d	CVVHD	0,5	2,44	16,65	33,29	67	4,9
3	200 mg 2x/d	CVVHD	0,5	9,27	53,81	107,62	215	18,5
5	200 mg 2x/d	CVVHD	0,5	2,55	17,32	34,65	69	5,1
6	400 mg 2x/d	CVVHD	0,5	10,09	16,92	33,83	68	20,2
7	200 mg 2x/d	CVVHDF	0,5	8,34	52,19	104,38	209	16,7
9	200 mg 2x/d	CVVHD	0,5	5,24	29,81	59,63	119	10,5
10	200 mg 2x/d	CVVHD	0,5	5,47	27,19	54,38	109	10,9
11	200 mg 2x/d	CVVHD	0,5	9,36	43,10	86,21	172	18,7
12	200 mg 2x/d	CVVHD	0,5	8,89	64,26	128,52	257	17,8
14	200 mg 2x/d	CVVHDF	0,5	6,63	38,43	76,87	154	13,3
15	200 mg 2x/d	CVVHD	0,5	3,86	26,10	52,21	104	7,7
16	200 mg 2x/d	CVVHD	0,5	2,95	15,10	30,20	60	5,9
17	200 mg 2x/d	CVVHD	0,5	3,89	23,31	46,63	93	7,8
18	200 mg 2x/d	CVVHD	0,5	4,37	31,85	63,71	127	8,7
19	200 mg 2x/d	CVVHD	0,5	3,76	33,53	67,06	134	7,5
20	200 mg 2x/d	CVVHD	0,5	2,31	7,72	15,45	31	4,6
22	200 mg 2x/d	CVVHD	0,5	4,21	34,74	69,48	139	8,4
23	200 mg 2x/d	CVVHD	0,5	2,02	13,17	26,34	59	4,0
24	200 mg 2x/d	CVVHD	0,5	6,00	41,61	83,23	166	12,0
Gesamt	-	-	0,5	5,05	30,89	61,77	124	10,1

^a MHK-Wert für eine kalkulierte Therapie ohne Erregernachweis^b Die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve kann bis zu 20 % extrapoliert sein
n.b.: nicht bewertbar

Tabelle 53: Effektivität von Ciprofloxacin berechnet für die MHK von *Acinetobacter baumannii* (1 mg/l).

Patient [Nr]	Dosierungs- intervall	CRRT	MHK ^a [mg/l]	C _{max} [mg/l]	AUC ^b [mg l ⁻¹ h]	AUC _{24 h} [mg l ⁻¹ h]	AUC [h]	C _{max} /MHK
1	200 mg 2x/d	CVVHD	1	3,04	n.b.	n.b.		3,0
2	200 mg 2x/d	CVVHD	1	2,44	16,65	33,29	33	2,4
3	200 mg 2x/d	CVVHD	1	9,27	53,81	107,62	108	9,3
5	200 mg 2x/d	CVVHD	1	2,55	17,32	34,65	35	2,6
6	400 mg 2x/d	CVVHD	1	10,09	16,92	33,83	34	10,1
7	200 mg 2x/d	CVVHDF	1	8,34	52,19	104,38	104	8,3
9	200 mg 2x/d	CVVHD	1	5,24	29,81	59,63	60	5,2
10	200 mg 2x/d	CVVHD	1	5,47	27,19	54,38	54	5,5
11	200 mg 2x/d	CVVHD	1	9,36	43,10	86,21	86	9,4
12	200 mg 2x/d	CVVHD	1	8,89	64,26	128,52	129	8,9
14	200 mg 2x/d	CVVHDF	1	6,63	38,43	76,87	77	6,6
15	200 mg 2x/d	CVVHD	1	3,86	26,10	52,21	52	3,9
16	200 mg 2x/d	CVVHD	1	2,95	15,10	30,20	30	3,0
17	200 mg 2x/d	CVVHD	1	3,89	23,31	46,63	47	3,9
18	200 mg 2x/d	CVVHD	1	4,37	31,85	63,71	64	4,4
19	200 mg 2x/d	CVVHD	1	3,76	33,53	67,06	67	3,8
20	200 mg 2x/d	CVVHD	1	2,31	7,72	15,45	15	2,3
22	200 mg 2x/d	CVVHD	1	4,21	34,74	69,48	69	4,2
23	200 mg 2x/d	CVVHD	1	2,02	13,17	26,34	26	2,0
24	200 mg 2x/d	CVVHD	1	6,00	41,61	83,23	83	6,0
Gesamt	-	-	1	5,05	30,89	61,77	62	5,1

^a MHK-Wert für *Acinetobacter baumannii*^b Die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve kann bis zu 20 % extrapoliert sein

n.b.: nicht bewertbar

Im klinischen Alltag wird eine Steady State-Plasmakonzentration nach fünf Eliminationshalbwertszeiten erwartet. Während nach einer Eliminationshalbwertszeit die Hälfte der Konzentration des Steady State erreicht ist, sind dies nach drei Halbwertszeiten 87,5 % (118). Die Halbwertszeit wurde für jeden Patienten berechnet und mit dem Zeitpunkt des TDM verglichen (Tabelle 54). Wurde das TDM nach mehr als fünf Halbwertszeiten durchgeführt ist das Feld grün, bei drei bis fünf Halbwertszeiten orange und bei weniger als drei Halbwertszeiten rot eingefärbt. Bei zehn Patienten wurde das TDM im Steady State durchgeführt, sechs Patienten erreichen mindestens 87,5 % ihrer Steady State Konzentration. Nur bei drei Patienten wurde das TDM nach weniger als drei Halbwertszeiten durchgeführt.

Tabelle 54: Vergleich der Eliminationshalbwertszeiten von Ciprofloxacin mit der AUC.

Patient	Dosierung	Halbwertszeit (HWZ)	Zeit bis TDM	C _{max}	Anzahl der HWZ bis TDM	AUC ^a
[Nr.]	[mg]	[h]	[h]	[mg/l]		[h]
2	200	33,2	96	2,44	3	67
3	200	8,7	72	9,27	8	215
5	200	23,7	72	2,55	3	69
6	400	5,4	96	10,09	18	68
7	200	16,4	72	8,34	4	209
9	200	25,0	96	5,24	4	119
10	200	13,9	48	5,47	3	109
11	200	9,2	120	9,36	13	172
12	200	20,8	72	8,89	3	257
14	200	43,6	72	6,63	2	154
15	200	29,5	144	3,86	5	104
16	200	5,6	96	2,95	17	60
17	200	8,3	48	3,89	6	93
18	200	1,5	72	4,37	47	127
19	200	63,0	48	3,76	1	134
20	200	5,6	120	2,31	21	31
22	200	28,9	72	4,21	2	139
23	200	11,1	120	2,02	11	53
24	200	23,8	144	6,00	6	166
Mittelwert	-	19,9	88,4	5,05	9	124

^a MHK-Wert von 0,5 mg/l für eine kalkulierte Therapie ohne Erregernachweis

Statistische Berechnungen der antibiotischen Effektivität von Ciprofloxacin bei Patienten mit CVVHD/CVVHDF

Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 5\%$ und einer Fallzahl von $n = 19$ wurde für Ciprofloxacin Patienten ein einseitiger t-Test durchgeführt. Mit diesem Test wurde geprüft, ob sich der Mittelwert der berechneten AUC von der vorgegebenen Grenze von 125 Stunden unterschied. In der vorliegenden Studie sollten bevorzugt Unterdosierungen nachgewiesen werden, so dass der p-Wert für den einseitigen Test 0,46 betrug. Mit einem Signifikanzniveau von 0,025 bei einem konfirmatorischen Test pro Analyt überschritten die ermittelten AUC-Werte die Grenze von 125 Stunden im Mittel nicht signifikant. Die Antibiotikakonzentration war nicht ausreichend, um die Grenze der AUC von 125 Stunden signifikant überschreiten zu können. Die Ergebnisse des durchgeführten t-Test sind für Ciprofloxacin in Tabelle 55 aufgeführt.

Tabelle 55: T-Test für Mittelwertsdifferenzen von Ciprofloxacin.

	Anzahl der Messwerte	Mittelwert [h]	Standard- Abweichung [h]	Standard- fehler des Mittelwertes
AUC	19	123,47	61,15	14,03

		Testwert = 125 Stunden				
	T ^a	df ^b	Signifikanz (zweiseitig)	Mittlere Differenz	95 % Konfidenzintervall der Differenz	
					Untere Grenze	Obere Grenze
AUC	-0,109	18	0,915	-1,526	-31	27,95

^a Teststatistik des t-Werts

^b Anzahl der Freiheitsgrade

In einem Test auf die Binomialverteilung der Stichprobe wurde die Nullhypothese getestet. Als Nullhypothese wurden für Ciprofloxacin AUIC-Werte ≤ 125 Stunden angenommen Tabelle 56.

Tabelle 56: Berechnung des Pearson-Clopper für Ciprofloxacin.

Nullhypothese	Test	Signifikanz	Entscheidung
Die durch $AUIC \leq 125$ und > 125 definierten Kategorien treten mit den Wahrscheinlichkeiten 0,5 und 0,5 auf.	Test auf Binomialverteilung einer Stichprobe	1,000 ¹	Nullhypothese beibehalten

Asymptotische Signifikanz werden angezeigt. Das Signifikanzniveau ist 0,05 .

¹ Für diesen Test wird die exakte Signifikanz angezeigt.

Konfidenzintervall	Parameter	Schätzer	95 % Konfidenzintervall	
			Minimum	Maximum
Erfolgsrate der Binomialverteilung einer Stichprobe (Clopper-Pearson)	Wahrscheinlichkeit ($AUIC \leq 125$)	0,53	0,29	0,76

Für Ciprofloxacin lag bei einer berechneten Untergrenze von 0,29 und einer Obergrenze von 0,76 der wahre Wert unterdosierter Patienten mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % zwischen 29 - 76 % des Patientenkollektivs.

Für das Kollektiv wurde die Nullhypothese beibehalten. Die Plasmaspiegel waren nicht ausreichend, um therapeutisch optimale Spiegel zu erzielen.

5 Diskussion

5.1 Validität der Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Plasmaproben

Für die simultane Bestimmung der Antibiotika in Plasma- und Dialysatproben wurde eine HPLC-Methode mit vorheriger Festphasenextraktion entwickelt. Die Ergebnisse der Methodvalidierung zeigen, dass die verwendete Festphasenextraktions- und HPLC-Methode zum Nachweis der untersuchten Antibiotika aus biologischen Matrices geeignet ist. Von Vorteil sind der geringe Aufwand in der Probenvorbereitung und die kurze Analysedauer der Proben für die gleichzeitige Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin sowohl in Plasma als auch in Dialysat. Für die Einzelbestimmung von Piperacillin (120;124;135-139) und Ciprofloxacin (140-146) sind Methoden beschrieben. Dabei werden die Antibiotika durch Proteinfällung (124;136;140;141;145;146), Flüssig-Flüssig-Extraktion (138;143;144), Filtration (147) oder Festphasenextraktion (120;139;142) von Plasmabestandteilen getrennt.

Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war die Entwicklung einer Analysenmethode zur simultanen Bestimmung der Antibiotika. Für diesen Zweck wurde die Methode von Arzuaga et al. weiterentwickelt (124). Mit der von Arzuaga et al. beschriebenen Proteinfällung und der sich anschließenden direkten Injektion des Überstands, konnten die beiden Analyten nicht gleichzeitig bestimmt werden. Die simultane Bestimmung von Ciprofloxacin und Piperacillin wurde durch die von Denooz und Charlier beschriebene Probenaufbereitung mit einer externen Festphasenextraktion (SPE) möglich (120). Die Kombination beider Methoden ermöglicht die gleichzeitige quantitative Analyse der beiden ausgewählten Antibiotika aus biologischen Matrices innerhalb von vierzig Minuten.

Mit einer SPE über Säulenkartuschen können Antibiotika von anderen Bestandteilen der Matrix getrennt und auf der Säule angereichert werden (120;139;142). Gegenüber der Flüssig-Flüssig-Extraktion zeichnen sich die SPE-Methoden durch niedrige Nachweisgrenzen der Analyten, eine schnelle Probenvorbereitung sowie durch einen geringeren Verbrauch an organischen Lösungsmitteln aus (138;139;148). Die Methode von Denooz und Charlier wurde für die Bestimmung von fünf verschiedenen β -Lactam-Antibiotika entwickelt (120). Wie die vorliegende Arbeit zeigt, ist mit der Methode auch die Bestimmung von Ciprofloxacin möglich. Mit der kombinierten Methode können zwei verschiedene Antibiotika-Substanzklassen gleichzeitig von Plasmabestandteilen getrennt und anschließend analysiert werden.

Die externe Festphasenextraktion wurde anderen bereits publizierten Methoden der Probenaufreinigung aus verschiedenen Gründen vorgezogen. Trittler et al. beschreiben eine Methode der On-Line-Festphasenextraktion für Piperacillin und Tazobactam. Diese Methode kombiniert die Probenaufreinigung aus Plasma auf präparativen Vorsäulen durch eine integrierte Säulenschaltung (148). Mit einem geringeren Arbeitsaufwand in der Probenvorbereitung, einer Steigerung der Arbeitssicherheit durch den geringeren Kontakt zu infektiösem Material sowie durch eine niedrigere Wahrscheinlichkeit des Verlusts von Analyten während der Aufreinigungsschritte hat die Methode Vorteile gegenüber externen Festphasenextraktionen. Allerdings ist wegen des großen apparativen Aufwands von mehreren Pumpen und den zusätzlichen Kosten, die durch den hohen Verbrauch präparativer Vorsäulen in der Probenaufreinigung verursacht werden, eine SPE über externe Kartuschen vorzuziehen. Im Vergleich zu der Methode von Trittler et al., in der jeweils eine Probe vor ihrer Analyse online aufgereinigt wird, können mit der externen SPE gleichzeitig bis zu zehn Proben behandelt werden (148). Bei zehn Patientenproben reduziert sich somit die Analysezeit um zwei Stunden. Durch die einmalige Aufreinigung der Proben innerhalb von 40 Minuten und der sich anschließenden Analysezeit von 200 Minuten beträgt die durchschnittliche Analysezeit pro Probe circa 22 Minuten im Vergleich zu einer Laufzeit von 35 Minuten in der Methode von Trittler et al. (148).

In der UMM-Studie wurde jede Patientenprobe dreifach analysiert. Die Mittelwerte aus drei Bestimmungen wurden zur Erstellung der Konzentrations-Zeit-Kurven verwendet. Pro Patient betrug die Dauer der Analyse der Plasmaproben insgesamt 14 - 15 Stunden. Darin inbegriffen sind 40 Minuten für die Festphasenextraktion und 840 Minuten für die Analyse bei 9 Plasmaproben, einem Blank (Methanol), einer Zero-Probe (Methanol mit internem Standard) und drei Qualitätskontrollstandards.

Blank-Proben wurden in jeden HPLC-Lauf integriert. Qualitätskontroll-Proben und Zero-Proben wurden aus wirtschaftlichen Gründen nur bei sechs Patienten bestimmt. Dieses Vorgehen erwies sich als gerechtfertigt, da bei den sechs Patienten mit QK-Standards alle Grenzwerte der Richtigkeits- und Genauigkeitsprüfung erfüllt wurden. Bei den integrierten Blank-Proben wurden keine Verschleppungen der Analyten oder des internen Standards registriert.

Die Zuverlässigkeit der Methode bei akzeptablem Aufwand macht sie für ein routinemäßiges TDM geeignet. Dieses wird für Patienten in einer Sepsis oder einem septischen Schock in der Surviving Sepsis Campaign auch empfohlen (149). Die Analyse eines Talspiegels vor der nächsten Antibiotikagabe ist für zeitabhängig wirkende Antibiotika ausreichend, um die Dosierungen anpassen zu können. Die Ergebnisse könnten zeitnah, innerhalb weniger Stunden erstellt und an den behandelnden Arzt übermittelt werden. Somit kann die Dosisanpassung bereits bei der nächsten Gabe erfolgen.

Bei konzentrationsabhängigen Antibiotika wie Ciprofloxacin ist die AUC für die Abschätzung der Wirksamkeit des Antibiotikums entscheidend (95). Die Berechnung der AUC erfordert das Sammeln mehrerer Plasmaproben über ein Applikationsintervall von 12 Stunden. Die Analyse von 8 bis 10 Proben erfordert 3 bis 4 Stunden Zeitaufwand. Eine Dosisanpassung für Ciprofloxacin kann erst am Tag nach dem TDM erfolgen. Bei Patienten in einer Sepsis ist eine adäquate Antibiotikatherapie in den ersten Stunden für den Krankheitsverlauf entscheidend, so dass insbesondere für Ciprofloxacin eine ausreichend hoch dosierte Initialtherapie notwendig ist (149).

Die Kalibrationsgerade von Piperacillin ist innerhalb des therapeutischen Konzentrationsbereichs von 30 mg/l bis 500 mg/l linear. Für Ciprofloxacin entspricht dies einem linearen Bereich zwischen 0,5 mg/l bis 10 mg/l mit einer Nachweisgrenze (LOQ) von 0,5 mg/l. Die Linearität wird durch die Korrelationskoeffizienten der Kalibrationsgeraden bestimmt. Diese weisen mit einem $r^2 \geq 0,99$ sehr gute Werte auf. Für Piperacillin wurden während der klinischen Studie Spitzenkonzentrationen von 490 mg/l gemessen. Für Ciprofloxacin betrugen diese 10 mg/l. Die gemessenen Minimalkonzentrationen der beiden Analyten betrugen 11 mg/l für Piperacillin und 0,33 mg/l für Ciprofloxacin. Während die Maximalkonzentrationen innerhalb des validierten Bereich liegen, befinden sich die Minimalkonzentrationen in wenigen Fällen außerhalb des validierten Bereichs. Für die Bestimmung von Piperacillin als zeitabhängiges Antibiotikum ist jedoch nur das Unterschreiten der vierfachen MHK klinisch relevant. Bei Ciprofloxacin fließt die Minimalkonzentration von 0,33 mg/l zwar in die Flächenberechnung der AUC ein, jedoch wird der berechnete Wert der AUC durch einen zu niedrigen Wert der C_{\min} nicht klinisch relevant verändert. Bei beiden Kalibrationsgeraden handelt es sich um Ursprungsgeraden, so dass davon ausgegangen werden kann, dass die berechneten Konzentrationen den tatsächlichen Konzentrationen entsprechen.

Die Abweichungen in der Prüfung auf Richtigkeit und Genauigkeit entsprechen sowohl für die Inter- als auch für die Intraday-Messungen den Vorgaben der Guidline on Bioanalytical Method Validation (125). Die Qualitätskontroll-Standards erfüllen die Grenzwerte von $\pm 15 \%$ des theoretischen Gehalts. Die Standards der unteren Nachweisgrenze erfüllen die Vorgaben von $\pm 20 \%$ des theoretischen Gehalts. Im Vergleich zu der ursprünglichen Methode sind die Abweichungen in der Genauigkeit und Richtigkeit (6,6 % versus 13 %) größer (124). Die größere Streuung der Werte könnte durch den zusätzlichen Aufreinigungsschritt der externen Festphasenextraktion begründet sein.

Die Plasmaproben können vor der Festphasenextraktion mit Wasser verdünnt werden ohne die Grenzwerte der Genauigkeits- und Richtigkeitsprüfung zu überschreiten. Sowohl die Werte der Richtigkeit als auch die der Genauigkeit liegen in dem geforderten Bereich von $\pm 15 \%$.

Während der Validierung wurden jeweils fünf Plasmaproben mit und ohne Analyt miteinander verglichen, wobei keine Interferenzen mit den Plasmabestandteilen gefunden wurden. Während der Studie wurden bei der Bestimmung von Piperacillin keine Interferenzen detektiert, wohingegen die Peaks der Ciprofloxacin-Bestimmung der Probanden 1 und 23 bei einer Wellenlänge von 280 nm durch Interferenzen überlagert wurden. Die jeweiligen Chromatogramme konnten bei 315 nm ohne Interferenzen ausgewertet werden. Bei allen Patienten umfasste die Medikation eine vergleichbare Analgosedierung, Antikoagulation, Protonenpumpenhemmer und Sepsistherapie. Abweichend von der üblichen Medikation wurde bei Patient 1 eine bestehende H1N1-Infektion mit Oseltamivir (Tamiflu®) behandelt. Patient 23 wurde neben den Standardmedikamenten mit Colistimethat-Natrium (Colistin CF®) und Ocreotid (Sandostatin®) behandelt. Die Resorption von inhalativ appliziertem Colistimethat ist nach der Fachinformation sehr gering (150), trotzdem könnte es zu Interferenzen zwischen Colistimethat-Natrium, seinen Hydrolyseprodukten und Ciprofloxacin gekommen sein (151).

Nach den Angaben von Arzuaga et al. (124) und Denooz und Charlier (120) können die Plasmaproben für zwei Monate bei -20 °C gelagert werden. Die Lagerung von Piperacillin-Plasmaproben bei 4 °C ist laut Literatur für einen Tag möglich (120;124). Diese Angaben bestätigen sich in den eigenen Untersuchungen.

Die Ciprofloxacin-Plasmaproben können ebenfalls für zwei Monate bei -20 °C gelagert werden (Tabelle 24). In der Studie von Watabe et al. (146) wurden bei ciprofloxacinhaltigen Plasmaproben nach einer Lagerung bei -20 °C über drei Monaten keine signifikanten Gehaltsunterschiede nachgewiesen. Lediglich die Konzentration eines Ciprofloxacin-Standards stieg isoliert an (146). Dieses Phänomen wurde auch in der Studie von de Smet et al. beschrieben (141) und auch in der vorliegenden Studie beobachtet. Mit einer hohen relativen Standardabweichung von 10 % könnten Messungenauigkeiten des Standards der Grund für die Abweichung sein. Bei einer zulässigen Abweichung von ± 15 % liegt der Wert innerhalb der vorgegebenen Grenzwerte.

Die aus der Validierung erhaltenen Ergebnisse der Einfrier- und Auftau-Zyklen sind mit denen von Arzuaga et al. vergleichbar. Innerhalb von zwei Zyklen beträgt die Abweichung vom theoretischen Gehalts für Piperacillin maximal 11 % während diese bei Arzuaga et al. maximal 6 % ausmacht (124) (Tabelle 27).

In der Studie von de Smet et al. verändert sich der Gehalt von Ciprofloxacin eines niedrigen (0,06 mg/l) und eines mittleren Standards (1,2 mg/l) nicht, wohingegen der Gehalt eines hohen Standards (7,2 mg/l) auf $7,55 \pm 0,19$ mg/l ansteigt (141). Die Stabilitätsuntersuchungen von Watabe et al. zeigen, dass die Konzentrationen der niedrigen Standards sinken, wohingegen ein Standard von 16 mg/l nach drei Zyklen einen höheren Gehalt von 16,12 mg/l aufweist (146). In der UMM-Studie unterschreitet der

Gehalt mit $79 \pm 6,9$ % nach zweimaligem Einfrieren die vorgegebenen Grenzwerte wohingegen der hohe Qualitätskontrollstandard die Vorgaben mit 88 ± 6 % erfüllt. Die Proben können nach diesen Ergebnissen nur einmal eingefroren werden (Tabelle 28).

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die etablierte HPLC-Methode mit externer Phasenextraktion die zuverlässige und schnelle Analyse beider Antibiotika ermöglicht. Die Probenaufreinigung der Analyten in einem Arbeitsschritt reduziert die Materialkosten und verkürzt die Analysezeit der Analyten. Durch die simultane Bestimmung der Substanzen können die Ergebnisse des Therapeutischen Drug Monitorings schnell den behandelnden Ärzten mitgeteilt werden.

5.2 Validität der Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Dialysatproben

Die etablierte Methode für die Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Dialysatproben erfordert im Unterschied zu der Bestimmung der Analyten in Plasmaproben keinen Aufreinigungsschritt. Die Grenzwerte der Guideline on Bioanalytical Method Validation wurden bei der Validierung berücksichtigt (125).

Mit einem Korrelationskoeffizienten von $r^2 \geq 0,99$ sind die Kalibrationsgeraden linear. Die Konzentrationen von Piperacillin und Ciprofloxacin weichen in der Bestimmung der Genauigkeit um maximal 6,3 % von der theoretischen Konzentration ab. Die Bestimmung der Richtigkeit ergibt für die untersuchten Antibiotika maximale Abweichungen von 9,3 %. In der Studie von Arzuaga et al. entsprechen die Abweichungen 3,0 % in der Richtigkeit und 3,8 % in der Genauigkeit (124). Im Vergleich zu der Bestimmung der Plasmaproben können die geringeren Abweichungen der Dialysat-Konzentrationen durch die direkte Injektion der Proben ohne Festphasenextraktion begründet werden.

Mit Abweichungen des Gehaltes von ≤ 1 % in der Bestimmung von Richtigkeit und Genauigkeit bleiben die Dialysatproben mit Piperacillin über einen Zeitraum von zwei Monaten stabil. Im Unterschied dazu weicht der Gehalt in der Studie von Arzuaga et al. nach zwei Monaten um 7,1 % in der Genauigkeit und um 4,1 % in der Richtigkeit ab. Die unterschiedlichen Abweichungen können durch Messungenauigkeiten und unterschiedliche Lagerungsbedingungen, wie verschiedene Materialeigenschaften der verwendeten Vials, unterschiedliche Lichtverhältnisse oder Temperaturschwankungen während der Lagerung, resultieren. Beide Studien erfüllen die Vorgaben der EMA Guideline on bioanalytical method validation von ± 15 % (125)

Die Stabilitätsuntersuchungen von Ciprofloxacin in Dialysatproben zeigen, dass Ciprofloxacin in diesem Milieu nicht stabil ist (Tabelle 32). Bereits nach einem Monat unterschreitet der Gehalt die Grenze von 85 %. Mehrwertige Kationen wie Magnesium in den Dialysatlösungen können zu einer Komplexbildung mit Ciprofloxacin führen (82). Die Anwesenheit dieser polyvalenten Kationen kann die Stabilität von Ciprofloxacin verringern (152).

Während der Gehalt des Standards mit einer Konzentration von 1 mg/l auch nach zwei Monaten ≥ 90 % der Ausgangskonzentration entspricht, beträgt der Gehalt für den Qualitätskontrollstandard der Konzentration 8 mg/l nach einem Monat ≤ 70 %. Beide Standards wurden unter den gleichen Bedingungen hergestellt und gelagert. In der Literatur finden sich keine entsprechenden Stabilitätsuntersuchungen, so dass die Ergebnisse nicht mit anderen Studien zu Dialysatproben verglichen werden können. Die Ergebnisse der Validierung der Plasmaproben anderer Studien zeigen teilweise isoliert ansteigende Konzentrationen einzelner Standards (141;146).

Die Analyse der Dialysatproben sollte unmittelbar nach der letzten Probenentnahme erfolgen. Über einen Zeitraum von 24 Stunden sind die Proben der Analyten bei 4 °C stabil (Tabelle 34). Die Abweichungen in der Genauigkeit ($\leq 2,5 \%$) und in der Richtigkeit ($\leq 1 \%$) liegen innerhalb der Grenze von $\pm 15 \%$ (125).

Beide Analyten sind nach mehrmaligen Einfrieren und Auftauen stabil (Tabelle 35, Tabelle 36). Nach dem zweiten Zyklus entspricht der Gehalt der Piperacillin-Proben $\geq 95 \%$ bei einer Abweichung der Genauigkeit von $\leq 1 \%$. Die Ergebnisse sind mit denen von Arzuaga et al. vergleichbar (124). Für Ciprofloxacin betragen die Abweichungen nach dem zweiten Zyklus 14 % in der Richtigkeit sowie 3,1 % in der Genauigkeit. Die Grenze von $\pm 15 \%$ ist eingehalten (125).

Die beiden Antibiotika können aus Dialysatproben zuverlässig bestimmt werden. Während die Dialysatproben die Piperacillin enthalten über einen Zeitraum von zwei Monaten tiefgekühlt aufbewahrt werden können, sollten die ciprofloxacinhaltigen Proben so schnell wie möglich analysiert werden. Durch die Versuche der Einfrier-Zyklen kann für die Ciprofloxacin Proben eine Stabilität von 48 Stunden vorausgesetzt werden, da die Proben zwischen den Zyklen für mindestens zwölf Stunden eingefroren wurden. Der Gehalt der Proben entspricht nach beiden Zyklen den Vorgaben der EMA Guideline on bioanalytical method validation (125). Proben beider Analyten können für mindestens 24 Stunden bei 4 °C aufbewahrt werden.

5.3 Klinische Studie zur Untersuchung der Pharmakokinetik von Piperacillin und Ciprofloxacin bei Intensivpatienten mit CVVHD oder CVVHDF

Die Pharmakokinetik der Antibiotika ist bei kritisch kranken Patienten gegenüber normalen Patienten stark verändert. Der Ausfall von Organfunktionen wie dem akuten Nierenversagen, aber auch ein begleitendes Leberversagen beeinflussen die Metabolisierung sowie die Ausscheidung der Arzneistoffe. Diese wird durch den Blut- und Dialysatfluss, die Ultrafiltration sowie den verwendeten Filter des Nierenersatzverfahrens bestimmt. Weitere patientenindividuelle Faktoren die beitragen sind Ödeme, ein veränderter pH-Wert des Blutes, eine geringere Plasmaeiweißbindung durch geringere Mengen an Albumin und die reduzierte Muskelmasse der Intensivpatienten (115).

5.3.1 Patientenkollektiv

Von den 24 in die UMM-Studie eingeschlossen Patienten erhielten 21 eine Antibiotikatherapie mit Piperacillin und 20 eine Therapie mit Ciprofloxacin. 17 Patienten erhielten die Kombination beider Antibiotika. Die Zahl der eingeschlossenen Patienten ist damit größer als in bisher publizierten Studien (102;107-112;114-117). Die entsprechenden Studien mit Piperacillin sind in Tabelle 57 und mit Ciprofloxacin in Tabelle 58 dargestellt. Der durchschnittlich ermittelte Apache II Score von $29 \pm 7,5$ Punkten ist mit dem Patientenkollektiv anderer Studien vergleichbar (109;110;116). Einige Studien beinhalten Patienten mit deutlich niedrigeren Apache II Scores (111;115). Das Durchschnittsalter von 64 ± 12 Jahren der Patienten entspricht dem anderer Studien (112;115). Die Ergebnisse wurden wegen der Fallzahlplanung für Patienten mit CVVHD und CVVHDF zusammen ausgewertet, obwohl es verfahrensspezifische Unterschiede zwischen den Nierenersatzverfahren gibt (104-106). Bei den drei mit CVVHDF behandelten Patienten fielen keine signifikanten Unterschiede in der Pharmakokinetik im Vergleich zum restlichen Patientenkollektiv auf (siehe Tabelle 42 und Tabelle 43).

Tabelle 57: Übersicht über Patientenkollektive mit CVVHD und CVVHDF und einer Antibiotikatherapie mit Piperacillin.

Autor und Publikationsjahr	Patienten-Anzahl	Verfahren	Filter	Oberfläche	Blutfluss	Dialysat-fluss	Ultra-filtration	Substitutat	Alter		Gewicht		Apache II Score	
				[m ²]	[ml/min]	[l/h]	[ml/h]	[ml/h]	[Jahre]	SD	[kg]	SD	[Pkt]	SD
UMM062010FS Valtonen 2001 (107)	18	CVVHD	Polysulfon	1,8	100 - 150	2 - 2,4	100 - 450	-	64	± 12	89	± 28	29	± 7,5
	3	CVVHDF	Polysulfon	1,8	100 - 150	1,6 - 2,7	100 - 400	700 - 800	64	± 12	89	± 28	29	± 7,5
	6	CVVHDF	Polysulfon	0,7	100	1	800	-	54	± 13	90	± 12	-	-
	6	CVVHDF	Polysulfon	0,7	100	2	800	-	54	± 13	90	± 12	-	-
Seyler 2011 (112)	16	CVVH/HDF	AN 69	-	150	-	26,6 ^a	-	62	± 16	-	-	-	-
Mueller 2002 (117)	8	CVVHD	AN 69	-	150	1,5	80 - 200	-	-	-	-	-	-	-

^a Bezogen auf ein Körpergewicht von 70 kg

- keine Daten vorhanden

Tabelle 58: Übersicht über Patientenkollektive mit CVVHD und CVVHDF und einer Antibiotikatherapie mit Ciprofloxacin.

Autor und Publikationsjahr	Patienten-Anzahl	Verfahren	Filter	Oberfläche	Blutfluss	Dialysat-fluss	Ultrafiltration	Substitutat	Alter		Gewicht		Apache II Score	
				[m ²]	[ml/min]	[l/h]	[ml/h]	[ml/h]	[Jahre]	SD	[kg]	SD	[Pkt]	SD
UMM062010FS	18	CVVHD	Polysulfon	1,8	100 - 150	2 - 2,4	100 - 450	0	64	± 12	89	± 28	29	± 7,5
	2	CVVHDF	Polysulfon	1,8	100 - 150	1,6 - 2,7	100 - 400	700 - 800	64	± 12	89	± 28	29	± 7,5
Spooner 2011 (116)	7	CVVHDF	AN 69HF	-	200	1 - 2	2000	3,35	58	± 17	-	-	27	± 1,7
Malone 2001 (110)	5	CVVHDF	AN 69HF	0,6	150	0,8 - 1	540 - 1440	-	47	± 18	97	± 16	28	± 5
Utrup 2010 (114)	1	CVVHDF	AN 69HF	-	100 - 130	1	1250 - 1500	-	45	-	185	-	-	-
Wallis 2001 (115)	6	CVVHDF	AN 69HF	-	200	1 - 2	-	-	62	± 12	82	± 26	19	± 7
Davies 1992 (113)	11	CVVHD	AN 69S	0,43	100 - 150	1 - 2	-	-	-	-	-	-	-	-

- keine Daten vorhanden

5.3.2 Auswahl der Studienarzneimittel

Die Antibiotikakombination von Piperacillin/Tazobactam und Ciprofloxacin wurde aus den folgenden Gründen für die UMM-Studie gewählt. In der Empfehlung der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie wird zur Therapie der Sepsis bei unbekannten Erregern und einer nosokomialen Infektion eine Kombination aus Acylaminopenicillin/ β -Lactamase-Inhibitor und einem Fluorchinolon empfohlen (62). Nach der Surviving Sepsis Campaign soll eine initial kalkulierte Therapie mit einem Breitspektrumantibiotikum, bei Verdacht auf eine *Pseudomonas aeruginosa*-assoziierte Sepsis mit einer Kombinationstherapie, erfolgen (149). Da die Behandlung des septischen akuten Nierenversagens mit einem Nierenersatzverfahren den Hauptaufnahmegrund in die UMM-Studie darstellt und die optimale Antibiotikatherapie dieser Patienten besonders wichtig ist, wurde die Kombinationstherapie Piperacillin/Tazobactam und Ciprofloxacin in der Studie untersucht. Aufgrund ihrer unterschiedlichen Pharmakodynamik war die Kombination aus dem zeitabhängig wirkenden Piperacillin und dem konzentrationsabhängigen Ciprofloxacin für die Untersuchung interessant. Auch die Auswirkungen unterschiedlicher medikamentenspezifischer Faktoren, wie die Lipophilie von Ciprofloxacin und die Hydrophilie von Piperacillin, konnten in der Studie bei Intensivpatienten mit kontinuierlichen Hämodialyseverfahren untersucht werden.

5.3.3 Angewandte Nierenersatzverfahren

In die UMM-Studie wurden Patienten mit kontinuierlicher Hämodialyse (CVVHD) und mit kontinuierlicher Hämodiafiltration (CVVHDF) als Dialyseverfahren eingeschlossen. Von den 24 Patienten wurden 21 mit einer CVVHD und 3 Patienten mit einer CVVHDF behandelt. Die Pharmakokinetik der beiden Antibiotika wurde bisher nur in wenigen Studien mit einer kontinuierlichen Hämodialyse untersucht. Nur eine publizierte Studie beschreibt die Pharmakokinetik von Piperacillin bei einer kontinuierlichen Hämodialyse. Diese Studie hat mit acht eingeschlossenen Probanden eine geringe Fallzahl und es wurde eine andere Filtermembran eingesetzt (117). In den anderen Studien wurde eine CVVH oder eine CVVHDF als Dialyseverfahren verwendet. Aufgrund der unterschiedlichen Eliminationseigenschaften der Verfahren kann man die Ergebnisse der bisher publizierten Studien nicht ohne weiteres auf die kontinuierliche Hämodialyse übertragen (102;107-112;114-116).

Die bei der kontinuierlichen Hämodialyse verwendeten Einstellungen des Blut- (100 – 150 ml/min) und Dialysatflusses (2 – 2,4 l/h) waren bei allen in die Studie eingeschlossenen Patienten ähnlich. Die Flüssigkeitsbilanz der Patienten wurde über die Ultrafiltration reguliert. Die verwendeten Blutflüsse sind mit denen anderer Studien vergleichbar (100 – 150 ml/min) (107-112;114-117). Die Ultrafiltrationsflüsse (100 – 450 ml/h) sind geringer als in anderen Studien mit CVVH und CVVHDF, in denen Ultrafiltrationsflüsse von bis zu 2650 ml/h eingestellt wurden (111). Mit einer

Ultrafiltration von 80 – 200 ml/h entsprechen die verwendeten Einstellungen denen einer Studie in der die Elimination von Piperacillin bei einer CVVHD untersucht wurde (117). Die unterschiedlichen Einstellungen in den Ultrafiltrationsflüssen resultieren aus den unterschiedlichen Arbeitsweisen der Dialyseverfahren. Während bei der CVVH die Effektivität der Blutreinigung über den Blutfluss und die Ultrafiltration geregelt wird, wird bei der CVVHD vorwiegend der Flüssigkeitsentzug über die Ultrafiltration gesteuert. Die Blutreinigung erfolgt über die im Gegenstrom fließende Dialyseflüssigkeit. Bei der CVVHDF werden beide Prinzipien kombiniert. Aufgrund einer Studie von Ronco et al. aus dem Jahr 2000, in der das Überleben der Patienten mit CVVH mit dem Ultrafiltrationsfluss korrelierte, wurde das Austauschvolumen (Dialysierflüssigkeits- oder Substitutionslösungsfluss) der CVVH von 20 ml/h/kg auf 35 ml/h/kg erhöht (153). Seit 2009 wurde die Intensität der Nierenersatzverfahren aufgrund neuer Studien, wie der von Bellomo et al. (154), wieder auf ein Austauschvolumen von 25 ml/h/kg reduziert. Dieses Austauschvolumen von 25 ml/h/kg wurde auch in der UMM-Studie verwendet. Die variierenden Einstellungen der Verfahren führen zu unterschiedlichen Dosierungsempfehlungen der Antibiotika (Tabelle 11, Tabelle 12).

Die in der UMM-Studie verwendeten Polysulfonfilter mit einer Oberfläche von 1,8 m² sind für die Elimination der Analyten mitentscheidend. Dieses Filtermaterial wurde auch in anderen Studien verwendet, allerdings war die Filteroberfläche wesentlich geringer (0,5 m² bis 0,7 m²) (102;107;108). Für Piperacillin wurde eine bessere Permeabilität durch Polysulfonfilter mit einer Oberfläche von 1,15 m² als durch Polyacrylnitrilfilter (AN69) mit einer Oberfläche von 0,9 m² gezeigt (56). Ob das Membranmaterial oder die größere Oberfläche der Polysulfonfilter für die bessere Permeabilität von Piperacillin verantwortlich ist, ist nicht bekannt. Auch kann eine Adsorption von Piperacillin an die Polyacrylnitrilfilter nicht ausgeschlossen werden (56).

Für andere Antibiotika wie Ceftazidim konnte die Adsorption am Filtermaterial nicht nachgewiesen werden (57). In einem Vergleich der Adsorption von Levofloxacin an Polyacrylnitril- und Polyamidfilter wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den Filtern gezeigt. Die verwendeten Polyacrylnitrilfilter mit einer Oberfläche von 0,6 m² adsorbierten 16 % des injizierten Levofloxacins. Für Filter mit einer Oberfläche von 1,6 m² berechnen die Autoren eine Adsorption von bis zu 40 % der Dosis (53).

Die Ergebnisse der UMM-Studie können mit denen anderer Studien nur eingeschränkt verglichen werden. Die unterschiedlichen verfahrensspezifischen Faktoren, insbesondere die Art und die Intensität des Nierenersatzverfahrens beeinflussen die Elimination der Antibiotika. Die in der UMM-Studie verwendeten Filter haben eine größere Oberfläche als die bisher in Studien untersuchten Filter. Adsorptionsprozesse an die verwendeten Filter sind für Piperacillin und Ciprofloxacin nicht bekannt.

5.4 Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Piperacillin bei Patienten mit CVVHD/CVVHDF

Bei der Betrachtung der Plasmaspiegel ist für zeitabhängige Antibiotika das Zeitintervall entscheidend, in der die Konzentration von Piperacillin den vierfachen Wert der MHK übersteigt (155-157). Dieser Konzentrationsbereich soll während des kompletten Dosierungsintervalls erreicht werden (67;158). Wie in Abbildung 28 dargestellt ist, variieren die Konzentrations-Zeit-Verläufe patientenindividuell stark. Von den 21 in die Studie eingeschlossenen Patienten erreichen lediglich 11 Patienten Plasmaspiegel oberhalb der vierfachen MHK für das komplette Dosierungsintervall (siehe Tabelle 48). Bei 4 der 9 unterdosierten Patienten sind die Plasmaspiegel für mehr als 50 % des Dosierungsintervalls unter der erforderlichen Konzentration. In diesem Patientenkollektiv hatte Patient 4 als einziger Patient eine Eigendiurese von ≥ 600 ml innerhalb von zwölf Stunden. Diese könnte dazu beigetragen haben Piperacillin durch eine zusätzliche renale Elimination schneller auszuscheiden als bei den anderen Studienpatienten. Patient 1 wurde neben dem kontinuierlichen Nierenersatzverfahren mit einer extrakorporalen Membranoxygenierung (ECMO) behandelt. Der zusätzliche Filter könnte die Elimination von Piperacillin durch Adsorptionsprozesse beschleunigt haben. Mit 45 Punkten hat dieser Patient zusätzlich den höchsten Apache II Score der Studienpatienten. Die Patienten 2 und 14 unterscheiden sich in ihren pharmakokinetischen Eigenschaften von den anderen Patienten. Die Pharmakokinetik von Patient 2 weicht mit einer Halbwertszeit von 2,2 Stunden gegenüber dem Gesamtkollektiv ab (7,6 h). Patient 14 hat mit 0,9 l/kg ein signifikant höheres Verteilungsvolumen von Piperacillin als das Gesamtkollektiv (0,3 l/kg) (siehe Tabelle 42).

Vergleichbare Ergebnisse wurden in einer Studie von Selyer et al. berichtet. Dort wurde bei Patienten mit CVVHD/HDF als Zielparameter festgelegt, dass die Plasmakonzentrationen von Piperacillin für 50 % des Dosierungsintervalls oberhalb der vierfachen MHK liegen sollten (112). Die Patienten erhielten alle 6 Stunden 4 g Piperacillin. Obwohl das Dosierungsintervall zwei Stunden kürzer war als in der UMM-Studie, erreichten lediglich 71 % der sechzehn Patienten eine Plasmakonzentration, die zu 50 % oberhalb des angestrebten Zielwertes von 64 mg/l lag. In dieser Studie wurden sowohl Patienten in den ersten zwei Tagen der Antibiotikatherapie, als auch im weiteren Verlauf unter Steady State Bedingungen eingeschlossen. Zwischen den beiden Kollektiven konnte kein Unterschied bezüglich der Plasmakonzentrationen festgestellt werden (112). Die durchschnittlichen Spitzenspiegel lagen mit 138 mg/l deutlich unter den gemessenen Spiegeln der UMM-Studie (249 mg/l) wohingegen die erreichten Talspiegel von 60 mg/l bei einem kürzeren Applikationsintervall vergleichbare Werte mit den vorgelegten Studienergebnissen (58 mg/l) liefern (112). In einer multizentrischen Studie von Roberts et al. erhielten sieben Patienten alle sechs Stunden 4 g Piperacillin. Nur 86 % der Patienten erreichten die geforderten Spiegel oberhalb der vierfachen MHK.

Die Durchschnittskonzentration von Piperacillin betrug 105 mg/l (67). In der UMM-Studie wurden keine Plasmaspiegel von Tazobactam bestimmt, da die in der Studie von van der Werf et al. (109) festgestellte Kumulation von Tazobactam in der Studie von Arzuaga et al. nicht auftrat (111). Eine für die Therapie relevante Unterdosierung von Tazobactam wurde bisher nicht dokumentiert. Aufgrund der großen therapeutischen Breite von Tazobactam erscheint die Einzelmessung von Piperacillin in der Studie gerechtfertigt (84).

Die totale Arzneistoff-Clearance der UMM-Studie ist mit 94 ml/min höher als in den bereits publizierten Studien (107-109;112). Grund dafür ist die verwendete Filteroberfläche die mit 1,8 m² größer ist als in anderen Studien. Die Annahme wird unterstützt durch die Studie von Capellier et al. in der die Elimination von Piperacillin proportional zu den unterschiedlichen Filteroberflächen von 0,5 m² zu 1,8 m² mit 26 ml/min ungefähr einem Drittel der in der vorliegenden Studie gemessenen Clearance entspricht. Das Verteilungsvolumen von 0,28 l/kg ist mit den Ergebnissen anderer Studien (0,29 - 0,44 l/kg) vergleichbar (109;112;117).

In der UMM-Studie beträgt die ermittelte Clearance des Nierenersatzverfahrens mit 27 ml/min weniger als die Hälfte der totalen Arzneistoff-Clearance (siehe Tabelle 45). Mit einer extrarenalen Clearance von 67 ml/min werden zwei Drittel des Arzneistoffs extrarenal eliminiert. Die berechnete Clearance des Nierenersatzverfahrens ist mit der von Mueller et al. beschriebenen Cl_{CVVHD} von 37 ml/min vergleichbar (117). Der Unterschied zwischen einer totalen Clearance von 42 ± 23 ml/min und einer deutlich geringeren Ultrafiltration der CVVH in der Studie von Van der Werf et al. lässt auf alternative Eliminationswege von Piperacillin schließen (109). Untersuchungen der Arzneistoffmenge im Ultrafiltrat wurden in dieser Studie jedoch nicht durchgeführt. In der Studie von Capellier et al. wurden wie in der vorgelegten Studie Polysulfonfilter verwendet. Nur eine geringe Menge des Arzneistoffs konnte im Ultrafiltrat nachgewiesen werden, was den Autoren zufolge auf einen extrarenalen biliären Metabolismus von Piperacillin hinweist (108). Dieser könnte für die höhere totale Clearance von Piperacillin bei Intensivpatienten verantwortlich sein (159;160). Bei nierengesunden Patienten werden nach der Fachinformation von Tazobac EF[®] 68 % des Arzneistoffs im Urin wiedergefunden und die restliche Substanz über die Galle ausgeschieden (133). Aus den Studien ist zu schließen, dass nur ein geringer Anteil der Piperacillin-Dosis über das Nierenersatzverfahren eliminiert wird. Es wurde jedoch nicht untersucht welche Arzneistoffmenge an die Filtermembran gebunden wird. Der Wirkungsmechanismus der Penicilline könnte ebenfalls eine Erklärung für die hohe extrarenale Clearance sein. Mit der Öffnung des β -Lactamrings wird Piperacillin kovalent an das aktive Zentrum der Transpeptidase gebunden (63). Aufgrund des Cut off der Filtermembranen von 30.000 – 50.000 Dalton (52) wird der Komplex aus Transpeptidase und Piperacillin nicht über die Filter eliminiert.

In der UMM-Studie wurde die Dialyseclearance als Quotient der kumulativ ausgeschiedenen Menge eines Sammelintervalls und der dazu korrespondierenden AUC berechnet. Die Probenentnahme erfolgte in Sammelintervallen von drei bis fünf Stunden. Piperacillin ist über dieses Intervall in Dialysat stabil (124). Die berechneten Werte der Clearance des Nierenersatzverfahrens unterliegen jedoch einigen Beschränkungen. Eine Adsorption der Substanzen an das Filtermaterial kann nicht ausgeschlossen werden. Wie in dem Patientenbeispiel von Patient 4 gezeigt wird, kann eine noch vorhandene Restdiurese einen Teil der extrarenalen Elimination ausmachen. Mit Ausnahme dieses Patienten waren jedoch alle anderen Patienten an- oder oligurisch, so dass die renale Clearance bei diesen Patienten zu vernachlässigen ist.

In einigen publizierten Studien wird der Siebkoeffizient (S_c) bei einer kontinuierlichen Hämofiltration und der Sättigungskoeffizient (S_d) bei der kontinuierlichen Hämodialyse berechnet (106;111). Dieser Wert gibt die Fähigkeit einer Substanz an über eine Filtermembran in das Dialysat überzutreten. Hydrophile kleine Moleküle wie Piperacillin können die Membranen in der Regel gut passieren (56). Aufgrund der Probenentnahme in Sammelintervallen und der sich daraus ergebenden geringen Anzahl an Messpunkten wurde der Koeffizient nicht berechnet. Sättigungs- und Siebkoeffizienten von Piperacillin wurden für verschiedene Verfahren und Filtermaterialien in vitro ermittelt. Für die kontinuierliche Hämodialyse mit zirkulierender Humanalbuminlösung und Polysulfonmembranen wurde ein Sättigungskoeffizient von $0,84 \pm 0,17$ ermittelt. Für Acrylnitrilmembranen (AN 69) betrug der Sättigungskoeffizient $0,79 \pm 0,06$ (56). Von einigen Autoren wird der Sättigungskoeffizient mit der nicht an Plasmaeiweiß gebundenen Arzneistofffraktion gleichgesetzt (161-163). In der Studie von Arzuaga et al. korreliert der Siebkoeffizient von Piperacillin ($0,34 \pm 0,25$) jedoch nicht mit dem an Plasmaeiweiß gebundenen Anteil von Piperacillin ($0,78 \pm 0,14$) (111). Bei allen Patienten der UMM-Studie, bei denen Albuminwerte bestimmt wurden, lagen diese unterhalb des Normalbereichs (siehe Tabelle 38). Auch wenn die Plasmaeiweißbindung von Piperacillin (20 – 30 %) und Ciprofloxacin (35 %) gering ist (95;133), werden niedrige Albuminwerte die Filtration der Substanzen durch einen höheren Anteil an freiem ungebundenem Wirkstoff beschleunigen. Andererseits könnte eine gleichzeitige Therapie kritisch kranker Patienten mit Humanalbumin die Elimination der Arzneistoffe verzögern. Von den in die Studie eingeschlossenen Patienten erhielten Patient 9 und 22 eine gleichzeitige Therapie mit Albumin. Die pharmakokinetischen Daten für die Piperacillin Elimination der beiden Patienten geben keinen Hinweis auf eine veränderte Elimination (siehe Tabelle 42).

In Tabelle 59 werden die Mittelwerte pharmakokinetischer Kennzahlen für Patientenkollektive mit CVVHD und CVVHDF bei einer Antibiotikatherapie mit Piperacillin aufgeführt. Im Vergleich ist die Halbwertszeit von Piperacillin in der UMM-Studie mit 7,6 Stunden am längsten, obwohl die totale Arzneistoffclearance mit 94 ml/min am höchsten ist. Die Minimalkonzentration von Piperacillin unterschreitet in allen

aufgeführten Studien die angestrebte MHK von 64 mg/l. Die Minimalkonzentrationen des Konzentrations-Zeit-Verlauf der verschiedenen Studien stehen in einem plausiblen Zusammenhang des jeweiligen Piperacillin-Dosierungsintervalls (Tabelle 11). In der Studie von Valtonen et al. (107) wurde bei einem Applikationsintervall von 12 Stunden eine Minimalkonzentration von 35 – 40 mg/l gemessen wohingegen diese bei einem Applikationsintervall von 6 Stunden in der Studie von Seyler et al. (112) 60 mg/l entspricht. In der UMM-Studie betrug das Dosierungsintervall 8 Stunden und C_{\min} liegt verglichen mit den Dosierungen alle 6 oder 12 Stunden näher zu den Ergebnissen der sechsständigen Gabe.

Tabelle 59: Mittelwerte pharmakokinetischer Kennzahlen für Patientenkollektive mit CVVH und CVVHDF bei einer Antibiotikatherapie mit Piperacillin.

Autor und Publikationsjahr	Patienten-Anzahl	Applikations-Intervall	C_{\min}	$t_{0,5}$	Vd	Cl_{total}
		[h]	[mg/l]	[h]	[l/kg]	[ml/min]
UMM062010FS	18	8	54 ^a	7,6 ^a	0,28 ^a	94 ^a
	3					
Valtonen 2001 (107)	6	12	40	6,7	n.b.	84
	6	12	35	6,1	n.b.	92
Seyler 2011 (112)	16	6	60	4,16	0,44 ^b	81
Mueller 2002 (117)	8	8 - 24	n.b.	4,3	0,31	47

n.b. nicht bekannt

^a Angabe der Mittelwerte von 21 Patienten

^b Bezogen auf ein Körpergewicht von 70 kg

5.5 Antibiotische Effektivität von Piperacillin bei Patienten mit CVVHD/CVVHDF

Die Plasmakonzentration zeitabhängig wirkender Antibiotika sollte für das gesamte Therapieintervall oberhalb der vierfachen MHK der zu erwartenden Bakterien liegen (155;158). Adäquate Plasmaspiegel der Antibiotika sind in der Therapie kritisch kranker Patienten für das Überleben der Patienten entscheidend. Dies belegt eine Studie in der die Antibiotika Cefepim und Ceftazidim untersucht wurden. Die klinische Heilung der Patienten wurde mit der Zeit der Antibiotikakonzentration oberhalb der MHK verglichen. Ein Überschreiten der MHK über das gesamte Therapieintervall führte in 82 % der Fälle zu einer Heilung der Patienten. Bei den Patienten, bei denen die MHK nicht zu 100 % überschritten wurde, konnten nur 33 % der Patienten geheilt werden. Auch die Erradikation der Erreger war mit 97 % verglichen mit 44 % signifikant höher (164).

Die Ergebnisse der UMM-Studie zeigen für annähernd 50 % der untersuchten Patienten ($n = 10$ von 21) zu niedrige Plasmaspiegel in Bezug auf den Zielwert. Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % sind 26 - 70 % der Patienten unterdosiert (siehe Tabelle 50). In vergleichbaren Studien wurden auch für ein Therapieintervall von sechs Stunden Unterdosierungen für einen Teil des Patientenkollektivs ermittelt (67;112). Piperacillin ist ein Arzneistoff mit großer therapeutischer Breite (165), es kann jedoch bei der Verabreichung sehr hoher Dosen zu Enzephalopathien kommen (133). Eine adäquate Antibiotikatherapie, insbesondere bei der Therapie der Sepsis, kann für die Patienten lebensrettend sein. Als Konsequenz daraus sollten die verabreichten Antibiotika im Zweifelsfall besser überdosiert werden als die MHK der Erreger zu unterschreiten. Die gewählte Dosierung leitet sich aus den bisher bekannten Studien ab, erwies sich aber bei dem untersuchten Patientenkollektiv als unzureichend (52;111;166). Ein Grund dafür könnte die totale Arzneistoffclearance von 94 ± 47 ml/min sein, die im Vergleich zu anderen Studien am höchsten ist (siehe Tabelle 59). Die Clearance des Nierenersatzverfahrens entspricht mit 27 ± 13 ml/min weniger als der Hälfte der totalen Clearance. Der Sättigungskoeffizient wurde in der UMM-Studie nicht berechnet. Der Dialyse wird jedoch neben dem an Plasmaeiweiß gebundenen Piperacillin auch der an bakterielle Zielstrukturen gebundene Arzneistoffanteil entzogen. Die geringe Clearance der CVVHD und CVVHDF könnte die Wirksamkeit der Antibiotikatherapie durch die kovalente Bindung von Piperacillin an die Transpeptidasen widerspiegeln. In der Studie von Arzuaga et al. korreliert der Siebkoeffizient von Piperacillin ($0,34 \pm 0,25$) nicht mit dem an Plasmaeiweiß gebundenen Anteil von Piperacillin ($0,78 \pm 0,14$) (111). Die modernen Polysulfonfilter mit einer im Vergleich der Studien größeren Filteroberfläche könnten die Elimination von Piperacillin beschleunigen (siehe Tabelle 11 und Tabelle 57). Auch die Intensität des Nierenersatzverfahrens und der Krankheitsgrad der Patienten können die Elimination beeinflussen. Auf Diffusion beruhende Verfahren wie die CVVHD und CVVHDF eliminieren niedermolekulare

Arzneistoffe wie Antibiotika effektiver als konvektiv arbeitende Verfahren wie die CVVH (104-106).

Trotman et al. empfehlen für die Dosierung von Piperacillin ein sechsstündiges Dosierungsintervall mit einer Dosierung von 2,25 g bis 3,38 g der Kombination aus Piperacillin und Tazobactam (166). In einer Übersichtsarbeit von Pea et al. wird als übliche Dosierung die achtsündige Gabe von 4,5 g Piperacillin/Tazobactam und als höchste Dosierung die sechsstündige Gabe dieser Dosierung angegeben (52). In der Studie von Arzuaga et al. (111) wurden 4 g Piperacillin sechs- oder achtsündig verabreicht. Im Gegensatz zu dieser Studie konnte in der UMM-Studie keine Korrelation zwischen Kreatinin- und Arzneistoffclearance nachgewiesen werden (Tabelle 38, Tabelle 45 und Tabelle 46).

Die Ergebnisse der UMM-Studie zeigen, dass die Plasmaspiegel innerhalb des Patientenkollektivs stark variieren. Nahezu die Hälfte der Patienten (10 von 21) erreicht in der Studie mit einer achtsündigen Gabe von 4 g Piperacillin die Zielvorgaben nicht. Aus diesem Grund sollten die bisherigen Dosierungsempfehlungen geändert werden. Für den Fall, dass kein Therapeutisches Drug Monitoring verfügbar ist, sollte das Dosierungsintervall auf sechs Stunden reduziert oder die Infusionsdauer der Antibiotika verlängert werden.

Eine Verabreichung der Antibiotika als Dauerinfusion (167;168) oder eine verlängerte Infusion über vier Stunden ist in der Literatur beschrieben (156;169). Eine Metaanalyse aus 59 Studien und insgesamt 846 Patienten ergab jedoch keinen Vorteil gegenüber einer intermittierenden β -Lactam-Gabe in Hinblick auf die Mortalität der Patienten. Allerdings konnte die verabreichte Menge des Arzneistoffs bei der kontinuierlichen Infusion reduziert werden (170). In einer Studie wurde die Dosis bei kontinuierlicher Applikation von Piperacillin, bei höheren mittleren Wirkstoffspiegeln im Gewebe, um 25 % des Arzneistoffs reduziert (167).

Die Dauerinfusion der β -Lactam-Antibiotika ist auch mit Nachteilen verbunden. Die Applikation des Antibiotikums erfordert ein eigenes Infusionslumen, während dies bei der Kurzinfusion oder der prolongierten Infusion über vier Stunden nur temporär der Fall ist (169). Bei Patienten, die den Arzneistoff aufgrund einer hohen Clearance schnell ausscheiden, könnten die Plasmaspiegel bei einer Dauerinfusion über das komplette Dosierungsintervall zu niedrig sein, wohingegen diese bei der intermittierenden Gabe zumindest zeitweise über der MHK liegen.

In der Studie von Lodise et al. wurde Piperacillin/Tazobactam entweder als Kurzinfusion über 30 Minuten oder als verlängerte Infusion über vier Stunden in der Dosierung 3/0,375 g verabreicht (169). Anhand einer Monte-Carlo Simulation konnte gezeigt werden, dass mit der verlängerten Infusionszeit die Piperacillinspiegel über einen längeren Zeitraum oberhalb der MHK lagen. In einer sich anschließenden klinischen Studie mit 194

Patienten konnte eine signifikant geringere 14-Tages-Mortalität bei der längeren Infusionszeit nachgewiesen werden.

Bei den in der UMM-Studie genutzten Hämodialyseverfahren sollte entsprechend der Studienergebnisse die Dosierung von Piperacillin auf viermal täglich 4/0,5 g Piperacillin/Tazobactam erhöht werden. Als weitere Therapieoptimierung würden besonders kritisch kranke Patienten mit Nierenersatzverfahren von einem Therapeutischen Drug Monitoring profitieren, da die Pharmakokinetik dieser Patienten sehr variabel ist. Sowohl die kontinuierliche als auch die prolongierte Applikation von Piperacillin stellen Alternativen zu der bisherigen intermittierenden Applikation der Substanz dar. Eine initiale Bolusapplikation von 4/0,5 g Piperacillin/Tazobactam sollte bei jeder Form der späteren Applikation durchgeführt werden.

5.6 Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Ciprofloxacin bei Patienten mit CVVHD/CVVHDF

Das Patientenkollektiv der UMM-Studie entspricht mit 64 ± 12 Jahren und einem durchschnittlichen Gewicht von 89 ± 28 kg dem Patientenkollektiv anderer relevanter Studien (110;115). Der erhobene Apache-II-Score von $29 \pm 7,5$ Punkten ist mit zwei anderen Studien vergleichbar (110;116), wohingegen in der Studie von Wallis et al. Patienten mit niedrigem Score eingeschlossen wurden (115). Die mittlere Halbwertszeit von Ciprofloxacin beträgt 20 Stunden (siehe Tabelle 43). Sie ist länger als bei anderen Studien mit CVVH und CVVHDF (siehe Tabelle 60). In diesen Studien beträgt die Halbwertszeit 7,6 - 14 Stunden (102;110;114-116). Im klinischen Alltag wird eine Steady State-Plasmakonzentration nach fünf Eliminationshalbwertszeiten erwartet. Innerhalb des Patientenkollektivs variieren die Eliminationshalbwertszeiten patientenindividuell stark (Tabelle 43). Berechnet man daraus nach wie vielen Halbwertszeiten die Plasmabestimmungen stattfanden, waren nicht alle Probanden im Steady State. Dieser Umstand könnte für Patient 9 relevant sein, da dieser nach vier Eliminationshalbwertszeiten eine AUC von 119 Stunden aufweist. Die AUC von 125 Stunden könnte nach fünf Halbwertszeiten überschritten werden (Tabelle 54). Auf das gesamte Patientenkollektiv bezogen zeigen die Ergebnisse der Berechnung der AUC keine Korrelation mit der Anzahl der Halbwertszeiten zur Zeit des TDM (Tabelle 54).

Die totale Clearance von 154 ± 107 ml/min ist mit den Ergebnissen in anderen Studien vergleichbar (110;114;116). Es werden aber auch Werte einer totale Clearance von über 200 ml/min berichtet (113;115). Die in der Fachinformation angegebene Gesamtkörperclearance von 480 – 600 ml/kg/h liegt über den in der Studie ermittelten Werten (91). In der Fachinformation werden für Kinder zwischen einem und fünf Jahren Spitzenspiegel von 7,2 mg/l angegeben. Bei entsprechenden therapeutischen Dosen liegen diese im Bereich der Spitzenspiegel erwachsener Patienten (91). Der in der UMM-Studie berechnete durchschnittliche Spitzenspiegel von 5,2 mg/l liegt unterhalb dieser Werte. Auch das in der Fachinformation mit 2 – 3 l/kg Körpergewicht angegebene Verteilungsvolumen im SteadyState ist größer als die in der Studie mit $0,8 \pm 0,4$ l/kg berechneten Werte (91). Die pharmakokinetischen Daten der Studien sind in der Übersicht dargestellt (Tabelle 60).

Tabelle 60: Mittelwerte pharmakokinetischer Kennzahlen für Patientenkollektive mit CVVHD und CVVHDF bei einer Antibiotikatherapie mit Ciprofloxacin.

Autor und Publikationsjahr	Patienten-Anzahl	Applikations-Intervall	AUC ^a	t _{0,5}	Vd	Cl _{total}
		[h]	[h]	[h]	[l/kg]	[ml/min]
UMM062010FS	18	12	124	19,9	0,79	154
	2	12				
Spooner 2011 (116)	7	12	161	14	1,8 ^b	143
Malone 2001 (110)	5	12 - 24	68 - 384	13,4	1,04	34 - 170
Utrup 2010 (114)	1	12	384	7,6	0,56	139
Wallis 2001 (115)	6	8	42 - 110	9,4	1,65	203
Davies 1992 (113)	11	8 - 12	n.b.	6,4	1,95 ^b	264

^a Bezogen auf eine MHK von 0,5 mg/l
n.b. nicht bekannt

Die AUC wurde in der UMM-Studie mit der Trapezregel für das Dosierungsintervall im Steady State bestimmt. Bis zu 20 % des Therapieintervalls wurden entsprechend den Vorgaben der FDA extrapoliert (119). Abweichend davon wurde aus Plausibilitätsgründen bei den Patienten 3 und 15 mit 41 % und 33 % ein größerer Anteil der Kurve extrapoliert (Abbildung 25, Abbildung 26). Sowohl bei Patient 3 als auch bei Patient 15 lag der 12 Stunden Messwert höher als der Vorwert. Die Blutprobe wurden wahrscheinlich erst während oder nach der nächsten Applikation von Ciprofloxacin entnommen. Die gemessenen Werte sind als Artefakte zu werten. Beide Patienten gehören zu den neun Patienten, deren AUC-Werte über dem geforderten Wert von 125 h lagen.

Therapieversagen bei einer Antibiotikatherapie mit Ciprofloxacin entstehen vorwiegend aufgrund einer hohen Minimalen Hemmkonzentration (MHK) der Bakterien, insbesondere von Pseudomonaden (73), aus der geringe AUC-Werte resultieren. Die in der UMM-Studie berücksichtigten MHK-Werte von 0,5 mg/l wurden aus den Vorgaben des European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) für eine kalkulierte Therapie ohne Erregernachweis übernommen (132). In ihrer Empfehlung für eine kalkulierte parenteralen Initialtherapie bakterieller Erkrankungen bei Erwachsenen gibt die Paul-Ehrlich-Gesellschaft die AUC als wichtige pharmakodynamische Rechengröße in der Wirksamkeitsabschätzung von Chinolonen an (62). Spooner et al. untersuchten und berechneten bei kontinuierlicher Hämodiafiltration und zweimal täglich 400 mg Ciprofloxacin eine durchschnittliche AUC von 161 Stunden. Die in der UMM-Studie ermittelte mittlere AUC von 124 h bei Dosierungen von 2 x 200 mg steht in plausiblen Verhältnis (116). Von den zwanzig in die Studie eingeschlossenen Patienten erreichen jedoch nur neun Patienten ausreichend hohe Spiegel. Über die Hälfte der Studienpatienten sind demnach unterdosiert. Den von Forrest et al. beschriebene Zielwert einer AUC > 250 Stunden, der mit einer besseren Erradikation der Pathogene einhergeht, erreicht nur Patient 12 (73). Dieser Patient hatte verglichen mit den anderen Patienten der Studie einen deutlich höheren Ausgangsspiegel der Plasmawerte (siehe Tabelle 43).

Während die Halbwertszeit von 20,8 Stunden nicht von den Halbwertszeiten der anderen Studienteilnehmern abweicht, weist der Patient mit 0,32 l/kg Körpergewicht das kleinste Verteilungsvolumen der Studienteilnehmer auf.

Neben dem akuten Nierenversagen litten fünf Patienten an einem begleitenden Leberversagen. Die von Bellmann et al. (102) vermutete Kumulation von Ciprofloxacin konnte in der vorliegenden Studie, in der nur für Patient 24 erhöhte AUC-Werte berechnet wurden, nicht bestätigt werden.

Die geforderten Werte ≥ 10 des Quotient aus C_{\max} und MHK wurde in neun der zwanzig Fälle nicht erreicht (93;95). Bei drei Patienten ist der errechnete Quotient sogar ≤ 5 . Insgesamt erfüllen nur sechs der zwanzig Patienten sowohl die Grenzwerte von AUC als auch des berechneten Quotienten aus Spitzenkonzentrationen und MHK (siehe Tabelle 52). Beide Parameter besitzen eine gute Korrelation zur klinischen Wirkung von Ciprofloxacin (62). Ein Vorteil des Quotienten aus C_{\max} und MHK besteht darin, dass mit nur einer Blutentnahme nach der Antibiotikainfusion ein TDM durchgeführt werden kann.

5.7 Antibiotische Effektivität von Ciprofloxacin bei Patienten mit CVVHD/CVVHDF

In der UMM-Studie entspricht die Dosierung mit einer zweimal täglichen Gabe von 200 mg Ciprofloxacin den Vorgaben der Fachinformation für Patienten mit einer Kreatinin-Clearance < 30 ml/min oder intermittierender Hämodialyse (91). In den bisher bekannten Studien zur Dosierung von Ciprofloxacin bei Patienten mit kontinuierlichen Nierenersatzverfahren wird eine zweimal tägliche Applikation von 100 mg bis 400 mg vorgeschlagen (102;110;115;116). Die zweimal tägliche Applikation von 800 mg Ciprofloxacin wurde in einen Fallbericht eines schwer kranken adipösen Patienten mit begleitendem Multiorganversagen untersucht (114). Für die CVVHD wird in der Studie von Davis et al. eine dreimal tägliche Gabe von 200 mg Ciprofloxacin empfohlen (113).

Die Zielwerte einer Dosierung von Ciprofloxacin sind die $AUC \geq 125$ oder ein Quotient aus C_{\max} und $MHK \geq 10$ (69;73). Um eine $AUC \geq 100$ zu erreichen, wird in der Übersichtsarbeit von Pea et al. eine Dosierung von 400 mg Ciprofloxacin alle 12 Stunden vorgeschlagen (52). Bei Infektionen mit *Pseudomonas aeruginosa* sollte die Dosierung von Ciprofloxacin 1200 mg/d betragen (171;172). In der einzigen bekannten Studie in der Patienten mit einer CVVHD behandelt wurden, wird eine Dosierungsempfehlung von 200 mg Ciprofloxacin 2 – 3 mal täglich gegeben (113). Die Ergebnisse der UMM-Studie zeigen, dass ein Großteil der Patienten mit der bisherigen Dosierung von 200 mg Ciprofloxacin zweimal täglich nicht ausreichend dosiert ist (siehe Tabelle 52). Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % sind 29 - 76 % der Patienten unterdosiert (siehe Tabelle 56).

Aufgrund des geringen Einflusses des Nierenersatzverfahrens auf die totale Clearance werden von einigen Autoren höhere Ciprofloxacin-Dosierungen empfohlen. Trotman et al. schlagen eine tägliche Dosierung von 600 – 800 mg Ciprofloxacin vor (166). Auch in der Studie von Malone et al. wurde bei Patienten mit CVVHD und CVVHDF eine Clearance des extrakorporalen Verfahrens von nur 17 % berechnet (110). Die durchschnittliche Clearance des eingesetzten Nierenersatzverfahrens entspricht auch in der UMM-Studie nur 16 % der totalen Clearance von 154 ml/min (siehe Tabelle 46). In der Studie von Bellmann et al. wurde bei Patienten mit CVVH nur ein Viertel des Ciprofloxacins durch das Nierenersatzverfahren eliminiert und eine Dosierung von 400 mg 2 mal täglich empfohlen (102). Bei dieser Dosierung wurde in der Studie von Spooner et al. der Zielwert einer $AUC > 100$ h erreicht. Für Patienten mit einer zusätzlich eingeschränkten Leberfunktion wird ein längeres Applikationsintervall vorgeschlagen (116). Die Ergebnisse der UMM-Studie weisen keine signifikant höheren Plasmaspiegel bei Patienten mit zusätzlicher Leberinsuffizienz auf (Tabelle 43). Aussagen zu einer Dosisanpassung bei gleichzeitiger Leberinsuffizienz können aufgrund der geringen Fallzahl nach den vorliegenden Studienergebnissen

allerdings nicht gemacht werden. Da Unterdosierungen der Antibiotika zu Therapieversagen und steigenden Resistenzraten führen, sollte auch in diesem Fall die höhere Dosierung von 2 mal täglich 400 mg Ciprofloxacin gewählt werden.

Um eine $AUC \geq 125$ h bei stark übergewichtigen kritisch kranken Patienten zu erreichen, empfehlen Utrup et al. bei einer kontinuierlicher Hämodiafiltration sogar eine Dosierungen von 2 mal täglich 800 mg (114).

Mit einer Dosierung von 200 mg Ciprofloxacin 2 mal täglich sind in der UMM-Studie 50 % der kritisch kranken Intensivpatienten mit kontinuierlicher Nierenersatztherapie nicht ausreichend therapiert. Die geforderten Werte der AUC werden nicht erreicht. In Übereinstimmung mit anderen klinischen Studien sollten höheren Dosierungen und ein Therapeutisches Drug Monitoring angestrebt werden (166;171). Die Umsetzung des TDM für Ciprofloxacin ist jedoch aufwendig, weil mehrere Blutentnahmen pro Tag notwendig werden, um die AUC berechnen zu können. Als Alternative zur AUC könnte bei einem TDM auch das Verhältnis aus C_{\max} zur MHK berechnet werden. Wenn kein TDM zur Verfügung steht, sollte die Dosierung von Ciprofloxacin für Patienten mit CVVHD und CVVHDF auf mindestens 400 mg Ciprofloxacin 2 mal täglich gesteigert werden.

5.8 Grenzen der Studie

Die in der UMM-Studie gemessenen Antibiotikakonzentrationen wurden aus Plasmaproben bestimmt. Der Wirkstoffspiegel am Ort der Infektion wurde nicht gemessen. Die erhobenen Werte dürfen nur als Näherungswerte der Gewebekonzentrationen betrachtet werden. Bei Patienten mit einer Sepsis oder einem septischen Schock können die gemessenen Antibiotikakonzentrationen durch eine verminderte Durchblutung in den peripheren Geweben stark von den gemessenen Plasmaspiegeln abweichen. Die Gewebekonzentrationen bei Patienten mit einem septischen Schock waren in einer Studie fünf- bis zehnfach niedriger als bei gesunden Patienten (173).

Die Extrapolation von Kurvenverläufen beinhaltet das Risiko den Konzentrations-Zeit-Verlauf nicht korrekt abzubilden. Aufgrund der Proteinfällung mit Methanol während der Festphasenextraktion wurde nicht nur der freie Arzneistoffanteil, sondern auch der in vivo an Plasmaeiweiße gebundene Anteil bestimmt. Für die Wirkung der Antibiotika ist jedoch nur der freie Wirkstoffanteil verantwortlich.

Die Ergebnisse der Studie sollten nicht unkritisch auf andere Dialyseverfahren und Dialysefilter übertragen werden. Die ermittelte Clearance der Nierenersatztherapie trägt mit 27 und 24 ml/min nur zu 25 % der totalen Clearance von Piperacillin und Ciprofloxacin bei. Die Verwendung unterschiedlicher Filter und Verfahren kann die Clearance des Nierenersatzverfahrens ändern. Sowohl das Material der Filter als auch deren Oberfläche sind für die Elimination und Adsorption verantwortlich. Konvektiv arbeitende Verfahren (CVVH) zeigen in Studien geringere Eliminationsleistungen als auf Diffusion beruhende Verfahren (CVVHD, CVVHDF). Die Vorgaben des anzustrebenden Austauschvolumens bei Patienten mit Nierenersatzverfahren haben sich in den letzten 10 Jahren mehrfach geändert. Aufgrund der resultierenden unterschiedlichen Intensität der Verfahren ändert sich die Elimination von Arzneistoffen.

Die Fallzahl der Studie ist mit 20 Patienten pro Antibiotikum höher als in anderen Studien, trotzdem sollten weitere Studien in Bezug auf die kontinuierliche Hämodialyse durchgeführt werden, um die ermittelten Ergebnisse zu bestätigen. Mit einem Apache II Score von $29 \pm 7,5$ Punkten wurden kritisch kranke Patienten einer anästhesiologischen Intensivstation in die Studie aufgenommen. Das untersuchte Patientenkollektiv ist repräsentativ für Patienten mit kontinuierlichen Dialyseverfahren. Es könnte sich allerdings von Kollektiven anderer Stationen mit unterschiedlichem Patientenschwerpunkt unterscheiden.

6 Ausblick

Die Therapie schwer kranker Intensivpatienten wird mit zunehmender Lebenserwartung multimorbider Patienten immer komplexer. Speziell bei der Therapie septischer Patienten ist eine adäquate Antibiotikakonzentration am Infektionsort für den Patienten potenziell lebensrettend. Die Pharmakokinetik von Antibiotika ist für kritisch kranke Patienten, insbesondere mit extrakorporalen Ersatzverfahren wie der kontinuierlichen veno-venösen Hämodialyse, bisher nicht hinreichend untersucht. Die Mortalitätsraten des ANV betragen auch in der modernen Medizin immer noch 50 – 70 %. Besonders die Entwicklung neuer effektiver Dialyseverfahren und moderner, leistungsstarker Filter verändert die Pharmakokinetik potenziell lebensrettender Arzneistoffe wie den untersuchten Antibiotika. Ein Therapeutisches Drug Monitoring sollte bei Intensivpatienten durchgeführt werden, bis eine sichere Antibiotikadosierung durch weitere Studien belegt ist. Neben einer höheren Mortalität nicht ausreichend behandelter Patienten spielen vor allem steigende Resistenzentwicklungen gegenüber den verwendeten Antibiotika eine immer größere Rolle.

Die Entwicklung von Resistenzen verlängert neben der Therapiedauer auch den Krankenhausaufenthalt der Patienten. Die Wahrscheinlichkeit eines Therapieversagens sowie die Mortalität der Patienten wird erhöht. Für eine kalkulierte Initialtherapie müssen die lokalen Resistenzsituationen berücksichtigt werden. Seit den 80er Jahren des letzten Jahrhunderts entwickeln Bakterien vermehrt Resistenzen gegen die bisher verwendeten Antibiotika. Während mit Linezolid, Daptomycin, Quinupristin-Dalfopristin und Tigecyclin neue Wirkstoffe im grampositiven Bereich entwickelt wurden, fehlen mit Ausnahme von Tigecyclin Alternativen für den gramnegativen Bereich. In der klinischen Entwicklung befinden sich neue Cephalosporin- β -Lactamase-Kombinationen wie Ceftolozane-Tazobactam und Ceftazidim-Avibactam. Auch die Kombination aus Aztreonam und Avibactam könnte eine wirksame Therapie zur Behandlung Carbapenemase-bildender Keime darstellen.

Neben der Entwicklung neuer Substanzen sollte das zur Verfügung stehende Arsenal an Antibiotika optimal eingesetzt werden. Ein unzuverlässiger Gebrauch der Antibiotika führt zu steigenden Resistenzentwicklungen und Therapieversagen. Im Sinne von Antibiotic Stewardship Programmen (ABS) muss die Fachkompetenz klinisch tätiger Apotheker in Kooperation mit dem behandelnden Arzt und der Mikrobiologie zur Steigerung der Patienten- und der Arzneimitteltherapiesicherheit verstärkt eingebracht werden.

7 Zusammenfassung

Infektionen zählen bei hämodialysepflichtigen Intensivpatienten zu den häufigsten Todesursachen. Um die Wirksamkeit und Sicherheit der Antibiotikatherapie zu verbessern, müssen verschiedene Faktoren, zum Beispiel die Pharmakodynamik und Pharmakokinetik des Antibiotikums, die Art des Hämodialyseverfahrens, die Art des Dialysefilters und der Zustand des Patienten berücksichtigt werden. Im Rahmen einer klinischen Studie wurde die antibiotische Wirkung von Piperacillin und Ciprofloxacin bei kontinuierlichen Hämodialyseverfahren mittels pharmakokinetischer Methoden bestimmt.

Für die klinische Studie wurde eine HPLC-Methode mit kombinierter Festphasenextraktion (SPE) entwickelt und nach den Grenzwerten der EMA Guideline on Bioanalytical Method Validation validiert. Die Methode erwies sich für die gleichzeitige Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Plasma- und Dialysatproben als valide und zuverlässig. Die ermittelten Konzentrationen der beiden Antibiotika wurden für die Berechnung der pharmakokinetischen Parameter verwendet.

In der klinischen Studie wurden bei 24 Intensivpatienten mit kontinuierlicher venovenöser Hämodialyse (CVVHD) bzw. kontinuierlicher venovenöser Hämodiafiltration (CVVHDF), bei denen Piperacillin/Tazobactam, Ciprofloxacin oder eine Kombination dieser Antibiotika indiziert war, die Antibiotikakonzentrationen im Plasma und Dialysat im Steady State gemessen. Unmittelbar vor einer Antibiotikainfusion (0 min) wurde ein Volumen von sechs Milliliter Blut entnommen. Weitere Blutentnahmen erfolgten 30 Minuten nach der Infusion sowie nach 1, 2, 3, 4, 8, 12 und 24 Stunden. Sobald ein Filtratbeutel ausgetauscht wurde, wurden parallel zu den Blutproben Dialysatproben entnommen. Die Konzentrationen von Piperacillin und Ciprofloxacin wurden nach der Festphasenextraktion aus den Plasmaproben mit der validierten HPLC-Methode innerhalb von 15 Minuten zuverlässig bestimmt. Neben den gemessenen Plasmakonzentrationen (C_{\max} , C_{\min}) wurden pharmakokinetische Parameter wie $t_{0,5}$, V_{dSS} , AUC, Cl_{tot} , Cl_{CRRT} und $Cl_{\text{extrarenal}}$ berechnet. Für Piperacillin wurde untersucht, ob die Plasmaspiegel der Patienten für das gesamte Dosierungsintervall oberhalb der geforderten vierfachen MHK von 64 mg/l liegen. Für Ciprofloxacin wurde untersucht, ob die aus gemessenen Plasmaspiegeln berechnete AUC den Quotienten aus AUC und MHK ($=\text{AUIC}$) ≥ 125 h erfüllt.

Bei zehn der 21 mit Piperacillin behandelten Patienten lagen die Plasmaspiegel unterhalb der angestrebten Konzentration von 64 mg/l für das gesamte Dosierungsintervall. Das Patientenkollektiv wies eine große interindividuelle Variabilität auf. Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % waren 26 - 70 % der Patienten unterdosiert. In der Gruppe der mit Ciprofloxacin behandelten Patienten wurde die angestrebte AUIC von 125 h nur

bei neun der 20 Patienten erreicht. Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % waren 29 - 76 % der Patienten unterdosiert. Die kontinuierlichen Nierenersatzverfahren hatten nur einen geringen Anteil an der totalen Clearance der untersuchten Antibiotika. Während die Clearance des kontinuierlichen Nierenersatzverfahren bei Piperacillin für ein Drittel der Arzneistoffelimination verantwortlich war, trug diese im Fall von Ciprofloxacin lediglich zu 16 % zur Arzneistoffelimination bei.

Die Dosierung von Piperacillin/Tazobactam bzw. Ciprofloxacin sollte bei kritisch kranken Intensivpatienten mit kontinuierlicher Hämodialyse mindestens 4 mal 4/0,5 g pro Tag bzw. 2 mal 400 mg pro Tag betragen. Diese Empfehlungen sind insbesondere für die verwendeten Dialyseverfahren und -bedingungen zutreffend. Zur weiteren Optimierung der Antibiotikatherapie ist ein Therapeutisches Drug Monitoring empfehlenswert.

8 Anhang

8.1 Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
°C	Grad Celsius
μl	Microliter
ADH	Antidiuretisches Hormon
Ae	Kumulativ ausgeschiedene Menge
Ala	Alanin
AN69	Acrylnitril-Filter
ANV	Akutes Nierenversagen
APACHE	Acute Physiology And Chronic Health Evaluation
APC	Antigen präsentierende Zellen
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
Art-Nr	Artikel-Nummer
AUC	Fläche unter der Kurve
AUC _{SS}	Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve im Steady State
AUC	Quotient aus der Fläche unter der Kurve und der minimalen Hemmkonzentration
AUMC	Fläche unter der Kurve des ersten Moments
AUMC _{SS}	Fläche unter der Kurve des ersten Moments im Steady State
CD4-T-Zellen	Cluster of Differentiation 4 T-Helferzellen
CF	Korrekturfaktor
ChB	Chargenbezeichnung
Cl	Clearance
Cl _{CRRT}	Clearance Nierenersatzverfahren
Cl _{extrarenal}	Clearance extrarenal
Cl _{total}	Totale Clearance
C _{max}	Maximalkonzentration
CRRT	Kontinuierliche Nierenersatztherapie
CVVH	Kontinuierliche venovenöse Hämofiltration
CVVHD	Kontinuierliche venovenöse Hämodialyse
CVVHDF	Kontinuierliche venovenöse Hämodiafiltration
D	Dosis
d	Tag
D-Ala	D-Alanin
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ECMO	Extrakorporale Membran-Oxygenierung
EMA	European Medicines Agency
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
F	Bioverfügbarkeit
FDA	Food and Drug Administration
GCP	Good Clinical Practice
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
h	Stunde

Hg	Quecksilber
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie
HWZ	Halbwertszeit
IHD	Intermittierende Hämodialyse
IL-1	Interleukin-1
IS	Interner Standard
k.M.	Kein Messwert
kg	Kilogramm
KOF	Körperoberfläche
Krea	Kreatinin
l	Liter
LOQ	Limit of quantification
M	Molar
max	Maximal
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease
MHK	Minimale Hemmkonzentration
min	Minimal
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MRT	Mittlere Verweilzeit
N	Anzahl
nm	Nanometer
ODS	Octadecylsilan
Pa CO ₂	Arterieller Kohlendioxidpartialdruck
PBP	Penicillin Bindendes Protein
PDA	Photo dioden array
Qb	Blutfluss
Qf	Ultrafiltrationsrate
QK	Qualitätskontroll-Probe
Q _{rep}	Rate der Substitutionslösung
QT-Zeit	Abstand vom Beginn der Q-Zacke bis zum Ende der T-Welle des Elektrokardiogramms
r ²	Korrelationskoeffizient
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron System
Rpm	Rounds per minute
RSD	Relative Standardabweichung
Sc	Siebkoeffizient
SD	Standardabweichung
SIRS	Systemisches Inflammatorisches Response Syndrom
SPE	Solid phase extraction
t _{0,5}	Halbwertszeit
TDM	Therapeutisches Drug Monitoring
Th-1 Zellen	T-Lymphozyten Typ 1
Th-2 Zellen	T-Lymphozyten Typ 2
TISS	Therapeutic Intervention Scoring System
TNF α	Tumornekrose Faktor α
TRALI	Transfusionsassoziierte akute Lungeninsuffizienz
UV	Ultraviolett
V	Verteilungsvolumen
VD _{ss}	Verteilungsvolumen im Steady State
λ_i	Geschwindigkeitskonstante der Verteilung

λ_z	Geschwindigkeitskonstante der Elimination
τ	Dosierungsintervall

8.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Entstehung des akuten Nierenversagens in der Sepsis (23).	7
Abbildung 2: Antwort des Immunsystems auf Pathogene (31).	9
Abbildung 3: MultiFiltrate-System als Beispiel für ein kontinuierliches Nierenersatzverfahren (44).	11
Abbildung 4: Blutreinigung der CVVHD mittels Diffusion (45). Der Stoffaustausch zwischen dem Blut und der im Gegenstrom fließenden Dialyselösung findet durch den Konzentrationsgradienten statt.	12
Abbildung 5: Blutreinigung der CVVH mittels Konvektion (45). Über einen Druckgradienten werden im Blut gelöste Teilchen durch die Dialysemembran in das Filtrat überführt.	12
Abbildung 6: Struktur von Piperacillin (links) und Tazobactam (rechts).	19
Abbildung 7: Die bakterielle Zellwand als Angriffspunkt für β -Laktam-Antibiotika (83).	20
Abbildung 8: Struktur von Ciprofloxacin.	22
Abbildung 9: Die bakterielle DNA-Synthese als Angriffspunkt für Gyrasehemmer (83).	22
Abbildung 10: Elimination von Piperacillin/Tazobactam in humanen Plasma durch eine CVVH (links) und CVVHD (rechts) mit Acrylnitrilfilter; Piperacillin- Konzentration (schwarz), Tazobactam-Konzentration (weiß) (56).	27
Abbildung 11: Elimination von Piperacillin/Tazobactam in humanen Plasma durch eine CVVH (links) und CVVHD (rechts) mit Polysulfonfilter; Piperacillin- Konzentration (schwarz), Tazobactam-Konzentration (weiß) (56).	27
Abbildung 12: Schematische Darstellung der Festphasenextraktion der Plasmaproben für die Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin.	46
Abbildung 13: 3D Chromatogramm - Std 3; Kalibrationsgerade I.	58
Abbildung 14: 2D Chromatogramm - Std 3; 228 nm; Kalibrationsgerade I.	58
Abbildung 15: 2D Chromatogramm - Std 3; 280 nm; Kalibrationsgerade I.	59
Abbildung 16: 2D Chromatogramm - Std 3; 315 nm; Kalibrationsgerade I.	59
Abbildung 17: Kalibrationsgerade von Piperacillin-Plasmaproben bei 228 nm, dargestellt sind die Mittelwerte der drei Messungen.	61
Abbildung 18: Kalibrationsgerade von Ciprofloxacin-Plasmaproben bei 280 nm, dargestellt sind die Mittelwerte der drei Messungen.	61
Abbildung 19: Kalibrationsgerade von Ciprofloxacin-Plasmaproben bei 315 nm; dargestellt sind die Mittelwerte der drei Messungen.	62
Abbildung 20: 3D Chromatogramm - Std 3, Kalibrationsgerade I.	70
Abbildung 21: 2D Chromatogramm - Std 3; 228 nm; Kalibrationsgerade I.	71
Abbildung 22: 2D Chromatogramm - Std 3; 280 nm; Kalibrationsgerade I.	71
Abbildung 23: Kalibrationsgerade für die Bestimmung von Piperacillin-Dialysatproben.	73

Abbildung 24: Kalibrationsgerade für die Bestimmung von Ciprofloxacin-Dialysatproben.	73
Abbildung 25: Vergleich der gemessenen und extrapolierten Konzentrations-Zeit-Profile von Patient 3.	93
Abbildung 26: Vergleich der gemessenen und extrapolierten Konzentrations-Zeit-Profile von Patient 15.	93
Abbildung 27: Mittelwerte und Standardabweichungen der Piperacillin-Spiegel in Plasma für das Gesamtkollektiv mit der einfachen und vierfachen MHK von <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	97
Abbildung 28: Plasmaspiegelverläufe von Piperacillin für individuelle Patienten und Mittelwerte des Patientenkollektivs.	98
Abbildung 29: Prozentualer Anteil der Patienten mit Plasmakonzentrationen von Piperacillin oberhalb verschiedener MHK-Werte für das gesamte Dosierungsintervall.	99
Abbildung 30: Mittlere Plasmaspiegel von Piperacillin in Abhängigkeit von der Arzneistoffclearance.	101
Abbildung 31: Mittelwerte und Standardabweichungen der Ciprofloxacin Plasmaspiegel.	104
Abbildung 32: Plasmaspiegelverläufe von Ciprofloxacin für individuelle Patienten und Mittelwerte des Patientenkollektivs.	105

8.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammenfassung der RIFLE-Kriterien (12;15).....	5
Tabelle 2: Kriterien für die Diagnose eines SIRS (27).....	8
Tabelle 3: Überblick über verschiedene Dialysatoren und deren technische Daten für die Nierenersatztherapie.....	15
Tabelle 4: Zugelassene Anwendungsgebiete und Tagesdosierungen einer Therapie mit Piperacillin/Tazobactam (84).	20
Tabelle 5: Dosierungsanpassung von Piperacillin/Tazobactam bei Nierenfunktionsstörungen (84).	20
Tabelle 6: Pharmakokinetische Parameter von Piperacillin bei Patienten mit normaler Nierenfunktion (84;85).....	21
Tabelle 7: Zugelassene Anwendungsgebiete, Tagesdosierungen und Gesamtbehandlungsdauer einer Therapie mit Ciprofloxacin (91).	23
Tabelle 8: Dosierungsanpassung von Ciprofloxacin bei Nierenfunktionsstörungen (91).	24
Tabelle 9: Pharmakokinetische Parameter von Ciprofloxacin bei Patienten mit normaler Nierenfunktion (91).....	24
Tabelle 10: Pharmakokinetik beeinflussende Faktoren bei kontinuierlichen Nierenersatzverfahren (50).	26
Tabelle 11: Übersicht über klinische Studien bei Patientenkollektiven mit Nierenersatzverfahren und einer Antibiotikatherapie mit Piperacillin.	29
Tabelle 12: Übersicht über klinische Studien bei Patientenkollektiven mit Nierenersatzverfahren und einer Antibiotikatherapie mit Ciprofloxacin. ...	30
Tabelle 13: Laborgeräte und Verbrauchsmaterialien.....	35
Tabelle 14: Dialysesysteme, Dialysefilter und Dialyselösungen.....	38
Tabelle 15: Chemikalien und Referenzsubstanzen.	39
Tabelle 16: Zusammensetzung der Standards zur Bestimmung von Piperacillin- und Ciprofloxacin-Plasmaproben.	40
Tabelle 17: Zusammensetzung der Standards zur Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Dialysat.	41
Tabelle 18: Berechnung der pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Kennzahlen anhand der Auswertung der Plasmakonzentrationen.....	43
Tabelle 19: Chromatographische Bedingungen für die Bestimmung der Plasma- und Dialysatproben.	47
Tabelle 20: Linearitätsbestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Plasmaproben anhand der Kalibrationsgeraden I – III.	60
Tabelle 21: Präzision und Genauigkeit der Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Plasmaproben.....	63

Tabelle 22: Effekte der Plasmaverdünnung auf die Bestimmung von Richtigkeit und Genauigkeit der Plasmaproben.....	64
Tabelle 23: Stabilitätsdaten von Piperacillin-Plasmaproben mit internem Standard über einen Zeitraum von zwei Monaten bei einer Temperatur von -20 °C.....	65
Tabelle 24: Stabilitätsdaten von Ciprofloxacin-Plasmaproben mit internem Standard über einen Zeitraum von zwei Monaten bei einer Temperatur von -20 °C..	66
Tabelle 25: Stabilitätsdaten für Piperacillin-Plasmaproben bei 4 °C im Autosampler der HPLC.....	67
Tabelle 26: Stabilitätsdaten für Ciprofloxacin-Plasmaproben bei 4 °C im Autosampler der HPLC.....	67
Tabelle 27: Stabilitätsdaten für Piperacillin-Plasmaproben nach mehrmaligem Einfrieren und anschließenden Auftauen.	68
Tabelle 28: Stabilitätsdaten für Ciprofloxacin-Plasmaproben nach mehrmaligem Einfrieren und anschließenden Auftauen.	69
Tabelle 29: Bestimmung der Linearität von Piperacillin und Ciprofloxacin in Dialysatproben anhand der Kalibrationsgeraden I - III.....	72
Tabelle 30: Präzision und Genauigkeit der Bestimmung von Piperacillin und Ciprofloxacin in Dialysatproben.	74
Tabelle 31: Stabilitätsdaten von Piperacillin-Dialysatproben mit internem Standard über einen Zeitraum von zwei Monaten bei einer Temperatur von -20 °C.....	76
Tabelle 32: Stabilitätsdaten von Ciprofloxacin-Dialysatproben mit internem Standard über einen Zeitraum von zwei Monaten bei einer Temperatur von -20 °C..	77
Tabelle 33: Stabilitätsdaten für Piperacillin-Dialysatproben bei 4 °C im Autosampler der HPLC.....	77
Tabelle 34: Stabilitätsdaten für Ciprofloxacin-Dialysatproben bei 4 °C im Autosampler der HPLC.....	78
Tabelle 35: Stabilitätsdaten für Piperacillin-Dialysatproben nach mehrmaligem Einfrieren und anschließenden Auftauen.	79
Tabelle 36: Stabilitätsdaten für Ciprofloxacin-Dialysatproben nach mehrmaligem Einfrieren und anschließenden Auftauen.	80
Tabelle 37: Demografische Daten des Patientenkollektivs.....	81
Tabelle 38: Ausgewählte Laborparameter der Patienten.	84
Tabelle 39: Kennzahlen des Nierenersatzverfahrens für das Patientenkollektiv.	86
Tabelle 40: Dosierung und Zeitpunkt des TDM von Piperacillin.....	87
Tabelle 41: Dosierung und TDM von Ciprofloxacin.	88
Tabelle 42: Pharmakokinetische Kennzahlen für Piperacillin. Die Minimal- und Maximalkonzentrationen stellen Messwerte dar , die weiteren Parameter wurden berechnet.	90
Tabelle 43: Pharmakokinetische Kennzahlen für Ciprofloxacin. Die Minimal- und Maximalkonzentrationen stellen Messwerte dar, die weiteren Parameter wurden berechnet.	92

Tabelle 44: Berechnete Dialyseclearance von Piperacillin und Ciprofloxacin für die Patienten des untersuchten Kollektivs.	94
Tabelle 45: Berechnung der extrarenalen Clearance von Piperacillin für die Patienten des untersuchten Kollektivs.	95
Tabelle 46: Berechnung der extrarenalen Clearance von Ciprofloxacin für die Patienten des untersuchten Kollektivs.	96
Tabelle 47: Mittelwerte der Plasmakonzentrationen von Piperacillin des Gesamtkollektivs in Plasma.	97
Tabelle 48: Totale Arzneistoffclearance von Piperacillin und Kreatininclearance für die einzelnen Patienten.	100
Tabelle 49: T-Test für Mittelwertsdifferenzen von Piperacillin.	102
Tabelle 50: Berechnung des Pearson-Clopper für Piperacillin.	103
Tabelle 51: Mittelwerte der Plasmakonzentrationen von Ciprofloxacin des Gesamtkollektivs in Plasma.	104
Tabelle 52: Effektivität von Ciprofloxacin berechnet für die MHK einer kalkulierten Therapie ohne Erregernachweis (0,5 mg/l).	107
Tabelle 53: Effektivität von Ciprofloxacin berechnet für die MHK von <i>Acinetobacter baumannii</i> (1 mg/l).	108
Tabelle 54: Vergleich der Eliminationshalbwertszeiten von Ciprofloxacin mit der AUC.	109
Tabelle 55: T-Test für Mittelwertsdifferenzen von Ciprofloxacin.	110
Tabelle 56: Berechnung des Pearson-Clopper für Ciprofloxacin.	111
Tabelle 57: Übersicht über Patientenkollektive mit CVVHD und CVVHDF und einer Antibiotikatherapie mit Piperacillin.	120
Tabelle 58: Übersicht über Patientenkollektive mit CVVHD und CVVHDF und einer Antibiotikatherapie mit Ciprofloxacin.	120
Tabelle 59: Mittelwerte pharmakokinetischer Kennzahlen für Patientenkollektive mit CVVH und CVVHDF bei einer Antibiotikatherapie mit Piperacillin.	126
Tabelle 60: Mittelwerte pharmakokinetischer Kennzahlen für Patientenkollektive mit CVVHD und CVVHDF bei einer Antibiotikatherapie mit Ciprofloxacin.	131

8.4 Formelverzeichnis

Formel 1: Berechnung des Siebkoeffizienten.	13
Formel 2: Arzneistoffclearance für CVVH im Postdilutionsmodus	13
Formel 3: Berechnung des Korrekturfaktors für die Prädilution bei CVVH	13
Formel 4: Arzneistoffclearance für CVVH im Prädilutionsmodus.....	14
Formel 5: Berechnung des Sättigungskoeffizienten.....	14
Formel 6: Arzneistoffclearance der CVVHD.....	14
Formel 7: Arzneistoffclearance der CVVHDF	15
Formel 8: Geradengleichung der Eliminationsgeraden.....	43
Formel 9: Berechnung der Halbwertszeit.....	43
Formel 10: Verteilungsvolumen des zentralen Kompartiments (V_1).....	43
Formel 11: Verteilungsvolumen des peripheren Kompartiments (V_2)	43
Formel 12: Verteilungsvolumen im Steady State (V_{dss})	43
Formel 13: Berechnung der totalen Clearance	43
Formel 14: Berechnung der AUC	43
Formel 15: Berechnung der AUMC.....	43
Formel 16: Berechnung der MRT	43
Formel 17: Clearance der Dialyse	44
Formel 18: Berechnung der extrarenalen Clearance	44
Formel 19: Cockcroft-Gault-Formel	44
Formel 20: Modifikation of Diet in Renal Disease (MDRD-Formel)	44
Formel 21: Berechnung der AUIC	45

8.5 Literaturverzeichnis

- (1) Bywaters EG, Beall D. Crush Injuries with Impairment of Renal Function. *Br Med J* 1941 Mar 22;1(4185):427-32.
- (2) Gonzalez D. Crush syndrome. *Crit Care Med* 2005 Jan;33(1 Suppl):S34-S41.
- (3) TESCHAN PE, POST RS, SMITH LH, Jr., ABERNATHY RS, DAVIS JH, GRAY DM, et al. Post-traumatic renal insufficiency in military casualties. I. Clinical characteristics 2. *Am J Med* 1955 Feb;18(2):172-86.
- (4) Cameron JS. Acute renal failure thirty years on 3. *Q J Med* 1990 Jan;74(273):1-2.
- (5) Kierdorf H. Acute renal failure in sight of the 21st century. Etiology, prognosis and extracorporeal treatment modalities. *Nieren und Hochdruck* 1994;23:614-21.
- (6) Chew SL, Lins RL, Daelemans R, De Broe ME. Outcome in acute renal failure 2. *Nephrol Dial Transplant* 1993;8(2):101-7.
- (7) Kierdorf H. Continuous versus intermittent treatment: clinical results in acute renal failure 4. *Contrib Nephrol* 1991;93:1-12.
- (8) Mandelbaum T, Scott DJ, Lee J, Mark RG, Malhotra A, Waikar SS, et al. Outcome of critically ill patients with acute kidney injury using the Acute Kidney Injury Network criteria. *Crit Care Med* 2011 Dec;39(12):2659-64.
- (9) Uchino S, Kellum JA, Bellomo R, Doig GS, Morimatsu H, Morgera S, et al. Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study 2. *JAMA* 2005 Aug 17;294(7):813-8.
- (10) Engel C, Brunkhorst FM, Bone HG, Brunkhorst R, Gerlach H, Grond S, et al. Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study 1. *Intensive Care Med* 2007 Apr;33(4):606-18.
- (11) Kuhlmann U, Walb D, Böhler J, Luft F. *Nephrologie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2008.
- (12) Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group 1. *Crit Care* 2004 Aug;8(4):R204-R212.

- (13) Srisawat N, Kellum JA. Acute kidney injury: definition, epidemiology, and outcome 1. *Curr Opin Crit Care* 2011 Dec;17(6):548-55.
- (14) Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group 1. *Ann Intern Med* 1999 Mar 16;130(6):461-70.
- (15) Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury 10. *Crit Care* 2007;11(2):R31.
- (16) Hoste EA, Clermont G, Kersten A, Venkataraman R, Angus DC, De BD, et al. RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: a cohort analysis 1. *Crit Care* 2006;10(3):R73.
- (17) Cruz DN, Bolgan I, Perazella MA, Bonello M, de CM, Corradi V, et al. North East Italian Prospective Hospital Renal Outcome Survey on Acute Kidney Injury (NEiPHROS-AKI): targeting the problem with the RIFLE Criteria 1. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007 May;2(3):418-25.
- (18) Ostermann M, Chang RW. Acute kidney injury in the intensive care unit according to RIFLE 8. *Crit Care Med* 2007 Aug;35(8):1837-43.
- (19) Bagshaw SM, George C, Bellomo R. A comparison of the RIFLE and AKIN criteria for acute kidney injury in critically ill patients 6. *Nephrol Dial Transplant* 2008 May;23(5):1569-74.
- (20) Conger JD, Robinette JB, Schrier RW. Smooth muscle calcium and endothelium-derived relaxing factor in the abnormal vascular responses of acute renal failure 1. *J Clin Invest* 1988 Aug;82(2):532-7.
- (21) Schrier RW, Wang W, Poole B, Mitra A. Acute renal failure: definitions, diagnosis, pathogenesis, and therapy 3. *J Clin Invest* 2004 Jul;114(1):5-14.
- (22) Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV. Acute renal failure 1. *N Engl J Med* 1996 May 30;334(22):1448-60.
- (23) Schrier RW, Wang W. Acute renal failure and sepsis 2. *N Engl J Med* 2004 Jul 8;351(2):159-69.
- (24) Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care 4. *Crit Care Med* 2001 Jul;29(7):1303-10.
- (25) Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M, Hwang T, Davis CS, Wenzel RP. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study 2. *JAMA* 1995 Jan 11;273(2):117-23.

- (26) Zarjou A, Agarwal A. Sepsis and acute kidney injury 3. *J Am Soc Nephrol* 2011 Jun;22(6):999-1006.
- (27) Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine 2. *Chest* 1992 Jun;101(6):1644-55.
- (28) Bone RC, Sprung CL, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure 2. *Crit Care Med* 1992 Jun;20(6):724-6.
- (29) Kierdorf H. Sepsis und Akutes Nierenversagen. *Intensivmedizin und Notfallmedizin* 2006;43 (3):175-88.
- (30) Stearns-Kurosawa DJ, Osuchowski MF, Valentine C, Kurosawa S, Remick DG. The pathogenesis of sepsis 1. *Annu Rev Pathol* 2011;6:19-48.
- (31) Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis 10. *N Engl J Med* 2003 Jan 9;348(2):138-50.
- (32) Skrupky LP, Kerby PW, Hotchkiss RS. Advances in the management of sepsis and the understanding of key immunologic defects 1. *Anesthesiology* 2011 Dec;115(6):1349-62.
- (33) Modlin RL, Brightbill HD, Godowski PJ. The toll of innate immunity on microbial pathogens 3. *N Engl J Med* 1999 Jun 10;340(23):1834-5.
- (34) Vasselon T, Detmers PA. Toll receptors: a central element in innate immune responses 2. *Infect Immun* 2002 Mar;70(3):1033-41.
- (35) Lederer JA, Rodrick ML, Mannick JA. The effects of injury on the adaptive immune response 5. *Shock* 1999 Mar;11(3):153-9.
- (36) Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL. Sepsis syndromes: understanding the role of innate and acquired immunity 14. *Shock* 2001 Aug;16(2):83-96.
- (37) Le TY, Pangault C, Gacouin A, Guilloux V, Tribut O, Amiot L, et al. Early circulating lymphocyte apoptosis in human septic shock is associated with poor outcome 1. *Shock* 2002 Dec;18(6):487-94.
- (38) Hotchkiss RS, Nicholson DW. Apoptosis and caspases regulate death and inflammation in sepsis 1. *Nat Rev Immunol* 2006 Nov;6(11):813-22.
- (39) Hotchkiss RS, Osmon SB, Chang KC, Wagner TH, Coopersmith CM, Karl IE. Accelerated lymphocyte death in sepsis occurs by both the death receptor and mitochondrial pathways 1. *J Immunol* 2005 Apr 15;174(8):5110-8.

- (40) Adib-Conquy M, Cavaillon JM. Compensatory anti-inflammatory response syndrome 4. *Thromb Haemost* 2009 Jan;101(1):36-47.
- (41) Jimenez MF, Watson RW, Parodo J, Evans D, Foster D, Steinberg M, et al. Dysregulated expression of neutrophil apoptosis in the systemic inflammatory response syndrome 1. *Arch Surg* 1997 Dec;132(12):1263-9.
- (42) Taneja R, Parodo J, Jia SH, Kapus A, Rotstein OD, Marshall JC. Delayed neutrophil apoptosis in sepsis is associated with maintenance of mitochondrial transmembrane potential and reduced caspase-9 activity 1. *Crit Care Med* 2004 Jul;32(7):1460-9.
- (43) Goldstein SL. Continuous renal replacement therapy: mechanism of clearance, fluid removal, indications and outcomes 1. *Curr Opin Pediatr* 2011 Apr;23(2):181-5.
- (44) Fresenius Medical Care. Das multiFiltrate-System: Ihre Entscheidung für eine optimale Therapie. 24-8-2012. Ref Type: Online Source
- (45) Fresenius Medical Care. Blutreinigung - Prozesse des Stofftransports. 24-8-2012. Ref Type: Online Source
- (46) Joy MS, Matzke GR, Armstrong DK, Marx MA, Zarowitz BJ. A primer on continuous renal replacement therapy for critically ill patients 1. *Ann Pharmacother* 1998 Mar;32(3):362-75.
- (47) Awdishu L, Bouchard J. How to optimize drug delivery in renal replacement therapy 1. *Semin Dial* 2011 Mar;24(2):176-82.
- (48) Li AM, Gomersall CD, Choi G, Tian Q, Joynt GM, Lipman J. A systematic review of antibiotic dosing regimens for septic patients receiving continuous renal replacement therapy: do current studies supply sufficient data? 2. *J Antimicrob Chemother* 2009 Nov;64(5):929-37.
- (49) Kindgen-Milles D. Akutes Nierenversagen - Die Behandlung des akuten Nierenversagens mit kontinuierlichen Nierenersatzverfahren. Fresenius Medical Care Deutschland; 2005.
- (50) Thalhammer F. Antibiotika bei Nierenersatzverfahren. *Antibiotika Monitor* 1999;6.
- (51) Pea F, Viale P, Furlanut M. Antimicrobial therapy in critically ill patients: a review of pathophysiological conditions responsible for altered disposition and pharmacokinetic variability 18. *Clin Pharmacokinet* 2005;44(10):1009-34.
- (52) Pea F, Viale P, Pavan F, Furlanut M. Pharmacokinetic considerations for antimicrobial therapy in patients receiving renal replacement therapy 1. *Clin Pharmacokinet* 2007;46(12):997-1038.

- (53) Choi G, Gomersall CD, Lipman J, Wong A, Joynt GM, Leung P, et al. The effect of adsorption, filter material and point of dilution on antibiotic elimination by haemofiltration an in vitro study of levofloxacin 2. *Int J Antimicrob Agents* 2004 Nov;24(5):468-72.
- (54) Brachtendorf T, Nederlof B. Fresenius Polysulfone--the "gold standard" in dialysis. 10 Years of experience 1. *Clin Nephrol* 1994 Jul;42 Suppl 1:S3-12.
- (55) Rogiers P, Zhang H, Pauwels D, Vincent JL. Comparison of polyacrylonitrile (AN69) and polysulphone membrane during hemofiltration in canine endotoxic shock 1. *Crit Care Med* 2003 Apr;31(4):1219-25.
- (56) Arzuaga A, Isla A, Gascon AR, Maynar J, Corral E, Pedraz JL. Elimination of piperacillin and tazobactam by renal replacement therapies with AN69 and polysulfone hemofilters: evaluation of the sieving coefficient 2. *Blood Purif* 2006;24(4):347-54.
- (57) Isla A, Gascon AR, Maynar J, Arzuaga A, Sanchez-Izquierdo JA, Pedraz JL. In vitro AN69 and polysulphone membrane permeability to ceftazidime and in vivo pharmacokinetics during continuous renal replacement therapies 1. *Chemotherapy* 2007;53(3):194-201.
- (58) Isla A, Gascon AR, Maynar J, Arzuaga A, Toral D, Pedraz JL. Cefepime and continuous renal replacement therapy (CRRT): in vitro permeability of two CRRT membranes and pharmacokinetics in four critically ill patients 4. *Clin Ther* 2005 May;27(5):599-608.
- (59) Isla A, Maynar J, Sanchez-Izquierdo JA, Gascon AR, Arzuaga A, Corral E, et al. Meropenem and continuous renal replacement therapy: in vitro permeability of 2 continuous renal replacement therapy membranes and influence of patient renal function on the pharmacokinetics in critically ill patients 2. *J Clin Pharmacol* 2005 Nov;45(11):1294-304.
- (60) Tian Q, Gomersall CD, Leung PP, Choi GY, Joynt GM, Tan PE, et al. The adsorption of vancomycin by polyacrylonitrile, polyamide, and polysulfone hemofilters 1. *Artif Organs* 2008 Jan;32(1):81-4.
- (61) Aktories K, Förstermann U, Hofmann F, Starke K. *Pharmakologie und Toxikologie* 45. 9. Auflage ed. Urban & Fischer; 2005.
- (62) Bodmann K, Grabein B. *Empfehlungen zur kalkulierten parenteralen Initialtherapie bakterieller Erkrankungen bei Erwachsenen - Update 2010*. 19. 2010. Ref Type: Online Source
- (63) Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer H, Ruth P, Schäfer-Korting M. *Mutschler Arzneimittelwirkungen - Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie* 1. 9., vollständig neu bearbeitete und erweiterte Auflage ed. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart; 2008.

- (64) Doern GV, Vautour R, Gaudet M, Levy B. Clinical impact of rapid in vitro susceptibility testing and bacterial identification 1. *J Clin Microbiol* 1994 Jul;32(7):1757-62.
- (65) Paterson DL. Restrictive antibiotic policies are appropriate in intensive care units 1. *Crit Care Med* 2003 Jan;31(1 Suppl):S25-S28.
- (66) Eggimann P, Pittet D. Infection control in the ICU 17. *Chest* 2001 Dec;120(6):2059-93.
- (67) Roberts DM, Roberts JA, Roberts MS, Liu X, Nair P, Cole L, et al. Variability of antibiotic concentrations in critically ill patients receiving continuous renal replacement therapy: a multicentre pharmacokinetic study 1. *Crit Care Med* 2012 May;40(5):1523-8.
- (68) Varghese JM, Roberts JA, Lipman J. Pharmacokinetics and pharmacodynamics in critically ill patients 2. *Curr Opin Anaesthesiol* 2010 Aug;23(4):472-8.
- (69) Roberts JA, Lipman J. Pharmacokinetic issues for antibiotics in the critically ill patient 12. *Crit Care Med* 2009 Mar;37(3):840-51.
- (70) Mouton JW, den Hollander JG. Killing of *Pseudomonas aeruginosa* during continuous and intermittent infusion of ceftazidime in an in vitro pharmacokinetic model 1. *Antimicrob Agents Chemother* 1994 May;38(5):931-6.
- (71) Angus BJ, Smith MD, Suputtamongkol Y, Mattie H, Walsh AL, Wuthiekanun V, et al. Pharmacokinetic-pharmacodynamic evaluation of ceftazidime continuous infusion vs intermittent bolus injection in septicemic melioidosis 7. *Br J Clin Pharmacol* 2000 May;49(5):445-52.
- (72) Taccone FS, Laterre PF, Dugernier T, Spapen H, Delattre I, Wittebole X, et al. Insufficient beta-lactam concentrations in the early phase of severe sepsis and septic shock 2. *Crit Care* 2010;14(4):R126.
- (73) Forrest A, Nix DE, Ballow CH, Goss TF, Birmingham MC, Schentag JJ. Pharmacodynamics of intravenous ciprofloxacin in seriously ill patients 2. *Antimicrob Agents Chemother* 1993 May;37(5):1073-81.
- (74) Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, et al. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America 3. *Clin Infect Dis* 2009 Jan 1;48(1):1-12.
- (75) Holmes NE, Howden BP. The rise of antimicrobial resistance: a clear and present danger 2. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2011 Jun;9(6):645-8.
- (76) Livermore DM. Current epidemiology and growing resistance of gram-negative pathogens 1. *Korean J Intern Med* 2012 Jun;27(2):128-42.

- (77) Hughes VM, Datta N. Conjugative plasmids in bacteria of the 'pre-antibiotic' era 2. *Nature* 1983 Apr 21;302(5910):725-6.
- (78) Livermore DM. Minimising antibiotic resistance 1. *Lancet Infect Dis* 2005 Jul;5(7):450-9.
- (79) Kollef MH. The importance of appropriate initial antibiotic therapy for hospital-acquired infections 1. *Am J Med* 2003 Nov;115(7):582-4.
- (80) Ibrahim EH, Sherman G, Ward S, Fraser VJ, Kollef MH. The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting 2. *Chest* 2000 Jul;118(1):146-55.
- (81) Rimpler H. Biogene Arzneistoffe. 2. Auflage ed. Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag; 1999.
- (82) Steinhilber D, Schubert-Zsilavecz M, Rot H. Medizinische Chemie. Stuttgart: 2005.
- (83) Kohanski MA, Dwyer DJ, Collins JJ. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks 2. *Nat Rev Microbiol* 2010 Jun;8(6):423-35.
- (84) Stragen Pharma. Fachinformation Piperacillin/Tazobactam Stragen 4/0,5 g Pulver zur Herstellung einer Injektionslösung oder Infusionslösung. 2009. Ref Type: Online Source
- (85) Standardinformation für Krankenhausapotheker Tazobac 2001.
- (86) Drlica K. Control of bacterial DNA supercoiling 1. *Mol Microbiol* 1992 Feb;6(4):425-33.
- (87) Hooper DC. Fluoroquinolone resistance among Gram-positive cocci 1. *Lancet Infect Dis* 2002 Sep;2(9):530-8.
- (88) Wigley DB. Structure and mechanism of DNA topoisomerases 1. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 1995;24:185-208.
- (89) Van BF, Michot JM, Van EJ, Tulkens PM. Quinolones in 2005: an update 7. *Clin Microbiol Infect* 2005 Apr;11(4):256-80.
- (90) Saier MH, Jr., Paulsen IT, Sliwinski MK, Pao SS, Skurray RA, Nikaido H. Evolutionary origins of multidrug and drug-specific efflux pumps in bacteria 5. *FASEB J* 1998 Mar;12(3):265-74.
- (91) Fresenius Kabi Deutschland. Fachinformation Ciprofloxacin Kabi Infusionslösung. <http://www.fachinfo.de/data/fi/jsearch?praep> 12/2008. 2008. Ref Type: Online Source
- (92) Blaser J, Stone BB, Groner MC, Zinner SH. Comparative study with enoxacin and netilmicin in a pharmacodynamic model to determine importance of ratio

- of antibiotic peak concentration to MIC for bactericidal activity and emergence of resistance 1. *Antimicrob Agents Chemother* 1987 Jul;31(7):1054-60.
- (93) Preston SL, Drusano GL, Berman AL, Fowler CL, Chow AT, Dornseif B, et al. Pharmacodynamics of levofloxacin: a new paradigm for early clinical trials 2. *JAMA* 1998 Jan 14;279(2):125-9.
- (94) Sanchez-Recio MM, Colino CI, Sanchez-Navarro A. A retrospective analysis of pharmacokinetic/pharmacodynamic indices as indicators of the clinical efficacy of ciprofloxacin 1. *J Antimicrob Chemother* 2000 Mar;45(3):321-8.
- (95) Turnidge J. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of fluoroquinolones 1. *Drugs* 1999;58 Suppl 2:29-36.
- (96) Scaglione F. Can PK/PD be used in everyday clinical practice 10. *Int J Antimicrob Agents* 2002 Apr;19(4):349-53.
- (97) Schentag JJ, Meagher AK, Forrest A. Fluoroquinolone AUC break points and the link to bacterial killing rates. Part 2: human trials 2. *Ann Pharmacother* 2003 Oct;37(10):1478-88.
- (98) Bouman CS. Antimicrobial dosing strategies in critically ill patients with acute kidney injury and high-dose continuous veno-venous hemofiltration 5. *Curr Opin Crit Care* 2008 Dec;14(6):654-9.
- (99) Bouman CS, van Olden RW, Stoutenbeek CP. Cytokine filtration and adsorption during pre- and postdilution hemofiltration in four different membranes 1. *Blood Purif* 1998;16(5):261-8.
- (100) White LE, Chaudhary R, Moore LJ, Moore FA, Hassoun HT. Surgical sepsis and organ crosstalk: the role of the kidney 1. *J Surg Res* 2011 May 15;167(2):306-15.
- (101) Groeneveld AB, Bronsveld W, Thijs LG. Hemodynamic determinants of mortality in human septic shock 4. *Surgery* 1986 Feb;99(2):140-53.
- (102) Bellmann R, Egger P, Gritsch W, Bellmann-Weiler R, Joannidis M, Dunzendorfer S, et al. Pharmacokinetics of ciprofloxacin in patients with acute renal failure undergoing continuous venovenous haemofiltration: influence of concomitant liver cirrhosis 2. *Acta Med Austriaca* 2002;29(3):112-6.
- (103) Thalhammer F, Grabein B. *Kompendium der antimikrobiellen Therapie*. München: Arcis Verlag GmbH; 2005.
- (104) Malone RS, Fish DN, Abraham E, Teitelbaum I. Pharmacokinetics of cefepime during continuous renal replacement therapy in critically ill patients 1. *Antimicrob Agents Chemother* 2001 Nov;45(11):3148-55.

- (105) Valtonen M, Tiula E, Backman JT, Neuvonen PJ. Elimination of meropenem during continuous veno-venous haemofiltration and haemodiafiltration in patients with acute renal failure 2. *J Antimicrob Chemother* 2000 May;45(5):701-4.
- (106) Golper TA. Drug removal during continuous hemofiltration or hemodialysis 7. *Contrib Nephrol* 1991;93:110-6.
- (107) Valtonen M, Tiula E, Takkunen O, Backman JT, Neuvonen PJ. Elimination of the piperacillin/tazobactam combination during continuous venovenous haemofiltration and haemodiafiltration in patients with acute renal failure 1. *J Antimicrob Chemother* 2001 Dec;48(6):881-5.
- (108) Capellier G, Cornette C, Boillot A, Guinchard C, Jacques T, Blasco G, et al. Removal of piperacillin in critically ill patients undergoing continuous venovenous hemofiltration 1. *Crit Care Med* 1998 Jan;26(1):88-91.
- (109) van der Werf TS, Mulder PO, Zijlstra JG, Uges DR, Stegeman CA. Pharmacokinetics of piperacillin and tazobactam in critically ill patients with renal failure, treated with continuous veno-venous hemofiltration (CVVH) 1. *Intensive Care Med* 1997 Aug;23(8):873-7.
- (110) Malone RS, Fish DN, Abraham E, Teitelbaum I. Pharmacokinetics of levofloxacin and ciprofloxacin during continuous renal replacement therapy in critically ill patients 2. *Antimicrob Agents Chemother* 2001 Oct;45(10):2949-54.
- (111) Arzuaga A, Maynar J, Gascon AR, Isla A, Corral E, Fonseca F, et al. Influence of renal function on the pharmacokinetics of piperacillin/tazobactam in intensive care unit patients during continuous venovenous hemofiltration 6. *J Clin Pharmacol* 2005 Feb;45(2):168-76.
- (112) Seyler L, Cotton F, Taccone FS, De BD, Macours P, Vincent JL, et al. Recommended beta-lactam regimens are inadequate in septic patients treated with continuous renal replacement therapy 1. *Crit Care* 2011;15(3):R137.
- (113) Davies SP, Azadian BS, Kox WJ, Brown EA. Pharmacokinetics of ciprofloxacin and vancomycin in patients with acute renal failure treated by continuous haemodialysis 1. *Nephrol Dial Transplant* 1992;7(8):848-54.
- (114) Utrup TR, Mueller EW, Healy DP, Callcut RA, Peterson JD, Hurford WE. High-dose ciprofloxacin for serious gram-negative infection in an obese, critically ill patient receiving continuous venovenous hemodiafiltration 1. *Ann Pharmacother* 2010 Oct;44(10):1660-4.
- (115) Wallis SC, Mullany DV, Lipman J, Rickard CM, Daley PJ. Pharmacokinetics of ciprofloxacin in ICU patients on continuous veno-venous haemodiafiltration 1. *Intensive Care Med* 2001 Apr;27(4):665-72.

- (116) Spooner AM, Deegan C, D'Arcy DM, Gowing CM, Donnelly MB, Corrigan OI. An evaluation of ciprofloxacin pharmacokinetics in critically ill patients undergoing continuous veno-venous haemodiafiltration 1. *BMC Clin Pharmacol* 2011;11:11.
- (117) Mueller SC, Majcher-Peszynska J, Hickstein H, Francke A, Pertschy A, Schulz M, et al. Pharmacokinetics of piperacillin-tazobactam in anuric intensive care patients during continuous venovenous hemodialysis 4. *Antimicrob Agents Chemother* 2002 May;46(5):1557-60.
- (118) Schiffter H. *Pharmakokinetik - Modelle und Berechnungen*. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart; 2009.
- (119) Langguth P, Fricker G, Wunderli-Allenspach H. *Biopharmazie*. Weinheim: WILEY-VCH; 2004.
- (120) Denooz R, Charlier C. Simultaneous determination of five beta-lactam antibiotics (cefepim, ceftazidim, cefuroxim, meropenem and piperacillin) in human plasma by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection 4. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2008 Mar 15;864(1-2):161-7.
- (121) Beyer U. ABC der Probenvorbereitung. 11-8-2011. Ref Type: Online Source
- (122) Nau R, Kinzig-Schippers M, Sorgel F, Schinschke S, Rossing R, Muller C, et al. Kinetics of piperacillin and tazobactam in ventricular cerebrospinal fluid of hydrocephalic patients 1. *Antimicrob Agents Chemother* 1997 May;41(5):987-91.
- (123) Eger K, Troschütz R, Roth H. *Arzneistoffanalyse*. 5. völlig neu bearbeitete Auflage ed. Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag; 2006.
- (124) Arzuaga A, Isla A, Gascon AR, Maynar J, Martin A, Solinis MA, et al. Quantitation and stability of piperacillin and tazobactam in plasma and ultrafiltrate from patients undergoing continuous venovenous hemofiltration by HPLC 2. *Biomed Chromatogr* 2005 Oct;19(8):570-8.
- (125) EMA, CHMP. Guideline on bioanalytical method validation 1. 21-7-2011. Ref Type: Online Source
- (126) Bundesministerium für Gesundheit und Soziale Sicherung. Verordnung über die Anwendung der Guten Klinischen Praxis bei der Durchführung von klinischen Prüfungen mit Arzneimitteln zur Anwendung am Menschen 43. 3-11-2006. Ref Type: Online Source
- (127) Bundesgesetz. Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz - AMG). 22-12-2011. Ref Type: Online Source
- (128) Cohen J. A power primer 6. *Psychol Bull* 1992 Jul;112(1):155-9.

- (129) Weltärztebund (WMA). Deklaration von Helsinki 44. 2008. 2008. Ref Type: Online Source
- (130) Miranda DR, de RA, Schaufeli W. Simplified Therapeutic Intervention Scoring System: the TISS-28 items--results from a multicenter study 3. Crit Care Med 1996 Jan;24(1):64-73.
- (131) Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system 20. Crit Care Med 1985 Oct;13(10):818-29.
- (132) European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters 32. Version 2.0. 1-1-2012. Ref Type: Online Source
- (133) Pfizer. Fachinformation Tazobac EF 4 g / 0,5 g 33. Stand Februar 2011. 2011. Ref Type: Online Source
- (134) Bayer Schering Pharma. Fachinformation Ciprobay 400 mg 34. 1-4-2010. Ref Type: Online Source
- (135) Augey V, Grosse PY, Albert G, Audran M, Bressolle F. High-performance liquid chromatographic determination of tazobactam and piperacillin in human plasma and urine 1. J Chromatogr B Biomed Appl 1996 Jun 28;682(1):125-36.
- (136) Di GG, Ferrannini M, Testore GP, Federici G, Pastore A. High performance liquid chromatographic determination of plasma free and total tazobactam and piperacillin 1. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2009 Jan 1;877(1-2):86-8.
- (137) Marselos SC, Archontaki HA. Development and optimization of a reversed-phase high-performance liquid chromatographic method for the determination of piperacillin and tazobactam in tazocin injectable powder 1. J Pharm Biomed Anal 2002 Jul 31;29(5):787-93.
- (138) McWhinney BC, Wallis SC, Hillister T, Roberts JA, Lipman J, Ungerer JP. Analysis of 12 beta-lactam antibiotics in human plasma by HPLC with ultraviolet detection 1. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2010 Jul 15;878(22):2039-43.
- (139) Xia CH, Xiong YQ, Wang GJ. An improved high-performance liquid chromatographic method with a solid-phase extraction for the determination of piperacillin and tazobactam: application to pharmacokinetic study of different dosage in Chinese healthy volunteers 3. Biomed Chromatogr 2007 Jul;21(7):680-6.
- (140) Bardot S, Vest P, Renard C, Renaudeau C. [Determination of ciprofloxacin in human serum by high-performance liquid chromatography] 1. Ann Biol Clin (Paris) 2005 Sep;63(5):513-6.

- (141) De SJ, Boussery K, Colpaert K, De SP, De PP, Decruyenaere J, et al. Pharmacokinetics of fluoroquinolones in critical care patients: A bio-analytical HPLC method for the simultaneous quantification of ofloxacin, ciprofloxacin and moxifloxacin in human plasma 1. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2009 Apr 1;877(10):961-7.
- (142) Garces A, Zerzanova A, Kucera R, Barron D, Barbosa J. Determination of a series of quinolones in pig plasma using solid-phase extraction and liquid chromatography coupled with mass spectrometric detection Application to pharmacokinetic studies 1. *J Chromatogr A* 2006 Dec 22;1137(1):22-9.
- (143) Kamberi M, Tsutsumi K, Kotegawa T, Nakamura K, Nakano S. Determination of ciprofloxacin in plasma and urine by HPLC with ultraviolet detection 3. *Clin Chem* 1998 Jun;44(6 Pt 1):1251-5.
- (144) Krol GJ, Beck GW, Benham T. HPLC analysis of ciprofloxacin and ciprofloxacin metabolites in body fluids 1. *J Pharm Biomed Anal* 1995 Dec;14(1-2):181-90.
- (145) Maya MT, Goncalves NJ, Silva NB, Morais JA. Simple high-performance liquid chromatographic assay for the determination of ciprofloxacin in human plasma with ultraviolet detection 3. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2001 May 5;755(1-2):305-9.
- (146) Watabe S, Yokoyama Y, Nakazawa K, Shinozaki K, Hiraoka R, Takeshita K, et al. Simultaneous measurement of pazufloxacin, ciprofloxacin, and levofloxacin in human serum by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection 1. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2010 Jun 1;878(19):1555-61.
- (147) Sowinski KM, Kays MB. Determination of ciprofloxacin concentrations in human serum and urine by HPLC with ultraviolet and fluorescence detection 2. *J Clin Pharm Ther* 2004 Aug;29(4):381-7.
- (148) Trittler R, Ehrlich M, Galla TJ, Horch RE, Kummerer K. New and rapid fully automated method for determination of tazobactam and piperacillin in fatty tissue and serum by column-switching liquid chromatography 1. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2002 Aug 5;775(2):127-32.
- (149) Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008 1. *Crit Care Med* 2008 Jan;36(1):296-327.
- (150) Forest Laboratories. Fachinformation Colistin CF. <http://www.fachinfo.de> . 2010. Ref Type: Online Source
- (151) Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JD, Coulthard K. Stability of colistin and colistin methanesulfonate in aqueous media and plasma as determined by high-

- performance liquid chromatography 3. *Antimicrob Agents Chemother* 2003 Apr;47(4):1364-70.
- (152) Hubicka U, Krzek J, Walczak M. Stability of ciprofloxacin and norfloxacin in the presence and absence of metal ions in acidic solution 4. *Pharm Dev Technol* 2010 Sep;15(5):532-44.
- (153) Ronco C, Bellomo R, Homel P, Brendolan A, Dan M, Piccinni P, et al. Effects of different doses in continuous veno-venous haemofiltration on outcomes of acute renal failure: a prospective randomised trial 2. *Lancet* 2000 Jul 1;356(9223):26-30.
- (154) Bellomo R, Cass A, Cole L, Finfer S, Gallagher M, Lo S, et al. Intensity of continuous renal-replacement therapy in critically ill patients 1. *N Engl J Med* 2009 Oct 22;361(17):1627-38.
- (155) Craig WA. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men 8. *Clin Infect Dis* 1998 Jan;26(1):1-10.
- (156) Kaufman SE, Donnell RW, Hickey WS. Rationale and evidence for extended infusion of piperacillin-tazobactam 1. *Am J Health Syst Pharm* 2011 Aug 15;68(16):1521-6.
- (157) Owens RC, Jr., Shorr AF. Rational dosing of antimicrobial agents: pharmacokinetic and pharmacodynamic strategies 2. *Am J Health Syst Pharm* 2009 Jun 15;66(12 Suppl 4):S23-S30.
- (158) Turnidge JD. The pharmacodynamics of beta-lactams 4. *Clin Infect Dis* 1998 Jul;27(1):10-22.
- (159) Giron JA, Meyers BR, Hirschman SZ, Srulevitch E. Pharmacokinetics of piperacillin in patients with moderate renal failure and in patients undergoing hemodialysis 2. *Antimicrob Agents Chemother* 1981 Feb;19(2):279-83.
- (160) Batra VK, Morrison JA, Lasseter KC, Joy VA. Piperacillin kinetics 1. *Clin Pharmacol Ther* 1979 Jul;26(1):41-53.
- (161) Bouman CS, van Kan HJ, Koopmans RP, Korevaar JC, Schultz MJ, Vroom MB. Discrepancies between observed and predicted continuous venovenous hemofiltration removal of antimicrobial agents in critically ill patients and the effects on dosing 1. *Intensive Care Med* 2006 Dec;32(12):2013-9.
- (162) Kroh UF. Drug administration in critically ill patients with acute renal failure 1. *New Horiz* 1995 Nov;3(4):748-59.
- (163) Golper TA. Update on drug sieving coefficients and dosing adjustments during continuous renal replacement therapies 5. *Contrib Nephrol* 2001;(132):349-53.

- (164) McKinnon PS, Paladino JA, Schentag JJ. Evaluation of area under the inhibitory curve (AUC) and time above the minimum inhibitory concentration (T>MIC) as predictors of outcome for cefepime and ceftazidime in serious bacterial infections 1. *Int J Antimicrob Agents* 2008 Apr;31(4):345-51.
- (165) Sanders WE, Jr., Sanders CC. Piperacillin/tazobactam: a critical review of the evolving clinical literature 3. *Clin Infect Dis* 1996 Jan;22(1):107-23.
- (166) Trotman RL, Williamson JC, Shoemaker DM, Salzer WL. Antibiotic dosing in critically ill adult patients receiving continuous renal replacement therapy 1. *Clin Infect Dis* 2005 Oct 15;41(8):1159-66.
- (167) Roberts JA, Roberts MS, Robertson TA, Dalley AJ, Lipman J. Piperacillin penetration into tissue of critically ill patients with sepsis--bolus versus continuous administration? 2. *Crit Care Med* 2009 Mar;37(3):926-33.
- (168) Burgess DS, Waldrep T. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of piperacillin/tazobactam when administered by continuous infusion and intermittent dosing 1. *Clin Ther* 2002 Jul;24(7):1090-104.
- (169) Lodise TP, Jr., Lomaestro B, Drusano GL. Piperacillin-tazobactam for *Pseudomonas aeruginosa* infection: clinical implications of an extended-infusion dosing strategy 5. *Clin Infect Dis* 2007 Feb 1;44(3):357-63.
- (170) Roberts JA, Webb S, Paterson D, Ho KM, Lipman J. A systematic review on clinical benefits of continuous administration of beta-lactam antibiotics 4. *Crit Care Med* 2009 Jun;37(6):2071-8.
- (171) Pea F, Poz D, Viale P, Pavan F, Furlanut M. Which reliable pharmacodynamic breakpoint should be advised for ciprofloxacin monotherapy in the hospital setting? A TDM-based retrospective perspective 1. *J Antimicrob Chemother* 2006 Aug;58(2):380-6.
- (172) Zelenitsky S, Ariano R, Harding G, Forrest A. Evaluating ciprofloxacin dosing for *Pseudomonas aeruginosa* infection by using clinical outcome-based Monte Carlo simulations 1. *Antimicrob Agents Chemother* 2005 Oct;49(10):4009-14.
- (173) Joukhadar C, Frossard M, Mayer BX, Brunner M, Klein N, Siostrzonek P, et al. Impaired target site penetration of beta-lactams may account for therapeutic failure in patients with septic shock 6. *Crit Care Med* 2001 Feb;29(2):385-91.

