



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Александар Б. Ранчић

**Анализа фармакокинетичких и
фармакодинамичких параметара
меропенема код критично оболелих
пацијената**

докторска дисертација

Крагујевац, 2025



UNIVERZITET U KRAGUJEVCU
FAKULTET MEDICINSKIH NAUKA

Aleksandar B. Rančić

**Analiza farmakokinetičkih i farmakodinamičkih
parametara meropenema kod kritično obolelih
pacijenata**

doktorska disertacija

Kragujevac, 2025



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Aleksandar B. Rančić

**Analysis of pharmacokinetic and
pharmacodynamic parameters of meropenem
in critically ill patients**

Doctoral Dissertation

Kragujevac, 2025

ИДЕНТИФИКАЦИОНА СТРАНИЦА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Аутор
Име и презиме: Александар Ранчић
Датум и место рођења: 01.01.1982., Пирот, Република Србија
Садашње запослење: Аналитичар у екотоксиколошкој лабораторији у Институту за јавно здравље Крагујевац
Докторска дисертација
Наслов: Анализа фармакокинетичких и фармакодинамичких параметара меропенема код критично оболелих пацијената
Број страница: 70
Број слика: (слика 4, табела 14, графикона 2)
Број библиографских података: 198
Установа и место где је рад израђен: Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу;
Научна област (УДК): Медицинске науке
Ментор: Доц. др Милош Милосављевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија;
Број и датум одлуке Већа Универзитета о прихватању теме докторске дисертације: IV-03-395/19 од 10.06.2022. године

IDENTIFIKACIONA STRANICA DOKTORSKE DISERTACIJE

Autor
Ime i prezime: Aleksandar Rančić
Datum i mesto rođenja: 01.01.1982., Pirot, Republika Srbija
Sadašnje zaposlenje: Analitičar u ekotoksikološkoj laboratoriji u Institutu za javno zdravlje Kragujevac
Doktorska disertacija
Naslov: Analiza farmakokinetičkih i farmakodinamičkih parametara meropenema kod kritično obolelih pacijenata
Broj stranica: 70
Broj slika: (slika 4, tabela 14, grafikona 2)
Broj bibliografskih podataka: 198
Ustanova i mesto gde je rad izrađen: Fakultet medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu;
Naučna oblast (UDK): Medicinske nauke
Mentor: Doc. dr Miloš Milosavljević, docent Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Farmakologija i tokiskologija
Broj i datum odluke Veća univerziteta o prihvatanju teme doktorske disertacije: IV-03-395/19 од 10.06.2022. године

THE DOCTORAL DISSERTATION IDENTIFICATION PAGE

Author
Name and surname: Aleksandar Rančić
Date and place of birth: 01.01.1982., Pirot, Republic of Serbia
Current employment: Analyst in the ecotoxicological laboratory, Institute of Public Health Kragujevac
Doctoral Dissertation
Title: Analysis of pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters of meropenem in critically ill patients
No. of pages: 70
No. of images: (images 4, tables 14, graphs 2)
No. of bibliographic data: 198
Institution and place of work: Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac;
Scientific area (UDK): Medical sciences
Mentors: Asst. prof. Miloš Milosavljević, Assistant professor of Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, for the narrow scientific field of Pharmacology and toxicology
Decision number and date of acceptance of the doctoral dissertation topic: IV-03-395/19 from 10.06.2022.

Захвалница

Захваљујем се свом ментору доц. др Милошу Милосављевићу на несебичној помоћи у свим фазама истраживања, подршци, разумевању и мотивацији током израде ове дисертације.

Ова дисертација не би била могућа без изузетне подршке професора Слободана Јанковића. Зато посебну захвалност дугујем професору Јанковићу на избору теме, посвећености, неизмерном стрпљењу и помоћи у овом раду.

Желео бих да се захвалим свим осталим професорима Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу, посебно професорима са катедре - Фармакологија и токсикологија, на корисним саветима и смерницама у раду током трајања докторски студија.

Хвала колегама и пријатељима из Института за јавно здравље Крагујевац и Службе за клиничку фармакологију Универзитетског клиничког центра Крагујевац, који су увек били спремни да помогну и пруже подршку.

Посебно хвала мојој породици на бескрајном стрпљењу, љубави и вери у мене. Њима дугујем много више од обичне људске захвалности.

Сажетак

Увод: Меропенем је антибиотик из групе карбапенема који је веома значајан у терапији тешких инфекција у болничким условима. У циљу оптимизације антибиотске терапије, пре свега код критично оболелих пацијената, саветује се спровођење терапијског мониторинга меропенема и одређивање индивидуалних доза овог антибиотика. У оквиру ове докторске дисертације постављено је више циљева, који се односе на одређивање фармакокинетичких параметара и фармакокинетичког/фармакодинамичког (*PK/PD*) профила меропенема у популацији критично оболелих пацијената.

Материјал и метод: У првом делу истраживања спроведена је валидација *HPLC* методе за одређивање концентрације меропенема у плазми у складу са смерницама Европске медицинске агенције за анализу биоаналитичких метода. У другом делу истраживања спроведена је популациона фармакокинетичка анализа и развој популационог фармакокинетичког модела клиренса меропенема помоћу *NONMEM* софтвера. Коначно, у трећем делу истраживања испитиван је *PK/PD* профил меропенема у популацији критично оболелих пацијената.

Резултати: У коначном популационом фармакокинетичком моделу показало се да су варијабле које испољавају статистички значајан утицај на вредност клиренса меропенема концентрација креатинина у серуму, број леукоцита, хипертензија и конкомитантна примена ванкомицина или колистиметата. Фактори који утичу на субдозираност меропенема код критично оболелих пацијената су инфекције узроковане бактеријама као што су *Acinetobacter spp.* и *Pseudomonas aeruginosa*.

Закључак: Код критично оболелих пацијената потребно је индивидуално прилагођавање дозе меропенема у односу на вредности клиренса и узрочника бактеријске инфекције.

Кључне речи: меропенем, популациона фармакокинетика, критично оболели пацијенти, *PK/PD* индекс.

Abstract

Introduction: Meropenem is a carbapenem antibiotic that plays a crucial role in the treatment of severe infections in hospital settings. To optimize antibiotic therapy—particularly in critically ill patients—therapeutic drug monitoring and individualized dosing of meropenem are recommended. This doctoral dissertation aimed to determine the pharmacokinetic parameters and the pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) profile of meropenem in a population of critically ill patients.

Material and methods: In the first phase of the study, the HPLC method for determining meropenem plasma concentrations was validated according to the European Medicines Agency guidelines for bioanalytical method validation. In the second phase, a population pharmacokinetic (popPK) analysis was performed, and a popPK model describing meropenem clearance was developed using NONMEM software. Finally, in the third phase, the PK/PD profile of meropenem was evaluated in the critically ill patient population.

Results: The final popPK model identified several covariates with a statistically significant impact on meropenem clearance, including serum creatinine concentration, leukocyte count, hypertension, and concomitant administration of vancomycin or colistimethate. Factors contributing to meropenem underdosing in critically ill patients included infections caused by *Acinetobacter spp.* and *Pseudomonas aeruginosa*.

Conclusion: In critically ill patients, individualized meropenem dosing is necessary, taking into account clearance values and the causative bacterial pathogen to ensure optimal therapeutic outcomes.

Keywords: meropenem, population pharmacokinetics, critically ill patients, PK/PD index.

Садржај:

1. Увод.....	1
1.1. Историјски развој карбапенема.....	1
1.2. Хемијске карактеристике карбапенемских антибиотика	2
1.3. Фармакодинамика карбапенемских антибиотика	5
1.3.1. Механизам дејства	5
1.3.2. Антибактеријски спектар дејства карбапенема	5
1.4. Индикације за примену меропенема.....	8
1.5. Бактеријска резистенција према меропенему и осталим карбапенемским антибиотицима.....	9
1.6. Фармакокинетика меропенема	10
1.7. Дозирање меропенема	11
1.8. Нежељена дејства меропенема	12
1.9. Интеракције меропенема са другим лековима	13
1.10. Контраиндикације за примену меропенема	14
1.11. Примена меропенема у трудноћи и лактацији.....	14
1.12. Фармакокинетички/фармакодинамички индекс меропенема	15
1.13. Терапијски мониторинг меропенема	16
1.14. Оптимизација дозирања меропенема код критично оболелих пацијената.....	18
2. Циљеви и хипотезе.....	20
2.1. Циљеви	20
2.2. Хипотезе	20
3. Материјал и метод	21
3.1. Врста студије.....	21
3.2. Студијска популација.....	21
3.3. Узорковање.....	21
3.4. Протокол узимања узорака крви испитаника	22
3.5. Анализа крви	22
3.6. <i>HPLC</i> анализа.....	22
3.6.1. Припрема узорака	22
3.6.2. Хроматографско раздвајање и квантификација меропенема	23

3.7. Валидација методе за мерење концентрације меропенема у плазми	23
3.7.1. Селективност.....	24
3.7.2. Калибрациона крива, линеарност и радни опсег	24
3.7.3. Лимит детекције и лимит квантификације.....	25
3.7.4. Тачност и прецизност.....	25
3.7.5. Принос екстракције	26
3.7.6. Ефекат преношења	26
3.7.7. Ефекат матрикса	26
3.7.8. Интегритет разблажења	27
3.7.9. Стабилност	27
3.8. AGREEprep и BAgI евалуација	28
3.9. Биохемијске анализе.....	28
3.10. Фармакокинетичка анализа	29
3.11. Варијабле које су мерене у истраживању	32
3.12. Израчунавање <i>PK/PD</i> индекса меропенема	32
3.13. Снага студије и величина узорка	33
3.14. Статистичка обрада података	33
4. Резултати.....	34
4.1. Вредности тестова у оквиру валидације <i>HPLC</i> методе	34
4.2. Фармакокинетичка анализа	39
4.2.1. Израда базног <i>popPK</i> модела меропенема	40
4.2.2. Израда пуног <i>popPK</i> модела меропенема.....	40
4.2.3. Израда коначног <i>popPK</i> модела меропенема.....	41
4.2.4. Валидација коначног <i>popPK</i> модела.....	44
4.3. <i>PK/PD</i> анализа	45
5. Дискусија	48
6. Закључци.....	57
7. Литература.....	58

1. Увод

Меропенем је антибиотик широког спектра дејства који припада групи карбапенемских антибиотика [1]. Карбапенеми су класа бета-лактамских антибиотика која броји неколико представника и која и данас, упркос појави све већег броја резистентних бактеријских сојева, представља ослонац у лечењу тешких инфекција у болничким условима [1].

1.1. Историјски развој карбапенема

Веома брзо након историјског открића пеницилина и његове широке употребе у клиничкој пракси постало је јасно да ће један од водећих проблема који ограничава примену овог антибиотика бити способност бактерија да стекну резистенцију на његово антибактеријско дејство [2,3]. Доминантан механизам којим патогени стичу резистенцију ка бета-лактамским антибиотицима била је продукција бета-лактамаза, специфичних ензима који разграђују бета-лактамски прстен у молекулској структури ових антибиотика и на тај начин спречавају њихово дејство [2,3]. Зато су већ 60-их година 20. века отпочели интензивни лабораторијски експерименти у циљу проналазка супстанци које ће инхибирати бактеријске бета-лактамазе. Најпре су откривена једињења на бази оливанске киселине, природног производа изолованог из специфичне бактерије *Streptomyces clavuligerus* [4]. Оливанска киселина је показала снажно инхибиторно дејство према бета-лактамазама, али се због хемијске нестабилности и слабије интрацелуларне пенетрације одустало од даљег развоја овог једињења као спасоносног инхибитора бактеријских бета-лактамаза [4]. У међувремену су пронађена два нова инхибитора бета-лактамаза која су изолована из специфичних бактерија из рода *Streptomyces*: клавуланска киселина, изолована из бактерије *Streptomyces clavuligerus* [5] и тиенамицин, једињење изоловано 1976. године из бактерије *Streptomyces cattleya* [6]. Тиенамицин се сматра првим карбапенемским антибиотиком, чија структура је послужила као основа за синтезу каснијих представника ове групе антибиотика [7]. Израз “карбапенем” употребљен је да означи карактеристичну хемијску структуру оличену у чињеници да је за полазни бета-лактамски прстен код ове групе антибиотика везан циклус сачињен само од угљеникових атома, због чега је и употребљен префикс “карба” у називу ових једињења [8]. Тиенамицин је испољавао веома значајно антибактеријско дејство широког спектра укључујући и одређене грам-негативне бактерије [7]. Међутим, практичну примену тиенамицина онемогућавали су недостаци као што су нестабилност у воденом раствору, осетљивост на благу базну хидролизу и велика реактивност према нуклеофилима [9]. Зато је настављен интензиван лабораторијски рад, усмерен ка синтези једињења које ће поседовати барем подједнако антибактеријско дејство и отпорност ка бета-лактамазама које је поседовао тиенамицин и које ће истовремено превазићи поменуте слабости првог представника карбапенема [7]. Веома брзо је развијен имипенем, *N*-формимидоил дериват тиенамицина [10]. У поређењу са тиенамицином, имипенем је значајно стабилније једињење, отпорније на базну хидролизу [10]. Због тога је 1985. године имипенем одобрен од стране врховног америчког регулаторног тела у области одобравања лекова (*Food and Drug Administration- FDA*) као први карбапенемски антибиотик за лечење тешких бактеријских инфекција [7]. Међутим, иако веома ефикасан, имипенем је антибиотик који има своја ограничења [7]. Пре свега, важно је истаћи да се имипенем разграђује под дејством специфичних дипептидаза које нормално продукују бубрези [7]. Зато се имипенем искључиво примењује у комбинацији са циластатином, једињењем које инхибира дејство бубрежних дипептидаза [7].

Развој карбапенемских антибиотика је свакако даље настављен. Истраживачки тим компаније *Sumitomo* је 1987. пријавио нови 1 β -метил карбапенем под шифром *SM-7338* (касније назван меропенем) [11], а рана *in vitro* испитивања 1989. показала су његову изузетну активност против широког спектра клиничких изолата, укључујући бољу ефикасност у односу на имипенем против *Enterobacter cloacae* и *Pseudomonas aeruginosa* [12]. Кључна предност у односу на имипенем била је присуство 1 β -метил групе која га је чинила значајно отпорнијим на хидролизу реналном дехидропептидазом I, тако да није захтевао ко-примену инхибитора као имипенем [13]. Током раних деведесетих година 20. века развијена је и стабилна инјекциона формулација са натријум-карбонатом [14], а лек је прво одобрен у Јапану 1995. године [15], а затим и од стране *FDA* у САД 1996. као *MERREM® I.V.* [16].

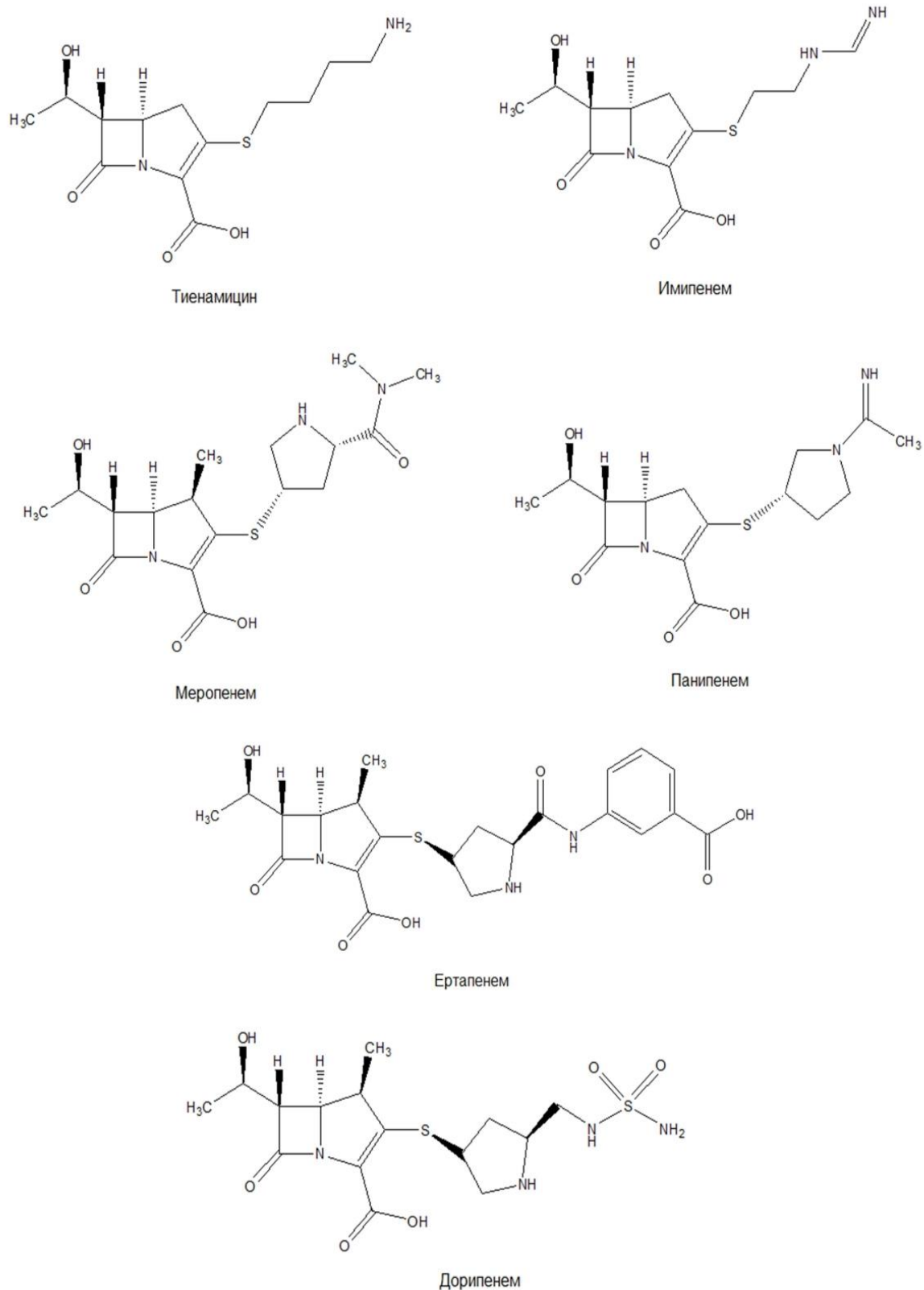
1.2. Хемијске карактеристике карбапенемских антибиотика

Карбапенеми су бета-лактамски антибиотици који се од пеницилина разликују по томе што имају атом угљеника који замењује атом сумпора на позицији 1 и незасићену везу између угљеникових атома C2 и C3 у структури петочланог прстена [17]. Врло брзо након синтезе карбапенема постало је јасно да су у питању антибиотици који су значајно отпорнији на дејство бета-лактамаза у односу на пеницилине и цефалоспорине [17]. То се објашњава чињеницом да у поређењу са бочним ланцима пеницилина и цефалоспорина, који имају *cis* конфигурације, карбапенеми на позицији 6 имају *trans*- α -1-хидроксиетил супституент [17]. Први карбапенемски антибиотици, имипенем и панипенем, имају значајно клиничко и практично ограничење које произилази из њихове хемијске структуре [18]. Наиме, ови карбапенемски антибиотици се након примене брзо разграђују у бубрезима под дејством ензима дехидропептидазе I [18]. Из тих разлога се имипенем увек примењује у комбинацији са циластатином, супстанцом која инхибира дејство реналне дехидропептидазе I, док се панипенем примењује у комбинацији са бетампироном [18]. Бетампирон такође спречава реналну деградацију панипенема, али тако што инхибира ајонски транспортер у тубулама бубрега, онемогућавајући тако улазак панипенема у тубуле бубрега [18]. Како би се превазишло ово ограничење, синтетисани су тзв. 1 β -метил карбапенеми, у које спадају меропенем, ертапенем, дорипенем и други.

Меропенем се од имипенема структурално разликује и по томе што је на позицији 2 извршена супституција са пирролидином [19]. Ова измена је, чини се, довела до проширивања антибактеријског спектра дејства меропенема, с обзиром да овај новији карбапенемски антибиотик значајно боље делује на грам-негативне бактерије од имипенема [19]. Молекул ертапенема је веома сличан молекулу меропенема, са том разликом што је приликом његове синтезе извршена мета-супституција бензоеном киселином на позицији 2 [20]. Ова мета-супституција повећава молекулску тежину и липофилност молекула, а и количину негативног наелектрисања које са собом носи молекул ертапенема [19]. Овакав велики и негативно наелектрисан молекул ертапенема лако пролази кроз ћелијске зидове грам-негативних бактерија, што је одредило и његов антибактеријски спектар дејства [19,20]. Но, поменуте промене у хемијској структури ертапенема имају и другу, важну клиничку последицу, која се огледа у чињеници да ертапенем има значајно дуже време полуживота у односу на остале карбапенеме [19,20]. Молекул дорипенема у свом бочном ланцу на позицији 2 садржи пирролидин, тиол и сулфонамидне групе, због чега има нарочито изражен спектар дејства умерен против неферментишућих грам-негативних бактерија [21]. Хемијске структуре неких од представника карбапенема приказане су на Слици 1, док су у Табели 1 приказане најважније хемијске карактеристике ових антибиотика.

Табела 1. Најважније хемијске карактеристике карбапенемских антибиотика [22-26]

Генеричко име	IUPAC назив	Молекуларна формула	Молекулска тежина (g/mol)	Број донора водоника	Број акцептора водника	Број прстенова	Поларна површина молекула (Å ²)	Растворљивост у води (mg/mL)
Имипенем	(5R,6S)-3-[2-(аминометилденеамино)етилсулфанил]-6-[(1R)-1-хидроксиетил]-7-оксо-1-азабицикло[3.2.0]хепт-2-ен-2-карбоксилна киселина	C ₁₂ H ₁₇ N ₃ O ₄ S	299,35	3	6	2	116,22	0,776
Панипенем	(5R,6S)-3-[(3S)-1-етанимидилпиролидин-3-ил]сулфанил-6-[(1R)-1-хидроксиетил]-7-оксо-1-азабицикло[3.2.0]хепт-2-ен-2-карбоксилна киселина	C ₁₅ H ₂₁ N ₃ O ₄ S	339,4	3	6	3	130,2	/
Меропенем	(4R,5S,6S)-3-[(3S,5S)-5-(диметилкарбамил)пиролидин-3-ил]сулфанил-6-[(1R)-1-хидроксиетил]-4-метил-7-оксо-1-азабицикло[3.2.0]хепт-2-ен-2-карбоксилна киселина	C ₁₇ H ₂₅ N ₃ O ₅ S	383,5	3	6	3	110,18	5,63
Ертапенем	(4R,5S,6S)-3-[(3S,5S)-5-[(3-карбоксифенил)карбамил]пиролидин-3-ил]сулфанил-6-[(1R)-1-хидроксиетил]-4-метил-7-оксо-1-азабицикло[3.2.0]хепт-2-ен-2-карбоксилна киселина	C ₂₂ H ₂₅ N ₃ O ₇ S	475,5	5	8	4	156,27	0,286
Дорипенем	(4R,5S,6S)-6-[(1R)-1-хидроксиетил]-4-метил-7-оксо-3-[[[(3S,5S)-5-(сулфамиламино)метил]пиролидин-3-ил]сулфанил]-1-азабицикло[3.2.0]хепт-2-ен-2-карбоксилна киселина	C ₁₅ H ₂₄ N ₄ O ₆ S ₂	420,5	5	8	3	162,06	3,13



Слика 1. Хемијске структуре појединих представника карбапенема

1.3. Фармакодинамика карбапенемских антибиотика

1.3.1. Механизам дејства

Карбапенеми, као и остали бета-лактамски антибиотици, припадају групи бактерицидних антибиотика који своје дејство остварују кроз инхибицију синтезе ћелијског зида бактерија [7]. Ови антибиотици немају способност лаке пенетрације у унутрашњост бактеријске ћелије [27]. Када су у питању грам-негативне бактерије, карбапенемски антибиотици користе порине, специфичне протеине спољашње мембране, за улазак у унутрашњост бактерија [7]. Главна мета деловања карбапенемских антибиотика јесу пеницилин везујући протеини (енгл. *penicillin-binding proteins; PBPs*) [7]. *PBPs* су специфични ензими из група трансгликолаза, транспептидаза и карбоксипептидаза, који катализују синтезу пептидогликана у ћелијском зиду бактерија [28]. Везивањем за *PBPs*, карбапенеми инхибирају умрежавање пептида и друге реакције кључне за синтезу пептидогликана [7]. Како је синтеза пептидогликана присуством карбапенемских антибиотика инхибирана, долази до преминања процеса аутолизе ћелијског зида [29]. Временом пептидогликан и ћелијски зид постају све слабији, да би на крају смрт бактеријске ћелије уследила због прекомерног накупљања воде и појачаног осмотског притиска [29]. Карбапенеми се сматрају једном од најпотентнијих група антибиотика инхибитора синтезе ћелијског зида бактерија, управо због чињенице да поседују способност да се вежу за више различитих *PBPs* [30].

Важно је нагласити да се структура *PBPs* експримираних код грам-негативних бактерија значајно разликује у односу на структуру ових протеина које производе грам-позитивне бактерије [1]. С тим у вези, показано је да различити представници карбапенемских антибиотика показују афинитет према различитим *PBPs* [1]. Тако се, на пример, меропенем везује за *PBP1* приликом остваривања свог ефекта против *Escherichia coli*, док са друге стране овај антибиотик показује снажан афинитет према три различита *PBPs* које експримира *Staphylococcus aureus* (*PBP1, PBP2* и *PBP4*) [1].

1.3.2. Антибактеријски спектар дејства карбапенема

Иако су карбапенемски антибиотици међусобно слични у погледу механизма дејства и молекулске структуре, може се рећи да међу њима постоје значајне разлике када је у питању спектар њиховог антибактеријског дејства [31]. Компаративном анализом антибактеријског спектра дејства имипенема и меропенема може се рећи да оба поменута карбапенемска антибиотика делују и на грам-негативне и на грам-позитивне бактерије [31,32]. Међутим, грам-позитивне коке су генерално осетљивије на дејство имипенема, док су грам-негативни бацили значајно осетљивији на дејство меропенема [32]. Такође, може се констатовати да дорипенем поседује нешто јаче антибактеријско дејство према грам-позитивним бактеријама у односу на меропенем и ертапенем [31]. Ертапенем, слично меропенему, значајније антибактеријско дејство испољава према грам-негативним бактеријама [31].

Међу бактеријама против којих карбапенемски антибиотици не испољавају клинички значајно бактерицидно дејство посебно се издвајају *Enterococcus faecium* и *Stenotrophomonas maltophilia* [31,32]. Међутим, важно је нагласити да је од момента синтезе и регистрације карбапенемских антибиотика за клиничку примену до данас дошло до значајних, негативних промена у погледу ширине и моћи њиховог антибактеријског спектра дејства. Овај феномен приписује се проблему све израженије и све присутније бактеријске резистенције, који ће подробније бити описан у наредном поглављу. Пример који можда најбоље илуструје промене у антибактеријском спектру дејства карбапанема настале услед бактеријске резистенције је пример лечења инфекција

узрокованих бактеријом *Acinetobacter baumannii* [33]. *Acinetobacter baumannii* је грам-негативна, анаеробна, неферментишућа бактерија која може да изазове тешке интрахоспиталне инфекције, као што су пнеумонија, бактеријемја и инфекције уринарног тракта [34,35]. У моменту открића, карбапенеми су сматрани антибиотицима избора за лечење ових тешких инфекција узрокованих *Acinetobacter baumannii*, будући да су испољавали снажно антибактеријско дејство против овог специфичног бактеријског узрочника [35]. Међутим, временом је *Acinetobacter baumannii* развила различите, моћне механизме резистенције према меропенему и другим карбапенемима [35,36]. Резистенција коју *Acinetobacter baumannii* испољава према карбапенемским антибиотицима данас је изражена толико да се у појединим регионима процењује да је чак 75% свих сојева ове бактерије резистентно на антибактеријско дејство меропенема [33].

Спектар дејства меропенема уистину је широк, с обзиром да меропенем испољава снажно бактерицидно дејство према различитим грам-позитивним аеробним, грам-негативним аеробним, грам-позитивним анаеробним и грам-негативним анаеробним бактеријама [37]. Иако је проблем бактеријске резистенције све израженији, меропенем се још увек сматра веома важним антибиотиком за лечење тешких инфекција узрокованих пре свега грам-негативним бактеријама [37]. Међу најважнијим патогеним узрочницима углавном осетљивим на дејство меропенема спадају бактерије из фамилије *Enterobacteriaceae*, као што су *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* и друге бактерије [37]. Када су у питању грам-позитивне аеробне бактерије, меропенем је веома ефикасан у ерадикацији пиогеног стрептокока групе А, *Streptococcus pneumoniae* и метицилин осетљивог *Staphylococcus aureus*-а [37]. Такође, важно је нагласити да је меропенем веома ефикасан у лечењу инфекција узрокованих и одређеним грам-позитивним анаеробним бактеријама, каква је у првом реду *Clostridium perfringens* [37]. Коначно, меропенем је уобичајено веома ефикасан и против грам-негативних анаеробних бактерија какве су бактерија из рода *Bacteroides* и *Prevotella* [37]. С друге стране, поред *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* је још једна грам-негативна бактерија против које је меропенем испољавао снажно бактерицидно дејство у првим годинама након почетка његове клиничке примене, а која је у међувремену развила значајне механизме резистенције [38]. У поређењу са инфекцијама које узрокује *Acinetobacter baumannii*, меропенем се још увек сматра легитимном терапијском опцијом за лечење инфекција које узрокује *Pseudomonas aeruginosa* [38]. Такође, у случају инфекција узрокованих меропенем-резистентним сојевима ове бактерије саветује се примена овог антибиотика у комбинацији са колистином или амикацином [39]. На крају, потребно је нагласити да постоје одређене бактерије које су природно резистентне на дејство меропенема, какве су у првом реду *Stenotrophomonas maltophilia* и врсте *Legionella* [37].

У Табели 2 дат је приказ антибактеријског спектра дејства меропенема са списком бактерија против којих меропенем, према званичном Сажетку карактеристика лека [37], испољава своје дејство и тренутним вредностима минималних инхибиторних концентрација меропенема за сваку бактерију према подацима Европског комитета за тестирање осетљивости на антимикробне лекове (енгл. *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; EUCAST*) [40].

Табела 2. Осетљивост појединих бактерија према меропенему

Бактерија	Категорија према <i>SmPC</i> -у	MIC граничне вредности (mg/L)	
		<i>S</i> ≤	<i>R</i> >
<i>Enterobacterales</i> (<i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Proteus vulgaris</i> и друге)	Уобичајено осетљиви сојеви	2	8 (све инфекције, са изузетком менингитиса) 2 (менингитис)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Сојеви код којих стечена резистенција може бити проблем	2	8 (све инфекције, са изузетком менингитиса) 2 (менингитис)
<i>Acinetobacter spp.</i>	Сојеви код којих стечена резистенција може бити проблем	2	8 (све инфекције, са изузетком менингитиса) 2 (менингитис)
<i>Staphylococcus</i> (осетљиве метицилин)	<i>spp.</i> на Уобичајено осетљиви сојеви	4	4
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Уобичајено осетљиви сојеви	2	(све инфекције, са изузетком менингитиса) 2 (све инфекције, са изузетком менингитиса) 0,25 (менингитис)
<i>Viridans streptococci</i>	<i>group</i> Уобичајено осетљиви сојеви	2	2
<i>Haemophilus influenzae</i>	Уобичајено осетљиви сојеви	2	(све инфекције, са изузетком менингитиса) 2 (све инфекције, са изузетком менингитиса) 0,25 (менингитис)
<i>Neisseria meningitidis</i>	Уобичајено осетљиви сојеви	0,25	0,25
<i>Prevotella spp.</i>	Уобичајено осетљиви сојеви	0,25	0,25
<i>Clostridium perfringens</i>	Уобичајено осетљиви сојеви	0,125	0,125
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Природно резистентни микроорганизми		
<i>Legionella species</i>	Природно резистентни микроорганизми		

MIC-минимална инхибиторна концентрација; *S*-сензитиван; *R*-резистентан.

1.4. Индикације за примену меропенема

Меропенем има повољан фармакокинетички профил (који је детаљније представљен у једном од наредних поглавља) што омогућава примену овог антибиотика за лечење инфекција различитих ткива и органа. Пре свега, меропенем је индикуван за лечење компликованих инфекција коже и меких ткива, компликованих интраабдоминалних инфекција и за лечење бактеријског менингитиса [37,41]. Поменуте индикације за примену меропенема могу се пронаћи у сажетцима карактеристика овог лека како у Републици Србији [37], тако и у Сједињеним Америчким Државама [41]. С друге стране, у Сажетку карактеристика меропенема одобреном од стране Агенције за лекове и медицинска средства Републике Србије међу индикацијама за примену овог лека наводе се и тешка пнеумонија (укључујући нозокомијалну пнеумонију и пнеумонију повезану са механичком вентилацијом), затим бронхопулмоналне инфекције код цистичне фиброзе, компликоване инфекције уринарног тракта, те интра- и постпарталне инфекције [37]. Према актуелном сажетку карактеристика лека одобреном од стране америчке савезне управе за храну и лекове (енгл. *Food and Drug Administration; FDA*), наведене инфекције нису део индикација за примену меропенема [41]. Наведене разлике у сажетцима карактеристика меропенема такође се објашњавају питањем бактеријске резистенције. Због проблема са потенцијалним развојем бактеријске резистенције, меропенем никада не треба да буде прва терапијска опција за лечење некомпличованих уринарних инфекција, већ га треба чувати за лечење компликованих уринарних инфекција [42]. Наиме, резултати појединих студија јасно указују да је меропенем и даље веома ефикасан у лечењу компликованих инфекција уринарног тракта, укључујући акутни пијелонефритис [43]. С друге стране, *FDA* је ревидирала Сажетак карактеристика меропенема на основу чињенице да није адекватно тестирана *in vivo*, клиничка ефикасност меропенема у лечењу компликованих уринарних инфекција узрокованих мултирезистентним, грам-негативним бактеријама, иако резултати студија, у којима је ефикасност меропенема против ових бактерија тестирана *in vitro*, указују да најмање 90% свих сојева ових бактерија показује вредности *MIC*-а које су мање или једнаке граничним вредностима осетљивости за меропенем против изолата сличног рода бактерија [41]. Због тога већина водича и данас убраја меропенем као једну од најважнијих терапијских опција првог реда за лечење компликованих уринарних инфекција изазваних мултирезистентним грам-негативним бактеријама [42]. Ипак, важно је напоменути да је од 2017. године доступна нова терапијска опција за лечење компликованих уринарних инфекција узрокованих мултирезистентним грам-негативним бактеријама. У питању је комбинација меропенема и ваборбактама, потентног инхибитора бета-лактамаза [44]. Слично се може рећи и за ефикасност меропенема у лечењу компликованих пнеумонија. С једне стране, јасно је да лечење тешких пнеумонија представља велики проблем, због високе стопе морталитета и феномена бактеријске резистенције [45]. Тако су резултати истраживања спроведеног у Кини показали да је преваленција меропенем-резистентних сојева *Klebsiella pneumoniae* и *Streptococcus pneumoniae* 2022. године била 24,2%, односно 10% [46,47]. Упркос све чешћој појави резистентних бактеријских сојева, меропенем се и данас сматра важном терапијском опцијом за лечење тешких болничких пнеумонија, укључујући пнеумонију повезану са респиратором и аспирациону нозокомијалну пнеумонију [48]. Такође, важно је напоменути да је, за разлику од САД-а, комбинација меропенема и ваборбактама поред компликованих уринарних инфекција, у Европи одобрена и за лечење тешких пнеумонија и компликованих интраабдоминалних инфекција [49].

1.5. Бактеријска резистенција према меропенему и осталим карбапенемским антибиотцима

У првим годинама када су се појавили, карбапенемима су били веома ефикасни против неких од најрезистентнијих типова бактерија узročника тешких интрахоспиталних инфекција [50]. Њихова супериорност у односу на друге тада доступне антибиотике, а пре свега пеницилине и цефалоспорине, огледала се у њиховој отпорности на дејство већине бета-лактамаза [50]. Међутим, данас, након 20-ак година континуиране употребе ових антибиотика ситуација је драстично другачија: све чешће се срећу сојеви различитих бактерија које су у потпуности резистентне на дејство карбапенема [50].

Различити су механизми којима бактерије постају резистентне на дејство карбапенема [51]. На примеру појединих бактеријских врста, као што су *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* можемо говорити о тзв. интринзичкој резистенцији, која се огледа присуством одређених унутрашњих специфичности у грађи цитоплазматске мембране ових бактерија које онемогућавају пенетрацију карбапенемских антибиотика у унутрашњост бактерија или које доводе до измена места дејства карбапенемских антибиотика [51]. Интринзичка резистенција према карбапенемима јесте значајан проблем, али много већа опасност лежи у стеченим облицима резистенције, који су све чешћи [51]. Постоји више типова стечене бактеријске резистенције према карбапенемима [51]. То су: (1) продукција карбапенемаза, специфичних типова бета-лактамаза које разграђују молекуле карбапенема, затим (2) смањена пенетрација карбапенема у унутрашњост бактерије услед смањене пермеабилности мембране или постојања ефлукс пумпи и (3) пост-транслационе модификације места дејства карбапенема [51].

Карбапенемазе су специфични типови бета-лактамаза које продукују одређене бактерије и које имају способност хидролизе карбапенемских антибиотика [52]. До данас је описано више од 8000 различитих типова бета-лактамаза [52]. Сви ови ензими се на основу своје грађе и потенцијала да разграђују одређене бета-лактаме могу поделити у четири основне групе, односно класе: *A*, *B*, *C* и *D* [51,52]. Карбапенемазе класе *A* су серин- β -лактамазе које хидролизују антибиотике тако што формирају ковалентне интермедијере преко активне серинске групе [53]. Ови ензими могу да разграде широк спектар бета-лактамских антибиотика, укључујући пеницилине, цефалоспорине, карбапенеме и монобактаме [54]. Ови ензими могу бити кодирани посредством хромозома или плаزمида [55]. Једна од најважнијих карбапенемаза класе *A* је карбапенемаза коју продукује *Klebsiella pneumoniae*, а која је кодирана плазмидом и која може да се шири на хумане патогене посредством бактерија из породице *Enterobacteriaceae* [56]. Карбапенемазе класе *B* припадају групи метало- β -лактамаза, а карактеристичне су по томе што могу хидролизовати све бета-лактамске антибиотике, са изузетком азтреонама [57]. Ове карбапенемазе се, у зависности од тога да ли један или два молекула цинка имају каталитичку активност, могу поделити у следеће подкласе: *B1* и *B3*, којима су потребна два атома цинка и *B2* којима је потребан један атом цинка [53]. Највећи значај данас имају *B1* карбапенемазе, јер се лако могу пренети мобилним плазмидима између различитих бактерија, као што су *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter spp.* и *Pseudomonas spp.* [58]. Карбапенемазе класе *C* имају веома мали потенцијал да катализују разградњу карбапенема, па заправо и не представљају карбапенемазе у правом смислу те речи [51]. Ове бета-лактамазе пре свега разграђују пеницилине и цефалоспорине [51]. Ипак, прекомерна продукција класе *C* карбапенемаза може да доведе до резистенције на карбапенеме, посебно у случају истовременог присуства других механизма бактеријске резистенције, какви су губитак порина или мутације [59].

Коначно, карбапенемазе класе *D*, се слично као и карбапенемазе класе *A*, сматрају серин- β -лактамазама [52]. Најпознатије типове ових карбапенемаза продукују *Acinetobacter baumannii* и *Klebsiella pneumoniae* [60]. Нарочито се међу овим карбапенемазама издваја ензим означен као *OXA-48* [61]. Карбапенемазе класе *D* су за разлику од карбапенемаза класе *A*, отпорне на дејство уобичајених инхибитора бета-лактамаза, као што је клавуланска киселина [61].

Други облици стечене бактеријске резистенције према карбапенемима јесу смањена пермеабилност мембрана бактерија услед смањене експресије порина и прекомерна експресија ефлукс пумпи [52]. Оба поменуто механизма резистенције нарочито су карактеристична за *Pseudomonas aeruginosa*-у [52]. Прекомерна експресија гена за ефлукс пумпе код грам-негативних бактерија регулисана је механизмом мутације [52].

Посттранслациона модификација *PBP*s као места дејства карбапенема представља још један од механизма којим одређене бактерије стичу резистенцију према овим антибиотицима [52].

Проблем учестале појаве карбапенем резистентних сојева бактерија делимично је решен развојем нових, потентнијих инхибитора бета-лактамаза, као што су ваборбактам, који се примењује у комбинацији са меропенемом и релебактам [62], који се примењује заједно са имипенемом и циластатином [63].

1.6. Фармакокинетика меропенема

Меропенем се примењује парентералним путем, најчешће у виду интравенске инфузије током 15 до 30 минута [37]. Такође, у дозама до 1 грама меропенем се може применити и у виду интравенске болус инјекције [37]. Студије на здравим добровољцима су показале да се средње вредности максималне концентрације (*C_{max}*) и површине испод криве (енгл. *Area Under the Curve*; *AUC*) повећавају са повећањем дозе меропенема, али да не постоји апсолутна дозно-зависна правилност у природи ове везе [64]. Тако измерена средња вредност *C_{max}* након примењене дозе меропенема од 500 mg у виду 30-минутне интравенске инфузије износи око 23 $\mu\text{g/ml}$, док након примене појединачне дозе меропенема од 1 g износи око 49 $\mu\text{g/ml}$ [64]. Када се меропенем примењује као интравенска болус инјекција у трајању од 5 минута средње вредности *C_{max}* износе 52 $\mu\text{g/ml}$ за дозу од 500 mg, односно 112 $\mu\text{g/ml}$ за дозу од 1 g [64]. С друге стране, израчунате средње вредности *AUC* након инфузионе примене меропенема код здравих добровољаца крећу се у опсегу од 27,2–32,4 $\text{mg}\cdot\text{h/L}$ за дозу од 500 mg, односно 66,9–77,5 $\text{mg}\cdot\text{h/L}$ за дозу меропенема од 1 g [64].

Када је у питању дистрибуција меропенема, важно је нагласити да се овај лек у веома малој количини везује за протеине плазме (свега око 2%) [37,64]. Меропенем добро продире у већину ткива и телесних течности, укључујући плућа, бронхијални секрет, жуч, цереброспиналну течност, гинеколошка ткива, кожу, фасције, мишиће и перитонеални ексудат [37,64]. У Табели 3 су приказане концентрације меропенема у појединачним ткивима и телесним течностима измерене у пику [65]. Волумен дистрибуције меропенема у равнотежном стању код здравих добровољаца креће се у опсегу од 12,5 до 20,7 L [66].

Меропенем се метаболише процесом хидролизе којом је захваћен бета-лактамски прстен [37]. Том приликом настаје један метаболит меропенема који је микробиолошки неактиван [37,64]. Као што је већ речено, меропенем је, за разлику од имипенема,

отпоран на дејство бубрежних дехидропептидаза, због чега нема потребе за његовом истовременом применом са инхибитором ових реналних ензима [37].

Табела 3. Максималне концентрације меропенема измерене у појединим ткивима и телесним течностима [65]

Ткиво/телесна течност	Концентрација меропенема у пику ($\mu\text{g/g}$)	
	Доза од 500 mg	Доза од 1000 mg
Плућа	/	1,4-8,2
Бронхијални секрет	/	1,3-11,1
Жуч	/	4,0-25,7
Гинеколошка ткива	0,3-10,2	/
Кожа	0,5-12,6	1,3-16,7
Фасције	/	1,5-20,0
Мишићи	/	5,3-6,9
Перитонеална течност	/	7,4-54,6
Интерстицијална течност	3,2-8,6	20,9-37,4
Интраабдоминална ткива	/	2,5-3,9

/- недостају подаци; максималне концентрације меропенема у пику у инфламираној цереброспиналној течности износе 0,2-0,8 $\mu\text{g/g}$ за дозу меропенема од 20 mg/kg, односно 0,9-6,5 $\mu\text{g/g}$ за дозу од 40 mg/kg.

Ипак, важно је нагласити да се меропенем највећим делом излучује неизмењен путем бубрега [64]. Време полуелиминације меропенема код одраслих пацијената и деце старије од 2 године износи око 1 сат [64]. Том динамиком се око 70% меропенема елиминише неизмењено након 12 сати [64]. Када су у питању деца узраста од 3 месеца до 2 године, време полуелиминације меропенема је нешто дуже и износи око 1,5 сати [24]. Резултати студије спроведене на здравим добровољцима код којих су примењене појединачне дозе меропенема у опсегу од 250 до 1000 mg су показали да укупан клиренс меропенема износи између 188 и 328 mL/min, док се бубрежни клиренс креће у опсегу од 139 до 252 mL/min [64]. Концентрације меропенема у урину измерене 5 сати након интравенске примене овог лека у дози од 500 mg веће су од 10 $\mu\text{g/mL}$ [65]. Захваљујући оваквом клиренсу, меропенем се не накупља ни у урину ни у плазми здравих добровољаца након поновних терапијских доза примењених у дозном интервалу од 6 сати [65].

1.7. Дозирање меропенема

Уобичајени режим дозирања меропенема код пацијената са нормалном бубрежном функцијом подразумева примену овог лека на 8 сати. Препоручене дозе меропенема зависе од врсте инфекције. Тако се за лечење компликованих инфекција коже и меких ткива, интра- и постпарталних инфекција, компликованих интраабдоминалних инфекција, компликованих инфекција уринарног тракта и пнеумоније саветује примена меропенема у дози од 500 mg-1 g на 8h. Препоручена доза

меропенема за лечење пацијената са фебрилном неутропенијом и нормалном бубрежном функцијом је 1g/8h. Коначно, за лечење акутног менингитиса и бронхопулмоналне инфекције код цистичне фиброзе потребно је применити значајно веће дозе меропенема: 2 g/8h [37].

Прилагођавање дозе меропенема није неопходно код пацијената са инсуфицијенцијом јетре, нити код старих пацијената са очуваном бубрежном функцијом и клиренсом креатинина већим од 50 ml/min. С друге стране, потребна су значајна прилагођавања дозе меропенема код пацијената са ослабљеном бубрежном функцијом. У том случају доза мора да буде прилагођена клиренсу креатинина. Код пацијената са блажим формама бубрежне инсуфицијенције, чији клиренс креатинина је мањи од 50 ml/min, а већи од 26 ml/min, саветује се примена меропенема у дозама прилагођеним врсти инфекције, али на сваких 12 сати. Код пацијената са умереним до тешким формама бубрежне инсуфицијенције и клиренсом креатинина између 10 и 25 ml/min, поред корекције дозног интервала потребно је и редуковати појединачне дозе меропенема; тако се код ових пацијената саветује примена $\frac{1}{2}$ појединачне дозе меропенема прилагођене врсти инфекције на сваких 12 сати. Коначно, код болесника са најтежим формама бубрежне инсуфицијенције и клиренсом креатинина мањим од 10 ml/min треба примењивати $\frac{1}{2}$ појединачне дозе меропенема једном дневно [37].

Дозирање меропенема код деце, као и код већине других лекова, треба да буде прилагођено узрасту и телесној маси деце. Код деце узраста од 3 месеца до 11 година са телесном масом мањом од 50 kg препоручују се дозе меропенема од 10 или 20 mg/kg/8h за лечење компликованих инфекција коже и меких ткива, компликованих интраабдоминалних инфекција, компликованих инфекција уринарног тракта и пнеумоније. Препоручена доза меропенема у овој популацији за лечење фебрилне неутропеније износи 20 mg/kg на 8h, док режим дозирања меропенема за лечење акутног бактеријског менингитиса и бронхопулмоналних инфекција код цистичне фиброзе у овој популацији подразумева његову примену у дози од 40 mg/kg/8h. Код деце са телесном масом већом 50 kg саветује се примена меропенема у дозама које су једнаке дозама овог лека за одрасле [37].

1.8. Нежељена дејства меропенема

За карбапенеме се, генерално, може рећи да су релативно безбедни антибиотици [67]. Уз већ помињан широк спектар антибактеријског дејства и сигнификантан *in vivo* бактерицидни ефекат, повољан безбедоносни профил је један од главних разлога због којих се карбапенеме и даље сматрају ослоном у борби против тешких нозокомијалних инфекција [67].

Иако веома слични, међу представницима карбапенема постоје и одређене, значајне разлике и по питању учесталости и природе нежељених дејстава која прате њихову примену [68]. Тако се може рећи да је безбедоносни профил меропенема нешто повољнији у односу на имипенем [67,68]. Највећа разлика односи се на потенцијална неуролошка нежељена дејства ових лекова [68]. Имипенем/циластатин је лек чију примену прати одређени ризик од појаве конвулзија [68,69]. Ово нежељено дејство имипенема је дозно-зависно и јавља се као последица чињенице да се имипенем понаша као комптетитивни инхибитор γ -аминобутерна киселине, главног инхибиторног неуротрансмитера у централном нервном систему [69]. Тако су одређени резултати показали да ризик од појаве конвулзија приликом примене имипенема у дози од 500 mg/6 h износи између 0,5 и 1% [70]. С друге стране, уколико се имипенем примени у дози од 1000 mg/6 h ризик од појаве конвулзија драстично расте и износи око 10% [70]. То је

разлог због којег имипенем са циластатином није одобрен за лечење акутног бактеријског менингитиса [71]. С друге стране, карбапенем избора за лечење инфекција централног нервног система је меропенем [69]. Учесталост конвулзија након примене меропенема процењује се на око 0,19% [72]. Верује се да је меропенем мање проконвулзиван у односу на имипенем, пре свега због мањег афинитета ка *GABA_A* рецепторима преко којих делује γ -аминобутерна киселина [68,69]. Резултати до сада спроведених студија идентификовали су факторе ризика који предиспонирају појаву конвулзија након примене меропенема и других карбапенема. Најважнији предиктори појаве конвулзија након примене карбапенема су бубрежна инсуфицијенција и историја повреда и болести централног нервног система, као што су епилепсија, трауме, неоплазме и слично [73,74].

Може се рећи да су најчешћа нежељена дејства меропенема заправо гастроинтестинална нежељена дејства, као што су дијареја (2,3%) и повраћање (1,4%) [37]. У честа нежељена дејства меропенема спадају и осип (1,4%) и запаљење на месту инјекције (1,1%) [37]. Лабораторијска нежељена дејства меропенема се јављају код око 0,2% пацијената и најчешће подразумевају појаву тромбоцитозе [68]. Од биохемијских нежељених дејстава меропенема ваља издвојити и склоност овог лека да подиже вредности јетриних трансминаза [68]. Анафилактичке реакције се веома ретко јављају након примене меропенема [68,69]. Важно је нагласити да меропенем није контраиндикован за примену код пацијената са одложеном хиперсензитивношћу на имипенем/циластатин [75].

Претрагом доступне научне литературе могу се пронаћи и прикази случајева неких других нежељених дејстава меропенема која нису толико позната, па се могу сматрати ретким или веома ретким, као што су тромбоцитопенија [76], хипокалијемија [77], делиријум [78], холестаза [79] и слично.

1.9. Интеракције меропенема са другим лековима

Меропенем и карбапенемима генерално нису познати по великом потенцијалу да ступају у интеракције са другим лековима. Ипак, одређене интеракције меропенема имају велики клинички значај. Најбољи пример такве интеракције меропенема је она која се јавља у случају његове конкомитантне употребе са валпроичном киселином [80,81]. У питању је фармакокинетичка интеракција која може да доведе до смањења концентрације валпроичне киселине за чак 66% након 24 сата [37]. Тачан механизам ове фармакокинетичке интеракције још увек није познат. Ипак, чињеница да ова интеракција наступа веома брзо након почетка истовремене примене два лека (након 24 сата), уз доказе који потврђују да се концентрације валпроичне киселине враћају у терапијски опсег у року од 7 до 14 дана након обуставе примене меропенема, указују нам да је највероватније реч о одређеном утицају меропенема на метаболизам валпроичне киселине [81]. Интеракција између меропенема и валпроичне киселине је толико јака да поједини аутори сугеришу да би се меропенем могао користити за лечење тровања валпроичном киселином [82,83]. Ипак, с обзиром да овако драстично смањење концентрације антиепилептика представља значајан ризик за окидање епилептичког напада, истовремена примена меропенема и валпроичне киселине сматра се контриндикованом [84].

Друга потенцијално важна интеракција меропенема коју треба поменути је она у коју овај лек ступа у случају истовремене примене са пробенецидом. Пробенецид, као урикозурик, ступа у конкуренцију са меропенемом на нивоу активне тубуларне секреције и на тај начин инхибира излучивање меропенема путем бубрега [37,85]. Тиме се

продужава време полуелиминације меропенема [37,85]. Због ове могуће фармакокинетичке интеракције на нивоу елиминације, потребна је опрезна примена меропенема код пацијената који користе пробенецид [37].

1.10. Контраиндикације за примену меропенема

Питање потенцијалне примене карбапенемских антибиотика код пацијената са описаним алергијским реакцијама на пеницилин је доста контроверзно. У Сажетку карактеристика меропенема наводи се да је овај антибиотик контраиндикуван за примену код пацијената са претходно описаним тешким реакцијама преосетљивости (анафилактичка реакција или тешка реакција на кожи) на било који други бета-лактамски антибиотик [37]. С друге стране, резултати одређених клиничких истраживања показују да се меропенем може користити код пацијената са пријављеном алергијом на пеницилин, с обзиром на ниску стопу унакрсне алергијске реакције уочену у овим студијама [86-88]. Тако су у проспективној студији која је обухватила 110 пацијената са неанафилактичким и анафилактичким алергијским реакцијама на пеницилин сви пацијенти добро толерисали меропенем, без икаквих описаних алергијских реакција [86]. Слично, резултати студије спроведене на 104 пацијента са реакцијама преосетљивости на пеницилине су показали да је свега један пацијент имао позитиван резултат интрадермалног теста на меропенем, док су сви преостали пацијенти добро толерисали ескалацију доза [87]. Коначно, ретроспективна студија која је обухватила 182 хоспитализована пацијента са пријављеном историјом алергије на пеницилин је показала да је 96,4% њих толерисало меропенем без појаве икаквих нежељених догађаја [88]. Према смерницама холандске радне групе за политику антибиотика (енгл. *Dutch Working Party on Antibiotic Policy (SWAB)*), меропенем се може користити са опрезом код пацијената са алергијом на пеницилине, јер није примећена значајна унакрсна реактивност између пеницилина и карбапенема у контексту алергија одложеног типа [89]. Ипак, приликом разматрања евентуалне употребе меропенема код пацијената са алергијом на пеницилин, неопходно је проценити тежину и врсту претходно описане алергијске реакције. Тако се код пацијената са блажим облицима алергије, као што је осип, меропенем сматра безбедним за примену [89]. Међутим, код пацијената са тешким алергијама на пеницилин које укључују анафилаксу или друге реакције опасне по живот, неопходна је пажљива процена ризика [89]. У суштини, у случајевима када се сматра да је примена меропенема неопходна за лечење пацијената са тешком алергијом на пеницилин, неопходно је то учинити под медицинским надзором са лако и брзо доступним лековима за лечење анафилаксе.

Меропенем је свакако апсолутно контраиндикуван за примену код пацијената са доказаном преосетљивошћу на сам меропенем или било који други карбапенемски антибиотик, те код пацијената са описаном преосетљивошћу на помоћне супстанце [37].

1.11. Примена меропенема у трудноћи и лактацији

Меропенем, попут свих других карбапенема и велике већине бета-лактамских антибиотика се сматра релативно безбедним за примену у трудноћи [90]. У питању је лек који припада категорији *B* према *FDA* класификацији лекова по питању безбедности њихове примене у трудноћи [90]. Према Сажетку карактеристика лека, студије спроведене на животињама нису показале директно или индиректно штетно дејство овог лека у смислу његове потенцијалне репродуктивне токсичности [37].

С друге стране, према информацијама пруженим у Сажетку карактеристика лека, меропенем не би требало користити код жена које доје [37]. Ипак, с друге стране, подаци

из *LactMed*® базе података, специјализоване за информације о лековима током периода лактације, указују да су концентрације меропенема измерене у крви дојенчади чије мајки доје веома ниске и да се генерално не очекује да бета-лактамски антибиотици могу да изазову нежељене ефекте код дојенчади [91].

1.12. Фармакокинетички/фармакодинамички индекс меропенема

Антибиотици су лекови који се могу класификовати на више различитих начина. Једна од најважнијих класификација антибиотика је она по којој се ови лекови деле на бактериостатике и бактерициде. Према дефиницији, бактериостатици су антибиотици који спречавају даљи раст бактерија, док су бактерициди антибиотици који у терапијским концентрацијама убијају бактерије [92]. Као што је до сада више пута поменуто, меропенем, као и сви остали карбапенем и бета-лактамски антибиотици уопште, испољава бактерицидан ефекат. Поред бета-лактама, остали антибиотици са бактерицидним ефектом су аминогликозиди, флуорохинолони, гликопептиди, рифампицин, нитроимидазоли, полимиксини, фосфомицин и липопептиди. С друге стране, у бактериостатске антибиотике убрајамо тетрациклине, макролиде, оксазолидиноне, сулфонамиде, линкозамиде, хлорамфеникол, фусидинску киселину, нитрофурантоин и триметоприм [92].

Важни параметри које користимо приликом одређивања фармакодинамике антибиотика су минимална инхибиторна концентрација (енгл. *minimal inhibitory concentration*; *MIC*) и минимална бактерицидна концентрација (енгл. *minimum bactericidal concentration*; *MBC*) [93]. *MIC* се дефинише као најнижа концентрација неког антибиотика која ће инхибирати видљиви раст микроорганизама након 24 сата раста у специфичним медијумима [93]. С друге стране, *MBC* је минимална концентрација антимикуробног средства потребна да се убије 99,9% одређене бактеријске врсте у поређењу са почетним инокулумом након 24 сата раста [93]. Да би се одредило да ли одређени антибиотик испољава бактериостатско или бактерицидно дејство, потребно је користити однос MBC/MIC [92]. Ако је вредност $MBC/MIC \leq 4$ антибактеријско дејство одређеног антибиотика се сматра бактерицидним. С друге стране, ако је $MBC/MIC > 4$, антибиотик се сматра бактериостатским [92]. Међутим, *MBC*, *MIC* и MBC/MIC су параметри који дефинишу антибактеријско дејство у *in vitro* условима [92]. Да бисмо разумели ефикасност антибиотика у *in vivo* условима потребно је дефинисати фармакокинетичке/фармакодинамичке (енгл. *pharmacokinetic/pharmacodynamic*; *PK/PD*) индексе антибиотика [94].

Међутим, пре дефинисања *PK/PD* индекса важно је размотрити другу важну класификацију антибиотика. Ова класификација антибиотика односи се на начин на који они елиминишу бактерије. Према овој класификацији разликујемо три врсте антибиотика [95,96]. Прву врсту чине временски зависни (енгл. *time-dependent*) бактерицидни антибиотици, какви су сви бета-лактамски антибиотици и гликопептиди [95,96]. Ефикасност ових антибиотика у убијању бактерија директно зависи од дужине времена током којег је њихова концентрација изнад *MIC*-а [95,96]. Зато ови антибиотици испољавају споро бактерицидно дејство. Приликом примене ових антибиотика циљ је да њихове концентрације у плазми што дуже времена буду изнад вредности *MIC*-а [95,96]. То се постиже чешћом применом ових антибиотика, односно дозним режимом који подразумева њихову примену 2, 3 или више пута дневно [95,96]. Ова група антибиотика је позната по слабо израженом постантибиотском ефекту [95,96]. Постантибиотски ефекат је феномен који описује постојање супресије раста бактерија, чак и после ограниченог деловања антибактеријског лека на њих [95,96]. Изузетак по питању јачине постантибиотског ефекта у овој групи временски зависних антибиотика су управо

карбапенема, за које се зна да испољавају значајан постантибиотски ефекат против разних грам-негативних бактерија [95,96]. Другу групу антибиотика према овој класификацији чине тзв. концентрацијски зависни (енгл. *concentration-dependent*) бактерицидни антибиотици, у које спадају аминогликозиди [95,96]. Способност убијања бактерија ових антибиотика директно зависи од вредности максималне концентрације која се може постићи након примене једне дозе ових антибиотика [95,96]. Сем тога, аминогликозиди су нарочито познати по израженом постантибиотском ефекту [95,96]. Због тога режим примене аминогликозида најчешће подразумева њихову примену у једној дневној дози [95,96]. Коначно, трећу групу антибиотика чине они код којих постоји концентрацијска зависност удружена са временском зависношћу, какву виђамо на примеру флуорохинолона [95,96]. Флуорохинолони су лекови који имају изражен постантибиотски ефекат [95,96]. Коначно и неки бактериостатски лекови, као што су макролиди, тетрациклини, тигециклин, линезолид и стрептограмини имају умерен до продужен постантибиотски ефекат [95].

Када су у питању концентрацијски зависни антибиотици, *PK/PD* индекс који најбоље одсликава њихову *in vivo* активност у убијању бактерија јесте однос слободне максималне концентрације антибиотика и *MIC* (fC_{max}/MIC) [97]. *PK/PD* индекс који се користи за изражавање *in vivo* ефикасности временски зависних антибиотика је проценат времена дозног интервала током којег је концентрација овог антибиотика изнад вредности *MIC*-а ($fT > MIC$) [97]. Коначно, када су у питању антибиотици код којих постоји концентрацијска зависност удружена са временском зависношћу, користимо однос $24h AUC$ и *MIC* (AUC_{24}/MIC) [97].

Ефикасни режими дозирања бета-лактамских антибиотика подразумевају да су концентрације ових лекова у серуму изнад вредности *MIC*-а узрочног патогена током најмање 40 до 50% дозног интервала [95]. Потребан проценат времена када су концентрације бета-лактама изнад *MIC*-а различит је за различите групе бета-лактамских антибиотика, али и за различите патогене [95]. Тако је познато да је потребно $fT > MIC$ веће за цефалоспорине и азтреонам у односу на пеницилине [95]. Опет, потребно $fT > MIC$ пеницилина је веће него за карбапенеме [95]. Такође, познато је да бета-лактами имају израженији постантибиотски ефекат за стифилококе, него за стрептококе и грам-негативне бациле [95]. Самим тим потребно $fT > MIC$ је краће када се ови антибиотици примењују за ерадикацију стафилокока у односу на стрептококе и сензитивне грам-негативне бактерије [95]. Коначно, дозирање бета-лактамских антибиотика треба да буде прилагођено и врсти и тежини бактеријске инфекције и клиничком стању пацијента. Тако, према мишљењу одређеног дела клиничара, приликом примене меропенема и осталих бета-лактама за лечење инфекција код критично оболелих пацијената ове антибиотике треба доzirати тако да $fT > MIC$ буде 100% [98-101]. Јасно је да код пацијената са критичним болестима, више него код других, постоји потреба за оптимизацијом антибиотске терапије. Савремени алати за оптимизацију антибиотске терапије су терапијски мониторинг лекова (енгл. *therapeutic drug monitoring; TDM*) и програми надзора коришћења антибиотских лекова (енгл. *antibiotic stewardship*).

1.13. Терапијски мониторинг меропенема

Терапијски мониторинг меропенема, као и других лекова, подразумева одређивање концентрације овог лека у биолошком материјалу и правилно тумачење добијених резултата мерења које је засновано на добром познавању фармакокинетики и фармакодинамики овог антибиотика [102].

Данас је доступан велики број развијених и валидираних метода за одређивање концентрације меропенема у биолошком материјалу [103]. Највећи број ових метода подразумева примену хроматографских техника, било течне хроматографије високих перформанси (енгл. *high performance liquid chromatography*; *HPLC*) или течне хроматографије ултра перформанси (енгл. *ultra performance liquid chromatography*; *UPLC*), у комбинацији са ултравиолет (енгл. *ultraviolet*; *UV*) или масено-спектрометријском (енгл. *mass spectrometry*, *MS*) детекцијом [103]. Неке од ових метода су специјализоване само за мерење концентрације меропенема [104-113], док друге омогућавају истовремену детекцију меропенема и других антибиотика [114-120]. Концентрација меропенема се данас може одређивати у различитим биолошким материјалима, као што су плазма, серум, урин, жуч, спутум, цереброспинална течност и други, али су плазма и серум свакако најважнији [103]. До сада су валидиране различите технике припреме узрока плазме и серума за одређивање концентрације меропенема [103]. Веома су заступљене једноставне технике припреме узорака, као што су таложење протеина са органским растварачима попут метанола, ацетонитрила или мешавине оба ова растварача, односно таложење протеина са киселинама као што је трихлорсирћетна киселина [103]. За екстракцију меропенема из биолошких матрица коришћене су и технике припреме узорака без преципитације протеина, укључујући екстракцију чврсте фазе са различитим сорбентима, као што су *C18*, *C8*, *Sep-Pak NH 2*, *Strata-X* и *Oasis® HLB* [103]. Да би се повећала осетљивост методе након поступка екстракције чврстом фазом или преципитације протеина, неопходно је испарити органску фазу и остатак поново растворити у мобилној фази или пуферу [103]. Све то продужава време екстракције, што је једно од најважнијих ограничења ових метода одређивања концентрације меропенема у биолошким материјалима [103]. С друге стране, поступак таложења протеина ацетонитрилом и накнадно разблаживање у мобилној фази показало се као метода која је праћена више него задовољавајућим вредностима *recovery* теста и теста матричних ефеката [103]. Течно-течна екстракција је такође коришћена за припрему узорака при одређивању концентрације меропенема у склопу одређених валидираних метода [106, 121-124]. Ова техника припреме узорака омогућава уклањање компоненти растворљивих у липидима у органску фазу (дихлорометан или хлороформ), при чему резултујућа водена фаза показује смањену хроматографску позадину приликом *HPLC* анализе [103]. Неке описане методе детекције меропенема у биолошким течностима захтевале су посебне захтеве, као што су промена колоне [107], ултрафилтрација [110] или припрема узорака интегрисана са *HPLC*-ом [125]. Већина метода за сепарацију меропенема је захтевала употребу колоне са обрнутом фазом, као што су *C18*, *C8*, фенил, пентафлуорофенил и *HILIC* колоне [103]. Различите мобилне фазе за елуцију меропенема састојале су се од бинарних смеша (пуферски раствор/ацетонитрил или пуферски раствор/метанол) и терцијарних микстура (пуферски раствор/ацетонитрил/метанол), са *pH* вредношћу пуферских раствора од 2,0 до 7,4 у изократском или градијентном режиму [103]. На основу резултата већине аутора, може се извести закључак да би бинарне смеше пуфера са 5-15% органског растварача попут ацетонитрила или метанола могле представљати најпогодније мобилне фазе за елуцију меропенема. У зависности од примењене опреме, врсте мобилне и стационарне фазе, те услова под којима су спровођене методе екстракције, забележено ретенционо време меропенема креће се у опсегу од 2,3 до 22,5 минута за описане *HPLC* методе, односно од 1,05 до 7,5 минута за *UPLC* методе [103]. Поред хроматографских метода, развијене су и валидиране и друге аналитичке технике за одређивање концентрације меропенема у биолошким материјалима, попут капиларне електрофорезе [103].

Све описане методе за детерминацију меропенема у биолошким материјалима имају своје предности и мане. *HPLC-UV* методе за одређивање концентрације

меропенема у биолошким материјалама се често користе у клиничким лабораторијама, због предности које се огледају једноставном и економичном припремом узорака и економски релативно приступачном опремом [103]. С друге стране, недостаци ових техника односе се на велику потребну запремину узорака (200-500 μ l), дуже време рада и мању специфичност и сензитивност у односу на *HPLC-MS/MS* методе [103]. Методе течне хроматографије под ултра високим притиском (енгл. *ultra high performance liquid chromatography*; *UHPLC*) у комбинацији са *UV* детектором омогућавају боље перформансе приликом детекције меропенема у односу на *HPLC-UV* методе, пре свега у погледу краћег времена потребног за анализу и побољшане резолуције и осетљивости [103]. Методе детекције меропенема засноване на течној хроматографији са масено-спектрометријском детекцијом (*HPLC-MS/MS* и *UHPLC-MS/MS*) се у поређењу са *HPLC-UV* и *UHPLC-UV* одликују краћим временом анализе, мањом потребном запремином узорка за анализу и вишом специфичношћу и сензитивношћу [103]. С друге стране, примена ових метода захтева употребу изузетно скупих уређаја и опреме, којима велики број лабораторија не располаже [103].

1.14. Оптимизација дозирања меропенема код критично оболелих пацијената

Лечење критично оболелих пацијената представља велики изазов за клиничаре, посебно када је реч о лечењу инфекција код ових пацијената [126]. Томе значајно доприносе и промене које прате фармакокинетику и фармакодинамику антибиотика, а које настају као последица патофизиолошких промена које се јављају код ових пацијената [126]. Фактори као што су измењена функција органа, промене у перфузији ткива и варијације у равнотежи течности могу значајно да утичу на све фазе фармакокинетице антибиотика, почев од апсорпције, преко дистрибуције и метаболизма, па све до елиминације [126]. Због ових патофизиолошких промена често се дешава да уобичајени режими примене антибиотика нису ефикасни код критично оболелих пацијената [126].

Измењена апсорпција лекова често се примећује код критично оболелих пацијената [127]. Критична стања могу да испоље негативан утицај на гастроинтестинални тракт и да доведу до поремећаја перисталтике црева и оштећења гастроинтестиналне мукозе [128]. Сем тога, услед успореног пражњења желуца време потребно за достизање максималних концентрација антибиотика биће продужено [128]. Ипак, чини се да промене у апсорпцији антибиотика које прате критичне болести немају толико снажан практичан утицај на режиме дозирања антибиотика, нарочито уколико их посматрамо из угла промена на нивоу дистрибуције ових лекова које се срећу код критично оболелих пацијената [126].

Приметно је да код критично оболелих пацијената долази до измена у пенетрацији бројних антимикуробних лекова у различита ткива [129-132]. Тако, на пример, у условима сепсе, микроциркулаторни проток крви може бити значајно нарушен услед ендотелне дисфункције и присуства микротромбова, који смањују перфузију ткива [129]. Ове промене могу довести до субоптималне изложености антибиотицима на месту инфекције и тиме до потенцијалног терапијског неуспеха, појаве бактеријске резистенције и већег морбидитета [129]. Такође, повећана васкуларна пермеабилност и појава едема током сепсе могу довести до значајног преусмеравања течности из интраваскуларног одељка у интерстицијумски простор [126]. Ова промена доводи до повећања волумена дистрибуције антимикуробних лекова [126]. Феномен постаје додатно израженији услед примене велике количине течности, инотропних лекова и вазопресора, као често примењиваних терапијских опција код критично оболелих пацијената [126]. Промене у волумену дистрибуције нарочито су изражене на примеру хидросолубилних

антибиотика, попут бета-лактама, аминогликозида и ванкомицина, који иначе имају мали волумен дистрибуције [126]. Такође, код критично оболелих пацијената доста често се среће хипоалбуминемија. Тако се процењује да код више од 40% пацијената на интензивној нези долази до пада серумске концентрације албумина на испод 25 g/L [133]. Услед хипоалбуминемије, долази до значајног повећања слободне фракције оних антибиотика који се у високом проценту везују за протеине плазме [126]. Такви антибиотици су цефтриаксон, цефазолин, ертапенем и теикопланин [126]. Као што је већ наведено, меропенем се у веома малом проценту (2%) везује за протеине плазме [37], тако да хипоалбуминемија која се среће код критично оболелих пацијената није разлог значајнијих промена у фармакокинетици овог антибиотика у популацији критично оболелих пацијената.

Погоршање функције органа са прогресијом болести може довести до синдрома вишеструке дисфункције органа [126]. Услед оштећене перфузије периферних органа, пре свих органа у гастроинтестиналном тракту и бубрега, може доћи до промена у апсорпцији и елиминацији лекова [126]. Смањен проток крви кроз јетру може бити и разлог компромитованог метаболизма антибиотика и других лекова [126]. Међутим, најважнији разлог за кориговање дозе антибиотика и других лекова код критично оболелих пацијената везан је за измене клиренса ових лекова [126]. Наиме, код критично оболелих пацијената веома често се сусреће феномен повећаног бубрежног клиренса (енгл. *augmented renal clearance*; ARC) [134]. У клиничкој пракси, ARC се дефинише као стање које је праћено вредностима клиренса креатинина $\geq 130 \text{ mL/min/1.73m}^2$ [134]. Настанак ARC-а код критично оболелих пацијената се објашњава на неколико начина [134]. С једне стране, сматра се да настанку овог феномена доприноси примена великих количина течности и вазопресорних лекова [134]. С друге стране, настанак ARC-а објашњава се теоријом резерве бубрежне функције [134]. Наиме, неки клиничари сматрају да бубрези имају способност да повећају брзину гломеруларне филтрације путем регрутовања нефрона, повећаног протока крви и хиперфилтрације [134]. Практичне импликације које прате овај феномен су значајне. Пре свега долази до значајних промена у вредностима клиренса хидрофилних лекова који се доминантно елиминишу путем бубрега [135]. Појачани клиренс ових лекова захтева повећање доза одржавања, како би се остварио жељени терапијски ефекат [135].

Несумњиво је да је фармакокинетика меропенема значајно измењена код критично оболелих пацијената [136]. До сада је спроведено неколико студија које су проучавале популациону фармакокинетичку меропенема у поменутој популацији пацијената [137-139]. У овим студијама су идентификовани бројни фактори који утичу на клиренс и волумен дистрибуције меропенема код критично оболелих пацијената [137]. Тако је показано да на клиренс меропенема код критично оболелих пацијената значајно утичу пол [137], старост [138], клиренс креатинина [138,139] и сепса [137]. С друге стране, старост [137], телесна тежина [138], концентрација албумина у серуму [137,139] и шок [139] су били фактори који су испољавали значајан утицај на вредности волумена дистрибуције меропенема у популацији критично оболелих пацијената. Међутим, до момента спровођења истраживања у оквиру ове докторске дисертације чини се да није био довољно испитан утицај конкомитантне антибиотиске терапије на вредности најважнијих фармакокинетичких параметара меропенема у популацији критично оболелих пацијената. Сем тога, у овом истраживању су подробније испитани и фактори који би могли да остваре значајан утицај на фармакодинамику и вредности *PK/PD* индекса меропенема код критично оболелих пацијената.

2. Циљеви и хипотезе

2.1. Циљеви

Циљеви истраживања били су:

- Одређивање фармакокинетичких (ФК) карактеристика меропенема у популацији критично оболелих пацијената који примају меропенем у Универзитетском клиничком центру Крагујевац (УКЦК).
- Процена ФК/ФД профила при различитим режимима дозирања меропенема у популацији критично оболелих пацијената који примају меропенем у УКЦК.
- Одређивање средњих, популационих вредности фармакокинетичких параметара (клиренса и волумена дистрибуције) меропенема у популацији критично оболелих пацијената који примају меропенем у УКЦК.
- Развијање популационог фармакокинетичког модела клиренса меропенема и идентификација и квантификација фактора који у значајној мери утичу на клиренс и варијабилност (интра- и интериндивидуалну) меропенема у популацији критично оболелих пацијената који примају меропенем у УКЦК.

2.2. Хипотезе

Пре спровођења истраживања постављене су следеће хипотезе:

- Претпоставља се да ће на ФК/ФД карактеристике меропенема значајно утицати режим дозирања у популацији критично оболелих пацијената који примају меропенем у УКЦК.
- Вредности фармакокинетичких параметара меропенема у испитиваној популацији се не разликују значајно од вредности истих параметара овог антибиотика у популацијама сличних карактеристика из других центара.
- Претпоставља се да ће године старости значајно утицати на вредности испитиваних фармакокинетичких параметара у популацији критично оболелих пацијената који примају меропенем у УКЦК.
- Претпоставља се да ће дневна доза примењеног меропенема значајно утицати на вредности испитиваних фармакокинетичких параметара у популацији критично оболелих пацијената који примају меропенем у УКЦК.

3. Материјал и метод

3.1. Врста студије

Истраживање је спроведено као проспективна опсервациона студија по типу „серије случајева”, у периоду од јуна 2021. године до октобра 2022. године у Универзитетском клиничком центру Крагујевац, Институту за јавно здравље Крагујевац и Факултету медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу. Спровођење истраживања је одобрено од стране Етичког одбора Универзитетског клиничког центра у Крагујевцу дана 11.02.2021. године.

3.2. Студијска популација

Популацију испитаника чинили су критично оболели пацијенти лечени у УКЦК који су примали меропенем интравенски. У студију су били укључени критично оболели пацијенти са тешким инфекцијама (менингитис, пнеумонија, сепса, септични шок и фебрилна неутропенија) изазваним мултирезистентним грам-негативним бактеријама укључујући *Enterobacteriaceae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и сојеве *Escherichia coli* које продукују бета-лактамазе проширеног спектра дејства. Дијагнозу инфекције постављали су лекари специјалисти УКЦК на основу клиничких и лабораторијских параметара. Пацијенти су праћени на одељењима интензивне неге УКЦК.

Критеријуми за укључивање били су: сви пацијенти са дијагнозом критично оболелих пацијената, пацијенти код којих су запажене следеће кључне карактеристике критично оболелог пацијента: дисајни пут (знаци опструкције горњих дисајних путева), фреквенција дисања (<8 или 30/мин.), сатурација артеријског кисеоника (SpO_2 <90%, респираторна инсуфицијенција), срчана фреквенција (<40 или 130/мин., са знацима оштећења перфузије органа), крвни притисак (сistolни крвни притисак <90 mmHg или пад систолног крвног притиска за више од 40 mmHg, са знацима оштећења перфузије органа), перфузија (знаци оштећења перфузије органа: хладна / ишарана кожа са временом пуњења капилара >2s, агитација / смањени ниво свести, олигурија), ниво свести (смањени ниво свести – не реагује на глас), температура (основна температура <36 или >38°C, са хипотензијом, хипоксемијом, олигуријом или агитацијом / смањеним нивоом свести), глукоза у крви (глукоза у крви <4 mmol/l са знацима хипогликемије (знојење, абнормално понашање, смањени ниво свести, напади)), да су били хоспитализовани у УКЦК, да су примали меропенем интравенски дуже од три дана (успостављено равнотежно стање) и да су имали нормалну бубрежну функцију или неки облик бубрежне инсуфицијенције.

Критеријуми за искључивање били су: сви пацијенти који нису спадали по дијагнози у критично оболеле, пацијенти код којих нису биле запажене кључне карактеристике критично оболелог пацијента, пацијенти који су примали меропенем краће од три дана (није успостављено равнотежно стање), труднице и дојиље, као и пацијенти који су одбили учешће у студији.

3.3. Узорковање

Узорак је имао карактеристике тзв. „згодног“ узорка, при чему су били укључени сви припадници испитиване популације који су у периоду испитивања испуњавали критеријуме за укључивање, а нису имали критеријуме за искључивање.

Испитаници су били претходно упознати са студијским процедурама усменим и писменим путем, а били су укључени у студију на основу добровољног пристанка и потписивањем формулара за Информативни пристанак испитаника.

3.4. Протокол узимања узорка крви испитаника

Након достизања равнотежног стања меропенема у организму после континуиране интравенске примене у болничким условима, од пацијената су узети узорци крви од стране стручног медицинског особља у сврху мерења следећих лабораторијских параметара:

- одређивање концентрације меропенема у плазми
- одређивање биохемијских параметара као што су: ниво креатинина, аспартат аминотрансферазе (АСТ-а), аланин аминотрансферазе (АЛТ-а), алкалне фосфатазе (АЛП-а), еритроцита, хемоглобина, леукоцита, тромбоцита и других параметара.

3.5. Анализа крви

Након достизања равнотежног стања меропенема у организму (непосредно пред пету дозу лека), пацијентима је вађена крв на одељењима УКЦК. Сваком пацијенту за одређивање концентрације меропенема у плазми су узета два узорка крви од по 5 ml венепункцијом у полипропиленску епрувету са антикоагулансом *K2 EDTA* (дикалијум етилендиамин тетрасирћетна киселина) од стране стручног медицинског особља. Први узорак је био узет након 5 до 30 минута од истицања инфузије меропенема, док је други узорак крви био узет након 3 до 4 часа од истицања инфузије меропенема. Поступак је спроводен у Служби за клиничку фармакологију УКЦК. Остатак узорка крви је коришћен за биохемијску анализу. Узорци крви су узимани од пацијената према захтеву ординирајућег лекара, искључиво према потребама терапијског мониторинга лека.

Узорци крви пацијената су транспортовани у фрижидерима до аналитичке лабораторије у Институту за јавно здравље Крагујевац, где је вршена даља обрада узорка и мерење укупне концентрације меропенема у плазми.

Након уласка узорка у лабораторију, узорци су центрифугирани 10 минута на 3000 обртаја у минути, након чега је издвојена плазма пребачена у полипропиленску епрувету. Узорци плазме су углавном одмах анализирани, а у случајевима када нису одмах анализирани били су замрзнути на -20°C до испитивања које се обављало у року од 72 часа од пријема узорка. Измерене укупне концентрације меропенема у плазми пацијената коришћене су за процену фармакокинетичких варијабли.

3.6. HPLC анализа

Поступак припреме узорка и мерење концентрације меропенема у плазми спроведени су по методи која је претходно развијена и валидирана за потребе овог истраживања [140]. Развијена *HPLC* метода је једноставна, брза и ефикасна за рутинско одређивање концентрације меропенема у плазми [140].

3.6.1. Припрема узорка

Екстракција меропенема из узорка плазме је извршена преципитацијом протеина. Да би се протеини преципитирали, аликуот плазме од 200 μL је пребачен у полипропиленску Епендорф епрувету, а затим је додавано 600 μL смеше метанола (који садржи 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ интерног стандарда (*IS*)) и воденог пуферског раствора ($\text{pH}=7,4$) у

односу 2:1 *v/v*. Епрувета је након тога вортексована 30 секунди. Након инкубације од 30 минута на 4°C, исталожени протеини су одвојени центрифугирањем на 12 000 обртаја у минути током 10 минута на 4°C. Затим је 100 µL супернатанта пренето у стаклену бочицу и разблажено са 150 µL воденог пуферског раствора (*pH*=7,4). Садржај је кратко вортексован и инјектован у *HPLC* систем.

На исти начин су припремани и узорци за контролу квалитета (енгл. *quality control*; *QC*) односно узорци оптерећене плазме („бланк“ плазма спајкована са радним стандардом меропенема), који су анализирани уз сваку серију мерења узорака пацијената. Све анализе су извршене у дупликату.

3.6.2. Хроматографско раздвајање и квантификација меропенема

Меропенем је хроматографисан и квантификован на *HPLC* систему *Agilent Technologies* 1200 серије са *UV* детектором. *HPLC* систем је опремљен бинарном пумпом (*G1312A*) са онлајн дегазером растварача (*G1379B*), аутоинјектором (*G1329A*), термостатираним одељком за колону (*G1316A*), повезаним са детектором диодног низа (*G1315D*). Прикупљање и обрада хроматографских података извршени су коришћењем *HP ChemStation* софтвера. Раздвајање је извршено на 25°C коришћењем *Zorbax Eclipse XDB-C18* колоне (150 × 4,6 mm, 5 µm) произвођача *Agilent Technologies (USA)*, заштићене са *Security Guard C18* кертрицом (12,5 × 4,6 mm, 5 µm), који је инсталиран испред колоне. Мобилна фаза за хроматографско раздвајање састојала се од смеше 0,1 М фосфатног пуфера (*pH*=7,4) (раствор А) и метанола (раствор Б) (80:20, *v/v*) у изократском режиму елуирања, при брзини протока од 1,0 mL/min. Инјекциона запремина је била 100 µL.

Концентрације меропенема у узорцима плазме су одређиване на основу калибрационе криве у распону њене линеарности. Калибрациона крива је конструисана помоћу серије узорака оптерећене плазме са познатом концентрацијом меропенема и употребом методе најмањих квадрата и линеарне регресионе анализе. Одговор детектора за сваку калибрациону тачку био је изражен као однос *PIK*-ова меропенема и интерног стандарда (цефтазидима).

3.7. Валидација методе за мерење концентрације меропенема у плазми

Валидација методе за одређивање меропенема у плазми је спроведена према смерницама за валидацију биоаналитичких метода које препоручује Европска агенција за лекове (енгл. *European medicines agency - EMA*) [141], кроз процену следећих параметара валидације:

- Селективност
- Калибрациона крива, линеарност и радни опсег
- Лимит детекције и лимит квантификације
- Тачност и прецизност
- Принос екстракције (енгл. *recovery*)
- Ефекат преношења (енгл. *carry over*)
- Ефекат матрикса
- Интегритет разблажења
- Стабилност

3.7.1. Селективност

Метода је селективна ако се њеном применом може идентификовати и квантификовати одређена испитивана супстанца (аналит од интереса), без интерференција од стране других компонената (нпр. других лекова, метаболита лекова, ендогених супстанци, итд.) које се могу наћи у анализираном узорку [141].

Селективност је тестирана поређењем хроматограма шест „празних“ узорака плазма (енгл. *blank*) из различитих извора са хроматограмима шест узорака оптерећених плазми потенцијалним лековима у концентрацији лимита квантификације, а који могу бити извор потенцијалних интерференција на ретенционим временима анализата од интереса (меропенема и цефтазидима). Хроматограми су испитани на интерференцију ендогених једињења и лекова који се истовремено примењују (политерапија) при временима задржавања анализата, укључујући *IS*.

Према *ЕМА* смерницама, одсуство интерферирајућих компоненти се прихвата ако је одговор мањи од 20% горње границе квантификације за анализит или 5% за интерни стандард [141].

3.7.2. Калибрациона крива, линеарност и радни опсег

Калибрациона крива се конструише помоћу најмање шест калибрационих тачака. Избор калибрационих тачака мора бити такав, да се обезбеди њихова правилна распоређеност у оквиру калибрационог опсега, како би се добио најтачнији калибрациони модел. Затим се врши мерење одзива методе (*PIK*) испитиваних једињења за сваки калибрациони стандард (позната концентрација испитиваних једињења) [141]. Калибрациона крива меропенема је процењена коришћењем односа површине пика меропенем/цефтазидим (y) у односу на концентрацију меропенема у плазми (x) и добијена је из седам различитих калибрационих тачака (узорци оптерећене плазме са 1,25 до 100 $\mu\text{g/mL}$ меропенема) помоћу линеарне регресионе анализе најмањих квадрата.

Линеарност аналитичке методе се дефинише као директна пропорционалност добијених резултата мерења (одговор детектора тј. површина испод криве – *PIK*) и концентрације анализата у узорку, у дефинисаном опсегу концентрација. Линеарност се процењује израчунавањем регресионе криве методом најмањих квадрата и изражава се преко коефицијента корелације (r^2), y -одсечка (b) и нагиба регресионе криве (a). Једначина калибрационе криве има форму: $y=a*x+b$, где x представља концентрацију испитиваног једињења (меропенем), а y одговара односу површина испод криве испитиваног једињења и интерног стандарда (цефтазидим) [141]. Да би се проценила линеарност ове методе, свака тачка калибрационе криве је одређена из шест независних мерења анализираних током три одвојена дана.

Радни опсег се унапред дефинише циљем методе и представља распон концентрација мереног анализата у узорку, унутар којег метода показује задовољавајући ниво тачности, прецизности и линеарности. Опсег концентрација зависи од саме инструменталне технике, као и од вредности концентрација анализата које се могу очекивати за дату анализу. Мањим опсегом концентрација се постиже боља тачност, прецизност и линеарност дате методе [141].

Према *ЕМА* смерницама за валидацију биоаналитичких метода, критеријуми за прихватљивост дефинисани су тако да поново израчунате концентрације калибрационих стандарда треба да буду унутар $\pm 15\%$ номиналне вредности, осим за калибрациони стандард најниже концентрације (*LOQ*) за који треба да буде унутар $\pm 20\%$ [141].

3.7.3. Лимит детекције и лимит квантификације

Лимит детекције (енгл. *limit of detection, LOD*) је најнижа концентрација испитиване супстанце која се може детектовати у узорку, али не и квантификовати са посебном прецизношћу и тачношћу [141]. Постоји неколико приступа одређивању *LOD*, као што је однос сигнал/шум базне линије (*S/N*), проглашењем најниже тачке калибрационе криве за *LOD*, итд [141].

Лимит квантификације (енгл. *limit of quantification, LOQ*) је најнижа концентрација анализата у узорку која се може квантитативно одредити аналитичком методом са прихватљивом прецизношћу и тачношћу.

У овом истраживању су *LOD* и *LOQ* одређивани из калибрационе криве изведене мерењем различитих калибрационих стандарда ниских концентрација (узорци оптерећене плазме са 0,5 до 8,0 µg/mL меропенема) у трипликату. Затим су рачунате средње вредности и стандардне девијације (*SD*) најниже тачке калибрационе криве и вредности нагиба криве (*a*) који се може одредити из калибрационе криве, према следећим формулама [141]:

$$LOD = \frac{(3,3 \times SD)}{a} \quad LOQ = \frac{(10 \times SD)}{a}$$

3.7.4. Тачност и прецизност

Тачност аналитичке методе представља степен подударности између стварне вредности (референтна вредност) и добијених (измерених) вредности узорка [141]. Већина водича за валидацију биоаналитичких метода тачност методе изражава као проценат приноса (енг. *recovery*), где се рачуна однос добијених и очекиваних (референтних односно номиналних) концентрација и изражава се у процентима. У овој студији тачност је изражена као проценат одступања, односно *bias* (нетачност), по следећој формули:

$$Bias (\%) = \left(\frac{\text{средња израчуната конц.} - \text{номинална конц.}}{\text{номинална конц.}} \right) * 100$$

Прецизност аналитичке методе представља степен слагања резултата добијених из више мерења која су изведена на исти начин, под условима дефинисаним у методи [141]. Прецизност се изражава релативном стандардном девијацијом (енгл. *relative standard deviation; RSD*), односно коефицијентом варијације (енгл. *coefficient of variation; CV*) која се рачуна по следећој формули:

$$CV(\%) = \frac{SD}{X_{sr}} * 100$$

где *CV* представља коефицијент варијације, *SD* стандардну девијацију, а X_{sr} средња вредност одређивања.

Тачност и прецизност заједно детерминишу укупну грешку анализе. Током тестирања тачности и прецизности, ови параметри су процењени унутар аналитичке секвенце (енгл. *within-run*), као и између различитих аналитичких секвенци (енгл. *between-run*) испитивањем узорака контроле квалитета (*QC*) оптерећене плазме за четири концентрациона нивоа: *LOQ*, низак, средњи и висок (1,25, 4, 20 и 80 µg/mL, респективно), који су у оквиру калибрационог опсега. Прецизност и тачност унутар серије је одређена кроз шест понављања *QC* узорака за сваки концентрациони ниво анализираних одједном у једној серији током дана, док је прецизност и тачност између серија одређена кроз шест

понављања *QC* узорака за сваки концентрациони ниво из три серије анализираних током три различитих дана.

Према *ЕМА* смерницама за валидацију биоаналитичких метода, критеријуми за прихватљивост дефинисани су тако да средња вредност за тачност (*bias%*) и за прецизност (*CV%*) треба да буде $\pm 15\%$ у односу на номиналну вредност за сваки концентрациони ниво, осим за најнижи концентрациони ниво (*LOQ*), где је дозвољено одступање $\pm 20\%$ [141].

3.7.5. Принос екстракције

Принос екстракције (енгл. *recovery*) је изражен као процентуални однос одговора детектора (површина испод криве - *PIK*) који је добијен анализирањем оптерећене плазме и стандардних расатвора чисте супстанце у истим концентрацијама [141]. Принос екстракције меропенема из узорка процењен је за три концентрациона нивоа који одговарају најнижим, средњим и највишим *QC* узорцима оптерећене плазме (4, 20 и 80 $\mu\text{g/mL}$, респективно) и шестоструким мерењима сваке концентрације. Принос је одређен поређењем површина пикова меропенема добијених из екстрахованих *QC* узорака оптерећене плазме са површинама пикова меропенема добијених из неекстрахованих водених раствора на истим концентрационим нивоима.

3.7.6. Ефекат преношења

Појава сигнала анализата заосталог из претходно анализираних узорка позната је још као „ефекат преношења“ (енгл. *carry over*) и условљен је заостатком одређене количине анализата у инструменту након инјектовања [141]. С обзиром да ефекат преношења може значајно утицати на квалитативну и квантитативну анализу, битно је испитати да ли долази до овог ефекта. У пракси се он испитује тако што се након инјектовања највише тачке калибрационе криве инјектује бланк узорак и посматра да ли долази до појаве сигнала анализата ($> LOD$) заосталог из претходно анализираних узорка. Овај ефекат се испитује у трипликату, и ако се у сва три бланк узорка не детектује сигнал анализата, онда се може сматрати да највиша тачка калибрације, представља концентрацију која нема *carry over* [141]. Пренос анализата и интерног стандарда смо спровели анализирајући бланк узорак плазме у три примерка након инјектовања највишег калибрационог стандарда (100 $\mu\text{g/mL}$).

Пренос је прихватљив ако заостали сигнал анализата у бланк узорку након инјектовања највишег калибратора (100 $\mu\text{g/mL}$) не прелази 20% сигнала анализата на доњој граници квантификације и 5% сигнала интерног стандарда [141].

3.7.7. Ефекат матрикса

Ефекат матрикса се испитује како би се сазнало да ли постоје неке интерференције из матрикса које би могле утицати на квалитативну и квантитативну анализу узорка [141].

Према смерницама за валидацију биоаналитичких метода које је издала *ЕМА*, за процену ефекта матрикса потребно је најмање шест различитих серија бланк узорка матрикса. Матрични фактор (*MF*) за сваки анализат и интерни стандард се израчунава преко односа површине сигнала анализата у присуству матрикса (бланк плазма која је после екстракције оптерећена анализатом) и површине сигнала анализата без присуства матрикса (стандардни раствор анализата) [141].

Процену ефекта матркаса смо вршили на три нивоа концентрације стандардних раствора меропенема и оптерећене плазме меропенемом (4, 20 и 80 $\mu\text{g/mL}$). Критеријум прихватљивости је да укупна варијабилност концентрације изражена као *CV* не би требало да буде већа од 15% [141].

3.7.8. Интегритет разблажења

Узорке код којих је измерена вредност која се налази изван линеарности односно изнад опсега калибрационе криве методе, требало би разблажити. Процес разблажења не сме да утиче на тачност и прецизност мерења, тако да добијени резултати мерења након разблажења узорка не би требало да одступају $\pm 15\%$ за *bias* и $\pm 15\%$ за *CV*, према смерницама *ЕМА* [141].

Узорци оптерећене плазме су припремљени у концентрацији изнад границе квантификације односно у концентрацији двоструко већој од највишег калибрационог стандарда (200 $\mu\text{g/mL}$). Затим су узорци разблажени четири и осам пута истом бланк плазмом да би се добиле коначне концентрације од 50 $\mu\text{g/mL}$ и 25 $\mu\text{g/mL}$, респективно. Разблажени узорци су подвргнути процесу припреме а затим анализирани. Добијени резултати су упоређени са номиналном концентрацијом.

3.7.9. Стабилност

Стабилност анализата може да зависи од бројних фактора, као што су: физичко-хемијска својства анализата, услови чувања узорка (температура, амбалажа, итд.), врста матрикса у коме се налази аналит и начин припреме и анализе узорка. Приликом испитивања стабилности, потребно је размотрити реалне услове у лабораторији, којима су узорци изложени током извођења анализе. Сврха тестова стабилности је да се покаже да не долази до деградације анализата (промене концентрације анализата) приликом рутинског извођења методе, односно да аналит остаје стабилан током целе аналитичке процедуре [141].

Стабилност основних раствора меропенема тестирана је упоређивањем површина пикова (сигнала) између раствора који су свеже припремљени и оних који су чувани на -80°C и -20°C током временског периода од једне, две, три недеље или једног месеца.

Стабилност узорака контроле квалитета (*QC*) чуваних на -20°C процењена је за три концентрациона нивоа (низак, средњи и висок ниво) након различитих времена складиштења (24, 48 и 72 часа). Стабилност је процењена поређењем средњих односа површина пикова сваког *QC* узорака мерених сваких 24 часа и површине пикова анализираних у времену 0, односно свеже припремљених *QC* узорака истих концентрација. Стабилност је изражена као процентуално смањење концентрације [141].

За анализу стабилности меропенема у узорцима плазме пацијената користили смо свеже узет узорак крви од пацијента који је примао терапију меропенема. Узорак крви је након прикупљања одмах центрифугиран и подељен у аликвоте. Један аликвот је био одмах анализиран, док су остали аликвоти чувани на -20°C . Аликвоти су били одмрзавани након 1, 2, 3, 7, 14 и 21 дана, и подвргнути процедури припреме узорка, а затим мерени *HPLC* методом. Процент стабилности је израчунат као однос између површине пика узорака плазме пацијента мерених свака 24 часа и површине пика узорка плазме пацијента анализиране одмах након прикупљања крви. Резултати стабилности су изражени као проценат преосталог лека.

Сви узорци у тестовима стабилности су рађени у трипликату. Добијени резултати су упоређени, при чему узорци код којих је разлика између површина пикова била мања

од 15% сматрани су стабилним, у складу са смерницама за валидацију биоаналитичких метода које је издала ЕМА [141].

3.8. AGREEprep и BAGI евалуација

Предложена метода за одређивање концентрације меропенема у плазми је тестирана помоћу метричког алата *AGREE* (енгл. *analytical greenness*, „зелена“ аналитика) који процењује колико је аналитичка метода „зелена“ тј. еколошки прихватљива [142] и *BAGI* (енгл. *blue applicability grade index*, плави индекс применљивости), метричког алата за процену практичности и применљивости аналитичке методе [143].

AGREEprep представља инструмент који је посебно креиран за процену зелености (еколошке прихватљивости) у процесу припреме узорака [142]. Овај алат је заснован на десет принципа зелене припреме узорака (енгл. *green sample preparations*; *GSP*) и служи за проверу у којој мери је процес у складу са *GSP* принципима [142]. Резултат процене је представљен као кружни пиктограм, у чијем средишту се налази круг који приказује укупан резултат [142,144]. Овај приказ укључује десет трапезоидних трака, од којих свака одговара једном од десет критеријума, при чему је дужина сваке траке пропорционална додељеној тежини [144]. Укупна вредност резултата креће се од 0 до 1, при чему резултат 0 показује најслабије перформансе у свим критеријумима, док резултат 1 означава најбоље перформансе у свим критеријумима или одсуство корака припреме узорка [142].

Практичност и применљивост аналитичке технике могу се проценити коришћењем Плавог индекса применљивости (*BAGI*), који је квантитативни инструмент [143]. Његова пажња усредсређена је на практичне аспекте беле аналитичке хемије [143]. Овај инструмент анализира десет кључних карактеристика и ствара пиктограм астероида са одговарајућим резултатом, чиме се илуструје применљивост и функционалност аналитичке методе [143]. Коначни резултат представља број у средини пикторгама, који варира од 25 до 100 [143]. Метод се може сматрати практичнијим када су *BAGI* резултати већи [143]. Да би се аналитичка метода сматрала практичном, саветује се да коначни резултат буде изнад 60 [143].

3.9. Биохемијске анализе

Код пацијената је од биохемијских параметара одређиван ниво креатинина, аспартат аминотрансферазе (АСТ-а), аланин аминотрансферазе (АЛТ-а), алкалне фосфатазе (АЛП-а), еритроцита, хемоглобина, леукоцита и тромбоцита.

Претходно наведени параметри су одређивани у биохемијској лабораторији УКИЦК. У Табели 4. су наведене референтне вредности за наведене параметре.

Табела 4. Референтне вредности биохемијских параметара

Параметар	Референтна вредност
Креатинин	49 – 106 $\mu\text{mol/l}$
АСТ	7 – 38 IU/L
АЛТ	8 – 41 IU/L
АЛП	35 – 129 U/L
Еритроцити	$3,9 – 5,7 \times 10^{12}/\text{L}$
Хемоглобин	121 – 172 g/L
Леукоцити	$4,0 – 10,0 \times 10^9/\text{L}$
Тромбоцити	$150 – 450 \times 10^9/\text{L}$

3.10. Фармакокинетичка анализа

Популациона фармакокинетичка (енгл. *population pharmacokinetics*; *popPK*) анализа подразумева процес израде *popPK* модела за клиренс меропенема коришћењем програма *NON linear Mixed-Effects Modelling (NONMEM)*, тј. приступом нелинеарног моделовања комбинованих ефекта (верзија 5, ниво 1.1, дупла прецизност) [145].

popPK анализа се састоји од три основне фазе у развоју *popPK* модела за клиренс меропенема и представља сложен процес.

Први корак ове анализе био је добијање базног модела за клиренс меропенема применом одговарајуће субрутинe *ADVAN 1* из *PREDPP (PRED Population Pharmacokinetics)* библиотеке програма *NONMEM* -а, који је започео прикупљањем великог броја података од испитаника, тј. пацијената УКЦК. Субрутина *ADVAN 1* у процесу израде модела означава употребу једнопросторног модела тј. кинетику првог реда и без апсопрције односно моноекспоненцијални модел за израчунавање средњих популационих вредности клиренса и волумена дистрибуције код критично оболелих пацијената као и израчунавање њихове интра- и интериндивидуалне варијабилности.

У досадашњим студијама популационе фармакокинетичке анализе меропенема коришћени су модели са једним или два одељка, што је описано у студији *Dhaese* и сарадника [146]. Међутим, модел са једним одељком и елиминацијом првог реда као најједноставнији модел је адекватно описивао фармакокинетичке параметаре меропенема код критично оболелих пацијената [147].

Важан део овог корака *popPK* анализе јесте процена интериндивидуалне и резидуалне варијабилности клиренса у циљној популацији, што је вршено коришћењем одговарајућег адитивног или експоненцијалног модела грешке [148].

$$\text{Адитивни модел: } CL_{ij} = \bar{CL}_{ij} + \eta_j$$

$$\text{Експоненцијални модел: } CL_{ij} = \bar{CL}_{ij} \times \exp(\eta_j)$$

Значење скраћеница:

CL_{ij} – „i“-та вредност клиренса код „j“- тог испитаника

\bar{CL}_{ij} – предвиђена вредност клиренса „j“- тог испитаника регресионом методом

η_j – представља независну, случајну грешку са нормалном дистрибуцијом и варијансом ω^2_{CL} .

Адитивни и експоненцијални модели су такође коришћени и за утврђивање интраиндивидуалне варијабилности тј. резидуалне грешке у концентрацији [148].

$$\text{Адитивни модел: } C_{ij} = \bar{C}_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

$$\text{Експоненцијални модел: } C_{ij} = \bar{C}_{ij} \times \exp(\varepsilon_{ij})$$

Значење скраћеница:

C_{ij} – „i“-та измерена концентрација меропенема у плазми код „j“- тог испитаника

\bar{C}_{ij} – одговарајућа предвиђена концентрација

ε_{ij} – независна, нормално дистрибуирана грешка (између предвиђених и измерених концентрација меропенема) са варијансом σ^2_{ε} .

Почетку изградње базног модела се приступило након дефинисања популације и прикупљања свих неопходних података од циљне популације тако што су подаци уношени одређеним редоследом у *NONMEM* програм. Редослед и број података у овој *popPK* анализи је био:

- Пол
- Године
- Укупна телесна маса
- Дневна доза
- Ниво креатина
- АСТ
- АЛТ
- Број еритроцита (енгл. *red blood cells*; *RBC*)
- Хемоглобин (енгл. *hemoglobin*; *HGB*)
- Број леукоцита (енгл. *white blood cells*; *WBC*)
- Број тромбоцита (енгл. *platelets*; *PLT*)
- Хипертензија
- Бубрежна инсуфицијенција
- Неоплазме
- Инфаркт мозга
- Пнеумоније
- Инфекције уринарног тракта
- Ванкомицин
- Колистин

Након уношења наведених података употребом већ поменуте субрутинe *ADVAN 1* из *NONMEM* библиотеке софтвер креира модел за предвиђање концентрација меропенема у плазми. Предвиђене и измерене вредности се упоређују, а разлике се додатно смањују у итеративном процесу кроз подешавање модела. На овај начин, анализом улазних података добијена је типична средња вредност за клиренс (*CL*) и волумен дистрибуције (*Vd*) меропенема (популациони параметри Θ_1 и Θ_2), процене варијанси (ω^2 за интериндивидуалну варијабилност и σ^2 за интраиндивидуалну варијабилност) као и стандардне грешке у испитиваној популацији.

Развојем базног модела добили смо модел за израчунавање средњих популационих вредности *CL* и *Vd* у испитиваној популацији као и израчунавање њихове интра- и интериндивидуалне варијабилности коришћењем одговарајућег адитивног или експоненцијалног модела грешке, док се утицај коваријанти није испитивао.

Друга фаза изградње *popPK* модела представљала је изградњу пуног модела, која се састојала од појединачног укључивања коваријанти (укупна телесна тежина, старост, пол, укупна дневна доза меропенема, вредности основних биохемијских параметара, коморбидитета и истовремене терапије другим антибиотицима) у базни модел уз вршење униваријантне селекције. Утицај коваријанти на клиренс меропенема испитиван је на линеаран и нелинеаран начин, а као резултат униваријантне селекције добијен је велики број униваријантних модела између којих је испитивано постојање статистичке значајности за сваку испитивану коваријанту. Као статистички критеријум за процену утицаја између добијених униваријантних модела и базног модела је коришћена вредност минимума објективне функције (енгл. *minimum objective function; MOF*) која представља негативни двоструки логаритам вероватноће података ($-2\log\text{likelyhood}$, $-2LL$). Да би се утицај испитиване коваријанте на основни модел сматрао статистички значајним било је потребно смањење вредности *MOF* од најмање 3,84 ($p < 0,05$) [149]. Потом је уследио процес истовременог укључивања појединачних коваријанти које су испуниле статистичке критеријуме што је довело до формирања пуног модела.

Трећа фаза изградње *popPK* модела представљала је добијање коначног модела за клиренс меропенема. Ова последњи фаза састојала се од тзв. уназадне делеције током које је свака добијена коваријанта била избачена из пуног модела и при томе је поново процењивана статистичка значајност за сваку коваријанту, уз испуњавање строжијих статистичких захтева (смањење *MOF*-а за сваку посебну коваријанту више од 6,64 за $p < 0,01$). Само коваријанте које су задовољиле наведене услове у оба процеса (формирања пуног и коначног модела) су део коначног фармакокинетичког модела клиренса меропенема у испитиваној популацији.

Осим изградње коначног *popPK* модела клиренса меропенема у испитиваној популацији, било је неопходно и испуњење следећих додатних услова:

- редуција у интер- и интраиндивидуалној (резидуалној) варијабилности
- побољшање распореда података представљених на графиконима који приказују однос између предвиђених (израчунатих) (*PRED*) vs. измерених (*DV*) концентрација меропенема
- побољшање распореда података представљених на графиконима који приказују однос између вредности кориговане разлике (*WRES*) наспрам предвиђених концентрација (*PRED*) меропенема.

Након завршене *popPK* анализе извршена је валидација коначног модела како би се извршила процена предиктивних перформанси и могућности клиничке примене добијеног коначног *popPK* модела. Валидацију коначног фармакокинетичког модела смо

радили са "bootstrap" методом. То је непараметријска метода валидације која укључује насумично и поновно узимање узорака из основног сета података из којег је модел развијен, од неколико стотина до неколико хиљада појединачних процена фармакокинетичких параметара и фактора коначног модела. Тако добијени подаци су омогућили процену фармакокинетичких параметара и њихове варијабилности у коначном моделу, као и добијање вредности за стандардну девијацију, стандардну грешку и 95%-ог интервала поверења. Ове вредности су упоређене са вредностима развијеног коначног *popPK* модела коришћењем *NONMEM* програма. Сличност између вредности добијених коришћењем ове две методе указује на добру стабилност и прецизност коначног *popPK* модела за клиренс меропенема.

3.11. Варијабле које су мерене у истраживању

Неколико фармакодинамичких параметара је имало улогу зависних варијабли, тј. исхода: време у коме меропенем-концентрација остаје изнад *MIC* ($fT > MIC$, *time-dependent killing*), однос максималне концентрације у плазми са *MIC* (C_{max}/MIC , *concentration-dependant killing*) и однос површина испод криве-концентрације време са *MIC* (AUC/MIC).

Независне варијабле праћене у студији биле су: режими дозирања меропенема, примењене дозе од 500 mg, 1000 mg и 2000 mg меропенема у облику инфузије на 8 сати или и.в. болус ињекције.

Збуњујуће варијабле праћене у студији биле су: старост, пол, бубрежна функција (клиренс креатинина), лабораторијски параметри инфекције, лабораторијски параметри функције јетре, коморбидитет и примењени лекови.

3.12. Израчунавање *PK/PD* индекса меропенема

Фармакокинетички/фармакодинамички (*PK/PD*) индекс који најтачније одражава бактерицидну ефикасност меропенема јесте део интервала дозирања током којег концентрације слободног лека у плазми прелазе *MIC* циљног патогена ($fT > MIC$) [97]. $fT > MIC$ је одређиван коришћењем криве концентрација у плазми/време, реконструисане помоћу калкулатора развијеног у *Excel*-у. На основу вредности $fT > MIC$ формиране су две групе пацијената. Прву групу чинили су пацијенти код којих је примењена доза меропенема била оптимална (100% $fT > MIC$), док су другу групу чинили случајеви, код којих примењена доза меропенема није била оптимална ($fT > MIC < 100%$) [98-101]. Податке о вредностима *MIC* код пацијената добили смо прегледом медицинске документације оних пацијената код којих су ове вредности претходно мерене у микробиолошкој лабораторији УКЦК или прегледом података Европског комитета за тестирање осетљивости на антимикробне лекове (*EUCAST*) [40].

Иако AUC/MIC и C_{max}/MIC представљају *PK/PD* индексе који се користе за *in vivo* процену бактерицидног ефекта концентрацијски зависних антибиотика, поменути индекси су, ради свеобухватније анализе бактерицидне активности меропенема, рачунати и њихове вредности укратко представљене у оквиру резултата ове докторске дисертације.

3.13. Снага студије и величина узорка

Величину потребног узорка израчунали смо на основу стандардне девијације (SD) једног од кључних параметара за фармакокинетику меропенема (C_{max}), а према резултатима студије *Mer* и сарадника [150]. У тој студији која је обухватила 27 пацијената, стандардна девијација за C_{max} је била 15,31 $\mu\text{g/mL}$. Уколико узмемо да је жељена снага студије 80%, а вероватноћа грешке првог типа (α) 0,05 и ако границе поверења (GP) поставимо на нижу вредност од 8,5 $\mu\text{g/mL}$, потребну величину узорка добијамо по формули [151]:

$$N = \left(\frac{2 \times 1,96}{GP} \times SD \right)^2$$

где је N број пацијената. Заменом вредности у формули потребна величина узорка је 49 пацијената. Због могућег губитка пацијената у току студије, у студији је иницијално планирано учешће 60 пацијената.

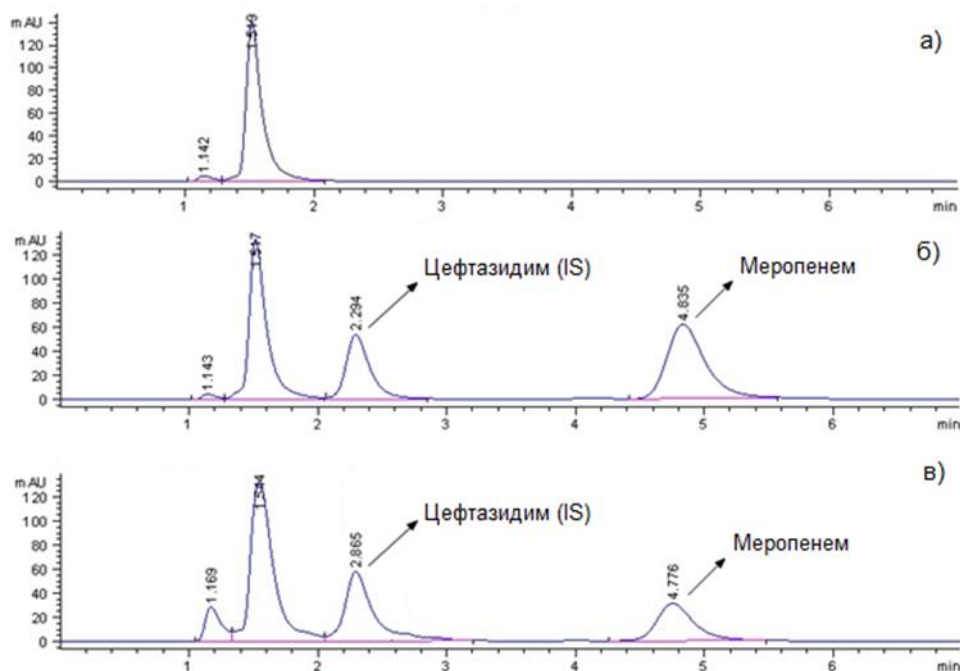
3.14. Статистичка обрада података

Вредности добијене мерењима PK и PD параметара меропенема описане су методама дескриптивне статистике. Статистичка анализа је вршена помоћу *SPSS* софтверског пакета, верзија 22. Континуалне варијабле су прво испитане у погледу дистрибуције вредности помоћу *Kolmogorov-Smirnov* или *Shapiro-Wilkov*-ог теста. Уколико је постојала нормална дистрибуција, вредности су биле описане средњом вредношћу и стандардном девијацијом, док је значајност разлике у континуираним варијаблима испитивана параметријским Студентовим t тестом за две групе или анализом варијанси (*ANOVA*) за три и више група. Код одсуства нормалне дистрибуције, коришћен је непараметријски *Mann-Whitney*-ев тест, а вредности су биле описане медијаном и интерквartilним опсегом. Категоријске варијабле су описане учесталошћу и процентима, док је процена статистичке значајности ових варијабли вршена употребом *Pearson*-овог χ^2 тест.

Утицај појединих независних и збуњујућих варијабли на PK и PD параметре процењени су коришћењем регресионих статистичких метода. Статистичка значајност је постојала ако је $p < 0,05$.

4. Резултати

На самом почетку истраживања развијена је и валидирана *HPLC* метода за одређивање концентрације меропенема у плазми. Метода омогућава одређивање концентрације меропенема у узорцима плазме након припреме узорка и обезбеђивањем одређених хроматографских услова, који су описани у поглављу Материјал и метод. Када су ови описани кораци спроведени узорци су инјектовани у *HPLC* систем. На Слици 2 приказани су добијени хроматограми следећих узорака: бланк плазме, *QC* узорак оптерећене плазме и узорак плазме пацијента.



Слика 2. Хроматограми: а) Бланк плазма; б) *QC* узорак оптерећене плазме меропенемом (80 $\mu\text{g/mL}$) и цефтазидином (10 $\mu\text{g/mL}$); в) узорак плазме пацијента (38,7 $\mu\text{g/mL}$ меропенема)

Укупно време анализе је било 7 минута, током којих су цефтазидим (интерни стандард) и меропенем елуирани из колоне након 2,3 и 4,8 минута (вредности ретенционих времена). Детекција оба анализата је извршена на таласној дужини од 300 nm. Концентрација меропенема у анализираним узорцима је одређивана преко конструисане калибрационе криве у опсегу њене линеарности и површине сигнала меропенема.

4.1. Вредности тестова у оквиру валидације *HPLC* методе

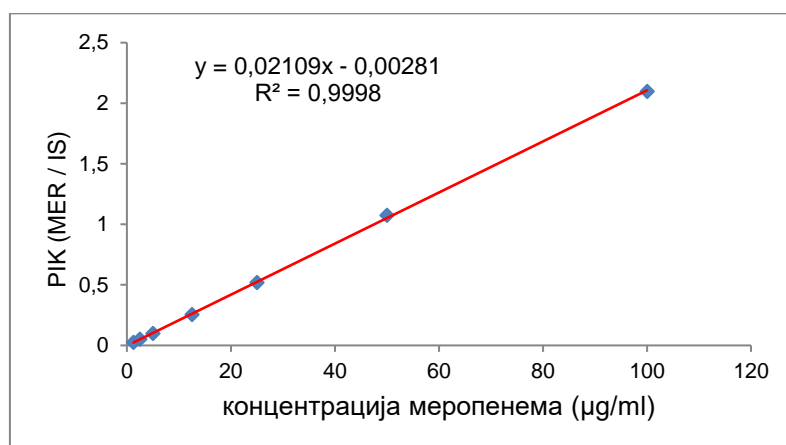
Селективност методе процењена је према поступку описаном у поглављу Материјал и методе. Анализирањем и упоређивањем хроматограма бланк узорака плазми и узорака оптерећених плазми потенцијалним интерференцијама, утврђено је да на ретенционим временима меропенема и цефтазидима (*IS*) није било значајног одговора који се може приписати интерферирајућим компонентама.

Калибрациона крива добијена је описана линеарном регресијом између површине сигнала меропенема и концентрације меропенема. Једначина калибрационе криве (тј. регресиона једначина) је имала форму:

$$y = 0,02109 * x - 0,00281$$

где је (y) однос површине пика (меропенем/*IS*), (x) концентрација меропенема ($\mu\text{g/mL}$) док су вредности за нагиб (a) и одсечак (b) биле 0,02109 и 0,00281. За узорке људске плазме, показало се да је калибрациона крива линеарна у опсезима концентрација од 1,25 – 100 $\mu\text{g/mL}$, са коефицијентом корелације (r^2) од 0,9998.

На Слици 3. приказан је дијаграм калибрационе криве меропенема, где је концентрација сваког од седам калибрационих стандарда приказана у односу на однос површине пика меропенема/*IS*.



Слика 3. Калибрациона крива за одређивање меропенема

Лимит детекције и лимит квантификације израчунати су на начин како је описано у поглављу Материјал и метод, а у складу са *EMA* смерницама за валидацију биоаналитичких метода. На основу калибрационе криве користећи калибрационе стандарде ниских концентрација, добијене су вредности за *LOD* и *LOQ* су 0,4 $\mu\text{g/mL}$ и 1,2 $\mu\text{g/mL}$, респективно.

Тачност и прецизност је одређена поступком који је такође усклађен са смерницама *EMA*. Резултати су добијени испитивањем узорак оптерећене плазме меропенемом (узорци контроле квалитета, *QC*) за четири концентрациона нивоа (*LOQ*, низак, средњи и висок). Унутар-дневна тачност (*bias%*) и међу-дневна тачност за све *QC* узорке кретале су се од -1,9% до 2,6%, односно од -4,7% до 3,8%. За сваки *QC* узорак, унутар-дневна прецизност (*CV%*) била је мања од 4%, а међу-дневна прецизност мања од 7%. Сви анализирани *QC* узорци задовољили су *EMA* критеријуме прихватања тачности и прецизности.

Принос екстракције (енгл. *recovery*) је одређен према поступку описаном у Материјалу и методу. Просечне вредности приноса (средња вредност \pm стандардна девијација) процењени су за три концентрациона нивоа (низак, средњи и висок) *QC* узорак. Сви *QC* узорци имали су вредности приноса у распону од 81,7% до 95,9%. *QC* узорак ниске концентрације (4 $\mu\text{g/mL}$) је имао најнижи средњи принос од 81,7%, док је највиши принос од 95,9% имао *QC* узорак високе концентрације (80 $\mu\text{g/mL}$).

Процена преноса (енгл. *carry over*) извршена је према претходно описаном поступку. При мерењу бланк узорак након највишег калибрационог стандарда током времена хроматографског рада од 7 минута и периода поновног уравнотежења од 2 минута, нису пронађене значајне површине пикова меропенема и *IS* у оквиру процене преноса. Сходно томе, дошли смо до закључка да овај приступ није показао пренос.

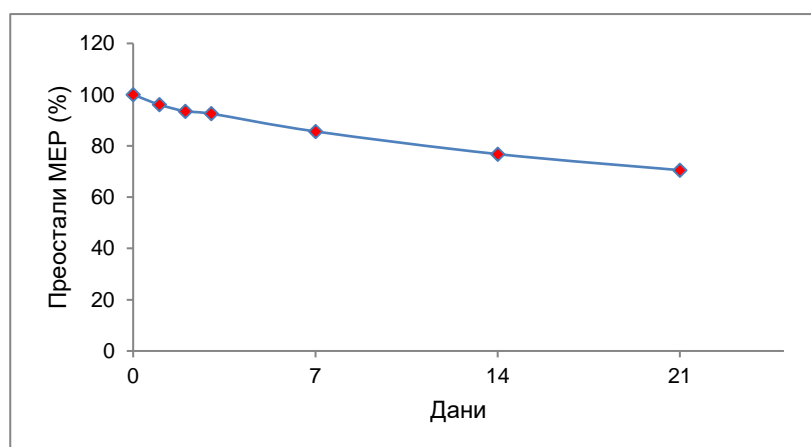
У оквиру поступка валидације методе спроведен је и тест ефекта матрикса. Вредност ефекта матрикса од 100% означава одсуство ефекта, али вредности ефекта матрикса преко 100% означавају матрично индуковано појачање сигнала, а вредности испод 100% указују на супресију сигнала. Процену ефекта матрикса смо извршили на три нивоа концентрације, при чему су вредности ефекта матрикса за низак (4 $\mu\text{g/mL}$), средњи (20 $\mu\text{g/mL}$) и високи (80 $\mu\text{g/mL}$) ниво биле -7,7%, -6,9% и 9,9%. Варијабилност концентрација изражена као *CV* је била у оквиру међународно дефинисаних критеријума прихватљивости, тако да ефекат матрикса није примећен.

Интегритет разблажења је такође испитан у оквиру поступка валидације *HPLC* методе коју смо развили за одређивање концентрације меропенема у плазми. Прецизност (*CV%*) интегритета разблаживања била је 2,52% за четвороструко разблажене узорке и 3,66% за осмоструко разблажене узорке. Тачност (*bias%*) за четвороструко и осмоструко разблажене била је 3,78%, односно 4,04%. Четвороструко и осмоструко разблажени узорци имали су одговарајућу тачност и прецизност, према испитивању интегритета разблаживања. Стога се може рећи да се овај поступак може користити за разблаживање узорака са концентрацијама вишим од горње границе квантификације (*ULOQ*), а затим за њихово прецизно мерење.

У оквиру поступка валидације аналитичке методе такође је тестирана и стабилност узорака. Основни раствори меропенема остали су стабилни најмање месец дана на -80°C и -20°C , без значајне деградације у поређењу са свеже припремљеним растворима (критеријуми прихватљивости за одступања били су унутар $\pm 15\%$).

Резултати краткорочне стабилности *QC* узорака чуваних на -20°C током 72 часа су показали су смањене концентрације меропенема од 3,1% до 9,4%. Меропенем је разграђен за 3,1% у *QC* узорку (4 $\mu\text{g/mL}$) након 24 часа и за 9,4% у *QC* узорку (80 $\mu\text{g/mL}$) након 72 часа.

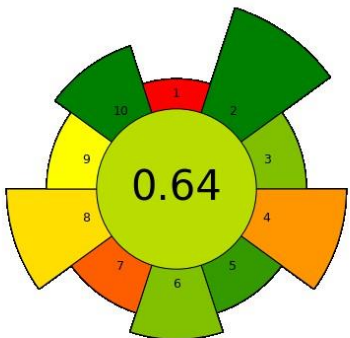

Слика 4 илуструје стабилност меропенема у узорку плазме пацијента током периода од три недеље чуваног на -20°C . Резултати стабилности су показали да је меропенем остао стабилан у узорку плазме пацијента током једне недеље на -20°C , са стопом разградње од $\leq 15\%$, која представља критеријум прихватљивости.



Слика 4. Стабилност меропенема у узорку плазме пацијента (44,2 $\mu\text{g/mL}$) без стабилизатора током три недеље на -20°C

Табела 5 приказује процену зелености и практичности развијене методе коришћењем метричких алата *BAGI* и *AGREEprep*. Применом метричких алата *AGREEprep* и *BAGI*, коначни резултати процене валидиране методе били су 0,64, односно 72,5.

Табела 5. Процена зелености и практичности развијене методе коришћењем метричких алата *AGREEprep* и *BAGI*

Критеријум	Опис критеријума	<i>AGREEprep</i> резултат (пиктограм)
1. Постављање припреме узорка	<i>Ex situ</i>	
2. Опасни материјали	0 [g или mL]	
3. Одрживост, обновљивост и поновна употребљивост материјала	> 75% реагенаса и материјала су одрживи или обновљиви	
4. Отпад	8 [g или mL]	
5. Економичност узорка	Маса или запремина узорка: 0,2 [g или mL]	
6. Проток узорка	24 [узорак/h]	
7. Интеграција и аутоматизација	Кораци за припрему узорка: 3 корака, Ручни системи	
8. Потрошња енергије	90 [W]	
9. Конфигурација након припреме узорка за анализу	<i>GC</i> и <i>HPLC</i> без <i>MS</i> детекције, атомска апсорпциона спектроскопија, капиларна електрофореза, итд.	
10. Безбедност оператера	Није подешено	
Критеријум	Опис критеријума	<i>BAGI</i> резултат (пиктограм)
1. Врста анализе	Квантитативно и потврдно	
2. Анализа више или једног елемента	Један елемент	
3. Аналитичка техника	Једноставна инструментација доступна у већини лабораторија (<i>UV</i> , <i>HPLC-UV</i> , <i>HPLC-DAD</i> , <i>UHPLC</i> , <i>FAAS</i> , <i>ETAAS</i> , <i>ICP-OES</i> , <i>GC-FID</i> итд.)	
4. Истовремена припрема узорка	1	
5. Припрема узорка	Потребна је једноставна, јефтина припрема узорка (нпр. таложење протеина)	
6. Узорак по сату	5-10	
7. Реагенси и материјали	Уобичајени комерцијално доступни реагенси (метанол, ацетонитрил, <i>HNO₃</i> , азот или други уобичајени гасови, итд.)	
8. Претходно концентровање	Није потребно претходно концентровање. Потребна осетљивост и/или законски критеријуми су директно испуњени.	
9. Степен аутоматизације	Полуаутоматски са уобичајеним уређајима (нпр. <i>HPLC</i> аутосемплер)	
10. Количина узорка	100-500 μ L (или mg) биоаналитичких узорака; 10,1-50 mL (или g) хране/животна средина	

У Табели 6 приказан је сумарни преглед добијених резултата тестова валидације, као и њихови критеријуми прихватљивости.

Табела 6. Добијени резултати за испитиване параметре валидације и критеријуми прихватљивости према смерницама *EMA*

Параметар	Критеријум прихватљивости	Резултат валидације
Селективност	Сигнал од интерференција је < 20% <i>LOQ</i> за аналит и < 5% за <i>IS</i>	На ретенционим временима меропенема и цефтазидима није било значајних сигнала интерференција
Калибрациона крива (линеарност и радни опсег)	≥ 6 калибрационих тачака; тачност и прецизност унутар ±15% номиналних вредности (±20% за <i>LOQ</i>)	Јед. калибрационе криве: $y = 0,02109 \cdot x - 0,00281$ Коефицијент корелације (r^2): 0,9998 Линеарност је потврђена у опсегу: 1,25 – 100 µg/mL
Лимит детекције (<i>LOD</i>) Лимит квантификације (<i>LOQ</i>)	<i>LOQ</i> прилагодити очекиваним концентрацијама и циљу студије	<i>LOD</i> : 0,4 µg/mL; <i>LOQ</i> : 1,2 µg/mL
Тачност	<i>bias</i> : ≤ ±15% од номиналне вредности (≤ ±20% за <i>LOQ</i>)	<i>bias</i> унутар аналитичке секвенце: од 1,9% до 2,6%; <i>bias</i> између аналитичке секвенце: од -4,7% до 3,8%
Прецизност	<i>CV</i> : ≤ 15% од номиналне вредности (≤ 20% за <i>LOQ</i>)	<i>CV</i> унутар аналитичке секвенце: од 0,5% до 3,1%; <i>CV</i> између аналитичке секвенце: од 0,8% до 6,5%
Принос (<i>recovery</i>)	Није прописан минимални % <i>R</i> ; <i>R</i> мора бити прецизан и репродуктиван	<i>R</i> (%): од 81,7% до 95,9% 81,7% за <i>QC</i> (4 µg/mL); 95,9% за <i>QC</i> (20 µg/mL)
Ефекат преношења (<i>carry over</i>)	Сигнал аналита < 20% за <i>LOQ</i> и < 5% за <i>IS</i>	Нема <i>carry over</i> -а, тј. није детектован сигнал аналита у <i>бланк</i> узорку након анализе највећег калибратора
Ефекат матрикса	<i>CV</i> : ≤ 15%	Није примећен утицај матрикса; Варијабилности концентрација аналита (<i>CV</i>) ≤ 15%
Ефекат разблажења	Критеријуми за тачност и прецизност морају бити испуњени за узорке који су разблажени	<i>bias</i> : 3,8% (4 пута разб.) и 4,0% (8 пута разб.); <i>CV</i> : 2,5% (4 пута разб.) и 3,7% (8 пута разб.)
Стабилност	Одступање од номиналне вредности (деградација): ≤ 15%	Краткорочна стабилност: 3,1% за 24h, 9,4% за 72h; Стабилност узорака пацијената: 7 дана (≤ 15%); Дугорочна стабилност: 1 месец (≤ 15%)

4.2. Фармакокинетичка анализа

У овој фази истраживања је учествовао 101 критично оболели пацијент хоспитализован у УКЦК, чије су основне демографске и клиничке карактеристике приказане у Табели 7. Концентрација меропенема у плазми пацијената за потребе развијања *popPK* модела мерена је употребом аналитичке *HPLC* методе која је претходно детаљно описана у делу Материјал и метод.

Табела 7. Демографски и клинички подаци пацијената укључених у *popPK* анализу. Подаци су изражени као средње вредности \pm стандардна девијација (СД) и вредности опсега

Параметар	Средња вредност \pm СД	Опсег
Број пацијената	101	
Број опсервација	202	
Пол (мушки/женски)	62/39 (61,4%/38,6%)	
Укупна телесна тежина (kg)	78,97 \pm 13,76	48 – 130
Старост (године)	62,37 \pm 14,89	21 – 86
Креатинин у серуму ($\mu\text{mol/L}$)	94,47 \pm 63,68	40 – 452
Доза МЕР-а (mg/day)	3 000 \pm 692,82	2 000 – 6 000
Концентрација МЕР-а у плазми (C_1) ($\mu\text{g/mL}$)	40,69 \pm 16,67	13,07 – 88,95
Концентрација МЕР-а у плазми (C_2) ($\mu\text{g/mL}$)	12,55 \pm 7,62	2,06 – 36,28
Монотерапија МЕР-ом	74 (73,3%)	
Политерапија МЕР-а са:	27/(26,7%)	
- Ванкомицин	17/(16,8%)	
- Колистином	7/(6,9%)	
- Ванкомицином и Колистином	3/(2,97%)	
Коморбидитети пацијената		
- Хипертензија	33/(32,7 %)	
- Хронична бубрежна инсуфицијенција	12/(11,9 %)	
- Неоплазма	18/(17,8 %)	
- Церебрални инфаркт	21/(20,8 %)	
- Пнеумонија	32/(31,7 %)	
- Инфекција уринарног тракта	36/(35,6%)	

МЕР- меропенем; C_1 - концентрација меропенема у узорцима плазме узетим 5 до 30 минута након инфузије; C_2 - концентрација меропенема у узорцима плазме узетим 3 до 4 сата након инфузије.

4.2.1. Израда базног *popPK* модела меропенема

Развој базног модела, који не испитује утицаја појединих коваријанти на клиренс и волумен дистрибуције меропенема у испитиваној популацији вршен је одабиром субрутинe *ADVANI* из *NONMEM* софтверског програма, односно употребом једнопросторног модела. Према базном моделу, процењене вредности клиренса и волумена дистрибуције меропенема износиле су 3,80 L/h и 3,52 L. Вредност *MOF*-а у базном моделу износила је 1283,053. Однос предвиђених и измерених концентрација за меропенем према базном моделу у циљној популацији приказане су на Графикону 1а.

4.2.2. Израда пуног *popPK* модела меропенема

У следећој фази након добијања базног модела, циљ је био да се испита утицај сваке од 13 коваријанти приказаних у Табели 8 на клиренс меропенема. Свака коваријанта појединачно је додавана у базни модел, на линеаран и нелинеаран начин. Током ове анализе добијени су многобројни, појединачни регресиони модели (униваријантни модели) чије су вредности као и значајност утицаја сваке коваријанте представљена у Табели 8.

Табела 8. Вредности *MOF*-а у основном моделу, униваријантним моделима и пуном моделу за меропенем

Модел клиренса	<i>MOF</i>	Разлике у <i>MOF</i> -у	<i>p</i> вредност **	Закључак
Базни модел				
$CL = \theta_1 \times \text{Exp}[\text{ETA}(1)]$	1283,053			
Униваријантни модели				
$CL = \theta_1 \times (\text{ГОД}/50) \wedge \theta_3 \times \text{Exp}[\text{ETA}(1)]$	1277,958	5,095	< 0,05	ДА
$CL = \theta_1 \times (\text{УТТ}/70) \wedge \theta_4 \times \text{Exp}[\text{ETA}(1)]$	1266,640	16,413	< 0,01	ДА
$CL = \theta_1 \times (\text{ДД}) \wedge \theta_5 \times \text{Exp}[\text{ETA}(1)]$	1282,624	0,429	> 0,05	НЕ
$CL = \theta_1 \times (\text{КРЕ}) \wedge \theta_6 \times \text{Exp}[\text{ETA}(1)]$	1272,552	10,501	< 0,01	ДА
$CL = \theta_1 \times (\text{ЛК}) \wedge \theta_7 \times \text{Exp}[\text{ETA}(1)]$	1267,150	15,903	< 0,01	ДА
$CL = (\theta_1 + \theta_8 \times \text{ХТА}) \times \text{Exp}[\text{ETA}(1)]$	1262,636	20,417	< 0,01	ДА
$CL = (\theta_1 + \theta_9 \times \text{ХБИ}) \times \text{Exp}[\text{ETA}(1)]$	1282,954	0,099	> 0,05	НЕ
$CL = (\theta_1 + \theta_{10} \times \text{НЕО}) \times \text{Exp}[\text{ETA}(1)]$	1280,925	2,128	> 0,05	НЕ
$CL = (\theta_1 + \theta_{11} \times \text{ЦИ}) \times \text{Exp}[\text{ETA}(1)]$	1264,258	18,795	< 0,01	ДА
$CL = (\theta_1 + \theta_{12} \times \text{ПНЕУ}) \times \text{Exp}[\text{ETA}(1)]$	1275,855	7,198	< 0,01	ДА
$CL = (\theta_1 + \theta_{13} \times \text{ИУТ}) \times \text{Exp}[\text{ETA}(1)]$	1272,183	10,870	< 0,01	ДА
$CL = (\theta_1 + \theta_{14} \times \text{ВАН}) \times \text{Exp}[\text{ETA}(1)]$	1272,001	11,052	< 0,01	ДА
$CL = (\theta_1 + \theta_{15} \times \text{КОЛ}) \times \text{Exp}[\text{ETA}(1)]$	1274,813	8,240	< 0,01	ДА
Пун модел				
$CL = [\theta_1 \times (\text{ГОД}/50) \wedge \theta_3 \times (\text{УТТ}/70) \wedge \theta_4 \times (\text{КРЕ}) \wedge \theta_6 \times (\text{ЛК}) \wedge \theta_7 + \theta_8 \times \text{ХТА} + \theta_{11} \times \text{ЦИ} + \theta_{12} \times \text{ПНЕУ} + \theta_{13} \times \text{ИУТ} + \theta_{14} \times \text{ВАН} + \theta_{15} \times \text{КОЛ}] \times \text{Exp}[\text{ETA}(1)]$			1207.153	

CL - клиренс (L/h); θ_1 - типична вредност *CL*; *ETA*(1) - интериндивидуална варијабилност *CL*; $\theta_3 - \theta_{15}$ - параметри коваријантних ефеката; ГОД - старост пацијента (године); УТТ - укупна телесна тежина (kg); ДД - укупна дневна доза меропенема (mg/дан); КРЕ - концентрација креатинина ($\mu\text{mol/L}$); ЛК - леукоцити; ХТА - хипертензија; ХБИ - хронична бубрежна инсуфицијенција; НЕО - неоплазма; ЦИ - церебрални инфаркт; ПНЕУ - пнеумонија; ИУТ - инфекција уринарног тракта; ВАН - ванкомицин; КОЛ - колистин; *MOF* - минимум објективне функције; ***p* - вредност: статистичка значајност за *MOF* разлику између базног и тестираног модела.

Резултати анализе су показали да је 10 од 13 испитаних коваријанти имало статистички значајан утицај на вредност *MOF*-а у базном моделу, односно да су ове коваријанте имале значајан утицај на клиренс меропенема. Преостале 3 коваријанте (укупна дневна доза, хронична бубрежна инсуфицијенција и неоплазме) нису задовољиле потребан ниво статистичке значајности, односно нису имале значајан утицај на клиренс меропенема, па су искључене из анализе. Стога је пун *popPK* модел меропенема обухватио 10 значајних коваријанти: старост, укупна телесна тежина, ниво креатинина, број леукоцита, присуство хипертензије, церебрални инфаркт, пнеумонија, инфекција уринарног тракта, истовремена примена ванкомицина и истовремена примена колистиметата. Вредност *MOF*-а у пуном моделу, након што су укључене све коваријабле са значајним утицајем била је 1207,153.

4.2.3. Израда коначног *popPK* модела меропенема

Коначан *popPK* модел за клиренс меропенема је развијен процесом уназадног избацивања коваријанти из пуног модела уз строжије статистичке критеријуме, наведене у делу Материјал и метод. Коваријанте из пуног модела које су испољиле значајан утицај на клиренс су овим процесом поново процењиване. Утврђено је да од 10 појединачних коваријанти из пуног модела, неопходне строжије статистичке захтеве испуњава 5 коваријанти: ниво креатинина, број леукоцита, присуство хипертензије, истовремена примена ванкомицина и истовремена примена колистиметата. Сходно томе, наш коначни модел за клиренс меропенема укључивао је ових пет коваријанти:

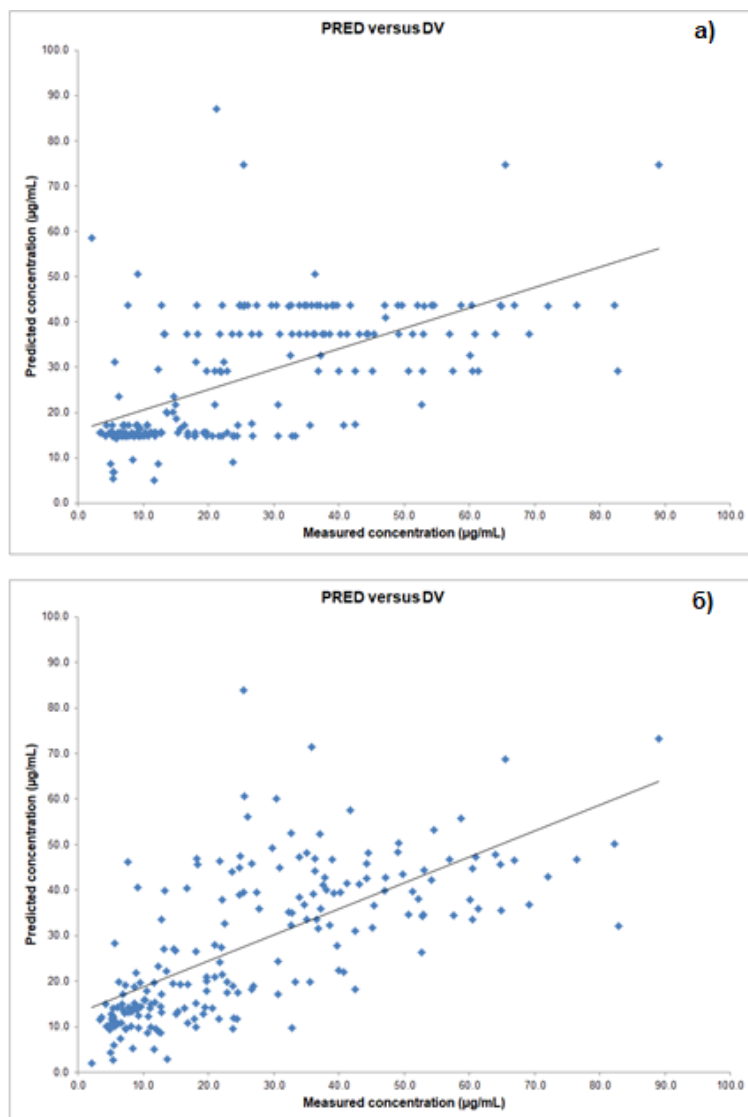
$$CL \left(\frac{L}{h} \right) = 5,29 \times \text{КРЕ}^{0,000001} \times \text{ЛК}^{(-0,165)} + 0,000001 \times \text{ХТА} + 0,825 \times \text{ВАН} + 1,28 \times \text{КОЛ}$$

Вредности процењених параметара коначног модела приказане су у Табели 9. Вредност *MOF*-а нашег коначног модела је статистички значајно нижа од вредности *MOF*-а у базном моделу (1224,035 наспрам 1283,053, $p < 0,01$). Интер- и интра-индивидуална варијабилност била је 2,15, односно 44%.

Табела 9. Процене параметара коначним моделом за меропенем у популацији критично оболелих пацијената

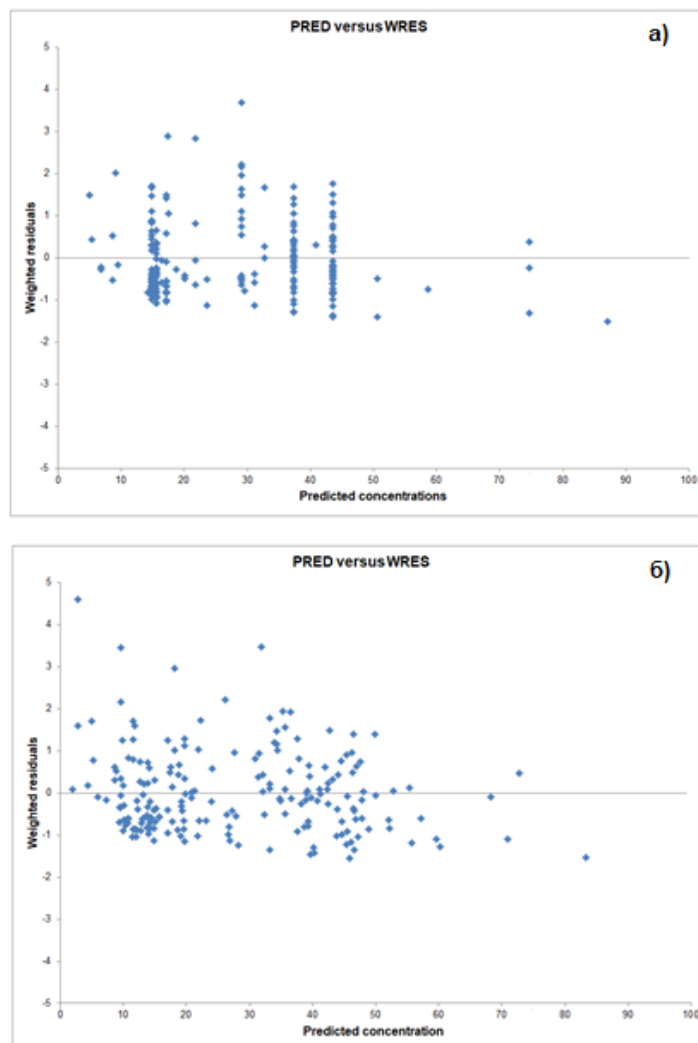
Парамери модела	Процењена вредност	Стандардна грешка	95% интервал поверења
Клиренс (L/h) (θ_1)	5,29	0,038	5,215 – 5,365
Волумен дистрибуције (L) (θ_2)	2,05	0,006	2,039 – 2,061
Ефекат КРЕ ($\times (\text{КРЕ})^{\theta_6}$)	0,0000	0,0000	- 0,0000 – 0,0000
Ефекат ЛК ($\times (\text{ЛК})^{\theta_7}$)	- 0,165	0,05450	- 0,219 – (-0,110)
Ефекат ХТА ($+\theta_8 \times \text{ХТА}$)	0,0000	0,0000	- 0,0000 – 0,0000
Ефекат ВАН ($+\theta_{14} \times \text{ВАН}$)	0,825	0,054	0,770 – 0,879
Ефекат КОЛ ($+\theta_{15} \times \text{КОЛ}$)	1,28	0,05	1,23 – 1,33
Интериндивидуална варијанса CL (ω^2_{CL})	0,0215	0,0146	0,0000 – 0,0501
Варијанса резидуалне грешке (σ^2_{CL})	0,44	0,066	0,310 – 0,570

Однос предвиђених и измерених концентрација за меропенем према коначном моделу у циљној популацији приказане су на Графикону 1б. Ако упоредимо графиконе 1а и 1б, који приказују однос између предвиђених (*PRED*) и измерених концентрација (*DV*) меропенема у плазми, уочавамо да је дистрибуција података боља код коначног модела у поређењу са базним моделом.



Графикон 1: Однос предвиђених (*PRED*) и измерених концентрација (*DV*) за меропенем у базном моделу (а) и коначном моделу (б) у циљној популацији

Однос резидуалне разлике (*WRES*) насупрот предвиђеним концентрацијама (*PRED*) за меропенем у базном и коначном моделу у циљној популацији приказан је на Графикону 2. Са графикана се може видети да је већина тачака боље распоређена око нуле у коначном моделу у поређењу са базним моделом.



Графикон 2: Однос кориговане разлике (*WRES*) насупрот предвиђеним концентрацијама (*PRED*) за меропенем у базном моделу (а) и коначном моделу (б) у циљној популацији

4.2.4. Валидација коначног *popPK* модела

Процес валидације *popPK* модела за клиренс меропенема подразумева процену предиктивних перформанси добијеног коначног модела. За процену тачности, изражене као *bias*, коришћена је средња предиктивна грешка (енгл. *mean predicted error*; *MPE*), док је прецизност процењена кроз средњу квадратну предиктивну грешку (енгл. *mean square predicted error*; *MSPE*) и корена средње квадратне предиктивне грешке (енгл. *root of the mean square predicted error*; *RMSPE*). Израчунате грешке предвиђања за базни, пуни и коначни модел приказане су у Табели 10.

Табела 10. Предиктивне грешке \pm 95% интервал поверења за базни, пун и коначан модел

Грешка	Базни модел	Пун модел	Коначни модел
Средња предиктивна грешка (<i>MPE</i>)	11,60 (8,55 – 14,65)	10,84 (7,95 – 13,73)	10,91 (7,80 – 14,02)
Средња квадратна предиктивна грешка (<i>MSPE</i>)	242,83 (141,37 – 344,30)	217,94 (135,15 – 300,73)	253,06 (94,67 – 411,45)
Корен средње квадратне предиктивне грешке (<i>RMSPE</i>)	15,56	14,75	15,86

Као део поступка валидације, спроведена је „*bootstrapping*“ анализа која обухвата 100 „*bootstrap*“ покушаја. Пошто су средње процењене вредности клиренса и волумена дистрибуције меропенема одређене „*bootstrapping*“ методом биле сличне средњим процењеним вредностима ових фармакокинетичких параметара из оригиналне *NONMEM* анализе, резултати „*bootstrapping*“ анализе показују стабилност и поузданост нашег модела (Табела 11).

Табела 11. *Bootstrapping* анализа базног и коначног модела

Парамери модела	Средња вредност ± СД	Стандардна грешка	95% интервал поверења
Базни модел			
Клиренс (L/h) (θ_1)	4,091 ± 0,159	0,016	4,060 – 4,122
Волумен дистрибуције (L) (θ_2)	3,239 ± 0,136	0,014	3,212 – 3,266
Коначни модел			
Клиренс (L/h) (θ_1)	3,864 ± 0,186	0,019	3,827 – 3,900
Волумен дистрибуције (L) (θ_2)	1,809 ± 0,565	0,057	1,699 – 1,920
Ефекти на клиренс			
Ефекат КРЕ (\times (КРЕ) $^{\wedge}$ θ_6)	0,000 ± 0,000	0,000	0,000 – 0,000
Ефекат ЛК (\times (ЛК) $^{\wedge}$ θ_7)	0,001 ± 0,001	0,000	0,000 – 0,002
Ефекат ХТА ($+ \theta_8 \times$ ХТА)	0,059 ± 0,166	0,017	0,026 – 0,091
Ефекат ВАН ($+ \theta_{14} \times$ ВАН)	0,660 ± 0,560	0,056	0,550 – 0,769
Ефекат КОЛ ($+ \theta_{15} \times$ КОЛ)	0,662 ± 0,615	0,061	0,541 – 0,782
Ефекти на волумен дистрибуције			
Ефекат КРЕ (\times (КРЕ) $^{\wedge}$ θ_{16})	0,130 ± 0,199	0,020	0,091 – 0,169
Ефекат ЛК (\times (ЛК) $^{\wedge}$ θ_{17})	0,021 ± 0,034	0,003	0,015 – 0,028
Ефекат ХТА ($+ \theta_{18} \times$ ХТА)	0,170 ± 0,205	0,021	0,130 – 0,210
Ефекат ВАН ($+ \theta_{19} \times$ ВАН)	0,577 ± 0,524	0,052	0,474 – 0,680
Ефекат КОЛ ($+ \theta_{20} \times$ КОЛ)	0,581 ± 0,604	0,060	0,462 – 0,699

CL - клиренс (L/h); θ_1 - типична вредност CL; ETA(1) - интериндивидуална варијабилност CL; V – волумен дистрибуције(L); θ_2 - типична вредност V; ETA(2) - интериндивидуална варијабилност V; $\theta_6, \theta_7, \theta_8, \theta_{14}$ и θ_{15} параметри коваријантних ефеката за процену клиренса меропенема; $\theta_{16} - \theta_{20}$ - параметри коваријантних ефеката за процену волумена дистрибуције меропенема; КРЕ - концентрација креатинина ($\mu\text{mol/L}$); ЛК - леукоцити (бела крвна зрнца); ХТА - хипертензија; ВАН - ванкомицин; КОЛ - колистин.

4.3. PK/PD анализа

У овом делу истраживања је учествовало 63 критично оболелих пацијената чије најважније социо-демографске и клиничке карактеристике су приказане у Табели 12.

Табела 12. Основне социо-демографске и клиничке карактеристике пацијената који су учествовали у PK/PD анализи меропенема

Варијабла	Средња вредност ± стандардна девијација (опсег) или број (%)
Пол (М/Ж)	37 (58,7%) / 26 (41,3%)
Старост (године)	63,92±1,62
Телесна тежина (kg)	78,46±12,73
Чарлсонов индекс коморбидитета	4,25±2,66
Хипертензија	20 (31,7%)
Хронична бубрежна инсуфицијенција	8 (12,7%)
Мождани удар	11 (17,5%)

М-мушки пол; Ж-женски пол

Најчешће индикације за примену меропенема код ових пацијената су биле инфекције уринарног тракта ($n=23$; 36,5%) и пнеумонија ($n=20$; 31,7%), док је код преосталих 20 пацијената (31,7%) меропенем употребљен за лечење других тешких бактеријских инфекција. У Табели 13 су приказане најчешће бактерије узрочници инфекција код регрутованих пацијената.

Табела 13. Најчешће бактерије узрочници инфекција код пацијената регрутованих за PK/PD анализу меропенема

Бактерија	Број пацијената (%)
<i>Klebsiella spp.</i>	17 (27%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	12 (19%)
<i>Proteus mirabilis</i>	12 (19%)
<i>Acinetobacter spp.</i>	9 (14,3%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6 (9,5%)
<i>Enterobacter</i>	4 (6,3%)
<i>Escherichia coli</i>	3 (4,8%)

Већина пацијената укључених у ово истраживање је примала меропенем у укупној дневној дози од 3 грама ($n=53$; 84,1%), 8 пацијената (12,7%) је меропенем добијало у укупној дневној дози од 2 грама, док је код 1 пацијента (3,2%) меропенем примењиван у укупној дневној дози од чак 6 грама. Меропенем је најчешће примењиван три пута дневно ($n=55$; 87,3%), док је код 12 пацијената (12,7%) режим дозирања подразумевао примену меропенема два пута дневно.

Резултати овог истраживања показали су да је код већине регрутованих критично оболелих пацијената ($n=52$; 82,5%) примењена доза меропенема била адекватна ($fT > MIC = 100\%$), док је 11 пацијената (17,5%) било субдозирано ($fT > MIC < 100\%$). У групи субдозираних критично оболелих пацијената, било је значајно више пацијената женског пола ($\chi^2=3,982$; $p=0,046$) и оних чију је инфекцију изазвао *Acinetobacter spp.* ($\chi^2=21,849$; $p=0,000$) у поређењу са групом пацијената са оптималном дозом. Групе пацијената се нису значајно разликовале једна од друге у погледу осталих карактеристика. Израчунате вредности за AUC_{24}/MIC и C_{max}/MIC су се кретале у опсегу од 24,68 до 2313,77, односно од 1,44 до 414,75.

Табела 14 приказује резултате униваријантне и мултиваријантне логистичке регресије, које су коришћене за идентификацију фактора који предиспонирају субдозирање меропенема код критично оболелих пацијената. У коначни логистички регресиони модел унете су следеће варијабле: старост, пол, пнеумонија, инфекција уринарног тракта, *Acinetobacter spp.* и *Pseudomonas aeruginosa*. Финални мултиваријантни логистички регресиони модел (метод *enter*) показао је задовољавајуће карактеристике ($Cox \& Snell R Square = 0,383$, $Nagelkerke R Square = 0,634$). На крају, *Acinetobacter spp.* и *Pseudomonas aeruginosa*, као узрочници бактеријских инфекција, идентификовани су као фактори ризика за појаву субдозираниости меропенема код критично оболелих пацијената.

Табела 14. Сирови и прилагођени однос шансе за факторе који предиспонирају појаву субдозираниости код критично оболелих пацијената

Фактори ризика	Униваријантни модел	Мултиваријантни модел
	Сирови <i>OR</i> са 95% <i>CI</i> <i>p</i>	Прилагођени <i>OR</i> са 95% <i>CI</i> <i>p</i>
Пол	5,037 (1,188-21,359) <i>p</i> =0,028*	4,505 (0,562-36,087) <i>p</i> =0,156
Старост	1,004 (0,954-1,057) <i>p</i> =0,878	0,988 (0,891-1,095) <i>p</i> =0,818
<i>Acinetobacter spp.</i>	3,778 (1,942-6,725) <i>p</i> =0,000*	4,637 (1,365-14,961) <i>p</i> =0,000*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,812 (1,147-5,125) <i>p</i> =0,044*	2,938 (1,392-7,116) <i>p</i> =0,035*
Пнеумонија	1,286 (0,329-5,021) <i>p</i> =0,718	4,945 (0,393-62,148) <i>p</i> =0,216
Инфекција уринарног тракта	0,600 (0,142-2,532) <i>p</i> =0,487	0,676 (0,075-6,088) <i>p</i> =0,727

*-статистички значајно; *OR*- однос шанси; *CI*- интервал поверења; *p*- вредност вероватноће.

5. Дискусија

Резултати првог дела ове докторске дисертације су показали да је *HPLC* метода за одређивање концентрације меропенема у плазми развијена за потребе спровођења другог (*popPK* анализа меропенема) и трећег (*PK/PD* профил меропенема) дела овог истраживања поуздана и да се карактерише адекватним и задовољавајућим вредностима тестова који су официјални према смерницама *EMA* за валидацију биоаналитичких метода, а који обухватају линеарност, тачност, прецизност, *recovery*, селективност и стабилност. Ова метода је додатно тестирана и са аспекта савремених, еколошких тестова из домена тзв. зелене аналитике помоћу алата какви су *AGREEprep* и *BAGI*, задовољивши такође савремене еколошке захтеве. У другом делу истраживања развијен је *popPK* модел меропенема са једним компартманом за процену клиренса овог антибиотика у популацији критично оболелих пацијената. Коначни *popPK* модел меропенема је показао задовољавајућу тачност и стабилност. Фактори за које се показало да су значајно повезани са повећањем клиренса меропенема у популацији критично оболелих пацијената били су концентрација креатинина у серуму, број леукоцита, присуство хипертензије као коморбидитета и конкомитантна употреба антибиотика као што су ванкомицин и колистиметат. Коначно, у трећем делу истраживања у оквиру ове докторске дисертације испитиван је *PK/PD* профил меропенема у популацији критично оболелих пацијената. С обзиром да је меропенем временски-зависан бактерицидни антибиотик, његов *PK/PD* профил је доминантно изражен кроз израчунавање $fT > MIC$ као најважнијег *PK/PD* индекса код овог типа антибиотика. Резултати овог дела истраживања су показали да је код већине регрутованих критично оболелих пацијената (82,5%) примењена доза меропенема била оптимална, с обзиром да је $fT > MIC$ било 100%. С друге стране, резултати логистичке регресионе анализе су показали да су фактори који предиспонирају субдозирањем меропенема код критично оболелих пацијената ($fT > MIC < 100\%$) инфекције узроковане бактеријама *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter spp.*

Комбинација течне хроматографије и масене спектрометрије (*LC-MS*) би требало да представља оптималан аналитички приступ за одређивање концентрације лекова у биолошким узорцима [152]. У поређењу са *HPLC*-ом, масена спектрометрија има значајне предности, као што су брже одређивање концентрације лека и већа селективност и специфичност [152]. Главни општи недостаци *HPLC* метода у одређивању концентрације лекова у биолошким узорцима су већа потребна концентрација узорака и потешкоће које се често јављају приликом одређивања *LOD* [152]. Ипак, с друге стране, *HPLC* методе имају своје предности у односу на методе масене спектрометрије, због чега се сматра да оне и данас имају значајно место у спровођењу терапијског мониторинга различитих лекова [152]. Пре свега, масени спектрометри су значајно скупљи од *HPLC* уређаја, због чега још увек нису доступни у великом броју аналитичких лабораторија широм света [152]. Због тога многи истраживачи улажу велике напоре како би унапредили постојеће или развили нове *HPLC* методе за одређивање концентрације различитих лекова и њихових метаболита у биолошким узорцима и на тај начин омогућили већем броју клиничара оптимизацију дозирања тих лекова кроз спровођење поступка *TDM*-а.

HPLC метода за одређивање меропенема у плазми која је развијена и валидирана за потребе истраживања у оквиру ове докторске дисертације превазилази неколико значајних ограничења других, претходно валидираних *HPLC* метода за одређивање концентрације овог антибиотика. Пре свега, ова метода се карактерише једноставном и брзом припремом узорака и могућношћу примене без опреме за ултрафилтрацију или

промене *HPLC* колоне. Поред тога, ова метода омогућава мерење концентрације меропенема у релативно малим величинама узорака од по 200 μL , што је чини погодном за примену у вулнерабилним популацијама, као што су критично оболели пацијенти, старе особе и деца [104]. Важна предност ове методе односи се и на чињеницу да валидирани начин припреме узорака обезбеђује исти проценат метанола у убризганом узорку као проценат метанола у мобилној фази током изократске елуције. Анализом до сада валидираних *HPLC* метода за одређивање концентрације меропенема, ретенционо време овог антибиотика се креће у опсегу од 3,1 до 22,5 минута. Ретенционо време меропенема приликом спровођења *HPLC* методе коришћене за истраживања у оквиру ове докторске дисертације износи 4,8 минута, због чега се може констатовати да се ова *HPLC* метода карактерише кратким временом трајања хроматографије. Тест линеарности спроведен у оквиру валидације *HPLC* методе коришћене за потребе истраживања у оквиру ове докторске дисертације је показао да је калибрациона крива линеарна у опсегу концентрација меропенема од 1,25–100 $\mu\text{g/mL}$. С обзиром да се опсег терапијских концентрација меропенема креће од 5 до 50 $\mu\text{g/mL}$ [118], може се рећи да се применом *HPLC* методе коришћене за потребе истраживања у оквиру ове докторске дисертације гарантује покривање терапијског опсега концентрација меропенема.

Постоји неколико разлога који указују на то да је потребно инсистирати на побољшавању постојећих и развоју нових аналитичких метода за спровођење *TDM*-а бета-лактамских антибиотика. Пре свега, код критично оболелих пацијената долази до значајних патофизиолошких промена које испољавају снажан утицај на вредности најважнијих фармакокинетичких параметара бета-лактамских и других антибиотика, као што су време полуелиминације и волумен дистрибуције [153-155]. Због промена ових фармакокинетичких параметара очигледно је да постоји потреба за прилагођавањем и оптимизацијом дозе антибиотика у овој популацији пацијената [153-155]. Такође, код пацијената са бубрежном инсуфицијенцијом тешко је предвидети концентрације меропенема и већине других бета-лактамских антибиотика, с обзиром да се њихова елиминација доминантно одвија преко бубрега [156]. Коначно, упркос све учесталијем проблему бактеријске резистенције према карбапенемима, меропенем и други карбапенемии још увек представљају веома важне антибиотике у борби против тешких болничких инфекција [157]. То свакако важи и за услове који владају у Републици Србији. Тренд високе употребе карбапенемских антибиотика у нашој земљи потврђују резултати истраживања које су Перић и сарадници спровели на Војномедицинској академији, а који показују да су карбапенемии заједно са цефалоспоринима и аминогликозидима били најкоришћенији антибиотици у периоду од 2011. до 2016. године [158].

Код критично оболелих пацијената веома је тешко проценити и интерпретирати клиренс креатинина. Разлог томе лежи у чињеници да се код ових пацијената развија специфичан медицински феномен, који се на енглеском језику назива *augmented renal clearance* (*ARC*) [159]. Овај феномен подразумева повећану гломеруларну филтрацију која резултује бржим елиминисањем лекова који се излучују преко бубрега, као што су многи антибиотици, антиепилептици и неки антивирусни лекови [160]. *ARC* се најчешће дефинише као клиренс креатинина већи од 130 $\text{mL/min}/1.73 \text{ m}^2$ [161,162]. Иако се у здравој популацији овај ниво клиренса креатинина сматра изнад просечним, код критично оболелих пацијената он указује на специфичан патофизиолошки процес [161]. Повећана перфузија бубрега, активација системских медијатора и употреба великих количина интравенских течности могу допринети појачаном протоку крви кроз гломеруле и самим тим до повећане филтрације [161]. Патофизиолошки механизми који стоје иза *ARC*-а укључују повећану активност симпатичког нервног система, повећану

кардијалну продукцију, системску вазодилатацију и повећан волумен течности у васкуларном систему [161]. *ARC* се најчешће развија код младих, хемодинамски стабилних пацијената са тешким инфекцијама, посебно код оних који су примљени на интензивно лечење [161]. Најчешће групе у којима се овај феномен јавља су пацијенти са сепсом, траумама, опекотинама и неурохируршким стањима [159]. Један од највећих клиничких изазова у вези са *ARC* феноменом јесте прилагођавање дозе лекова [160]. Стандардне дозе које се користе у већини терапијских протокола заснивају се на просечним вредностима бубрежне функције [162]. Међутим, код пацијената са *ARC*-ом, такве дозе често не доводе до постизања терапијских концентрација у серуму [159]. На пример, антибиотици као што су ванкомицин, меропенем и други β -лактами се брже елиминишу, па постоји ризик да концентрације у крви падну испод *MIC* за дати микроорганизам [160]. Дијагностика *ARC*-а захтева пажљиво мерење клиренса креатинина, најчешће помоћу 8- или 24-часовног сакупљања урина [162]. Процењивање бубрежне функције само преко серумског креатинина често није довољно, јер ова вредност може остати унутар нормалних граница иако је стварни клиренс знатно повећан [161]. Поред повећања брзине гломеруларне филтрације, код пацијената са *ARC*-ом долази и до појачања тубуларне секреције.

Резултати овог истраживања су показали да су веће концентрације креатинина у серуму биле повезане са већим клиренсом меропенема. Овај резултат се у први мах може чинити контроверзним, посебно у светлу широко распрострањеног веровања да повишени нивои креатинина у серуму указују на ослабљену бубрежну функцију [164]. Иако је концентрација креатинина у серуму важан фактор у процени функције бубрега, важно је нагласити да постоје значајна ограничења његове примене у клиничкој пракси [165]. Због тога се концентрација креатинина у серуму не сматра најбољим предиктором функције бубрега [166]. Осим тога, просечне концентрације креатинина у серуму такође су показале да велика већина критично оболелих пацијената обухваћених овом студијом није имала никакву врсту оштећења бубрега. У сваком случају, може се закључити да ефекат серумског креатинина на клиренс меропенема који је опсервиран у овом истраживању тешко може имати неку значајнију клиничку импликацију, баш из разлога што је неколико до сада спроведених студија показало да значајан проценат критично оболелих пацијената показује побољшан ренални клиренс упркос нормалним концентрацијама креатинина у серуму [167-169].

Познато је да пацијенти са тешким бактеријским инфекцијама или сепсом имају већи клиренс лекова који се доминантно излучују преко бубрега [170]. Ова појава се такође приписује и објашњава развојем феномена *ARC*-а код критично оболелих пацијената [171]. Верује се да је повећани бубрежни клиренс лекова у условима сепсе или тешких инфекција последица повећане производње цитокина и других проинфламаторних медијатора који смањују васкуларни отпор, повећавају срчани одговор и повећавају проток крви кроз бубреге [136,171,172]. Међутим, с друге стране, са аспекта фармакокинетице, леукоцити представљају значајан одељак у људском организму где лекови могу да се дистрибуирају и задрже у различитим количинама [173]. Током тешких инфекција и пре свега сепсе леукоцити се активирају услед повећаног метаболизма, што може смањити њихову способност да задржавају лекове [174]. Стога, може се рећи да нису изненађујући резултати овог истраживања који су показали да је повећан број леукоцита фактор повезан са појачаним клиренсом меропенема.

Резултати *popPK* анализе меропенема у овом истраживању су указали на постојање статистички значајне позитивне везе између хипертензије и клиренса меропенема код критично оболелих пацијената. Чини се да се природа ове везе такође индиректно може схватити. Наиме, добро је познато да висок крвни притисак повећава

васкуларни отпор у крвним судовима бубрега и да смањује проток крви кроз бубреге [175]. Међутим, брзина гломеруларне филтрације остаје нормална, док се фракција филтрације чак и повећава у хипертензивним стањима [175]. Опет, с друге стране, више пута је наглашено да се код критично оболелих пацијената често примењују вазоактивни лекови и велике количине течности као део уобичајене терапије основног патолошког стања [176]. С обзиром да је раније наглашено да ови облици фармакотерапије повећавају ризик за појаву *ARC*-а код критично оболелих пацијената, највероватније је да хипертензија нема директан утицај на повећање клиренса меропенема, већ да се овај ефекат манифестује као последица *ARC*-а.

С обзиром на то да се комбинације антибиотика често користе код критично оболелих пацијената [177], резултати овог истраживања, који указују да је клиренс меропенема већи у случају истовремене примене ванкомицина или колистиметата, су од посебног клиничког значаја. Постоје бројни начини на које конкомитантна терапија може утицати на фармакокинетику испитиваног лека: кроз индукцију или инхибицију ензима који метаболишу лекове, кроз индукцију или инхибицију транспортера лекова у ћелијским мембранама, интеракцијама са протеинима плазме, итд. Међутим, утицај на фармакокинетику конкомитантних лекова може бити само привидан, јер се може поклопити са другим патофизиолошким факторима који заиста утичу на фармакокинетику, попут *ARC*-а. Пацијенти којима је потребна комбинација резервних антибиотика, такође, по правилу имају тежу инфекцију, која је увек праћена појавом *ARC*-а на почетку. *ARC* је стање које може довести до субтерапијских концентрација антибиотика који се излучују преко бубрега [160], као што су меропенем, ванкомицин и колистиметат. Посебно је занимљив случај критично оболелог пацијента код кога су меропенем и ванкомицин коришћени за лечење пародонтитиса, ендодонтитиса и вишеструких апсцеса мозга изазваних *Streptococcus intermedius*-ом [178]. Због појачане елиминације, адекватне концентрације у плазми и антимикуробни ефекат су постигнути само при дозама меропенема и ванкомицина од 16 и 6 грама дневно [178]. Чињеница да су нивои серумског креатинина и брзина гломеруларне филтрације били унутар нормалних опсега сугерише да је повећана тубуларна секреција била узрок већег бубрежног клиренса антибиотика код овог пацијента [178]. Меропенем пролази и кроз гломеруларну филтрацију и тубуларну секрецију у бубрезима [37]. Стога, повећање било ког од ова два процеса може довести до појачане елиминације меропенема.

До сада је спроведено неколико студија чији је циљ био развој *popPK* модела меропенема код критично оболелих пацијената. *Boonpeng* и сарадници су спровели проспективну опсервациону студију у једном академском болничком центру у јужном Тајланду [140]. Они су у истраживање укључили пацијенте старости од 18 и више година, са потврђеном или суспектном бактеријском инфекцијом који су хоспитализовани у јединицама интензивне неге и који су примали меропенем [140]. За потребе истраживања венепункцијом су узимали 5 узорак крви од сваког пацијента ради мерења концентрације меропенема [140]. Мерење слободне фракције меропенема вршили су помоћу *HPLC* методе коју су претходно развили и валидирани *Özkan* и сарадници [109]. Вредности *MIC*-ова одређиване су код сваког пацијента код кога је идентификован микроорганизам који је узрочник бактеријске инфекције. *popPK* модел меропенема одређен је применом *NONMEM* софтверског пакета [140]. У оквиру *popPK* анализе аутори су испитали утицај следећих варијабли на фармакокинетичке параметре меропенема: старост, пол, телесна тежина, идеална телесна тежина (енгл. *ideal body weight*), прилагођена телесна тежина (енгл. *adjusted body weight*), чиста телесна тежина (енгл. *lean body weight*), индекс телесне масе, вредности *APACHE II* скорa, вредности *SOFA* скорa, вредности клиренса креатинина које су израчунате помоћу Кокрофт-

Голтове, односно Јелифове једначине, процењене вредности брзине гломеруларне филтрације, присуство акутног оштећења бубрега, примена механичке вентилације, вредности серумског албумина, баланс течности, присуство шока и присуство септичког шока [140]. Укупно је у истраживање укључено 52 пацијената код којих је измерено 256 концентрација слободне фракције меропенема [140]. Показало се да елиминацију меропенема најбоље описује модел са два компартмана [140]. Просечне вредности најважнијих фармакокинетичких параметара су биле следеће: 4,8 L/h за клиренс, 10,5 L/h за интеркомпартмански клиренс, 11,4 L за централни волумен дистрибуције и 14,6 L за периферни волумен дистрибуције [140]. Клиренс креатинина је била коваријата која је испољавала статистички значајан утицај на вредности клиренса меропенема, док су ниво серумског албумина и присуство шока били фактори који су значајно утицали на вредности периферног и централног волумена дистрибуције меропенема [140].

Lan и сарадници су такође спровели проспективну *popPK* студију на узроку од 48 пацијената са радиографски потврђеном дијагнозом плућне инфекције који су хоспитализовани у јединици интензивне неге у народној болници у провинцији Гуандонг у Кини [179]. Сви пацијенти су били старији од 18 година и сви пацијенти су примали меропенем дуже од 2 дана [179]. Укупна концентрација меропенема у плазми је мерена претходно валидираном комбинованом *HPLC-MS/MS* методом [179]. Двокомпартмански *popPK* модел меропенема контруисан је помоћу *NONMEM* софтвера [179]. Процењена вредност клиренса меропенема централног компартмана износила је 7,48 L/h, док је типична вредност клиренса меропенема периферног компартмана износила 15,8 L/h [179]. С друге стране, типична вредност волумена дистрибуције меропенема централног компартмана износила је 15,9 L, док је типична вредност волумена дистрибуције меропенема периферног компартмана била 14,8 L [179]. Брзина гломеруларне филтрације била је варијабла која је испољавала статистички значајан утицај на клиренс меропенема централног компартмана [179]. *popPK* анализа је показала да друге потенцијалне варијабле од интереса, као што су старост, телесна тежина, функција јетре, екстракорпорална мембранска оксигенација и континуирана терапија замене бубрежне функције нису испољавале статистички значајан утицај на вредности фармакокинетичких параметара меропенема у датој популацији пацијената [179].

Lee и сарадници су спровели проспективну студију у универзитетском здравственом центру на терцијарном нивоу у граду Анјанг у Јужној Кореји, са примарним циљем да конструишу *popPK* модел меропенема у популацији одраслих, критично оболелих пацијената са различитим степеном бубрежне функције [180]. Укупно је у истраживање укључено 26 одраслих пацијената, при чему је од сваког пацијента прикупљено по 5 узорака крви након прве дозе меропенема и по 2 узорка крви након 4 до 5 појединачних доза меропенема (односно у моменту достизања равнотежног стања) [180]. Концентрације меропенема у плазми одређиване су применом комбиноване *HPLC-MS* методе. *popPK* модел меропенема конструиран је применом *NONMEM* софтвера [180]. Варијабле чији потенцијални утицај на вредности фармакокинетичких параметара меропенема је тестиран биле су: старост, пол, висина, тежина, површина тела, ниво серумског албумина, концентрација протеина у серуму, ниво серумског креатинина, ниво серумског цистатина С, примарна дијагноза, коморбидитет, бубрежна функција, тип екстракорпоралне мембранске оксигенације и брзина протока екстракорпоралне мембранске оксигенације [180]. И у овој студији је показано да се фармакокинетика меропенема код критично оболелих пацијената најбоље може описати помоћу модела са два компартмана [181]. Такође, и овде је брзина гломеруларне филтрације идентификована као варијабла са статистички значајним утицајем на клиренс меропенема [180]. С друге стране, тип екстракорпоралне мембранске

оксигенације и брзина протока екстракорпоралне мембранске оксигенације нису испољавале статистички значајан утицај на вредности фармакокинетичких параметара централног и периферног компартмана у конструисаном *popPK* моделу меропенема [180].

Ulldemolins и сарадници су спровели мултицентричну, проспективну, отворену студију са циљем да испитају фармакокинетичку меропенема код критично оболелих пацијената са септичним шоком и континуираном терапијом замене бубрежне функције [181]. Студија је спроведена у Барселони и Тарагони у Шпанији у периоду од јануара 2012. до маја 2014. године [181]. Укупна концентрација меропенема у плазми је мерена помоћу валидиране аналитичке методе која је подразумевала комбинацију течне хроматографије и масене спектрометрије (*LC-MS/MS*). *NONMEM* софтверски пакет је коришћен за *popPK* анализу меропенема [181]. Укупно је у студију укључено 30 одраслих пацијената са септичним шоком и континуираном терапијом замене бубрежне функције који су примали меропенем, просечне старости од 66,5 година [181]. Најчешћи разлог за администрацију меропенема биле су интраабдоминалне инфекције (код 13 пацијената), респираторне инфекције (код 7 пацијената) и инфекције крви (код 4 пацијента), док је код по 2 пацијента дијагностикована инфекција уринарног тракта, односно није било могуће детерминисати примарни извор инфекције [181]. Најчешћи бактеријски узрочници инфекција били су *Escherichia coli* (21,4%) и *Pseudomonas aeruginosa* (14,3%) [181]. *popPK* модел меропенема конструисан је употребом података добијених од 24 пацијента од којих је укупно прикупљено 124 узорака крви [181]. Слично *popPK* анализи спроведеној у оквиру ове докторске дисертације, *Ulldemolins* и сарадници су конструисали *popPK* модел меропенема са једним одељком са циљем да одреде вредности најважнијих фармакокинетичких параметара меропенема у овој специфичној популацији пацијената [181]. Процењена вредност клиренса меропенема у овом моделу била је $3,68 + 0,22 \cdot (\text{резидуална диуреза}/100)$ L/h, док је типична вредност волумена дистрибуције меропенема у овој специфичној популацији износила $33 \cdot (\text{тежина}/73)^{2,07}$ L [181]. Свакако да један од најважнијих налаза ове студије указује да интензитет континуиране терапије замене бубрежне функције није био параметар који је испољавао статистички значајан утицај на клиренс меропенема [181].

У Европи је спроведена још једна студија у којој је конструисан *popPK* модел меропенема код критично оболелих пацијената у оквиру примарног циља који је подразумевао проучавање *PK/PD* профила овог карбапенемског антибиотика. У питању је проспективна, уницентрична, опсервациона кохортна студија која је спроведена у Левену у Белгији у периоду од октобра 2013. до октобра 2017. године [182]. За ову студију регрутовани су одрасли пацијенти примљени у јединицу интензивне неге са тешком сепсом или септичним шоком који су примали меропенем. У студију нису укључиване труднице, пацијенти са наредбом о нереманимацији, пацијенти са екстракорпоралном мембранском оксигенацијом, пацијенти са терапијом замене бубрежне функције, као ни пацијенти са смањеном бубрежном функцијом (брзина гломеруларне филтрације мања од $70 \text{ mL/min}/1,73 \text{ m}^2$) [182]. *popPK* анализа је спроведена употребом *NONMEM* софтвера [182]. Укупно је у истраживању учествовало 58 пацијената, од чега је 69% њих било мушког пола, док је медијана старости износила 63 године [182]. Аутори су креирали *popPK* модел меропенема са два одељка, при чему је процењена вредност клиренса меропенема у овој популацији пацијената износила 13,7 L/h [182]. С друге стране, процењена вредност волумена дистрибуције меропенема у централном компартману је била 25,5 L, а у периферном компартману 12,4 L [182]. Коначни *popPK* модел је показао да је само степен бубрежне функције била варијабла са

статистички значајним утицајем на фармакокинетику меропенема у овој популацији пацијената [182].

У Белгији је спроведена још једна *popPK* студија меропенема у популацији критично оболелих пацијената која је за циљ имала да испита колико су концентрације меропенема предвиђене једначинама *popPK* модела у складу са измереним концентрацијама меропенема код критично оболелих пацијената који су примали континуиране интравенске инфузије меропенема [147]. Студија је спроведена у Генту у периоду од почетка марта 2016. до краја маја 2017. године и обухватила је одрасле критично оболеле пацијенте хоспитализоване у јединици интензивне неге на хируршким одељењима [147]. У студију нису укључени критично оболели пацијенти млађи од 18 година, нити пацијенти који су примали екстракорпоралну мембранску оксигенацију, односно терапију замене бубрежне функције [147]. Као што је већ речено, меропенем је код ових пацијената примењиван у виду континуиране интравенске инфузије у дозама од по 1g/24h (код пацијената са клиренсом креатинина мањим од 15 mL/min), 2g/24h (код пацијената са клиренсом креатинина између 15 и 29 mL/min) или 3g/24h (код пацијената са клиренсом креатинина ≥ 30 mL/min) [147]. Узорци крви за анализу су од пацијената прикупљани најмање 6 сати од почетка инфузије меропенема. *popPK* анализа је спроведена употребом *Pmetrics* софтвера [147]. Аутори су конструисали модел са једним одељком, а процењена средња вредност клиренса меропенема у овој популацији пацијената је била $9,89 \pm 3,71$ L/h [147]. С друге стране, процењена вредност волумена дистрибуције меропенема је била 48,1 L [147]. Варијабла која је испољила статистички значајан утицај на тачност овог *popPK* модела клиренса меропенема била је клиренс креатинина који је израчунат према Кокрофт-Голтовој формули [147].

Onichimowski и сарадници су спровели проспективну, опсервациону кохортну студију са циљем да испитају фармакокинетику меропенема код критично оболелих пацијената хоспитализованих у јединицама интензивне неге у терцијарној здравственој установи у Олштину у Пољској [183]. У студију су укључили критично оболеле пацијенте старости од 18 до 80 година, хоспитализоване у јединицама интензивне неге, а који су због акутне бубрежне инсуфицијенције били на континуираној терапији замене бубрежне функције [183]. Такође, сви регрутовани пацијенти су примали меропенем у дози од 1g/8h [183]. Мерење концентрације меропенема у плазми вршено је помоћу *HPLC* методе која је претходно валидирана у складу са *FDA* и *EMA* смерницама за валидацију биоаналитичких метода. *popPK* анализа је спроведена употребом *NONMEM* софтвера [183]. Аутори су развили *popPK* модел са два одељка у којем је иницијално испитан утицај 17 различитих варијабли на фармакокинетику меропенема [183]. Укупно је у студији учествовало 19 пацијената, од чега је 14 било мушког, а 5 женског пола [183]. Прикупљено је укупно 256 узорака плазме у којима је мерена концентрација меропенема [183]. Типичне вредности волумена дистрибуције меропенема у централном и периферном одељку биле су 27,9 L, односно 33,7 L [183]. С друге стране, типична вредност клиренса креатинина меропенема оствареног континуираном терапијом замене бубрежне функције била је 15,1 L/h, док је типична вредност интер-компарменталног клиренса била 21,1 L/h [183]. Укључивање концентрације албумина у *popPK* модел довело је до смањења интериндивидуалне варијабилности за вредности волумена дистрибуције меропенема у централном одељку за скоро 30% [183].

Потребно је истаћи да се у научној литератури могу пронаћи и други *popPK* модели меропенема у популацији критично оболелих пацијената [139,184-192]. У свим овим *popPK* студијама коришћене су *HPLC* методе за одређивање концентрације меропенема у плазми. Неки од ових модела су имали један одељак [184,185], док је већина имала два одељка [186-192]. Такође, у већини ових студија клиренс креатинина

је била варијабла која је испољавала значајан утицај на вредности клиренса меропенема [184,186,189-192]. С друге стране, кључни предиктор вредности волумена дистрибуције меропенема била је телесна тежина пацијената [186,190,191].

Резултати трећег дела истраживања у оквиру ове докторске дисертације су показали да је меропенем био субдозираан код око 20% критично оболелих пацијената. *Angelini* и сарадници су у свом истраживању дошли до сличних резултата, будући да су они показали да су примењене дозе меропенема била недовољне код око 26% критично оболелих пацијената који су учествовали у њиховом истраживању [193]. Нешто нижа стопа субдозираних критично оболелих пацијената у овом истраживању може се приписати стандардној пракси која се спроводи у УКЦК, а која подразумева веће ангажовање клиничких фармаколога у прорачунавању доза антибиотика и других лекова код критично оболелих пацијената [194]. Познато је да учешће клиничких фармаколога у планирању лечења побољшава клиничке исходе у популацији критично оболелих пацијената [194].

Резултати трећег дела истраживања у оквиру ове докторске дисертације указују да је лечење инфекција узрокованих бактеријом *Acinetobacter baumannii* повезано са повећаним ризиком од појаве субдозираности меропенема код критично оболелих пацијената. Као највероватније објашњење овог феномена намећу се високе вредности *MIC*-а меропенема за инфекције узроковане овом бактеријом. Дуги низ година су управо карбапенемски антибиотици сматрани антибиотикима првог избора за лечење инфекција изазваних мултирезистентним сојевима ове бактерије [35]. Међутим, *Acinetobacter baumannii* је развила вишеструке механизме резистенције према карбапенемским антибиотикима [35,36]. Међу овим механизмима резистенције издвајају се метало- β -лактамазе и *OXA* бета-лактамазе [36]. Сојеви *Acinetobacter baumannii* резистентни на карбапенеме представљају неке од најтврдокорнијих нозокомијалних бактерија чије присуство је повезано са високом стопом морталитета [35,36]. Резултати два рандомизована клиничка истраживања су показали да меропенем, чак ни у комбинацији са колистином, више није ефикасан против ових карбапенем-резистентних сојева *Acinetobacter baumannii* [195,196]. Штавише, додавање ваборбактама — инхибитора β -лактамазе — меропенему не побољшава клиничке исходе код инфекција узрокованих *Acinetobacter baumannii*, јер произведене β -лактамазе или не хидролизују матични карбапенем или су недовољно инхибиране ваборбактамом [40].

За разлику од инфекција изазваних бактеријом *Acinetobacter baumannii*, меропенем остаје веома ефикасан против инфекција изазваних *Pseudomonas aeruginosa*-ом [38]. Ипак, примећује се да су све чешћи сојеви *Pseudomonas aeruginosa* који су резистентни према меропенему [38]. Међутим, за лечење ових резистентних сојева *Pseudomonas aeruginosa* меропенем се може користити, али искључиво у комбинацији са колистином или амикацином [39]. Према граничним вредностима *MIC*-а које наводи *EUCAST*, резистенти сојеви *Pseudomonas aeruginosa* показују изузетно високе вредности *MIC*-а према меропенему (>8 mg/L) [40]. Ово захтева примену високих доза меропенема како би се постигле оптималне вредности *PK/PD* индекса овог антибиотика. Сходно томе, за лечење септичког шока изазваног бактеријом *Pseudomonas aeruginosa* предложене дозе меропенема износе и до 12 грама дневно [197].

Сва три дела истраживања у оквиру ове докторске дисертације имају својих ограничења. Када је у питању *HPLC* метода која је развијена и валидирана за мерење концентрације меропенема у плазми, важно ограничење је то што ова метода омогућава одређивање искључиво меропенема у плазми. То свакако може да буде окарактерисано као ограничење, посебно ако се зна да је доступан велики број валидираних *HPLC* метода

које омогућавају мерење концентрације већег броја антибиотика истовремено. Друго ограничење овог дела истраживања односи се на недостатак података о стабилности меропенема у воденим растворима, што може да буде значајан проблем, посебно ако се зна да поједини препарати меропенема брзо губе активност (у року од једног сата од доспевања у интравенску инфузију) [198]. *popPK* анализа меропенема спроведена у овој докторској дисертацији такође има својих ограничења. Пре свега, показало се да конкомитантна терапија меропенема са ванкомицином или колистином утиче значајно на клиренс меропенема. Овакав закључак је тешко могуће генерализовати, с обзиром на мали број пацијената који су примали меропенем у комбинацији са ванкомицином или колистином у овом истраживању. Додатна ограничења ове *popPK* анализе су мали број мерења концентрације меропенема у плазми и ограничен број варијабли које су испитиване у моделу. Ова ограничења су узрокована акутном природом инфекција лечених меропенемом код критично оболелих пацијената, што је онемогућило прикупљање неких детаљнијих лабораторијских вредности или додатне дијагностике. Сва поменута ограничења смањила су статистичку снагу ове *popPK* анализе, стварајући могућност да су пропуштени неки фактори који су могли значајно утицати на фармакокинетику меропенема. Коначно, трећи део истраживања који се бавио проучавањем *PK/PD* профила меропенема такође има својих ограничења. Првенствено, у овај део истраживања је укључен мали број критично оболелих пацијената. Поред тога, с обзиром да нису мерене минималне концентрације меропенема у плазми није било могуће идентификовати евентуалне случајеве предозирања меропенемом.

6. Закључци

- *HPLC* метода за одређивање концентрације меропенема у плазми развијена за потребе овог истраживања задовољава критеријуме за употребу у клиничкој пракси у сврху оптимизације дозе меропенема у склопу терапијског мониторинга овог антибиотика, јер су резултати свих тестова за валидацију биоаналитичких метода били задовољавајући.
- Типичне вредности клиренса и волумена дистрибуције меропенема у испитиваној популацији су биле 3,80 L/h, односно 3,52 L.
- Варијабле које су испољиле статистички значајан утицај на клиренс меропенема у коначном *popPK* моделу меропенема биле су концентрација креатинина у серуму, број леукоцита, присуство хипертензије и конкомитантна употреба ванкомицина или колистина.
- Године старости пацијената нису значајно утицале на клиренс меропенема код критично оболелих пацијената.
- Дневна доза примењеног меропенема није значајно утицала на клиренс меропенема код критично оболелих пацијената.
- *PK/PD* анализа је показала да је меропенем адекватно дозиран код већине критично оболелих пацијената.
- Фактори који предиспонирају субдозирањем меропенема код критично оболелих пацијената су инфекције које узрокују *Acinetobacter spp.* и *Pseudomonas aeruginosa*.

7. Литература

1. Armstrong T, Fenn SJ, Hardie KR. JMM Profile: Carbapenems: a broad-spectrum antibiotic. *J Med Microbiol*. 2021;70(12):001462.
2. Cole M. 1980. 'β-Lactams' as β-lactamase inhibitors. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 289:207–223.
3. Rolinson GN. 1991. Evolution of β-lactamase inhibitors. *Rev Infect Dis*. 13(Suppl. 9):S727–S732.
4. Reading C, Farmer T. 1984. The inhibition of periplasmic β-lactamase in *Escherichia coli* by clavulanic acid and other β-lactamase inhibitors. McGraw-Hill, New York, NY.
5. Brown AG, Butterworth D, Cole M, Hanscomb G, Hood JD, Reading C, et al. Naturally-occurring beta-lactamase inhibitors with antibacterial activity. *J Antibiot (Tokyo)*. 1976;29(6):668-9.
6. Lisa MN, Hemmingsen L, Vila AJ. Catalytic role of the metal ion in the metallo-beta-lactamase GOB. *J Biol Chem*. 2010;285(7):4570-7.
7. Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, Bonomo RA. Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(11):4943-60.
8. Janković SM. Priručnik iz farmakologije i toksikologije. Fakultet medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu: Kragujevac, 2021. godine.
9. Kahan JS, Kahan FM, Goegelman R, Currie SA, Jackson M, Stapley EO, et al. Thienamycin, a new beta-lactam antibiotic. I. Discovery, taxonomy, isolation and physical properties. *J Antibiot (Tokyo)*. 1979;32(1):1-12.
10. Miyadera T, Sugimura Y, Hashimoto T, Tanaka T, Iino K, Shibata T, et al. Synthesis and in vitro activity of a new carbapenem, RS-533. *J Antibiot (Tokyo)*. 1983;36(8):1034-9.
11. Sunagawa M, Sasaki A. The structural aspects of carbapenem antibiotics. *Heterocycles*. 2001;54(1):497-528.
12. Ravizzola G, Pinsi G, Gonzales R, Colombrita D, Pirali F, Turano A. Antibacterial activity of the new carbapenem meropenem (SM-7338) against clinical isolates. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1989;8(12):1053-61.
13. Fukasawa M, Sumita Y, Harabe ET, Tanio T, Nouda H, Kohzuki T, et al. Stability of meropenem and effect of 1 beta-methyl substitution on its stability in the presence of renal dehydropeptidase I. *Antimicrob Agents Chemother*. 1992;36(7):1577-9.
14. Takeuchi Y, Takebayashi Y, Sunagawa M, Isobe Y, Hamazume Y, Uemura A, et al. The stability of a novel carbapenem antibiotic, meropenem (SM-7338), in a solid state formulation for injection. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 1993;41(11):1998-2002.
15. The Pharma Letter. Sumitomo: Meropen approval in Japan. Dostupno na: <https://www.thepharmaletter.com/sumitomo-meropen-approval-in-japan>. Poslednji put posećeno: 09.09.2025. godine.
16. LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012-. Meropenem. [Updated 2017 Jan 17]. Dostupno na:

- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547861/>. Poslednji put posećeno: 09.09.2025. godine.
17. Moellering RC Jr, Eliopoulos GM, Sentochnik DE. The carbapenems: new broad spectrum beta-lactam antibiotics. *J Antimicrob Chemother.* 1989;24 Suppl A:1-7.
 18. Goa KL, Noble S. Panipenem/betamipron. *Drugs.* 2003;63 (9):913-25.
 19. Zhanel GG, Johanson C, Embil JM, Noreddin A, Gin A, Vercaigne L, et al. Ertapenem: review of a new carbapenem. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2005;3(1):23-39.
 20. Livermore DM, Sefton AM, Scott GM. Properties and potential of ertapenem. *J Antimicrob Chemother.* 2003;52(3):331-44.
 21. Jones RN, Huynh HK, Biedenbach DJ. Activities of doripenem (S-4661) against drug-resistant clinical pathogens. *Agents Chemother.* 2004;48 (8):3136-40.
 22. DrugBank. Imipenem. Dostupno na: <https://go.drugbank.com/drugs/DB01598>. Poslednji put posećeno: 29.09.2025. godine.
 23. PubChem. Panipenem. Dostupno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Panipenem>. Poslednji put posećeno: 29.09.2025. godine.
 24. DrugBank. Meropenem. Dostupno na: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00760>. Poslednji put posećeno: 29.09.2025. godine.
 25. DrugBank. Ertapenem. Dostupno na: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00303>. Poslednji put posećeno: 29.09.2025. godine.
 26. DrugBank. Doripenem. Dostupno na: <https://go.drugbank.com/drugs/DB06211>. Poslednji put posećeno: 29.09.2025. godine.
 27. Martínez-Martínez L. Extended-spectrum beta-lactamases and the permeability barrier. *Clin Microbiol Infect.* 2008 Jan;14 Suppl 1:82-9.
 28. Meroueh SO, Bencze KZ, Hessek D, Lee M, Fisher JF, Stemmler TL, et al. Three-dimensional structure of the bacterial cell wall peptidoglycan. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(12):4404-9.
 29. van Dam V, Orlachs N, Breukink E. Specific labeling of peptidoglycan precursors as a tool for bacterial cell wall studies. *Chembiochem.* 2009;10(4):617-24.
 30. Hashizume T, Ishino F, Nakagawa J, Tamaki S, Matsuhashi M. Studies on the mechanism of action of imipenem (N-formimidoylthienamycin) in vitro: binding to the penicillin-binding proteins (PBPs) in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, and inhibition of enzyme activities due to the PBPs in *E. coli*. *J Antibiot (Tokyo).* 1984;37(4):394-400.
 31. Zhanel GG, Wiebe R, Dilay L, Thomson K, Rubinstein E, Hoban DJ, et al. Comparative review of the carbapenems. *Drugs.* 2007;67(7):1027-52.
 32. Zhanel GG, Simor AE, Vercaigne L, Mandell L; Canadian Carbapenem Discussion Group. Imipenem and meropenem: Comparison of in vitro activity, pharmacokinetics, clinical trials and adverse effects. *Can J Infect Dis.* 1998;9(4):215-28.
 33. Borgmann S, Wolz C, Gröbner S, Autenrieth IB, Heeg P, Goerke C, et al. Metallo-beta-lactamase expressing multi-resistant *Acinetobacter baumannii* transmitted in the operation area. *J Hosp Infect.* 2004;57(4):308-15.
 34. Maragakis LL, Perl TM. *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options. *Clin Infect Dis.* 2008;46(8):1254-63.

35. Feng Y, Chen X, Sun Y, Guo T, Wu F, Jin F, et al. Synergistic effect and mechanism of meropenem with ciprofloxacin against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Front Pharmacol*. 2025;16:1534155.
36. Choi SJ, Kim ES. Optimizing Treatment for Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Complex Infections: A Review of Current Evidence. *Infect Chemother*. 2024;56(2):171-187.
37. Agencija za lekove i medicinska sredstva Republike Srbije. Meropenem-Sažetak karakteristika leka. Dostupno na: https://www.alims.gov.rs/doc_file/lekovi/smpc/515-01-04339-17-001.pdf. Poslednji put posećeno: 30.09.2025. godine.
38. Farrington N, Dubey V, Johnson A, Horner I, Stevenson A, Unsworth J, et al. Molecular pharmacodynamics of meropenem for nosocomial pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *mBio*. 2024;15(2):e0316523.
39. Avent ML, McCarthy KL, Sime FB, Naicker S, Heffernan AJ, Wallis SC, et al. Evaluating Mono- and Combination Therapy of Meropenem and Amikacin against *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia in the Hollow-Fiber Infection Model. *Microbiol Spectr*. 2022;10(3):e0052522.
40. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Data. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Dostupno na: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_15.0_Breakpoint_Tables.pdf. Poslednji put posećeno: 30.09.2025. godine.
41. Food and Drug Administration. Label: MERREM IV (meropenem for injection). Dostupno na: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2016/050706s037lbl.pdf. Poslednji put posećeno: 30.09.2025. godine.
42. Dr.Oracle Medical Advisory Board & Editors. Is meropenem (Merrem) effective for treating a urinary tract infection (UTI)? Dostupno na: <https://www.droracle.ai/articles/21558/is-meropenem-merrem-effective-for-treating-a-urinary-tract-infection-uti>. Poslednji put posećeno: 30.09.2025. godine.
43. Kaye KS, Bhowmick T, Metallidis S, Bleasdale SC, Sagan OS, Stus V, et al. Effect of Meropenem-Vaborbactam vs Piperacillin-Tazobactam on Clinical Cure or Improvement and Microbial Eradication in Complicated Urinary Tract Infection: The TANGO I Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2018;319(8):788-799.
44. Dhillon S. Meropenem/Vaborbactam: A Review in Complicated Urinary Tract Infections. *Drugs*. 2018;78(12):1259-1270.
45. Shebl E, Gulick PG. Nosocomial Pneumonia. [Updated 2025 Aug 2]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535441/>. Poslednji put posećeno: 30.09.2025. godine.
46. Peng S, Ren H, Deng J, Zhao N, Li Y, Li M, et al. Genotypic and phenotypic characteristics of *Streptococcus pneumoniae* from community-acquired pneumonia patients and healthy asymptomatic participants in Sichuan province, China. *BMC Infect Dis*. 2021;21(1):1030.
47. Network C. B. D. R. (2022). CHINET bacterial resistance monitoring results in China. Dostupno na: <https://www.chinets.com/Document>. Poslednji put posećeno: 30.09.2025. godine.

48. Santos SS, Machado FR, Kiffer CR, Barone AA. Treatment of nosocomial pneumonia: an experience with meropenem. *Braz J Infect Dis.* 2001;5(3):124-9.
49. European Medicines Agency. Vaborem. Dostupno na: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/vaborem>. Poslednji put posećeno: 30.09.2025. godine.
50. Elshamy AA, Aboshanab KM. A review on bacterial resistance to carbapenems: epidemiology, detection and treatment options. *Future Sci OA.* 2020;6(3):FSO438.
51. Aurilio C, Sansone P, Barbarisi M, Pota V, Giaccari LG, Coppolino F, et al. Mechanisms of Action of Carbapenem Resistance. *Antibiotics (Basel).* 2022;11(3):421.
52. Mó I, da Silva GJ. Tackling Carbapenem Resistance and the Imperative for One Health Strategies-Insights from the Portuguese Perspective. *Antibiotics (Basel).* 2024;13(6):557.
53. Lima LM, Silva BNMD, Barbosa G, Barreiro EJ. β -lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective. *Eur J Med Chem.* 2020;208:112829.
54. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20(3):440-58.
55. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis.* 2011;17(10):1791-8.
56. Walther-Rasmussen J, Høiby N. Class A carbapenemases. *J Antimicrob Chemother.* 2007;60(3):470-82.
57. Girija SA, Jayaseelan VP, Arumugam P. Prevalence of VIM- and GIM-producing *Acinetobacter baumannii* from patients with severe urinary tract infection. *Acta Microbiol Immunol Hung.* 2018;65(4):539-550.
58. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev.* 2005;18(2):306-25.
59. Teixeira P, Tação M, Pureza L, Gonçalves J, Silva A, Cruz-Schneider MP, et al. Occurrence of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in a Portuguese river: bla_{NDM}, bla_{KPC} and bla_{GES} among the detected genes. *Environ Pollut.* 2020;260:113913.
60. Moquet O, Bouchiat C, Kinana A, Seck A, Arouna O, Bercion R, et al. Class D OXA-48 carbapenemase in multidrug-resistant enterobacteria, Senegal. *Emerg Infect Dis.* 2011;17(1):143-4.
61. Cuzon G, Naas T, Truong H, Villegas MV, Wisell KT, Carmeli Y, et al. Worldwide diversity of *Klebsiella pneumoniae* that produce beta-lactamase bla_{KPC-2} gene. *Emerg Infect Dis.* 2010;16(9):1349-56.
62. Cho JC, Zmarlicka MT, Shaer KM, Pardo J. Meropenem/Vaborbactam, the First Carbapenem/ β -Lactamase Inhibitor Combination. *Ann Pharmacother.* 2018;52(8):769-779. d
63. O'Donnell JN, Lodise TP. New Perspectives on Antimicrobial Agents: Imipenem-Relebactam. *Antimicrob Agents Chemother.* 2022;66(7):e0025622.
64. Electronic medicines compendium. Meronem IV 500mg & 1g, summary of product characteristics from the electronic medicines compendium [online]. Dostupno na: www.emc.medicines.org.uk/. Poslednji put posećeno: 01.10.2025. godine.

65. Baldwin CM, Lyseng-Williamson KA, Keam SJ. Meropenem: a review of its use in the treatment of serious bacterial infections. *Drugs*. 2008;68(6):803-38.
66. Moon YS, Chung KC, Gill MA. Pharmacokinetics of meropenem in animals, healthy volunteers, and patients. *Clin Infect Dis*. 1997;24 Suppl 2:S249-55.
67. Linden P. Safety profile of meropenem: an updated review of over 6,000 patients treated with meropenem. *Drug Saf*. 2007;30(8):657-68.
68. Salmon-Rousseau A, Martins C, Blot M, Buisson M, Mahy S, Chavanet P, et al. Comparative review of imipenem/cilastatin versus meropenem. *Med Mal Infect*. 2020;50(4):316-322.
69. Wanleenuwat P, Suntharampillai N, Iwanowski P. Antibiotic-induced epileptic seizures: mechanisms of action and clinical considerations. *Seizure*. 2020;81:167-174.
70. Sunagawa M, Matsumura H, Sumita Y, Nouda H. Structural features resulting in convulsive activity of carbapenem compounds: effect of C-2 side chain. *J Antibiot (Tokyo)*. 1995;48(5):408-16.
71. Agencija za lekove i medicinska sredstva Republike Srbije. Imipene-Sažetak karakteristika leka. Dostupno na: chrome-https://www.alims.gov.rs/doc_file/lekovi/smpc/515-01-00659-20-001.pdf. Poslednji put posećeno: 02.10.2025. godine.
72. Naeije G, Lorent S, Vincent JL, Legros B. Continuous epileptiform discharges in patients treated with cefepime or meropenem. *Arch Neurol*. 2011;68(10):1303-7.
73. Job ML, Dretler RH. Seizure activity with imipenem therapy: incidence and risk factors. *DICP*. 1990;24(5):467-9.
74. Schliamser SE, Cars O, Norrby SR. Neurotoxicity of beta-lactam antibiotics: predisposing factors and pathogenesis. *J Antimicrob Chemother*. 1991;27(4):405-25.
75. Lakhal K, Lortat-Jacob B, Neukirch C, Pajot O, Wolff M. Safe use of meropenem in a patient with a possible nonimmediate allergy to imipenem. *Pharmacotherapy*. 2007;27(9):1334-8.
76. Cachia J, Torpiano P, Pace D. Meropenem-induced thrombocytopenia: a paediatric case. *BMJ Case Rep*. 2021;14(9):e243443.
77. Anuhya TV, Acharya R, Madhyastha A S, Bhat R, Nayak V. Meropenem Induced Hypokalemia. *J Clin Diagn Res*. 2017;11(8):OD05-OD06.
78. Munoz-Gomez S, Gran A, Cunha BA. Meropenem delirium: a previously unrecognized neurologic side effect. *J Chemother*. 2015;27(2):120-1.
79. Mukherjee S. Meropenem-induced cholestasis in a pyelonephritis patient: A case report and evaluation using the updated RUCAM scale. *Journal of Clinical and Translational Research*. 2025;11(1):77–81.
80. Yu Q, Zhan SH, Lu HQ, Zhao J, Jin Y. A prospective study of drug-drug interaction between antiepileptic drugs and meropenem in patients in a tertiary hospital in China from January 2020 to March 2023. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2024;28(2):516-524.
81. Al-Quteimat O, Laila A. Valproate Interaction With Carbapenems: Review and Recommendations. *Hosp Pharm*. 2020;55(3):181-187.
82. Thomas C, Priano J, Smith TL. Meropenem as an antidote for intentional valproic acid overdose. *Am J Emerg Med*. 2020;38:690.e1-690.e2.

83. Cunningham D, Clark K, Lord K. Treatment of valproic acid overdose with meropenem in an epileptic patient. *Am J Emerg Med.* 2022;53:284.e1-284.e3.
84. Huang C-R, Lin C-H, Hsiao S-C, Chen NC, Tsai WC, Chen SD, et al. Drug interaction between valproic acid and carbapenems in patients with epileptic seizures. *Kaohsiung J Med Sci.* 2017;33:130-136.
85. Bax RP, Bastain W, Featherstone A, Wilkinson DM, Hutchison M, Haworth SJ. The pharmacokinetics of meropenem in volunteers. *J Antimicrob Chemother.* 1989;24 Suppl A:311-20.
86. Cunha BA, Hamid NS, Krol V, Eisenstein L. Safety of meropenem in patients reporting penicillin allergy: lack of allergic cross reactions. *J Chemother.* 2008;20(2):233-7.
87. Romano A, Viola M, Guéant-Rodriguez RM, Gaeta F, Valluzzi R, Guéant JL. Brief communication: tolerability of meropenem in patients with IgE-mediated hypersensitivity to penicillins. *Ann Intern Med.* 2007;146(4):266-9.
88. Marín L, Moya B, Peñalver MJ, Cabanillas B, Barranco R, García-Moguel I, et al. Meropenem allergy testing performed at the bedside of hospitalized patients labelled with a penicillin allergy. *Allergol Int.* 2023;72(4):588-593.
89. Wijnakker R, van Maaren MS, Bode LGM, Bulatovic M, Hendriks BJC, Loogman MCM, et al. The Dutch Working Party on Antibiotic Policy (SWAB) guideline for the approach to suspected antibiotic allergy. *Clin Microbiol Infect.* 2023;29(7):863-875.
90. Nguyen J, Madonia V, Bland CM, Stover KR, Eiland LS, Keating J, et al; as part of the Southeastern Research Group Endeavor (SERGE-45) research network. A review of antibiotic safety in pregnancy-2025 update. *Pharmacotherapy.* 2025;45(4):227-237.
91. Drugs and Lactation Database (LactMed®) [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Child Health and Human Development; 2006-. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK501922/>. Poslednji put posećeno: 03.10.2025. godine.
92. Pankey GA, Sabath LD. Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal mechanisms of action in the treatment of gram-positive bacterial infections. *Clin Infect Dis.* 2004;38: 864–70.
93. Prasetyoputri A, Jarrad AM, Cooper MA, Blaskovich MAT. The Eagle Effect and Antibiotic-Induced Persistence: Two Sides of the Same Coin? *Trends Microbiol.* 2019;27(4):339-354.
94. Ishak A, Mazonakis N, Spernovasilis N, Akinosoglou K, Tsioutis C. Bactericidal versus bacteriostatic antibacterials: clinical significance, differences and synergistic potential in clinical practice. *J Antimicrob Chemother.* 2025;80(1):1-17.
95. Craig WA. Basic pharmacodynamics of antimicrobials with clinical applications to the use of beta-lactams, glycopeptides, and linezolid. *Infect Dis Clin North Am.* 2003;17:479–502.
96. Šurbatović M, Perić A, Rakić G, Jevđić J. Antibiotic treatment of critically ill patients with sepsis: from pk/pd to novel drugs. *Galenica Medical Journal.* 2023; 2(5):14-22.
97. Levison ME, Levison JH. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antibacterial agents. *Infect Dis Clin North Am* 2009;23:791–815.
98. Roberts JA, Abdul-Aziz MH, Lipman J, Mouton JW, Vinks AA, Felton TW, et al; International Society of Anti-Infective Pharmacology and the Pharmacokinetics and

- Pharmacodynamics Study Group of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Individualised antibiotic dosing for patients who are critically ill: challenges and potential solutions. *Lancet Infect Dis.* 2014;14(6):498-509.
99. Roberts JA, Uildemolins M, Roberts MS, McWhinney B, Ungerer J, Paterson DL, et al. Therapeutic drug monitoring of beta-lactams in critically ill patients: proof of concept. *Int J Antimicrob Agents.* 2010;36(4):332-9.
100. Delattre IK, Taccone FS, Jacobs F, Hites M, Dugernier T, Spapen H, et al. Optimizing β -lactams treatment in critically-ill patients using pharmacokinetics/pharmacodynamics targets: are first conventional doses effective? *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2017;15(7):677-688.
101. Abdul-Aziz MH, Alffenaar JC, Bassetti M, Bracht H, Dimopoulos G, Marriott D, et al; Infection Section of European Society of Intensive Care Medicine (ESICM); Pharmacokinetic/pharmacodynamic and Critically Ill Patient Study Groups of European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID); Infectious Diseases Group of International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology (IATDMCT); Infections in the ICU and Sepsis Working Group of International Society of Antimicrobial Chemotherapy (ISAC). Antimicrobial therapeutic drug monitoring in critically ill adult patients: a Position Paper. *Intensive Care Med.* 2020;46(6):1127-1153.
102. Milovanović JR, Janković SM. Our experience in therapeutic drug monitoring. *Med čas.* 2006;1-2:19-23.
103. Rančić A. Methods for Determination of Meropenem Concentration in Biological Samples. *Experimental and Applied Biomedical Research*, vol. 0, no. 0, Sciendo, 2017, <https://doi.org/10.2478/sjecr-2022-0005>.
104. Roth T, Fiedler S, Mihai S, Parsch H. Determination of meropenem levels in human serum by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *Biomed Chromatogr.* 2017;31(5).
105. al-Meshal MA, Ramadan MA, Lotfi KM, Shibl AM. Determination of meropenem in plasma by high-performance liquid chromatography and a microbiological method. *J Clin Pharm Ther.* 1995;20(3):159-63.
106. Elkhaïli H, Niedergang S, Pompei D, Linger L, Leveque D, Jehl F. High-performance liquid chromatographic assay for meropenem in serum. *J Chromatogr B Biomed Appl.* 1996;686(1):19-26.
107. Bompadre S, Ferrante L, De Martinis M, Leone L. Determination of meropenem in serum by high-performance liquid chromatography with column switching. *Journal of Chromatography A.* 1998;812(1-2):249-253.
108. Farin D, Kitzes-Cohen R, Piva G, Gozlan I. High performance liquid chromatography method for the determination of meropenem in human plasma. *Chromatographia.* 1999;49:253-255.
109. Özkan Y, Küçükgülzel İ, Özkan SA, Aboul-Enein, HY. A rapid, sensitive high performance liquid chromatographic method for the determination of meropenem in pharmaceutical dosage form, human serum and urine. *Biomedical Chromatography.* 2001;15(4):263-266.
110. Ikeda K, Ikawa K, Morikawa N, Miki M, Nishimura S, Kobayashi M. High-performance liquid chromatography with ultraviolet detection for real-time therapeutic drug monitoring of meropenem in plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2007;856(1-2):371-5.
111. Bias M, Frey OR, Köberer A. HPLC-Methode zur quantitativen Bestimmung von Meropenem im Serum. *Krankenhauspharmazie.* 2010;31:482-485.

112. Rigo-Bonnin R, Juvany-Roig R, Leiva-Badosa E, Sabater-Riera J, Pérez-Fernández XL, Cárdenas-Campos P, et al. Measurement of meropenem concentration in different human biological fluids by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem.* 2014;406(20):4997-5007.
113. Ferrari D, Ripa M, Premaschi S, Banfi G, Castagna A, Locatelli M. LC-MS/MS method for simultaneous determination of linezolid, meropenem, piperacillin and teicoplanin in human plasma samples. *J Pharm Biomed Anal.* 2019;169:11-18.
114. Cairoli S, Simeoli R, Tarchi M, Dionisi M, Vitale A, Perioli L, et al. A new HPLC-DAD method for contemporary quantification of 10 antibiotics for therapeutic drug monitoring of critically ill pediatric patients. *Biomed Chromatogr.* 2020;34(10):e4880.
115. El-Najjar N, Hösl J, Holzmann T, Jantsch J, Gessner A. UPLC-MS/MS method for therapeutic drug monitoring of 10 antibiotics used in intensive care units. *Drug Test Anal.* 2018;10(3):584-591.
116. Decosterd LA, Mercier T, Ternon B, Cruchon S, Guignard N, Lahrichi S, et al. Validation and clinical application of a multiplex high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry assay for the monitoring of plasma concentrations of 12 antibiotics in patients with severe bacterial infections. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2020;1157:122160.
117. Verdier MC, Tribut O, Tattevin P, Le Tulzo Y, Michelet C, Bentué-Ferrer D. Simultaneous determination of 12 beta-lactam antibiotics in human plasma by high-performance liquid chromatography with UV detection: application to therapeutic drug monitoring. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(10):4873-9.
118. Colin P, De Bock L, T'jollyn H, Boussery K, Van Bocxlaer J. Development and validation of a fast and uniform approach to quantify β -lactam antibiotics in human plasma by solid phase extraction-liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Talanta.* 2013;103:285-93.
119. Lefeuvre S, Bois-Maublanc J, Hocqueloux L, Bret L, Francia T, Eleout-Da Violante C, et al. A simple ultra high-performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry assay for the simultaneous quantification of 15 antibiotics in plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2017;1065-1066:50-58.
120. Cazorla-Reyes R, Romero-González R, Frenich AG, Rodríguez Maresca MA, Martínez Vidal JL. Simultaneous analysis of antibiotics in biological samples by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal.* 2014;89:203-12.
121. 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. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2010;878(22):2039-43.
122. Delattre IK, Musuamba FT, Verbeeck RK, Dugernier T, Spapen H, Laterre PF, et al. Empirical models for dosage optimization of four beta-lactams in critically ill septic patients based on therapeutic drug monitoring of amikacin. *Clin Biochem.* 2010;43(6):589-98.
123. Carlier M, Stove V, Roberts JA, Van de Velde E, De Waele JJ, Verstraete AG. Quantification of seven β -lactam antibiotics and two β -lactamase inhibitors in human plasma using a validated UPLC-MS/MS method. *Int J Antimicrob Agents.* 2012;40(5):416-22.
124. Rehm S, Rentsch KM. HILIC LC-MS/MS method for the quantification of cefepime, imipenem and meropenem. *J Pharm Biomed Anal.* 2020;186:113289.
125. Ehrlich M, Daschner FD, Kümmerer K. Rapid antibiotic drug monitoring: meropenem and ceftazidime determination in serum and bronchial secretions by high-

- performance liquid chromatography-integrated sample preparation. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 2001;751(2):357-63.
126. Roger C. Understanding antimicrobial pharmacokinetics in critically ill patients to optimize antimicrobial therapy: A narrative review. *J Intensive Med.* 2024;4(3):287-298.
127. Roberts DJ, Hall RI. Drug absorption, distribution, metabolism and excretion considerations in critically ill adults. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2013;9(9):1067-84.
128. Mouly S, Meune C, Bergmann JF. Mini-series: I. Basic science. Uncertainty and inaccuracy of predicting CYP-mediated in vivo drug interactions in the ICU from in vitro models: focus on CYP3A4. *Intensive Care Med.* 2009;35(3):417-29.
129. 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. *Crit Care Med.* 2001;29(2):385-91.
130. Sinnollareddy MG, Roberts MS, Lipman J, Lassig-Smith M, Starr T, Robertson T, et al. In Vivo Microdialysis To Determine Subcutaneous Interstitial Fluid Penetration and Pharmacokinetics of Fluconazole in Intensive Care Unit Patients with Sepsis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;60(2):827-32.
131. Mouton JW, Theuretzbacher U, Craig WA, Tulkens PM, Derendorf H, Cars O. Tissue concentrations: do we ever learn? *J Antimicrob Chemother.* 2008;61(2):235-7.
132. Tegeder I, Schmidtko A, Bräutigam L, Kirschbaum A, Geisslinger G, Lötsch J. Tissue distribution of imipenem in critically ill patients. *Clin Pharmacol Ther.* 2002;71(5):325-33.
133. SAFE Study Investigators; Finfer S, Bellomo R, McEvoy S, Lo SK, Myburgh J, Neal B, Norton R. Effect of baseline serum albumin concentration on outcome of resuscitation with albumin or saline in patients in intensive care units: analysis of data from the saline versus albumin fluid evaluation (SAFE) study. *BMJ.* 2006;333(7577):1044.
134. Udy AA, Roberts JA, Lipman J. Implications of augmented renal clearance in critically ill patients. *Nat Rev Nephrol.* 2011;7(9):539-43.
135. Udy AA, Varghese JM, Altukroni M, Briscoe S, McWhinney BC, Ungerer JP, et al. Subtherapeutic initial β -lactam concentrations in select critically ill patients: association between augmented renal clearance and low trough drug concentrations. *Chest.* 2012;142(1):30-39.
136. Binder L, Schwörer H, Hoppe S, Streit F, Neumann S, Beckmann A, et al. Pharmacokinetics of meropenem in critically ill patients with severe infections. *Ther Drug Monit.* 2013;35(1):63-70.
137. Mattioli F, Fucile C, Del Bono V, Marini V, Parisini A, Molin A, et al. Population pharmacokinetics and probability of target attainment of meropenem in critically ill patients. *Eur J Clin Pharmacol.* 2016;72(7):839-48.
138. Li C, Kuti JL, Nightingale CH, Nicolau DP. Population pharmacokinetic analysis and dosing regimen optimization of meropenem in adult patients. *J Clin Pharmacol.* 2006;46(10):1171-8.
139. Boonpeng A, Jaruratanasirikul S, Jullangkoon M, Samaeng M, Wattanavijitkul T, Bhurayanontachai R, et al. Population Pharmacokinetics/Pharmacodynamics and Clinical Outcomes of Meropenem in Critically Ill Patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2022;66(11):e0084522.
140. Rančić A, Folić M, Petrović N, Ilić Todorović V, Stanojević M, Milosavljević M, et al. Validation of novel high-performance liquid chromatography method for meropenem quantification in plasma. *Acta Pol Pharm.* 2024;81(1):71-82.

141. European Medicines Agency. Guideline on Bioanalytical Method Validation. London, United Kingdom: European Medicines Agency; 2011. Доступно на: <https://www.ema.europa.eu/en/bioanalytical-method-validation-scientific-guideline>. Последњи пут посећено: 08.10.2025. године.
142. Wojnowski W, Tobiszewski M, Pena-Pereira F, Psillakis E. AGREEprep – Analytical greenness metric for sample preparation. *TrAC Trends Anal. Chem.* 2022;149:116553.
143. Manousi N, Wojnowski W, Plotka- Wasyłka J, Samanidou V. Blue applicability grade index (BAGI) and software: a new tool for the evaluation of method practicality. *Green Chem.* 2023;25:7598–7604.
144. Pena-Pereira F, Tobiszewski M, Wojnowski W, Psillakis E. A Corrigendum to: A Tutorial on AGREEprep an Analytical Greenness Metric for Sample Preparation. *Adv. Sample Preparation.* 2022;4:100045.
145. Beal SL, Sheiner LB. NONMEM users guides. NONMEM Project Group. San Francisco: University of California; 1998.
146. Dhaese SAM, Farkas A, Colin P, Lipman J, Stove V, Verstraete AG, et al. Population pharmacokinetics and evaluation of the predictive performance of armacokinetic models in critically ill patients receiving continuous infusion meropenem: a comparison of eight pharmacokinetic models. *J Antimicrob Chemother.* 2019;74(2):432-441.
147. Contejean A, Jaffrelot L, Benaboud S, Tréluyer JM, Grignano E, Willems L, et al. A meropenem pharmacokinetics model in patients with haematological malignancies. *J Antimicrob Chemother.* 2020;75(10):2960-2968.
148. Chan E, Lee HS, Hue SS. Population pharmacokinetics of carbamazepine in Singapore epileptic patients. *Br J Clin Pharmacol.* 2001 ;51(6):567-76.
149. Yukawa E. Population-based investigations of drug relative clearance using nonlinear mixed-effect modelling from information generated during the routine clinical care of patients. *J Clin Pharm Ther* 1999; 24:103–13.
150. Mer M, Snyman JR, van Rensburg CE, van Tonder JJ, Laurens I. A prospective, observational study comparing the PK/PD relationships of generic Meropenem (Mercide®) to the innovator brand in critically ill patients. *Clin Pharmacol* 2016; 8:191–198.
151. Janković S. Dizajn istraživanja. 1st ed. Kragujevac, Serbia: Medrat; 2016.
152. Casals G, Hernández C, Hidalgo S, Morales B, López-Púa Y, Castro P, et al. Development and validation of a UHPLC diode array detector method for meropenem quantification in human plasma. *Clin Biochem.* 2014;47(16-17):223-7.
153. Roberts JA, Ulldemolins M, Roberts MS, McWhinney B, Ungerer J, Paterson DL, et al. Therapeutic drug monitoring of beta-lactams in critically ill patients: proof of concept. *Int J Antimicrob Agents.* 2010;36(4):332-9.
154. Mehrotra R, De Gaudio R, Palazzo M. Antibiotic pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations in critical illness. *Intensive Care Med.* 2004; 30(12): 2145-56.
155. Belzberg H, Zhu J, Cornwell EE 3rd, Murray JA, Sava J, Salim A, et al. Imipenem levels are not predictable in the critically ill patient. *J Trauma.* 2004;56(1):111-7.
156. Lemaire-Hurtel AS, Gras-Champel V, Hary L, Masmoudi K, Massy Z, Andrejak M. Les recommandations d’adaptation posologique à la fonction rénale ne sont pas toujours suffisantes pour éviter la neurotoxicité des bêtalactamines [Recommended dosage adaptation based on renal function is not always sufficient to avoid betalactam antibiotics side effects]. *Nephrol Ther.* 2009;5(2):144-8.

157. Klein EY, Van Boeckel TP, Martinez EM, Pant S, Gandra S, Levin SA, et al. Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018; 115(15):E3463-E3470.
158. Perić A, Dragojević-Simić V, Milenković B, Vezmar Kovačević S, Šuljagić V. Antibiotic consumption and healthcare-associated infections in a tertiary hospital in Belgrade, Serbia from 2011 to 2016. *J Infect Dev Ctries*. 2018;12(10):855-863.
159. Cook AM, Hatton-Kolpek J. Augmented Renal Clearance. *Pharmacotherapy*. 2019;39(3):346-354.
160. Sime FB, Udy AA, Roberts JA. Augmented renal clearance in critically ill patients: etiology, definition and implications for beta-lactam dose optimization. *Curr Opin Pharmacol*. 2015;24:1-6.
161. Bilbao-Meseguer I, Rodríguez-Gascón A, Barrasa H, Isla A, Solinís MÁ. Augmented renal clearance in critically ill patients: a systematic review. *Clin Pharmacokinet*. 2018;57(9):1107-21.
162. Mahmoud SH, Shen C. Augmented renal clearance in critical illness: an important consideration in drug dosing. *Pharmaceutics*. 2017;9(3):36.
163. Udy AA, Baptista JP, Lim NL, Joynt GM, Jarrett P, Wockner L, et al. Augmented renal clearance in the ICU: results of a multicenter observational study of renal function in critically ill patients with normal plasma creatinine concentrations*. *Crit Care Med*. 2014;42(3):520-7.
164. Gounden V, Bhatt H, Jialal I. Renal function tests. [Updated 2022 Jul 18]. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan. [cited 2023 Feb 23]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507821/>. Последњи пут посећено: 13.10.2025. године.
165. Seller-Pérez G, Herrera-Gutiérrez ME, Maynar-Moliner J, Sánchez- Izquierdo-Riera JA, Marinho A, do Pico JL. Estimating kidney function in the critically ill patients. *Crit Care Res Pract*. 2013;2013:721810.
166. Wongpraphairot S, Thongrueang A, Bhurayanontachai R. Glomerular filtration rate correlation and agreement between common predictive equations and standard 24-hour urinary creatinine clearance in medical critically ill patients. *PeerJ*. 2022;10:e13556.
167. Baptista JP, Neves M, Rodrigues L, Teixeira L, Pinho J, Pimentel J. Accuracy of the estimation of glomerular filtration rate within a population of critically ill patients. *J Nephrol*. 2014;27(4):403-10.
168. Udy AA, Roberts JA, Shorr AF, Boots RJ, Lipman J. Augmented renal clearance in septic and traumatized patients with normal plasma creatinine concentrations: identifying at-risk patients. *Crit Care*. 2013;17(1):R35.
169. Udy AA, Morton FJ, Nguyen-Pham S, Jarrett P, Lassig-Smith M, Stuart J, et al. A comparison of CKD-EPI estimated glomerular filtration rate and measured creatinine clearance in recently admitted critically ill patients with normal plasma creatinine concentrations. *BMC Nephrol*. 2013;14:250.
170. Roberts JA, Lipman J. Pharmacokinetic issues for antibiotics in the critically ill patient. *Crit Care Med*. 2009;37(3):840-51.
171. Xiao Q, Zhang H, Wu X, Qu J, Qin L, Wang C. Augmented renal clearance in severe infections-an important consideration in vancomycin dosing: a narrative review. *Front Pharmacol*. 2022;13:835557.
172. Baptista JP, Sousa E, Martins PJ, Pimentel JM. Augmented renal clearance in septic patients and implications for vancomycin optimisation. *Int J Antimicrob Agents*. 2012;39(5):420-3.

173. Lemaitre F, Blanchet B, Latournerie M, Antignac M, Houssel-Debry P, Verdier MC, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in liver transplant recipients: inside the white blood cells. *Clin Biochem.* 2015;48(6):406-11.
174. Tigner A, Ibrahim SA, Murray I. Histology, White BloodCell. [Updated 2022 Nov 14]. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan. [cited 2023 Feb 23]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563148/>. Poslednji put posećeno: 13.10.2025. godine.
175. Ruilope LM, Campo C, Rodicio JL. Relationship between blood pressure and renal function. *J Hypertens Suppl.* 1994;12(8):S55–9.
176. Vincent JL. Fluid management in the critically ill. *Kidney Int.* 2019;96(1):52–7.
177. Ahmed A, Azim A, Gurjar M, Baronia AK. Current concepts in combination antibiotic therapy for critically ill patients. *Indian J Crit Care Med.* 2014;18(5):310–4.
178. Fransson M, Helldén A, Östhalm Balkhed Å, Nezirević Dernroth D, Ha M, Haglund M, et al. Case report: subtherapeutic vancomycin and meropenem concentrations due to augmented renal clearance in a patient with intracranial infection caused by streptococcus intermedius. *Front Pharmacol.* 2021;12:728075.
179. Lan J, Wu Z, Wang X, Wang Y, Yao F, Zhao B, et al. Population Pharmacokinetics Analysis and Dosing Simulations Of Meropenem in Critically Ill Patients with Pulmonary Infection. *J Pharm Sci.* 2022;111(6):1833-1842.
180. Lee DH, Kim HS, Park S, Kim HI, Lee SH, Kim YK. Population Pharmacokinetics of Meropenem in Critically Ill Korean Patients and Effects of Extracorporeal Membrane Oxygenation. *Pharmaceutics.* 2021;13(11):1861.
181. Ulldemolins M, Soy D, Llauro-Serra M, Vaquer S, Castro P, Rodríguez AH, et al. Meropenem population pharmacokinetics in critically ill patients with septic shock and continuous renal replacement therapy: influence of residual diuresis on dose requirements. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(9):5520-8.
182. Gijzen M, Elkayal O, Annaert P, Van Daele R, Meersseman P, Debaveye Y, et al. Meropenem Target Attainment and Population Pharmacokinetics in Critically Ill Septic Patients with Preserved or Increased Renal Function. *Infect Drug Resist.* 2022;15:53-62.
183. Onichimowski D, Będzowska A, Ziółkowski H, Jaroszewski J, Borys M, Czuczwar M, et al. Population pharmacokinetics of standard-dose meropenem in critically ill patients on continuous renal replacement therapy: a prospective observational trial. *Pharmacol Rep.* 2020;72(3):719-729.
184. Jaruratanasirikul S, Thengyai S, Wongpoowarak W, Wattanavijitkul T, Tangkitwanitjaroen K, Sukarnjanaset W, et al. Population pharmacokinetics and Monte Carlo dosing simulations of meropenem during the early phase of severe sepsis and septic shock in critically ill patients in intensive care units. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(6):2995-3001.
185. Muro T, Sasaki T, Hosaka N, Umeda Y, Takemoto S, Yamamoto H, et al. Population pharmacokinetic analysis of meropenem in Japanese adult patients. *J Clin Pharm Ther.* 2011;36(2):230-6.
186. Ehmann L, Zoller M, Minichmayr IK, Scharf C, Huisinga W, Zander J, et al. Development of a dosing algorithm for meropenem in critically ill patients based on a population pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis. *Int J Antimicrob Agents.* 2019;54(3):309-317.
187. Grensemann J, Busse D, König C, Roedl K, Jäger W, Jarczak D, et al. Acute-on-chronic liver failure alters meropenem pharmacokinetics in critically ill patients with continuous hemodialysis: an observational study. *Ann Intensive Care.* 2020;10(1):48.

188. Padullés Zamora A, Juvany Roig R, Leiva Badosa E, Sabater Riera J, Pérez Fernández XL, Cárdenas Campos P, et al. Optimized meropenem dosage regimens using a pharmacokinetic/pharmacodynamic population approach in patients undergoing continuous venovenous haemodiafiltration with high-adsorbent membrane. *J Antimicrob Chemother.* 2019;74(10):2979-2983.
189. Sjövall F, Alobaid AS, Wallis SC, Perner A, Lipman J, Roberts JA. Maximally effective dosing regimens of meropenem in patients with septic shock. *J Antimicrob Chemother.* 2018;73(1):191-198.
190. Crandon JL, Ariano RE, Zelenitsky SA, Nicasio AM, Kuti JL, Nicolau DP. Optimization of meropenem dosage in the critically ill population based on renal function. *Intensive Care Med.* 2011;37(4):632-8.
191. Burger R, Guidi M, Calpini V, Lamoth F, Decosterd L, Robatel C, et al. Effect of renal clearance and continuous renal replacement therapy on appropriateness of recommended meropenem dosing regimens in critically ill patients with susceptible life-threatening infections. *J Antimicrob Chemother.* 2018;73(12):3413-3422.
192. Roberts JA, Kirkpatrick CM, Roberts MS, Robertson TA, Dalley AJ, Lipman J. Meropenem dosing in critically ill patients with sepsis and without renal dysfunction: intermittent bolus versus continuous administration? Monte Carlo dosing simulations and subcutaneous tissue distribution. *J Antimicrob Chemother.* 2009;64(1):142-50.
193. Angelini J, Giuliano S, Flammini S, Pagotto A, Lo Re F, Tascini C, et al. Meropenem PK/PD Variability and Renal Function: "We Go Together". *Pharmaceutics.* 2023;15(9):2238.
194. Folic MM, Jankovic SM. Factors affecting outcome in hospitalized patients treated according to recommendations from clinical pharmacologists. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2023;61(8):339-345.
195. Paul M, Daikos GL, Durante-Mangoni E, Yahav D, Carmeli Y, Benattar YD, et al. Colistin alone versus colistin plus meropenem for treatment of severe infections caused by carbapenem-resistant Gram-negative bacteria: an open-label, randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis.* 2018;18(4):391-400.
196. Kaye KS, Marchaim D, Thamlikitkul V, Carmeli Y, Chiu CH, Daikos G, et al. Colistin Monotherapy versus Combination Therapy for Carbapenem-Resistant Organisms. *NEJM Evid.* 2023;2(1):10.1056/evidoa2200131.
197. Taccone FS, Cotton F, Roisin S, Vincent JL, Jacobs F. Optimal meropenem concentrations to treat multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* septic shock. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(4):2129-31.
198. Cielecka-Piontek J, Szymanowska-Powałowska D, Paczkowska M, Łysakowski P, Zalewski P, Garbacki P. Stability, compatibility and microbiological activity studies of meropenem-clavulanate potassium. *J Antibiot (Tokyo).* 2015;68(1):35-9.

Биографија

Александар Ранчић рођен је 01. јануара 1982. године у Пироту. Основну школу и гимназију (Природно – математички смер) завршио је у Пироту. На Природно – математичком факултету Универзитета у Крагујевцу на одсеку Хемија дипломирао је 2010. године, са општим успехом 8,70 (оценом дипломског рада 10) чиме је стекао звање дипломирани хемичар - мастер.

У Институту за јавно здравље Крагујевац, у периоду 2012 – 2013. године обавља волонтерски рад на Одељењу санитарне хемије и стручно се усавршава за физичко – хемијска испитивања применом модерних инструменталних техника које захтевају рад на савременим апаратима (GC/MS, LC/MS/MS, HPLC, IC, FTIR, ICP-OES и TOC).

Од 2015. године, је запослен у Институту за јавно здравље Крагујевац на Одељењу Санитарне хемије у оквиру Центра за хигијену и хуману екологију, као здравствени сарадник-аналитичар у екотоксиколошкој лабораторији. Стручни испит за здравствене сараднике је положио 2015. године. Обавља послове хемијских испитивања за проверу исправности и безбедности ваздуха, вода (воде за пиће, сирове, површинске и отпадне воде), земљишта, хране, дијететских производа и предмета опште употребе. Ради на усавршавању постојећих и увођењу нових аналитичких метода. У септембру 2025. године је положио специјалистички испит из здравствене специјализације Токсиколошка хемија, чиме је стекао звање специјалисте токсиколошке хемије.

Студент је докторских академских студија на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, на изборном подручју Клиничка и експериментална фармакологија. Бави се структурним и биолошким испитивањем фенолних молекула, изолованих из неких врста лишајева, одређивањем садржаја метала и биолошким испитивањима гљива, фармакокинетским и фармакодинамским испитивањима лекова. Говори енглески и руски језик.

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Изјављујем да докторска дисертација под насловом:

Анализа фармакокинетичких и фармакодинамиких
параметара лековима код кривично оболелих осуђеника

представља оригинално ауторско дело настало као резултат сопственог истраживачког рада.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам једини аутор наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији нисам извршио/ла повреду ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,

у Крагујевцу, 17.10.2025 године,



потпис аутора

**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Изјављујем да су штампана и електронска верзија докторске дисертације под насловом:

Анализа фармакокинетичких и фармакодинамичких
параметара меропенема код криволичних оболених бакујеваца

истоветне.

у Крајевцу, 17.10.2025 године,



потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕЈа, Александар Ранчић, дозвољавам не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

Анализа фармакокинетичких и фармакодинамичких параметара меропенема код критично оболелих пацијената

и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем преузимања.

Овом Изјавом такође

 дозвољавам не дозвољавам¹

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу, 17.10.2025. године,



потпис аутора

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org.rs/>