



DIPLOMARBEIT / DIPLOMA THESIS

Titel der Diplomarbeit / Title of the Diploma Thesis

„Target site Konzentration von Doripenem in
subkutanem und muskulärem Gewebe von
Intensivpatienten“

verfasst von / submitted by

Petra Köfinger

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the degree of
Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien / Vienna, 2017

Studienkennzahl lt. Studienblatt /
degree programme code as it appears on
the student record sheet:

A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt /
degree programme as it appears on
the student record sheet:

Pharmazie

Betreut von / Supervisor:

Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Walter Jäger

Mitbetreut von / Co-Supervisor:

DANKSAGUNG

Die vorliegende Diplomarbeit entstand am Department für klinische Pharmazie und Diagnostik an der Fakultät für Lebenswissenschaft der Universität Wien.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Univ. Prof. Mag. Dr. Walter Jäger, der mir die Durchführung dieser Arbeit am Department ermöglichte und mir bei allen Fragen und Problemen jederzeit hilfreich zur Seite stand.

Bei Frau Mag. Dr. Alexandra Maier-Salamon möchte ich mich ganz besonders bedanken. Nicht nur für die Einführung in die praktische Arbeit, sondern auch für die geduldige Beantwortung all meiner Fragen bezüglich des Verfassens dieser Arbeit.

Ein weiterer Dank gilt natürlich meiner Familie, die mich während meines Studiums sowohl finanziell als auch moralisch unterstützt hat.

Zum Abschluss möchte ich mich auch bei allen Studienkollegen und Freunden bedanken, die während meines Studiums immer für mich da waren und mich -wenn nötig- wieder aufgebaut haben.

INHALTSVERZEICHNIS

<u>1</u>	<u>PROBLEMSTELLUNG</u>	<u>1</u>
<u>2</u>	<u>Einleitung</u>	<u>2</u>
2.1	ANTIMIKROBIELLES THERAPIEVERSAGEN	2
2.2	DORIPENEM	5
2.2.1	WIRKMECHANISMUS	5
2.2.2	INDIKATION, KONTRAINDIKATIONEN UND NEBENWIRKUNGEN	7
2.2.3	PHARMAKOKINETIK	8
2.3	MIKRODIALYSE	11
<u>3</u>	<u>EXPERIMENTELLER TEIL</u>	<u>14</u>
3.1	MATERIALIEN	14
3.1.1	CHEMIKALIEN	14
3.1.2	GERÄTE	14
3.2	PATIENTEN	15
3.3	DURCHFÜHRUNG DER STUDIE	16
3.4	ANALYSE DER PROBEN	16
3.5	AUSWERTUNG DER DATEN	20
<u>4</u>	<u>ERGEBNISSE UND DISKUSSION</u>	<u>21</u>
4.1	PHARMAKOKINETIK VON DORIPENEM NACH EINER EINSTÜNDIGEN INFUSION	21
4.2	PHARMAKOKINETIK VON DORIPENEM NACH EINER VIERSTÜNDIGEN INFUSION	26
4.3	VERGLEICH DER BEIDEN DOSIERSCHEMATA	31
<u>5</u>	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	<u>33</u>
<u>6</u>	<u>ABSTRACT</u>	<u>35</u>
<u>7</u>	<u>TABELLENANHANG</u>	<u>37</u>

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1 Resistenz von <i>Klebsiella pneumoniae</i> gegenüber Carbapenemen in Europa (2010/2014) ()	4
Abbildung 2: Strukturformel von Doripenem	5
Abbildung 3: Kristallstruktur von PBP 3 aus <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ()	6
Abbildung 4 Metabolismus von Doripenem	10
Abbildung 5 Prinzip der Mikrodialyse, (A) unbewegliche Sonde, (B) die gewünschten Moleküle passieren die semipermeable Membran und werden samt der Perfusionsflüssigkeit in Richtung Abflussstelle transportiert. ()	12
Abbildung 6: Zeitlicher Gradient für die HPLC-Analyse von Doripenem.	17
Abbildung 7: Chromatogramm einer Doripenemlösung (0,5 µg/ml)	18
Abbildung 8: Chromatogramm einer Plasmaprobe 1 Stunde nach der Verabreichung von 500 mg Doripenem.	18
Abbildung 9: Chromatogramm einer subkutanen Mikrodialysatprobe 1 Stunde nach Verabreichung von 500 mg Doripenem.	19
Abbildung 10: Chromatogramm einer intramuskulären Mikrodialysatprobe 1 Stunde nach Verabreichung von 500 mg Doripenem.	19
Abbildung 11: Eichkurve für Doripenem	20
Abbildung 12: Mittelwerte der Doripenem-Konzentration im Plasma nach einer einstündigen Infusion (n=8).	22
Abbildung 13: Mittelwerte der Doripenem-Konzentration im intramuskulären und subkutanen Mikrodialysat nach einer einstündigen Infusion (n=8).	22
Abbildung 14: Zeitlicher Verlauf der Doripenem-Konzentration in Plasma und Mikrodialysat nach einer einstündigen Infusion (Daten siehe Tabellenanhang).	24
Abbildung 15: Mittelwert der Doripenem-Konzentration im Plasma nach einer vierstündigen Infusion (n=8).	27
Abbildung 16: Mittelwert der Doripenem-Konzentration im intramuskulären und subkutanen Mikrodialysat nach einer vierstündigen Infusion (n=8).	27
Abbildung 17: Zeitlicher Verlauf der Doripenem-Konzentration in Plasma und Mikrodialysat nach einer vierstündigen Infusion (Daten siehe Tabellenanhang).	30
Abbildung 18: Konzentration von Doripenem in Plasma und Mikrodialysat während 8 Stunden dargestellt als AUC (µg/ml/8h).	31

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1 MICs von Doripenem gegenüber unterschiedlichen Keimen ()	7
Tabelle 2 Indikation und dazugehörige Erreger ()	8
Tabelle 3 Pharmakokinetische Parameter von Doripenem und seinem Hauptmetaboliten (18)	9
Tabelle 4: Mittlere Doripenem-Konzentration ($\mu\text{g/ml}$) in Plasma und Mikrodialysat nach einer einstündigen Infusion.	23
Tabelle 5: Mittlere Doripenem-Konzentration ($\mu\text{g/ml}$) in Plasma und Mikrodialysat nach einer vierstündigen Infusion.	28
Tabelle 6: Doripenemkonzentration ($\mu\text{g/ml}$) im Plasma der einzelnen Patienten nach einstündigen Infusion.	37
Tabelle 7: Doripenemkonzentration ($\mu\text{g/ml}$) im i.m. Mikrodialysat der einzelnen Patienten nach einstündigen Infusion.	37
Tabelle 8: Doripenemkonzentration ($\mu\text{g/ml}$) im s.c. Mikrodialysat der einzelnen Patienten nach einstündigen Infusion.	38
Tabelle 9: Doripenemkonzentration ($\mu\text{g/ml}$) im Plasma der einzelnen Patienten nach vierstündigen Infusion	38
Tabelle 10: Doripenemkonzentration ($\mu\text{g/ml}$) im i.m. Mikrodialysat der einzelnen Patienten nach vierstündigen Infusion	39
Tabelle 11: Doripenemkonzentration ($\mu\text{g/ml}$) im s.c. Mikrodialysat der einzelnen Patienten nach vierstündigen Infusion	39

1 PROBLEMSTELLUNG

Doripenem (Doribax™) ist ein Carbapenem mit breitem Wirkspektrum, sowohl gegen Gram positive als auch Gram negative Bakterien. Für die effiziente Wirkung eines Antibiotikums ist es notwendig, dass ausreichende Konzentrationen an den Infektionsorten erreicht werden. Die Konzentration eines Arzneistoffes im Gewebe kann erheblich von der Konzentration im Plasma abweichen. Kenntnisse über die Pharmakokinetik im Plasma ist daher nicht ausreichend, um die effektive Abtötung von Pathogenen am Infektionsort vorherzubestimmen. Für Doripenem sind etliche Studien betreffend der Pharmakokinetik im Serum und Urin verschiedener Spezies verfügbar, allerdings besteht ein Bedarf an Studien, die sich mit Konzentrationen in Kompartimenten wie subkutanem Fettgewebe, Muskelgewebe und Lungengewebe von schwerkranken Patienten beschäftigen. Die Kenntnis der tatsächlichen Doripenem-Konzentration im Gewebe ermöglicht es, gängige Therapieansätze zu bestätigen, beziehungsweise diese so zu adaptieren, dass antimikrobielles Therapieversagen und Resistenzentwicklung aufgrund von Unterdosierung verhindert werden.

In der vorliegenden Diplomarbeit soll daher zunächst der ungebundene, antimikrobiell wirksame Anteil von Doripenem im Plasma von 16 Intensivpatienten, die Doripenem entweder kurativ oder prophylaktisch erhalten haben, mittels HPLC-Analyse quantifiziert werden. Zur Bestimmung der Gewebskonzentrationen sollen Mikrodialysatproben aus dem subkutanem Fettgewebe und Muskelgewebe dieser Patienten verwendet werden. Die Ergebnisse dieser Studie sollen Aufschluss geben, ob durch die derzeit klinisch angewandten Dosierschemata eine effiziente antimikrobielle Doripenem-Konzentration in den verschiedenen Zielgeweben erreicht wird.

2 Einleitung

2.1 Antimikrobielles Therapieversagen

Antimikrobiell wirksame Mittel sind unverzichtbare Therapeutika zur Behandlung von Infektionskrankheiten bei Mensch und Tier. Laut den Aufzeichnungen des Bundesministeriums für Gesundheit und Frauen (BMGF) sind 2,04% der stationären Krankenhausaufenthalte Infektionskrankheiten zuzuschreiben, und bedürfen daher einer Therapie durch Antibiotika. (1)

Österreich liegt, was die Anzahl der Antibiotikaverschreibungen anbelangt, im gemäßigtem Bereich. Gesamt gesehen ist der Gebrauch sogar leicht rückläufig. Waren es 1998 noch 20 Verschreibungen pro 10.000 Einwohner, so sank 2014 die Anzahl auf 17,3. Diese Daten beziehen sich allerdings nur auf den niedergelassenen, nicht auf den stationären Bereich des Gesundheitssystems. (2)

Laut einer Studie aus Großbritannien, die sich mit Therapieversagen von vier häufigen Infektionskrankheiten (Infekte der oberen und unteren Atemwege, Haut- und Weichteilinfektionen, sowie akute Infektionen des Mittelohrs) befasst, geht hervor, dass das Gesamt-Therapieversagen bei 13,9% liegt. Also kommt es bei mehr als einer von zehn Antibiotikatherapien zum Therapieversagen. (3)

Ursachen für ein antimikrobielles Therapieversagen sind:

Falsche Indikation

Ein wesentlicher Faktor zur Vermeidung eines Therapieversagens stellt die richtige Diagnose dar. Der erste Schritt sollte sein, herauszufinden ob die Infektion bakteriell bedingt ist und wenn ja welcher Erreger vorliegt. Um ein Therapieversagen zu vermeiden sollte ein, gegen den identifizierten Erreger, wirksames Antibiotikum angewendet werden, also kein Antibiotikum gegen das der Erreger bereits resistent

geworden ist. Auch ist es nicht sinnvoll ein Antibiotikum zu verwenden, das aufgrund seines Wirkmechanismus, den vorliegenden Erreger nicht abzutöten vermag. (4)

Dosierungsfehler

Wird ein Antibiotikum zu gering dosiert, also die Minimale Hemmkonzentration (MIC) nicht erreicht, kann der entsprechende Keim nicht effektiv abgetötet, beziehungsweise in seinem Wachstum gehemmt werden und es kommt mit hoher Wahrscheinlichkeit zur Resistenzentwicklung gegenüber dem verwendeten Antibiotikum. Demnach soll eine Antibiotikatherapie so hochdosiert wie möglich und so kurz wie nötig erfolgen. (5)

Antimikrobielle Resistenz

Antimikrobielle Resistenz ist die Fähigkeit eines Mikroorganismus der Wirkung einer oder mehrerer Antibiotikagruppen zu widerstehen. Dies stellt ein großes Problem dar, da Antibiotika für die schnelle und effektive Behandlung schwerwiegender Infektionen unabdingbar sind. Auf der ganzen Welt werden steigende Resistenzbildungen gegenüber den wichtigsten Antibiotikagruppen festgestellt. Antimikrobielle Resistenz stellt eine große Bedrohung für die öffentliche Gesundheit dar. Die Folgen sind neben steigende Therapiekosten auch vermehrtes antimikrobielles Therapieversagen und durch die ungenügende Behandlung schwerer Infektionskrankheiten resultierend, steigende Anzahl an Todesfälle. 2009 schätzte das European Center for Disease Prevention and Control (ECDC) die jährlichen Todesfälle aufgrund resistenter Bakterienstämme, allein in Europa, auf ca. 25.000, wobei die Zahlen heute wahrscheinlich höher anzusetzen sind.

Ein Grund für antimikrobielle Resistenzentwicklung sind Mutationen des Bakteriengenoms. Gene die dafür codieren, können zwischen einzelnen Bakterien ausgetauscht werden. Diese antimikrobielle Resistenz beschränkt sich meist nicht nur auf eine Antibiotikagruppe, was die weitere Therapie einer durch resistente Bakterienstämme hervorgerufenen Infektionskrankheit zusätzlich erschwert.(6) In Abbildung 1 ist die zunehmende Resistenz von *Klebsiella pneumoniae* gegenüber Carbapenem-Antibiotika zwischen 2010 und 2014 zu erkennen.

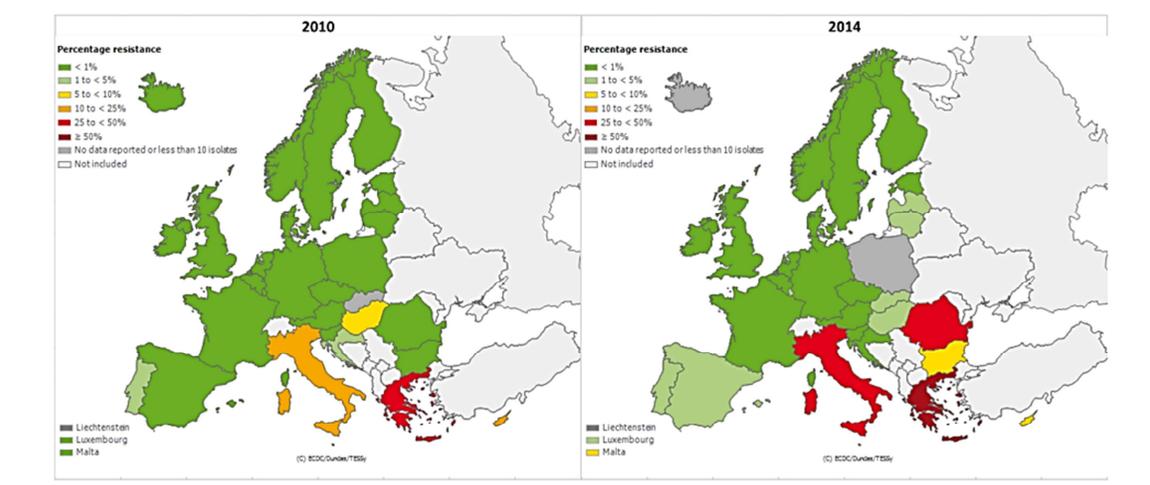


Abbildung 1 Resistenz von *Klebsiella pneumoniae* gegenüber Carbapenemen in Europa (2010/2014) (7)

Konzentration am Zielort

Da Infektionen meist in Geweben verschiedener Art lokalisiert sind, ist es zumeist nicht ausreichend nur die Konzentration im Plasma zu bestimmen. Die Gewebegängigkeit von Antibiotika kann sehr unterschiedlich sein, daher ist die Bestimmung der Gewebskonzentration eines Wirkstoffes von essentieller Bedeutung hinsichtlich der Wirksamkeitsbeurteilung eines Antibiotikums. Hierbei ist es notwendig Flüssigkeit aus entsprechenden Geweben zu gewinnen. Die Mikrodialyse,

welche später genauer behandelt wird, ist eine nützliche, nicht invasive Technik zur Gewinnung entsprechender Flüssigkeiten. (8)

2.2 Doripenem

Doripenem ($C_{15}H_{24}N_4O_6S$; (4R,5S,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-3-[[[(3S,5S)-5-[(sulfamoylamino)methyl]pyrrolidin-3-yl]sulfanyl]-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carbonsäure; Molekulargewicht: 420.504 g/mol) ist ein Breitspektrum Carbapenem, welches zu den β -Laktam-Antibiotika gezählt wird. (9)

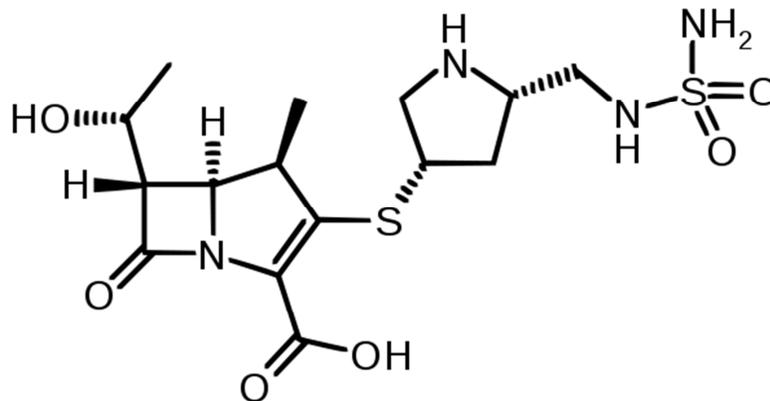


Abbildung 2: Strukturformel von Doripenem

2.2.1 Wirkmechanismus

Als Beta-Lactam-Antibiotikum wirkt Doripenem, wie auch alle anderen Carbapeneme durch ihre Bindung an Penicillin Binding Proteins (PBPs). PBPs sind für den Aufbau der bakteriellen Zellwand verantwortlich. Sie vernetzen zwei Zuckerketten, bestehend aus N-Acetylmuraminsäure und N-Acetylglucosamin, über die an der Muraminsäure gebunden Tetrapeptide, miteinander. Indem Beta-Lactam-Antibiotika, wie Doripenem, diese Quervernetzung hemmen, entfällt die Integrität der

Zellwand und das Bakterium stirbt ab.(10) In Abbildung 3 ist die Kristallstruktur von PBP3 aus *Pseudomonas aeruginosa*, mit seiner für die Transaminierung verantwortlichen Domäne zu sehen.

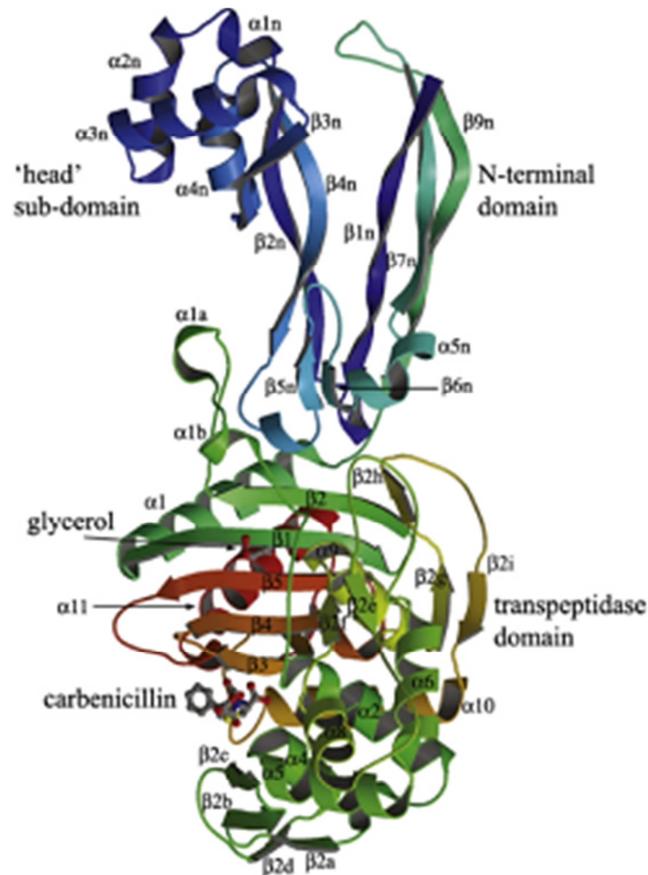


Abbildung 3: Kristallstruktur von PBP 3 aus *Pseudomonas aeruginosa* (11)

Der große Vorteil der Carbapeneme besteht darin, dass sie viele unterschiedliche Formen von PBPs hemmen. Sie sind damit sowohl gegen Gram-positive als auch Gram-negative Bakterien einsetzbar. Hierzu ist noch zu sagen, dass Doripenem eine höhere Aktivität gegenüber Gram-positiven Keimen aufweist. (12) Die Konzentration bei der 90% der Erreger in ihrem Wachstum gehemmt werden (MIC₉₀), liegt bei Doripenem bei 2µg/ml. (13) Wie anhand von Tabelle 1

erkennbar ist, kann die MIC₉₀, von Bakterium zu Bakterium stark variieren.

Tabelle 1 MICs von Doripenem gegenüber unterschiedlichen Keimen (14)

Organism	n	MIC (µg/ml)		
		Range	50%	90%
Gram-negative aerobes				
<i>Enterobacteriaceae</i>	1,830	≤0.03–32	≤0.03	0.12
<i>Escherichia coli</i>	1,183	≤0.03–2	≤0.03	0.03
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	207	≤0.03–32	0.06	0.12
<i>Klebsiella oxytoca</i>	53	≤0.03–0.12	0.06	0.06
<i>Citrobacter freundii</i>	26	≤0.03–0.06	≤0.03	0.06
<i>Citrobacter koseri</i>	15	≤0.03–0.06	≤0.03	0.06
<i>Enterobacter cloacae</i>	108	≤0.03–4	0.06	0.5
<i>Enterobacter aerogenes</i>	29	≤0.03–0.25	0.06	0.12
<i>Proteus mirabilis</i>	94	≤0.03–2	0.25	0.5
<i>Morganella morganii</i>	23	≤0.03–1	0.25	1
<i>Serratia marcescens</i>	35	≤0.03–8	0.12	0.25
Non-Enterobacteriaceae	245	≤0.03–32	0.25	4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	219	≤0.03–32	0.5	4
<i>Acinetobacter</i> spp.	67	≤0.03–>128	0.5	32
<i>Acinetobacter baumannii</i>	63	≤0.03–>128	1	32
<i>Burkholderia cepacia</i>	2	2–8	NA ^a	NA
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	16	4–>128	64	>128
<i>Haemophilus</i> spp.	101	≤0.03–1	0.06	0.25
Gram-positive aerobes				
<i>Enterococcus</i> spp.	172	≤0.03–>128	4	32
<i>Enterococcus faecalis</i>	92	≤0.03–16	4	4
<i>Staphylococcus</i> spp.	333	≤0.03–>128	≤0.03	16
<i>Staphylococcus aureus</i>	276	≤0.03–>128	≤0.03	16
<i>Staphylococcus aureus</i> (oxacillin susceptible)	196	≤0.03–0.5	≤0.03	0.06
Coagulase-negative staphylococci	57	≤0.03–64	0.06	16
Coagulase-negative staphylococci (oxacillin susceptible)	44	≤0.03–1	≤0.03	0.25
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	41	≤0.03–1	≤0.03	0.5
<i>Streptococcus</i> spp. other than <i>S. pneumoniae</i>	311	≤0.03–4	≤0.03	0.06
All anaerobes	660	≤0.03–32	0.25	0.5

^a NA, not applicable.

2.2.2 Indikation, Kontraindikationen und Nebenwirkungen

Doripenem wurde neben nosokomialen Pneumonien, inklusive ventilationsbedingten Pneumonien, auch für komplizierte Harnwegsinfekte, sowie komplizierte abdominale Infekte zugelassen, wie auch in Tabelle 2 ersichtlich. Zu den Nebenwirkungen, die einen Abbruch der Therapie verlangten, gehörten Übelkeit, Hautausschlag, Diarrhö, Mykosen der Vulva, Pruritus, sowie Erhöhung der Leberenzyme. Zu den häufigsten Nebenwirkungen zählen Kopfschmerzen (10%), Diarrhö (9%) und Nausea (8%). Doripenem darf nicht angewendet werden wenn es zu Überempfindlichkeitsreaktionen gegenüber dem Wirkstoff oder anderen Carbapenemen gekommen ist. Auch bei Allergien gegenüber anderen Betalactamen, wie Cephalosporinen oder Penicillin, ist die Anwendung kontraindiziert. (15)

Tabelle 2 Indikation und dazugehörige Erreger (16)

Indication	Microorganism
Complicated intra-abdominal infection	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Bacteroides caccae</i>
	<i>Bacteroides fragilis</i>
	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>
	<i>Bacteroides uniformis</i>
	<i>Bacteroides vulgatus</i>
	<i>Streptococcus intermedius</i>
	<i>Streptococcus constellatus</i>
<i>Peptostreptococcus micros</i>	
Complicated urinary tract infection, including pyelonephritis	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	<i>Proteus mirabilis</i>
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Acinetobacter baumannii</i>
Nosocomial pneumonia, including ventilator-associated pneumonia	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
	<i>Enterobacter cloacae</i>
	<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	

2.2.3 Pharmakokinetik

Doripenem ist als Pulver zur Zubereitung von Infusionslösungen erhältlich und damit nur parenteral applizierbar. Die Bioverfügbarkeit beträgt daher 100%. In gesunden Probanden wird die maximale Plasmakonzentration (C_{max}) innerhalb von einer Stunde erreicht.(13, 18) Weitere pharmakokinetische Parameter wie Clearance, Verteilungsvolumen, Area Under the Curve (AUC) von Doripenem und dessen Hauptmetabolit Doripenem-M-1 sind in Tabelle 3 ersichtlich. Doripenem ist kein Substrat der Cytochrom P450 Familie und wird daher nicht in der Leber verstoffwechselt. Die Metabolisierung erfolgt primär durch Dehydratation und damit

einhergehender Ringöffnung, zum Hauptmetabolit Doripenem-M-1 (D-M-1). Geringfügig wird D-M-1 weiter abgebaut. Zum einem durch Oxidation zum oxidiertem D-M-1, und zum anderen durch Konjugatbildung mit Glycin und Taurin zu D-M-1-Glycinkonjugat beziehungsweise zum D-M-1-Taurinkonjugat. (Abbildung 4) (17)

Tabelle 3 Pharmakokinetische Parameter von Doripenem und seinem Hauptmetaboliten (18)

PK parameter	Doripenem in plasma	Doripenem-M-1 in plasma
C_{\max} ($\mu\text{g/ml}$) ^b	22.9 (2.37)	1.56 (0.24)
T_{\max} (h) (median [range])	1.02 (1.00–1.02)	1.01 (0.75–1.02)
AUC_{last} ($\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$) ^{c,d}	31.5 (4.51)	4.03 (0.427)
AUC_{∞} ($\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$) ^c	31.8 (4.50)	4.98 (0.389)
$t_{1/2}$ (h)	1.07 (0.125)	2.54 (0.264)
λ_z (h^{-1})	0.657 (0.0747)	0.275 (0.0284)
CL (liters/h)	16.0 (2.23)	NAs
V_{ss} (liters)	24.8 (5.80)	NAs
AUC_{∞} ratio ^e	0.807 (0.0510)	0.127 (0.0117)

Die Exkretion erfolgt mit $95,28 \pm 4,03\%$, fast ausschließlich über die Niere, wobei die renale Clearance von Doripenem 12,5 l/h und die des Hauptmetaboliten 18,9 l/h beträgt. Nur ein geringer Teil von $0,72 \pm 0,21\%$ Doripenem wird über die Fäzes ausgeschieden.(18)

Aufgrund der vorwiegend renalen Exkretion muss bei niereninsuffizienten Patienten die Dosis dementsprechend reduziert werden. Bei Patienten mit normaler Nierenfunktion, also renaler Clearance (Cl_{ren}) von $>50\text{ml/min}$, beträgt die Dosis 500mg alle acht Stunden. Bei moderater Niereninsuffizienz (Cl_{ren} 30-50ml/min) wird die Doripenem-Dosis auf 250mg dreimal täglich reduziert. Aufgrund der Cl_{ren} von 10-29ml/min erhalten Patienten mit schwerer Niereninsuffizienz zweimal täglich eine Dosis von 250mg Doripenem. (19)

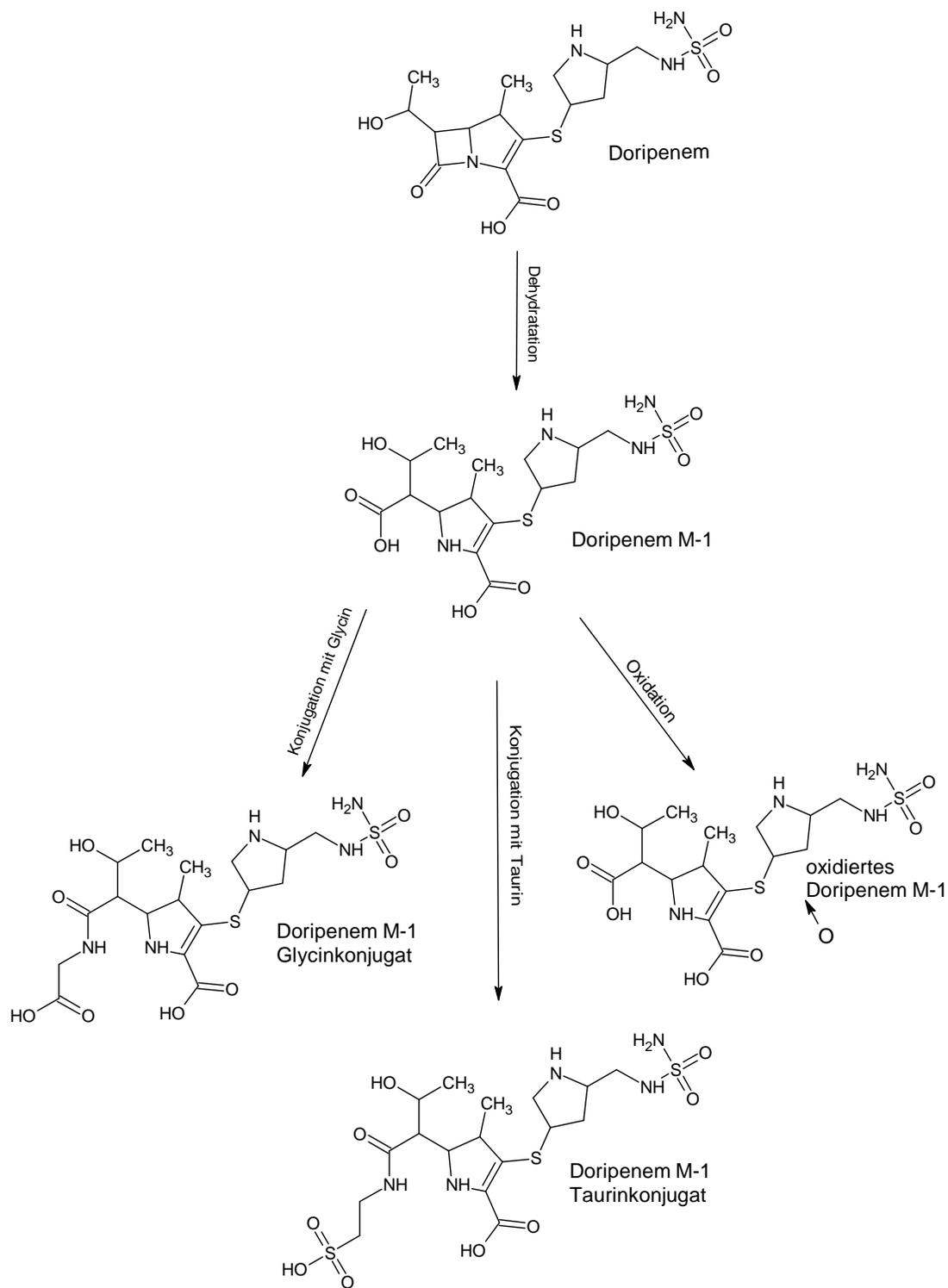


Abbildung 4 Metabolismus von Doripenem

2.3 Mikrodialyse

Die Mikrodialyse ist ein minimal invasives Verfahren zur Gewinnung von Flüssigkeiten aus dem Extrazellulärraum. Die Gewebsflüssigkeiten können aus den verschiedensten Geweben gewonnen werden, wie zum Beispiel aus Muskelgewebe oder auch aus subkutanen Fettgewebe. Diese kontinuierlich gewonnenen, Proben können anschließend aufgearbeitet werden, um eine quantitative Bestimmung verschiedener Arzneistoffe durchzuführen. Damit kann die Verteilung und Gewebsgängigkeit bestimmt werden. Die Methode ist bereits seit sechs Jahrzehnten bekannt. Das Vorgängermodell wurde in den 60er Jahren von J.H. Gaddum beschrieben. Die Durchführung, in der durch eine Kanüle Flüssigkeit in das entsprechende Gewebe gepumpt (to push) und durch eine zweite wieder abgesaugt (to pull) wurde, hat etliche Nachteile, wie mögliche Ödembildung und den enormen technischen Aufwand, da der Durchfluss in beiden Kanülen exakt gleich gehalten werden musste. (20)

Eine Weiterentwicklung war die im Jahre 1972 von Delgado et. al. entwickelte „Dialytrode“-Methode. Sie bestand aus einem permeablem Membranschlauch an dessen einem Ende eine Push-Kanüle und am anderen eine Pull-Kanüle angebracht war. (21) Der Mechanismus der Mikrodialyse beruht auf dem Gesetz der Diffusion eines Stoffes entlang eines Konzentrationsgradienten. Mathematisch kann es durch das Fick'sche Gesetz erklärt werden:

$$\Delta Q / dt = D * F * \Delta C / l$$

Die über die Zeit transportierte Stoffmenge wird durch das Verhältnis ΔQ zu Δt beschrieben. Diese Stoffmenge ist direkt proportional zum Konzentrationsunterschied ΔC und zur Austauschfläche F , jedoch umgekehrt proportional zur Diffusionsstrecke l .

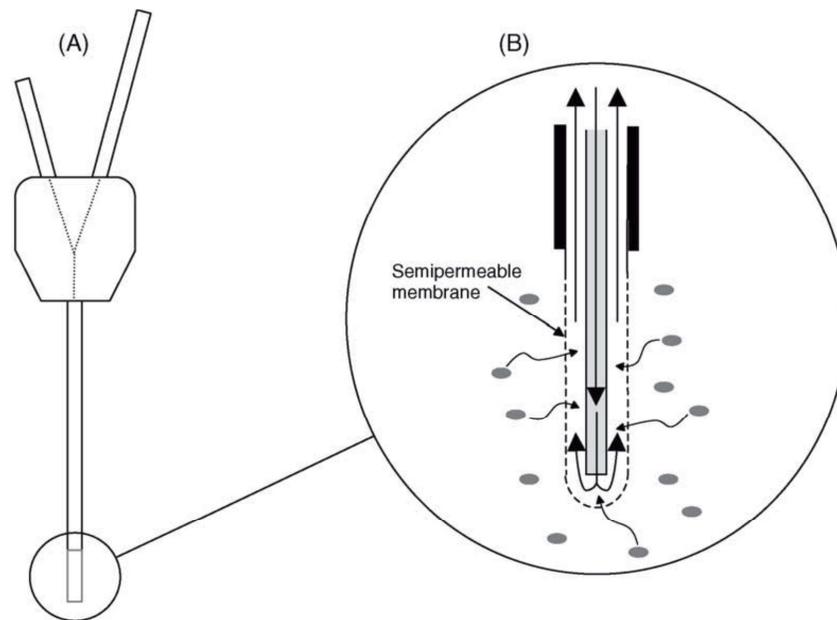


Abbildung 5 Prinzip der Mikrodialyse, (A) unbewegliche Sonde, (B) die gewünschten Moleküle passieren die semipermeable Membran und werden samt der Perfluationsflüssigkeit in Richtung Abflussstelle transportiert. (22)

Zwei durch eine semipermeable Membran getrennte Kompartimente bilden die Grundlage für den Konzentrationsunterschied und ermöglichen somit die Diffusion von niedermolekularen Molekülen. (Abbildung 5). Der Konzentrationsgradient in vivo kommt dadurch zustande, dass in die Sonde kontinuierlich eine dem zu untersuchenden Gewebes entsprechende, Perfluationslösung geleitet wird. Über eine semipermeable Membran steht die Sonde mit der Gewebsflüssigkeit in Kontakt und es kommt zum Übertritt von Arzneistoffen und deren Metaboliten in die Perfluationslösung, die kontinuierlich abgeleitet wird. Dadurch kann der freie -der nicht an Plasmaproteine gebundene- Anteil von Arzneistoffen gemessen werden. Die übliche Durchflussrate der Sonden liegt üblicherweise bei einem bis fünf Mikroliter pro Minute. Sonden gibt es in verschiedenen Ausführungen und auch die Zusammensetzung der Perfluationslösung variiert. Dies ist abhängig von dem Gewebe

aus dem man die Proben entnehmen will. Ein großer Vorteil von Mikrodialysat-Proben liegt darin, dass sie meist ohne weitere Aufarbeitung analysiert werden können. (23) Ein wichtiger Faktor bei der Diffusion stellt der Porendurchmesser und die Ladung der semipermeablen Membran dar.

3 EXPERIMENTELLER TEIL

3.1 Materialien

3.1.1 Chemikalien

Den Studienteilnehmern wurden das Präparat Doribax® 500 mg Pulver zur Herstellung einer Infusionslösung, Zulassungsinhaber: Janssen-Cilag International, Beerse, Belgien verabreicht. Vor der Verabreichung wurde Doribax® in 0,9 % Natriumchlorid-Lösung ad inj. rekonstituiert. Alle organischen und anorganischen Chemikalien wurden von der Firma Sigma, Wien gekauft. Alle Chemikalien waren von analytischer Reinheit und wurden ohne Vorreinigung verwendet.

3.1.2 Geräte

❖ HPLC-Anlage

- MERCK-HITACHI, LaChrom L-7250, Autosampler (Deutschland)
- MERCK-HITACHI, LaChrom L-7400, UV-Detector (Deutschland)
- MERCK-HITACHI, L-7100, Pump (Deutschland)
- Jetstream 2plus Column Thermostat, Säulenofen (Thermotechnic Products GmbH, Österreich)

❖ pH-Meter, Orion 250A±, Orion Research Inc. (MA, USA)

❖ Magnetrührer, IKA-Combimag Ret mit Heizung, Janke & Kunkel, IKA Werke (Deutschland)

❖ Minishaker, Vortex Wizard with infrared Detector, VELP Scientifica (Italien)

❖ Mikropipette, Eppendorf Research, 100-1000 µl, Eppendorf AG (Deutschland)

❖ Waage, Satorius, Bauart H51-A1, Satorius Instruments (Deutschland)

❖ Ultraschallbad, Starsonic 60, PMT (Österreich)

❖ Zentrifuge, Biofuge 13, Heraeus Instruments GmbH (Deutschland)

3.2 Patienten

Die untersuchten Proben stammten aus der klinischen Studie („*Target site pharmacokinetics of doripenem at steady state in intubated intensive care patients*“), die an der Medizinischen Universität Wien, Department für klinische Pharmakologie durchgeführt wurde. Bei dieser Studie wurden 16 Studienteilnehmern innerhalb von 8 Stunden Plasma- und Mikrodialysatproben entnommen und zur weiteren Aufbereitung für die HPLC-Analyse bei -80°C aufbewahrt. Das Studienprotokoll wurde der Ethikkommission der Medizinischen Universität Wien vorgelegt und bewilligt.

Einschlusskriterien der Patienten:

- Alter über 18 Jahren
- Verabreichung von Doripenem aus therapeutischen oder prophylaktischen Gründen für die folgenden Indikationen: Pneumonie, komplizierte intraabdominale Infektionen oder komplizierte Harnwegsinfekte
- Künstliche Beatmung via endotrachealer Sonde

Ausschlusskriterien der Patienten:

- Allergie gegen Doripenem
- Erkrankungen des Patienten, die eine korrekte Durchführung der Studie behindern, oder aufgrund deren die Studienteilnahme ein Risiko für den Patient oder das Personal darstellen
- Dialysepatienten
- Oxygensierungsindex ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ Verhältnis) < 100 und ein positiver endexpiratorischer Druck von 20 cm oder höher

3.3 Durchführung der Studie

Die Entnahme der Proben erfolgte im steady state, d.h. nach mindestens 5 vorhergegangenen Doripenem-Infusionen. Nach Reinigung und Punktierung der Haut an der Entnahmestelle (Hüfte) wurden zwei Mikrodialysensonden (CMA microdialysis probe, cut-off 20000 Dalton, CMA, Solna, Schweden) eingeführt (Sonde 1 = subkutan; Sonde 2 = intramuskulär). Das Mikrodialyse-System wurde fixiert, verbunden und kontinuierlich mittels Mikroinfusionspumpe (M Dialysis AB, Stockholm, Schweden) mit Ringerlösung (1,5 µl/min) durchgespült.

Nach 60 Minuten Equilibrierzeit (hier wurden sowohl vom Plasma als auch vom Mikrodialysat die Baseline-Proben entnommen) wurde Doripenem als intravenöse Infusion verabreicht. Die Dosierung von Doripenem betrug generell 3 x 500 mg /Tag verabreicht alle 8 Stunden, außer bei Patienten mit relevanter Niereninsuffizienz (Kreatinin Clearance < 30 ml) (3 x 250 mg/Tag, verabreicht alle 12 Stunden). Bei Patientengruppe 1 wurde die Infusion über 1 Stunde verabreicht, während bei Gruppe 2 die Infusionsdauer 4 Stunden betrug. Mikrodialysatproben und Plasmaproben (entnommen aus dem arteriellen Kathedern) wurden zu in den ersten 5 Stunden alle 30 Minuten, dann nach 6, 7 und 8 Stunden entnommen beschriftet und für die HPLC – Analyse bei -80°C aufbewahrt.

3.4 Analyse der Proben

Um Doripenem im Plasma und Mikrodialysat quantitativ nachzuweisen, wurde ein neues, selektives HPLC-System erstellt. Die Trennung erfolgte auf einer Hypersil BDS-C₁₈ Column; 5 µm, 250 x 4.6 mm I.D. (Thermo Fisher Scientific, Inc, USA) ausgerüstet mit einer Vorsäule (Hypersil BDS-C₁₈; 5 µm, 10 x 4.6mm I.D), temperiert auf 45°C. Doripenem wurde bei einer Wellenlänge von 298 nm gemessen.

Das Verhältnis Eluent A (50 mM Phosphatpuffer ± Heptansulfonsäure (1g/L), pH-Wert = 3) zu Methanol wurde entlang eines zeitlichen Gradient verändert (Durchflussgeschwindigkeit = 1 ml/min): Innerhalb der ersten 15 Minuten wurde der Methanolgehalt von 10 % auf 70 % gesteigert, und für 3 Minuten beibehalten. Anschließend wurde der Anteil an Methanol innerhalb von 2 Minuten wieder auf 10 % abgesenkt und die Säule 10 Minuten equilibriert (Abbildung 6).

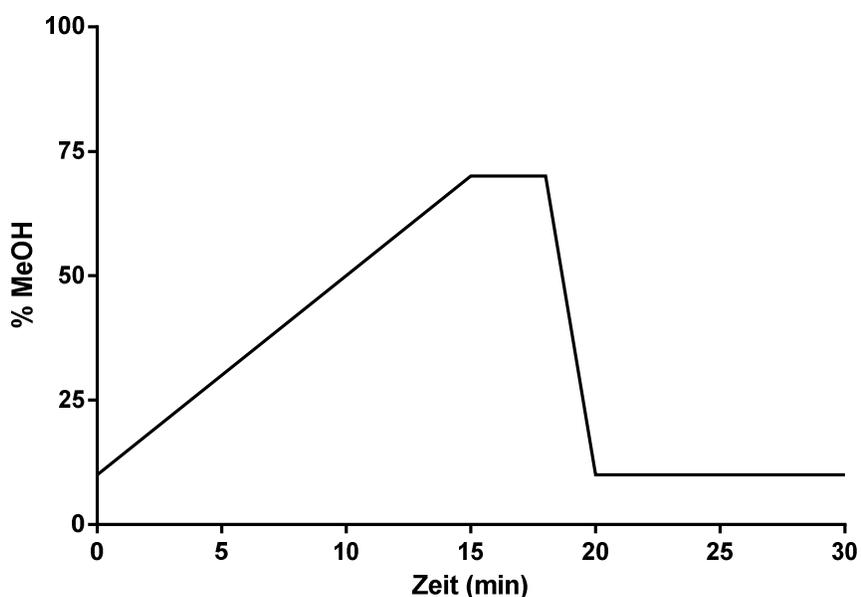


Abbildung 6: Zeitlicher Gradient für die HPLC-Analyse von Doripenem.

Zur Bestimmung der Retentionszeit wurde eine Standardlösung von Doripenem (0.5 µg/ml) (Abbildung 7) analysiert. Doripenem wird unter diesen Bedingungen mit einer Retentionszeit von 10.3 min eluiert. In den Plasma- und Mikrodialysatproben konnten keine überlagernden Peaks beobachtet werden. Typische Chromatogramme für die jeweiligen Proben sind in Abbildung 8, Abbildung 9 und Abbildung 10 dargestellt.

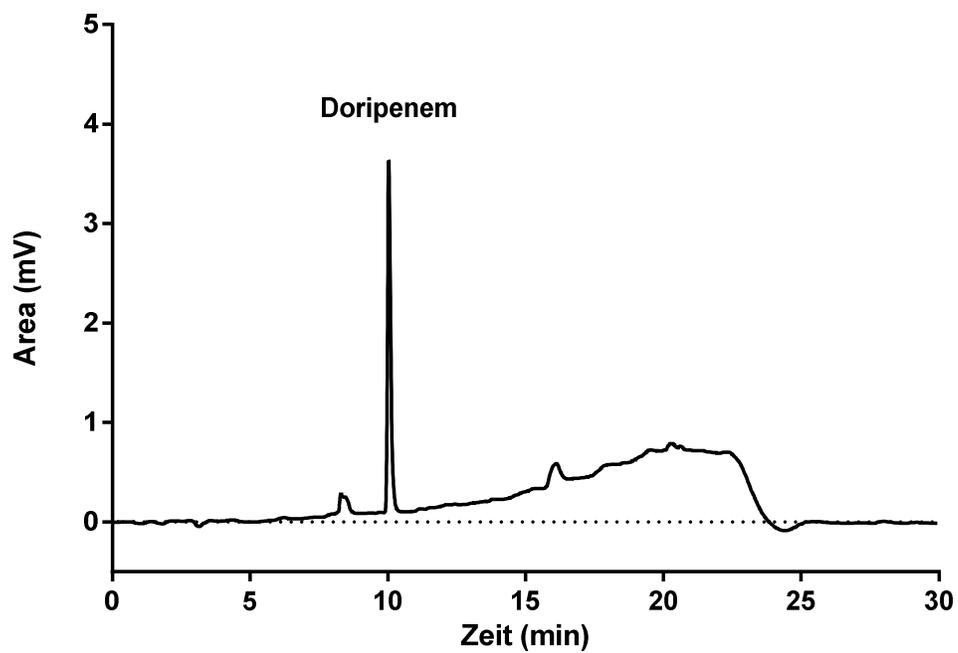


Abbildung 7: Chromatogramm einer Doripenemlösung (0,5 µg/ml)

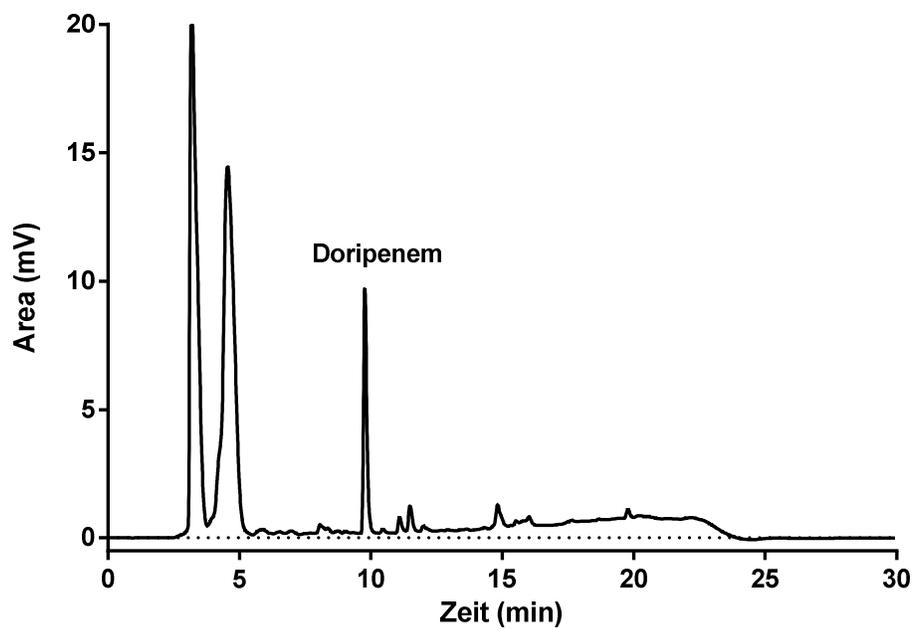


Abbildung 8: Chromatogramm einer Plasmaprobe 1 Stunde nach der Verabreichung von 500 mg Doripenem.

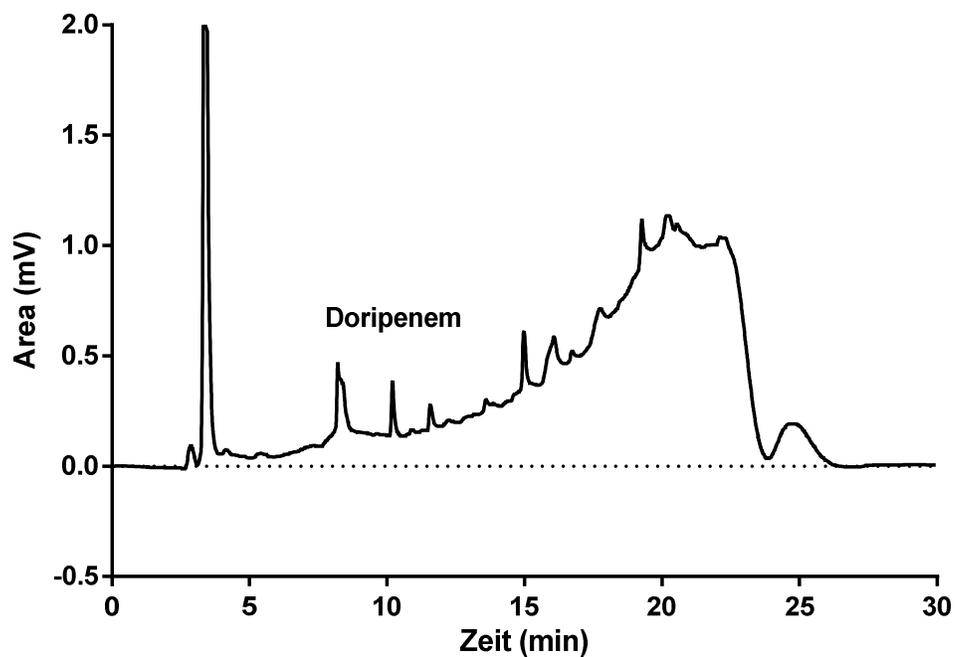


Abbildung 9: Chromatogramm einer subkutanen Mikrodialysatprobe 1 Stunde nach Verabreichung von 500 mg Doripenem.

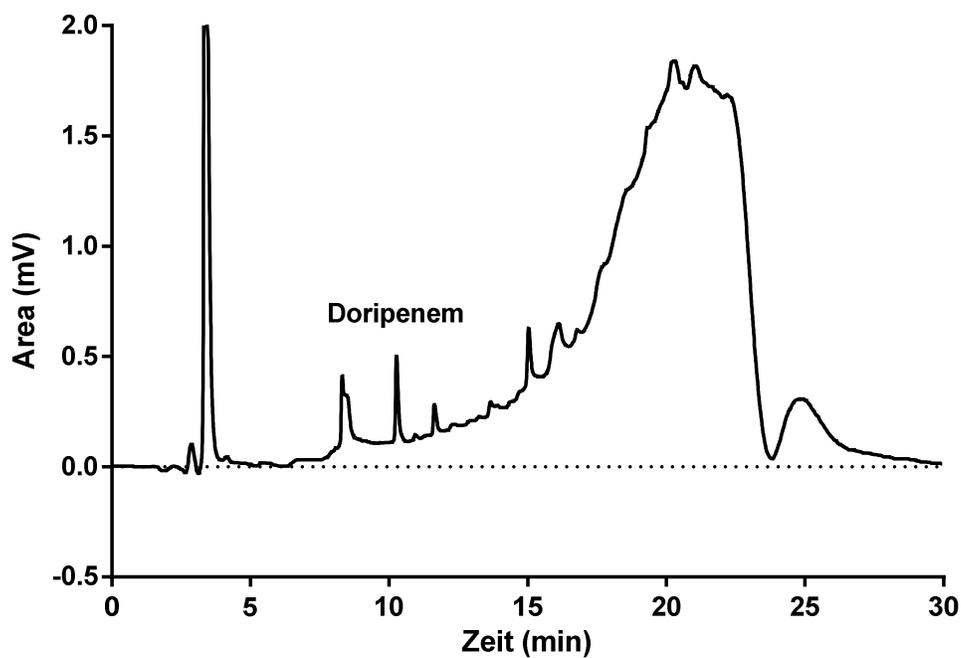


Abbildung 10: Chromatogramm einer intramuskulären Mikrodialysatprobe 1 Stunde nach Verabreichung von 500 mg Doripenem.

Unmittelbar vor der Analyse wurden 100 µl Plasma zur Ausfällung der Plasmaproteine mit 300 µl gekühltem Methanol versetzt und für 5 Minuten bei 13000 g zentrifugiert. 200 µl Überstand wurden anschließend mit 600 µl Eluent A vermischt und in ein Autosamplervial überführt. Zur Analyse der Mikrodialysats wurden 10 µL der jeweiligen Probe mit 90 µl Eluent A versetzt, durchmischt und in ein Autosamplervial überführt.

3.5 Auswertung der Daten

Um die Konzentration von Doripenem im Plasma und Mikrodialysat zu bestimmen, wurde eine Eichgerade unter Verwendung des Computer-Programms Prism 6.00 (GraphPad Software Inc. CA, USA) erstellt. Dazu wurden eine Verdünnungsreihe mit folgenden Konzentrationen erstellt: 0.0096 µg/ml, 0.024 µg/ml, 0.048 µg/ml, 0.072 µg/ml, 0.24 µg/ml, 0.48 µg/ml, 0.72 µg/ml und 0.96 µg/ml und mittels HPLV analysiert. Abbildung 11 zeigt die Korrelation zwischen den gemessenen Peakflächen und der Doripenem-Konzentration.

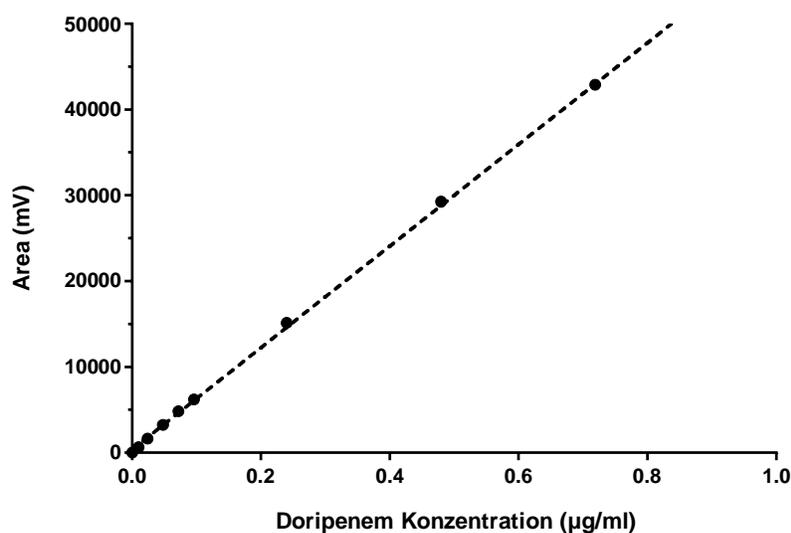


Abbildung 11: Eichkurve für Doripenem

4 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Ziel der vorliegenden Diplomarbeit war es, durch Analyse von Plasma und Gewebsflüssigkeit, die mittels einer Mikrosonde aus dem subkutanen Fettgewebe und Muskelgewebe von 16 Patienten gewonnen wurde, die Konzentration von Doripenem am Wirkort zu bestimmen.

4.1 Pharmakokinetik von Doripenem nach einer einstündigen Infusion

In der ersten Patientengruppe wurde Doripenem (Dosierung: 3 x 500 mg /Tag verabreicht alle 8 Stunden, bei Niereninsuffizienz 3 x 250 mg/Tag, verabreicht alle 12 Stunden) als intravenöse Infusion über eine Stunde verabreicht. Mikrodialysatproben aus dem intramuskulären und subkutanen Gewebe und Plasmaproben wurden in den ersten 5 Stunden alle 30 Minuten, dann nach 6, 7 und 8 Stunden entnommen beschriftet und mittels dem neu erstellten HPLC-System analysiert. Die Werte der einzelnen Patienten sind dem Tabellenanhang zu entnehmen, bzw. sind in Abbildung 146 dargestellt.

Wie in Abbildung 12 ersichtlich, betrug die mittlere Steady state Konzentration von Doripenem im Plasma vor Beginn der einstündigen Infusion $2.93 \pm 6.23 \mu\text{g/ml}$ (Tabelle 4), wobei hier sehr ausgeprägte Schwankungen zwischen den Werten der einzelnen Patienten von $18.21 \mu\text{g/ml}$ bei Patient 5 bis zu $0 \mu\text{g/ml}$ in Patient 3 zu beobachten waren. Die maximale Doripenem-Konzentration C_{max} wurde zwischen 0.5 – 1 Stunde nach Beginn der Infusion gemessen mit mittleren Werten von $14.67 \pm 8.91 \mu\text{g/ml}$, bzw. $15.54 \pm 12.51 \mu\text{g/ml}$. Wie zu erwarten erreichte Patient 5 die höchste C_{max} mit $44.06 \mu\text{g/ml}$, wobei der niedrigste Wert bei Patient 10 gemessen wurde mit $5.34 \mu\text{g/ml}$.

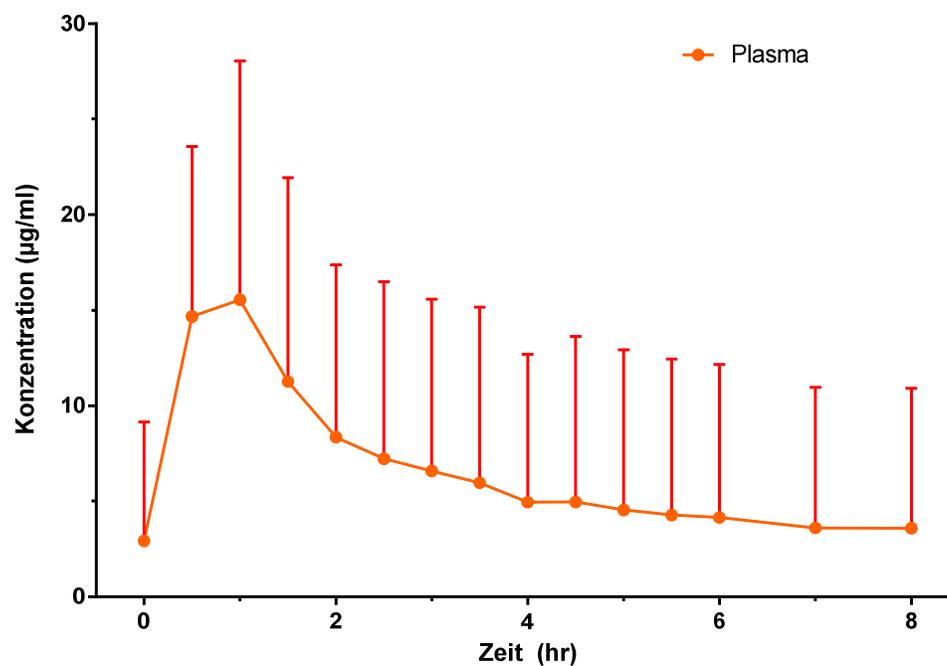


Abbildung 12: Mittelwerte der Doripenem-Konzentration im Plasma nach einer einstündigen Infusion (n=8).

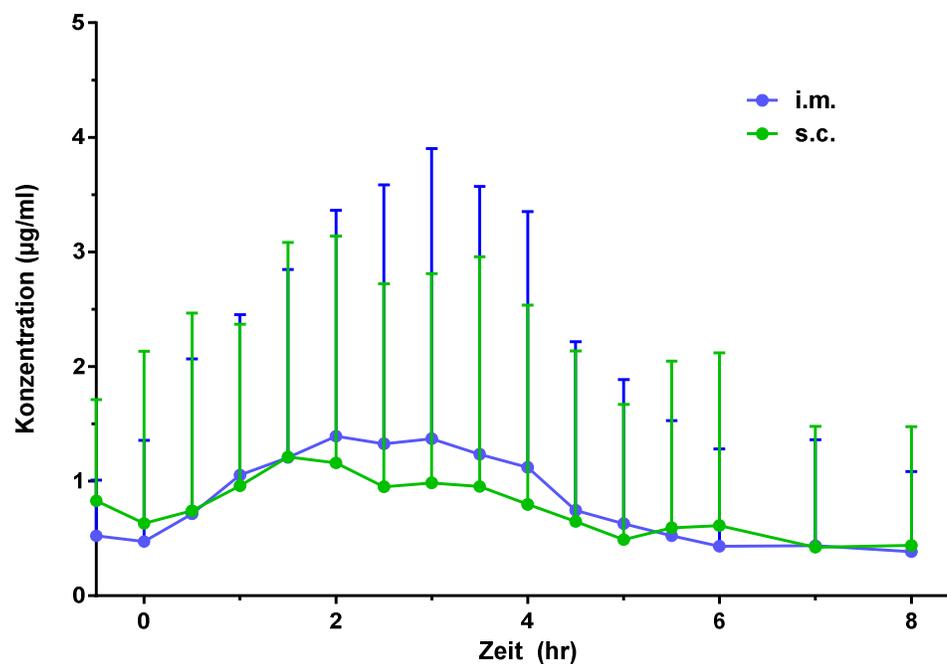


Abbildung 13: Mittelwerte der Doripenem-Konzentration im intramuskulären und subkutanen Mikrodialysat nach einer einstündigen Infusion (n=8).

Tabelle 4: Mittlere Doripenem-Konzentration ($\mu\text{g/ml}$) in Plasma und Mikrodialysat nach einer einstündigen Infusion.

Zeit (hr)	Plasma			i.m.			s.c.		
	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N
-0.50				0.52	0.49	3	0.83	0.89	2
0.00	2.93	6.23	8	0.47	0.89	7	0.63	1.51	7
0.50	14.67	8.91	8	0.71	1.35	8	0.74	1.73	8
1.00	15.54	12.51	8	1.05	1.40	7	0.96	1.41	7
1.50	11.26	10.68	8	1.21	1.64	7	1.21	1.87	6
2.00	8.35	9.04	8	1.39	1.97	6	1.16	1.98	6
2.50	7.22	9.29	8	1.33	2.26	7	0.95	1.77	7
3.00	6.59	9.00	8	1.37	2.53	6	0.99	1.83	6
3.50	5.96	9.19	8	1.24	2.34	7	0.95	2.00	7
4.00	4.94	7.75	8	1.12	2.23	7	0.80	1.74	7
4.50	4.96	8.68	8	0.75	1.47	7	0.65	1.49	7
5.00	4.55	8.40	8	0.63	1.26	7	0.49	1.18	8
5.50	4.27	8.18	8	0.52	1.01	8	0.59	1.46	7
6.00	4.14	8.01	8	0.43	0.85	7	0.61	1.51	7
7.00	3.61	7.37	8	0.44	0.93	8	0.42	1.06	7
8.00	3.59	7.33	8	0.38	0.70	7	0.44	1.04	7

Nach 4 Stunden wurde wiederum ein steady state erreicht mit einem mittleren Wert von $4.25 \pm 7.89 \mu\text{g/ml}$. Auch hier zeigten sich wieder signifikante Schwankungen der Einzelwerte von $23.66 \pm 2.10 \mu\text{g/ml}$ bei Patient 5 bis zu $0.86 \pm 0.26 \mu\text{g/ml}$ bei Patient 10.

In der intramuskulären und subkutanen Gewebsflüssigkeit erreichte die Steady state Konzentrationen vor Beginn der Infusion durchschnittlich 10 - 20 % im Vergleich zu den im Plasma gemessenen Anfangswerten (i.m. $0.47 \pm 0.89 \mu\text{g/ml}$, bzw. sc. $0.63 \pm 1.51 \mu\text{g/ml}$). Wie in Abbildung 13 zu sehen, zeigte sich zwischen den Doripenem-Konzentrationen, die im intramuskulären und subkutanen Gewebsflüssigkeit erreicht wurden, kein signifikanter Unterschied. Im Vergleich zum Plasmaspiegel erreichten die mittleren Gewebskonzentrationen von Doripenem ihr Maximum deutlich verzögert zwischen 1.5 - 4 Stunden mit Werten von $1.39 \pm 1.97 \mu\text{g/ml}$ im intramuskulären Gewebe und $1.21 \pm 1.87 \mu\text{g/ml}$ im subkutanen Gewebe.

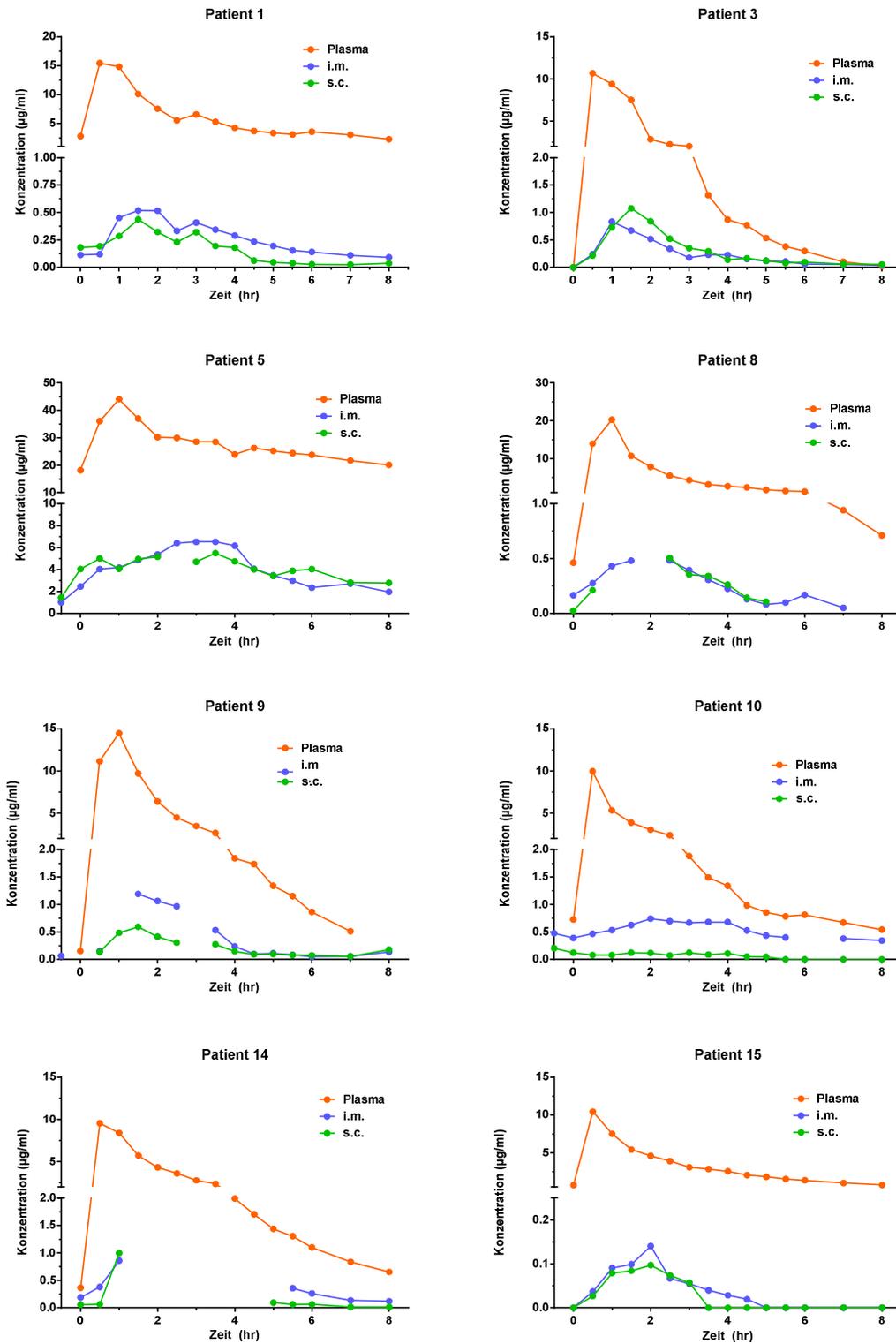


Abbildung 14: Zeitlicher Verlauf der Doripenem-Konzentration in Plasma und Mikrodialysat nach einer einstündigen Infusion (Daten siehe Tabellenanhang).

Nach 8 Stunden konnten im Gewebe Konzentrationen von 0.38 ± 0.70 (i.m.), bzw. 0.44 ± 1.04 $\mu\text{g/ml}$ (s.c.) festgestellt werden. Wahrscheinlich bedingt durch die unterschiedliche Gewebsdurchblutung wiesen die Doripenem-Konzentrationen im Gewebe eine noch stärkere Streuung auf als die Plasmawerte (Abbildung 14). Sowohl der zeitliche Verlauf, als auch die erreichten Doripenem-Spiegel unterschieden sich deutlich zwischen den einzelnen Studienteilnehmern. Wie bereits bei der Auswertung der Plasmadaten beobachtet, wurden auch hier bei Patient 5 die höchsten Werte gemessen ($c_{\text{max}} = 6.52$ $\mu\text{g/ml}$ i.m. und 5.49 mg/ml s.c.), während bei Patient 15 lediglich eine c_{max} von 0.14 $\mu\text{g/ml}$ im Muskelgewebe und 0.10 im subkutanen Gewebe festgestellt wurde.

Die Wirkung von Doripenem ist zeitabhängig, was bedeutet, dass die Doripenem-Konzentration mindestens 35 % des Therapieintervalls (d.h. 8 Stunden Therapieintervall = 2,8 Stunden) über der MIC von 2 $\mu\text{g/ml}$ liegen muss. (14, 24) Bei der einstündigen Infusion lagen die Plasmakonzentrationen aller Patienten bis auf Patient 10, mindestens 3 Stunden über der MIC. Betrachtet man also lediglich den Plasmaspiegel von Doripenem, wäre ein Therapieerfolg bei über 90 % der Patienten gegeben. Die Messung der Gewebskonzentrationen allerdings zeigte, dass nur in einem Patienten (Patient 5) die für einen Therapieerfolg benötigte Konzentration im Muskel- und subkutanem Fettgewebe erreicht wurde.

In einer Studie die sich mit der Gewebsgängigkeit von Doripenem in die Prostata befasste, wurden ausreichende Konzentrationen gemessen. (25) Allerdings wurde hier nur die MIC von *Escherichia coli* und *Klebsiella sp.* betrachtet, die deutlich unter der allgemeinen MIC von 2 $\mu\text{g/ml}$ liegen. Bei *Escherichia coli* beträgt die MIC_{90} $0,03$ $\mu\text{g/ml}$ und die von *Klebsiella* $0,12$ $\mu\text{g/ml}$ (Tabelle 1). Sollten Infektionen mit

diesen beiden Keimen vorliegen, sind die im Rahmen dieser Diplomarbeit gemessenen Gewebskonzentrationen ausreichend.

Allerdings wird vom *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) für beta-Laktam Antibiotika für eine optimale Wirkung eine Dosierung empfohlen, die für mindestens 80 % des Therapieintervalls über dem Vierfachen der MIC liegt, also im Fall von Doripenem über 8 µg/ml. (26). Berücksichtigt man diese Empfehlung lagen 100 % der untersuchten Patient weit unter der geforderten Wirkkonzentration.

4.2 Pharmakokinetik von Doripenem nach einer vierstündigen Infusion

In der zweiten Patientengruppe wurde Doripenem (Dosierung: 3 x 500 mg /Tag verabreicht alle 8 Stunden, bei Niereninsuffizienz 3 x 250 mg/Tag verabreicht alle 12 Stunden) als intravenöse Infusion über vier Stunden verabreicht. Analog der ersten Gruppe wurden Mikrodialysatproben aus dem intramuskulären und subkutanen Gewebe und Plasmaproben in den ersten 5 Stunden alle 30 Minuten, dann nach 6, 7 und 8 Stunden entnommen und mittels dem neu erstellten HPLC-System analysiert. Die Werte der einzelnen Patienten sind dem Tabellenanhang zu entnehmen, bzw. sind in Abbildung 17 dargestellt.

Wie in Abbildung 15 ersichtlich, betrug die mittlere Steady state Konzentration von Doripenem im Plasma vor Beginn der vierstündigen Infusion 5.09 ± 4.94 µg/ml (Tabelle 5), wobei auch in der zweiten Patientengruppe ausgeprägte Schwankungen zwischen den Werten der einzelnen Patienten von 15.00 µg/ml bei Patient 13 bis zu 0.94 µg/ml in Patient 7 zu beobachten waren.

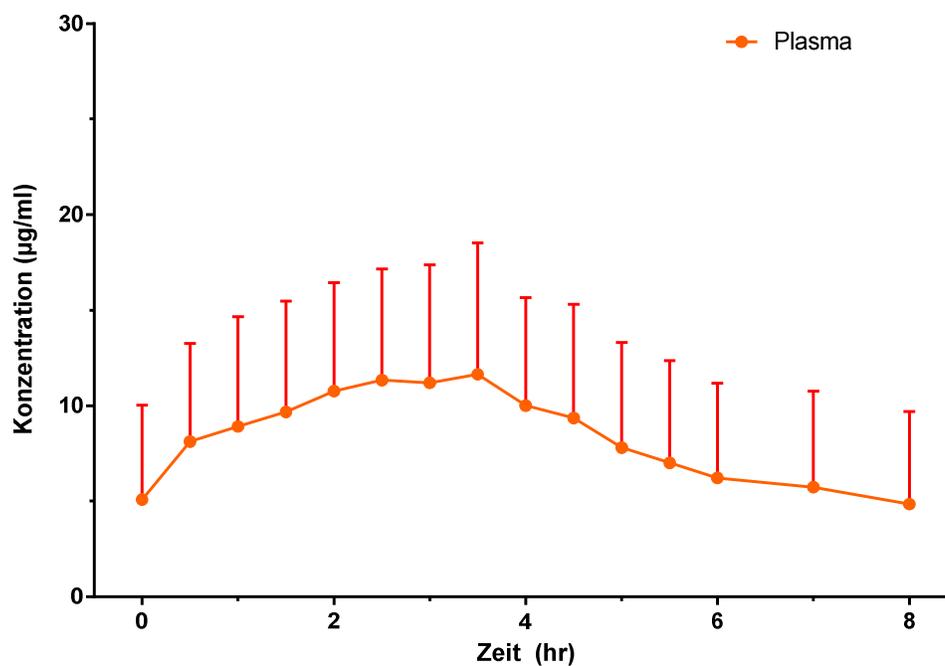


Abbildung 15: Mittelwert der Doripenem-Konzentration im Plasma nach einer vierstündigen Infusion (n=8).

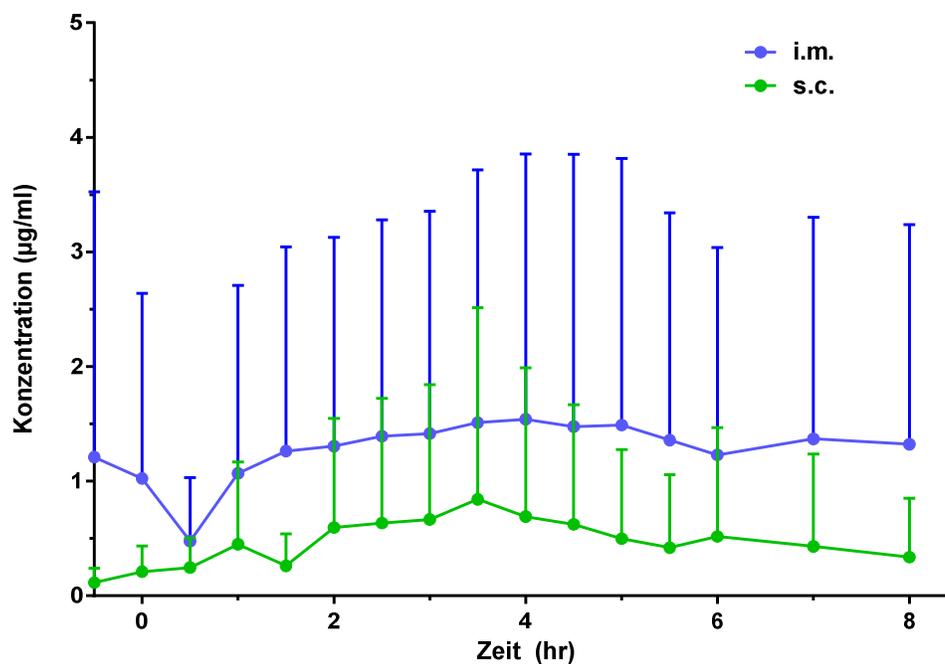


Abbildung 16: Mittelwert der Doripenem-Konzentration im intramuskulären und subkutanen Mikrodialysat nach einer vierstündigen Infusion (n=8).

Tabelle 5: Mittlere Doripenem-Konzentration ($\mu\text{g/ml}$) in Plasma und Mikrodialysat nach einer vierstündigen Infusion.

Zeit (hr)	Plasma			i.m.			s.c.		
	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N
-0.50				1.21	2.32	5	0.12	0.13	4
0.00	5.09	4.94	8	1.02	1.62	8	0.21	0.23	8
0.50	8.12	5.14	8	0.48	0.56	7	0.25	0.26	7
1.00	8.92	5.74	8	1.07	1.64	8	0.45	0.72	8
1.50	9.67	5.79	8	1.26	1.78	7	0.26	0.28	6
2.00	10.77	5.67	8	1.30	1.82	8	0.60	0.95	8
2.50	11.34	5.82	8	1.39	1.89	8	0.63	1.09	8
3.00	11.20	6.17	8	1.42	1.94	8	0.67	1.18	8
3.50	11.64	6.89	7	1.51	2.21	8	0.84	1.67	8
4.00	10.00	5.66	8	1.54	2.32	8	0.69	1.30	8
4.50	9.36	5.94	7	1.48	2.38	7	0.62	1.05	7
5.00	7.81	5.50	8	1.49	2.33	8	0.50	0.78	8
5.50	7.01	5.36	8	1.36	1.99	8	0.42	0.64	8
6.00	6.22	4.95	8	1.23	1.81	8	0.52	0.95	8
7.00	5.73	5.02	7	1.37	1.93	7	0.43	0.81	8
8.00	4.84	4.85	7	1.32	1.92	7	0.34	0.52	8

Im Vergleich zur ersten Gruppe, die eine einstündige Doripenem-Infusion erhielt, zeigten die Plasmaspiegel der zweiten Gruppe ein langsames Anfluten von Doripenem bis nach durchschnittlich 2 Stunden Werten von $10.77 \pm 5.67 \mu\text{g/ml}$ erreicht wurde, wobei diese Blutspiegel 2 Stunde lang konstant waren. Patient 13 wies wieder die höchsten gemessenen Blutspiegel auf mit $25.78 \mu\text{g/ml}$ nach 3.5 Stunden, während die niedrigsten Werte ($6.20 \mu\text{g/ml}$) bei Patienten 16 gefunden wurden. 4 Stunden nach erfolgter Infusion kam es zu einem sanften Abfall der Doripenem-Konzentration auf ca. 50 % des Maximalwertes ($4.84 \pm 4.85 \mu\text{g/ml}$ gemessen nach 8 Stunden). Bis auf Patient 13, der mit einer Konzentration von $14.21 \mu\text{g/ml}$ wieder deutlich über den Werten der anderen Patienten lag, schwanken die Einzelwerte der Patienten nach 8 Stunde zwischen $1.66 \mu\text{g/ml}$ bis $6.02 \mu\text{g/ml}$. Interessanterweise konnte im Unterschied zur einstündigen Infusion kein Abfall der Plasmaspiegels auf $0 \mu\text{g/ml}$ beobachtet werden.

Die Steady state Konzentrationen von Doripenem im intramuskulären Gewebe waren in der zweiten Gruppe mit $1.21 \pm 2.32 \mu\text{g/ml}$ deutlich höher als im subkutanen Gewebe mit $0.12 \pm 0.13 \mu\text{g/ml}$. Wie in Abbildung 17 deutlich zu sehen gab es - im Unterschied zu einstündigen Infusion – bei den meisten Patienten einen deutlichen Unterschied zwischen intramuskulären und subkutanem Gewebe, wobei bis auf Patient 12, der einen deutlich erhöhten Wert im subkutanen Gewebe aufwies, die Konzentrationen im Muskelgewebe generell höher waren. Bedingt durch das langsame Anfluten im Plasma, zeigten die Konzentrationen von Doripenem im Gewebe über den gesamten Zeitraum von 8 Stunden konstante mittlere Werte von $1.28 \pm 0.26 \mu\text{g/ml}$ i.m., bzw. $0.47 \pm 0.20 \mu\text{g/ml}$ s.c. Der niedrigste steady state Wert im Muskelgewebe wurde in Patient 16 mit $0.07 \pm 0.03 \mu\text{g/ml}$, der höchste in Patient 13 mit $5.82 \pm 0.77 \mu\text{g/ml}$ gefunden. Im subkutanen Gewebe schwankten die steady state Werte von $0.03 \pm 0.04 \mu\text{g/ml}$ (Patient 16) bis $4.10 \pm 1.07 \mu\text{g/ml}$ (Patient 12).

Im Gegensatz zur einstündigen Infusion waren die Plasmakonzentrationen in dieser Gruppe über einen längeren Zeitraum konstant hoch und lagen bei allen untersuchten Patienten über das gesamte Therapieintervall über der MIC von $2 \mu\text{g/ml}$. Nur bei Patient 16 kam es nach 8 Stunden zu einem Abfall auf $1,66 \mu\text{g/ml}$. Da die $T > \text{MIC}$ für einen Therapieerfolg 35% (2,8 h) betragen sollte, sind die gemessenen Konzentrationen ausreichend. Berücksichtigt man allerdings die Empfehlung der EUCAST von $8 \mu\text{g/ml}$, wird schon im Plasma nur bei ca. 50 der Patienten eine ausreichenden Wirkkonzentration erreicht. Wie auch in der ersten Gruppe beobachtet, waren die Gewebekonzentrationen wieder deutlich niedriger als im Plasma. So erreichte nur Patient 13 die geforderten Konzentrationen von $2 \mu\text{g/ml}$ im Muskel, beziehungsweise Patient 12 jene im subkutanem Fettgewebe; und kein Patient erreichte auch nur annähernd die von der EUCAST empfohlene MIC.

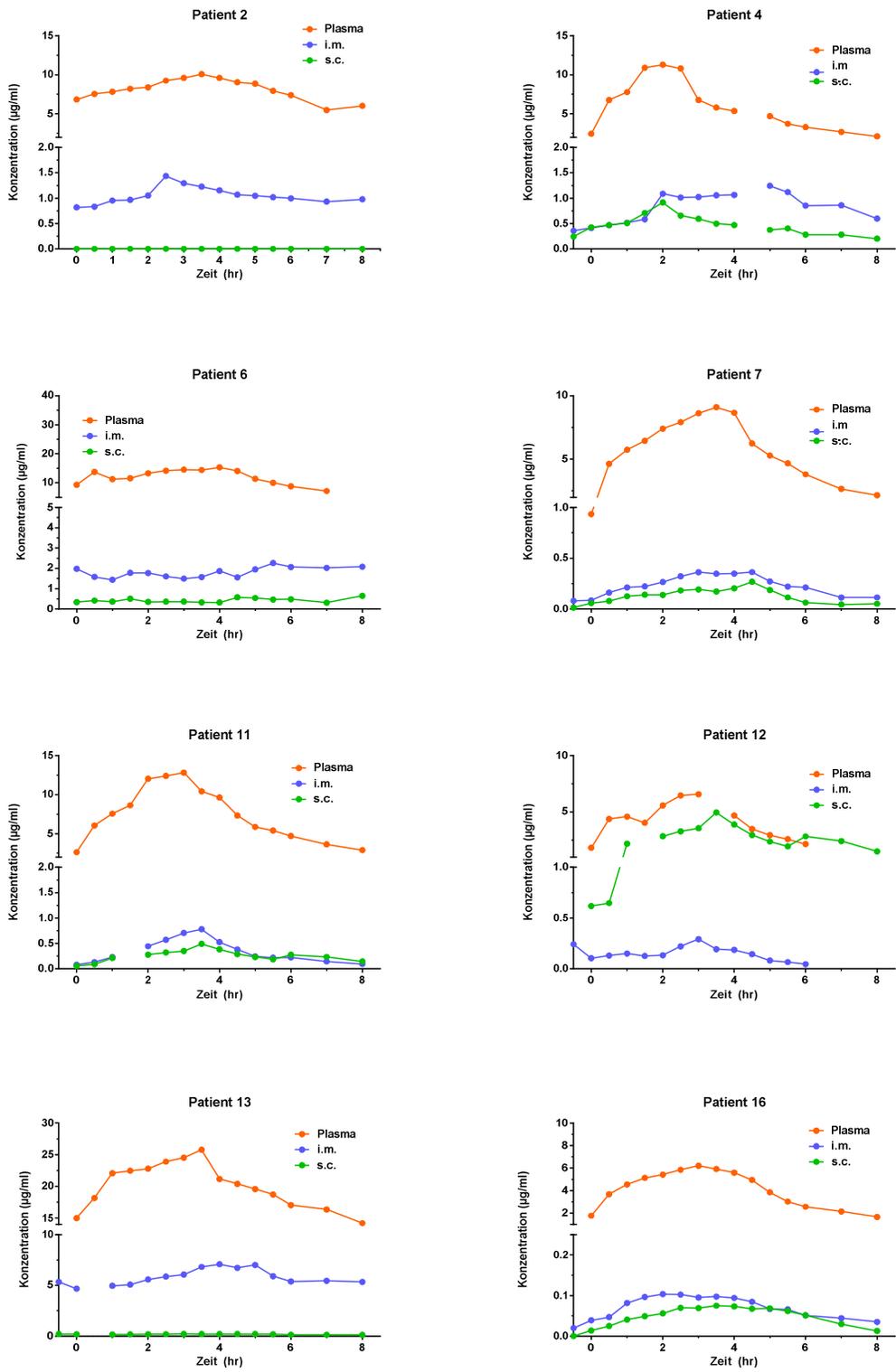


Abbildung 17: Zeitlicher Verlauf der Doripenem-Konzentration in Plasma und Mikrodialysat nach einer vierstündigen Infusion (Daten siehe Tabellenanhang).

4.3 Vergleich der beiden Dosierschemata

Nach der Infusion von 500 mg Doripenem über eine Stunde lag die mittlere AUC im Plasma bei $53,14 \pm 68,72 \mu\text{g/ml/8h}$. Die durchschnittliche Gewebkonzentration betrug im subkutanem Fettgewebe lediglich 11 % und im Muskelgewebe 12 % der Plasmakonzentration. Nach der vier Stunden dauernden Infusion betrug die mittlere AUC im Plasma $64,47 \pm 42,65 \mu\text{g/ml/8h}$. Die durchschnittlichen Gewebkonzentrationen in dieser Gruppe betragen subkutan 6% der Plasma AUC und intramuskulär 17%. (Abbildung 18)

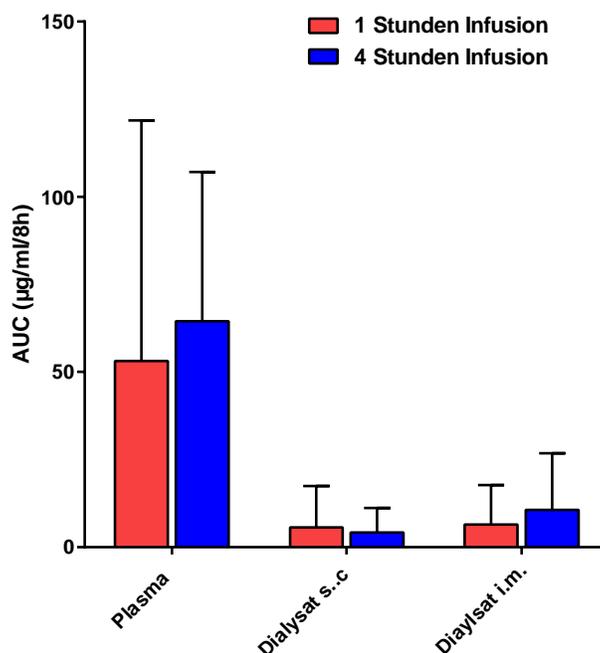


Abbildung 18: Konzentration von Doripenem in Plasma und Mikrodialysat während 8 Stunden dargestellt als AUC ($\mu\text{g/ml/8h}$).

Bezüglich der Plasmakonzentrationen ist die vierstündige Infusion der einständigen vorzuziehen, da hier der Doripenemspiegel für den Zeitraum von 8

Stunden annähernd konstant über der MIC von 2 µg/ml gehalten wurde. Betrachtet man die Gewebekonzentrationen, liefern beide Dosiermodelle hinsichtlich der subcutanen als auch intramuskulären Doripenem- Konzentration nicht ausreichend hohe Werte, um eine effiziente antimikrobielle Therapie zu gewährleisten. Diese Ergebnisse bestätigen die Entscheidung der EMA, die das Präparat Doripax™ aufgrund von Unterdosierung vom Markt zurückgezogen hat. (27)

5 ZUSAMMENFASSUNG

Doripenem (Doribax™) ist ein Breitband Carbapenem, das sowohl gegen Gram positive als auch Gram negative Bakterien wirksam ist. Voraussetzung für eine effiziente Wirkung ist das Erreichen einer ausreichenden Konzentration am Infektionsort. Die Pharmakokinetik im Plasma von Doripenem ist hinreichend bekannt, allerdings gibt es kaum Daten über die tatsächliche Konzentration dieses Arzneistoffes im Gewebe, die es ermöglicht, klinisch verwendete Therapieansätze zu bestätigen, bzw. zu adaptieren.

Im Rahmen dieser Diplomarbeit sollte daher anhand von Plasma- und Mikrodialysatproben aus subkutanem Fettgewebe und Muskelgewebe von sechzehn Intensivpatienten, die Konzentration von 500 mg Doripenem am Wirkort über einen Zeitraum von 8 Stunden bestimmt werden. Die Patienten bekamen 500 mg Doripenem entweder über eine oder vier Stunden infundiert. Nach Aufarbeitung der Proben wurde mittels HPLC-Analytik die Konzentration von Doripenem bestimmt.

Bei der einstündigen Infusion lagen die mittleren steady-state Werte im Plasma bei $4.25 \pm 7.89 \mu\text{g/ml}$. Die Gewebskonzentrationen intramuskulär allerdings nur bei $0.38 \pm 0.70 \mu\text{g/ml}$ und die des subkutanen Fettgewebes bei $0.44 \pm 1.04 \mu\text{g/ml}$. Auch in der Patientengruppe, die eine vierstündige Infusion erhielten, waren die Gewebskonzentration im Vergleich zum Plasma (mittlere steady-state Wert ($10.77 \pm 5.67 \mu\text{g/ml}$) deutlich erniedrigt (intramuskulär $1.21 \pm 2.32 \mu\text{g/ml}$; bzw. subkutan $0.12 \pm 0.13 \mu\text{g/ml}$). Da die Wirkung von beta-Laktam-Antibiotika zeitabhängig ist, sollte die Konzentration Doripenem mindestens 35 % des Therapieintervalls über der MIC von $2 \mu\text{g/ml}$ liegen. Dies war zwar bei den Plasmaspiegeln beider Dosiermodellen weitgehend gegeben, allerdings zeigte sich, dass die Gewebskonzentrationen weit

unter der MIC lagen. Berücksichtigt man weiter die breaking point -Empfehlung der EUCAST (8 µg/ml über 80 % des Therapieintervalls), konnte in 100 % der Patienten weder nach einstündiger, noch nach vierstündiger Infusion ausreichende Wirkortkonzentrationen erreicht werden.

Zusammenfassend kann man sagen, dass beide untersuchten Therapieschemata für eine ausreichenden Wirkung von Doripenem im Zielgewebe geeignet waren. Dies deckt sich mit der Entscheidung der EMA, die Doripenem in der Dosierung von 500mg 2014 vom Markt zurückgezogen hat.

6 ABSTRACT

Doripenem is a broad-spectrum parenteral Carbapenem, which is active against gram positive as well as gram negative bacteria. A critical requirement for the optimal killing of bacteria is the actual concentration reached at the site of the infection. Pharmacokinetics of doripenem in plasma is well known, however, there data concerning target site concentrations of Doripenem is scarce. The aim of this study was therefore to quantify doripenem in plasma and microdialysate samples from subcutaneous fat tissue and muscle tissue obtained from 16 intensive care patients after the infusion of 500 mg doripenem applied as a 1-hour, respectively as a 4 hour infusion. Samples were collected for 8 hours and consequently analyzed via HPLC.

After 1-hour infusion we found that the mean steady state concentration of doripenem in the plasma was 4.25 ± 7.89 $\mu\text{g/ml}$, however, mean concentrations in tissue were significantly lower, amounting only 0.38 ± 0.70 $\mu\text{g/ml}$ in muscle tissue, respectively 0.44 ± 1.04 $\mu\text{g/ml}$ in the subcutaneous tissue. Tissue concentrations in patients receiving a 4-hour infusions were also significantly decrease compared to plasma levels (mean steady state in plasma 10.77 ± 5.67 $\mu\text{g/ml}$ vs. 1.21 ± 2.32 $\mu\text{g/ml}$ in muscle; respectively 0.12 ± 0.13 $\mu\text{g/ml}$ in subcutaneous tissue).

As the effect of beta-lactam antibiotics is time dependent, doripenem concentrations is required to exceed the MIC of 2 $\mu\text{g/ml}$ for at least 35 % of therapy interval. Plasma levels in both groups of patients were found to be sufficient, however, the tissue concentrations were far below the required MIC. Furthermore, when the breaking point concentration recommended by EUCAST (8 $\mu\text{g/ml}$ for 80 %

of therapy interval) are considered, plasma as well as tissue levels of doripenem were not achieved in both patient groups.

In conclusion, we showed that both dosing regimen for doripenem are not appropriate to achieve target site concentrations required for optimal killing of bacteria. Our data confirms the the decision of the European Medicinal Agency (EMA), which withdrew Doripenem from the European market.

7 TABELLENANHANG

Tabelle 6: Doripenemkonzentration ($\mu\text{g/ml}$) im Plasma der einzelnen Patienten nach einstündigen Infusion.

Zeit (hr)	Pat1	Pat 3	Pat5	Pat 8	Pat 9	Pat 10	Pat 14	Pat 15
-0.50								
0.00	2.81	1.38e-003	18.21	0.46	0.15	0.73	0.37	0.74
0.50	15.43	10.68	36.12	13.96	11.16	9.98	9.54	10.45
1.00	14.83	9.40	44.06	20.31	14.47	5.34	8.40	7.50
1.50	10.10	7.51	36.97	10.72	9.73	3.88	5.72	5.45
2.00	7.54	2.85	30.22	7.84	6.41	3.04	4.32	4.61
2.50	5.53	2.27	30.00	5.50	4.50	2.40	3.62	3.93
3.00	6.55	2.04	28.56	4.35	3.48	1.88	2.79	3.10
3.50	5.29	1.31	28.51	3.17	2.66	1.49	2.39	2.86
4.00	4.24	0.87	23.96	2.74	1.84	1.34	1.99	2.57
4.50	3.70	0.77	26.33	2.40	1.74	0.98	1.70	2.08
5.00	3.36	0.53	25.23	1.77	1.34	0.86	1.44	1.84
5.50	3.10	0.38	24.41	1.47	1.15	0.78	1.30	1.56
6.00	3.58	0.30	23.82	1.30	0.86	0.81	1.10	1.38
7.00	3.03	0.10	21.72	0.94	0.51	0.67	0.84	1.03
8.00	2.28	0.02	20.13	0.71	11.50	0.54	0.65	0.76

Tabelle 7: Doripenemkonzentration ($\mu\text{g/ml}$) im i.m. Mikrodialysat der einzelnen Patienten nach einstündigen Infusion.

Zeit (hr)	Pat1	Pat 3	Pat5	Pat 8	Pat 9	Pat 10	Pat 14	Pat 15
-0.50			1.03		0.06	0.47		
0.00	0.11	0.00	2.46	0.17		0.39	0.19	0.00
0.50	0.12	0.24	4.04	0.28	0.15	0.47	0.38	0.04
1.00	0.45	0.83	4.18	0.43		0.53	0.86	0.09
1.50	0.52	0.67	4.86	0.48	1.19	0.63		0.10
2.00	0.52	0.52	5.38		1.06	0.74		0.14
2.50	0.33	0.34	6.41	0.48	0.97	0.70		0.07
3.00	0.41	0.18	6.53	0.40		0.67		0.05
3.50	0.34	0.23	6.52	0.31	0.53	0.68		0.04
4.00	0.29	0.23	6.16	0.22	0.24	0.68		0.03
4.50	0.23	0.15	4.06	0.13	0.10	0.53		0.02
5.00	0.19	0.12	3.47	0.08	0.11	0.43		0.00
5.50	0.15	0.11	2.99	0.10	0.08	0.40	0.36	0.00
6.00	0.14	0.06	2.36	0.17	0.05		0.26	0.00
7.00	0.11	0.05	2.71	0.05	0.05	0.38	0.13	0.00
8.00	0.09	0.04	1.96		0.13	0.34	0.12	0.00

Tabelle 8: Doripenemkonzentration ($\mu\text{g/ml}$) im s.c. Mikrodialysat der einzelnen Patienten nach einstündigen Infusion.

Zeit (hr)	Pat1	Pat 3	Pat5	Pat 8	Pat 9	Pat 10	Pat 14	Pat 15
-0.50			1.46			0.20		
0.00	0.18	0.00	4.04	0.03		0.12	0.06	0.00
0.50	0.19	0.22	5.01	0.21	0.13	0.08	0.06	0.03
1.00	0.29	0.73	4.07		0.48	0.08	1.00	0.08
1.50	0.44	1.07	4.96		0.59	0.12		0.08
2.00	0.32	0.84	5.17		0.41	0.12		0.10
2.50	0.23	0.52		0.51	0.31	0.07		0.07
3.00	0.32	0.35	4.71	0.35		0.12		0.06
3.50	0.19	0.29	5.49	0.34	0.27	0.09		0.00
4.00	0.18	0.14	4.74	0.26	0.15	0.11		0.00
4.50	0.06	0.17	4.03	0.14	0.09	0.05		0.00
5.00	0.05	0.12	3.42	0.11	0.10	0.05	0.09	0.00
5.50	0.04	0.08	3.90		0.08	0.00	0.06	0.00
6.00	0.03	0.10	4.03		0.07	0.00	0.06	0.00
7.00	0.03	0.06	2.82		0.05	0.00	0.01	0.00
8.00	0.04	0.05	2.79		0.18	0.00	0.02	0.00

Tabelle 9: Doripenemkonzentration ($\mu\text{g/ml}$) im Plasma der einzelnen Patienten nach vierstündigen Infusion

Zeit (hr)	Pat2	Pat4	Pat 6	Pat 7	Pat 11	Pat 12	Pat 13	Pat 16
-0.50								
0.00	6.83	2.44	9.31	0.94	2.63	1.83	15.00	1.77
0.50	7.55	6.77	13.75	4.64	6.05	4.38	18.17	3.68
1.00	7.82	7.77	11.24	5.74	7.56	4.58	22.08	4.55
1.50	8.21	10.90	11.54	6.46	8.64	4.04	22.47	5.13
2.00	8.40	11.29	13.26	7.40	12.03	5.58	22.78	5.42
2.50	9.25	10.81	14.17	7.91	12.39	6.46	23.91	5.85
3.00	9.59	6.77	14.53	8.62	12.82	6.57	24.53	6.20
3.50	10.07	5.80	14.40	9.10	10.42		25.78	5.91
4.00	9.58	5.37	15.34	8.66	9.62	4.69	21.17	5.59
4.50	9.04		14.08	6.24	7.33	3.49	20.40	4.95
5.00	8.86	4.70	11.38	5.29	5.87	2.94	19.58	3.85
5.50	7.94	3.73	9.99	4.67	5.40	2.59	18.72	3.03
6.00	7.39	3.30	8.81	3.81	4.70	2.15	17.05	2.57
7.00	5.48	2.69	7.17	2.66	3.63		16.36	2.16
8.00	6.02	2.13	36.08	2.16	2.88		14.21	1.66

Tabelle 10: Doripenemkonzentration ($\mu\text{g/ml}$) im i.m. Mikrodialysat der einzelnen Patienten nach vierstündigen Infusion

Zeit (hr)	Pat2	Pat4	Pat 6	Pat 7	Pat 11	Pat 12	Pat 13	Pat 16
-0.50		0.36		0.08		0.24	5.35	0.02
0.00	0.82	0.41	1.98	0.09	0.08	0.10	4.68	0.04
0.50	0.83	0.47	1.58	0.16	0.13	0.13		0.05
1.00	0.95	0.52	1.44	0.21	0.23	0.15	4.96	0.08
1.50	0.97	0.58	1.77	0.22		0.13	5.08	0.10
2.00	1.05	1.09	1.77	0.26	0.44	0.13	5.58	0.10
2.50	1.44	1.01	1.60	0.32	0.57	0.22	5.86	0.10
3.00	1.29	1.02	1.49	0.36	0.71	0.29	6.06	0.10
3.50	1.23	1.06	1.57	0.35	0.78	0.19	6.82	0.10
4.00	1.15	1.06	1.87	0.35	0.53	0.19	7.08	0.09
4.50	1.07		1.56	0.36	0.38	0.14	6.73	0.08
5.00	1.05	1.24	1.95	0.27	0.25	0.08	7.01	0.07
5.50	1.02	1.12	2.26	0.22	0.22	0.07	5.91	0.07
6.00	1.00	0.85	2.07	0.21	0.22	0.04	5.39	0.05
7.00	0.93	0.86	2.03	0.11	0.14		5.46	0.04
8.00	0.98	0.60	2.08	0.11	0.10		5.35	0.04

Tabelle 11: Doripenemkonzentration ($\mu\text{g/ml}$) im s.c. Mikrodialysat der einzelnen Patienten nach vierstündigen Infusion

Zeit (hr)	Pat2	Pat4	Pat 6	Pat 7	Pat 11	Pat 12	Pat 13	Pat 16
-0.50		0.24		0.01			0.20	0.00
0.00	0.00	0.43	0.34	0.06	0.06	0.62	0.18	0.01
0.50	0.00	0.47	0.42	0.08	0.09	0.65		0.02
1.00	0.00	0.51	0.36	0.12	0.21	2.18	0.17	0.04
1.50	0.00	0.71	0.50	0.14			0.17	0.05
2.00	0.00	0.92	0.35	0.14	0.28	2.85	0.18	0.06
2.50	0.00	0.66	0.36	0.18	0.32	3.28	0.20	0.07
3.00	0.00	0.59	0.36	0.19	0.35	3.55	0.22	0.07
3.50	0.00	0.50	0.33	0.17	0.49	4.96	0.21	0.07
4.00	0.00	0.47	0.32	0.20	0.38	3.89	0.20	0.07
4.50	0.00		0.57	0.27	0.29	2.96	0.21	0.07
5.00	0.00	0.37	0.54	0.19	0.23	2.38	0.21	0.07
5.50	0.00	0.40	0.46	0.11	0.19	1.95	0.18	0.06
6.00	0.00	0.28	0.48	0.06	0.28	2.84	0.14	0.05
7.00	0.00	0.28	0.31	0.04	0.24	2.41	0.14	0.03
8.00	0.00	0.20	0.65	0.05	0.14	1.51	0.13	0.01

8 LITERATURVERZEICHNIS

- 1 Abgerufen am 22. 11. 2016 von http://www.kaz.bmgf.gv.at/fileadmin/user_upload/Diagnosen/1_T_Diagnosen_Kapitel.pdf.
- 2 „Antibiotika sorgsam einsetzen! - Gesundheitsportal“. Gesundheit.gv.at. Abgerufen am 22. 11. 2016 von <https://www.gesundheit.gv.at/Portal.Node/ghp/public/content/aktuelles/antibiotika-sorgsam-einsetzen.html#headline41>.
- 3 Currie, C. J.; Berni, E.; Jenkins-Jones, S.; (2014): „Antibiotic treatment failure in four common infections in UK primary care 1991-2012: longitudinal analysis“. In: BMJ. 349:g5493
- 4 Kollef, M. H. (2000): „Inadequate antimicrobial treatment: an important determinant of outcome for hospitalized patients“. In: Clinical Infectious Diseases. 31 (Supplement 4), S. S131-S138.
- 5 GmbH, Avoxa (2016): „Pharmazeutische Zeitung online: Resistenzvermeidung: Antibiotika kurzzeitig hoch dosiert“. Pharmazeutische-zeitung.de. Abgerufen am 22. 11. 2016 von <http://www.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=5843>.
- 6 „Antimicrobial resistance surveillance in europe annual report of the european antimicrobial resistance surveillance network (EARS-Net) 2014“. Abgerufen am 23. 11. 2016 von <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-europe-2014.pdf>.
- 7 „AURES: Resistenzberichte Österreich“. AGES - Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit. Abgerufen am 23. 11. 2016 von <https://www.ages.at/themen/ages-schwerpunkte/antibiotika-resistenzen/resistenzberichte/>.
- 8 Kova, Andreas; Nolting, Arno; Derendorf, Hartmut (1997): „Mikrodialyse zur Bestimmung freier Arzneistoffe in Geweben“. In: Pharmazie in Unserer Zeit. 26 (1), S. 17-23.
- 9 „Doripenem - DrugBank“. Drugbank.ca. Abgerufen am 23. 11. 2016 von <http://www.drugbank.ca/drugs/DB06211>.
- 10 Frère, Jean-Marie; Page, Malcolm GP (2014): „Penicillin-binding proteins: evergreen drug targets“. In: Current Opinion in Pharmacology. 18, S. 112-119.
- 11 Sainsbury, Sarah; Bird, Louise; Rao, Vincenzo (2011): „Crystal structures of penicillin-binding protein 3 from pseudomonas aeruginosa: comparison of native and antibiotic-bound forms“. In: Journal of Molecular Biology. 405 (1), S. 173-184.

- 12 Papp-Wallace, K. M.; Endimiani, A.; Taracila, M. A. (2011): „Carbapenems: past, present, and future“. In: *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 55 (11), S. 4943-4960.
- 13 Burian, B.; Zeitlinger, M.; Donath, O. (2011): „Penetration of doripenem into skeletal muscle and subcutaneous adipose tissue in healthy volunteers“. In: *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 56 (1), S. 532-535.
- 14 Samtani, M. N.; Flamm, R.; Kaniga, K. (2010): „Pharmacokinetic-pharmacodynamic-model-guided doripenem dosing in critically ill patients“. In: *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 54 (6), S. 2360-2364.
- 15 Abgerufen am 23. 11. 2016 von http://www.ema.europa.eu/docs/de_DE/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000891/WC500037148.pdf.
- 16 Alvarez-Lerma, Francisco (2009): „Characteristics of doripenem: a new broad-spectrum antibiotic“. In: *Drug Design, Development and Therapy*., S. 173.
- 17 Chahine, E. B.; Ferrill, M. J.; Poulakos, M. N. (2010): „Doripenem: a new carbapenem antibiotic“. In: *American Journal of Health-System Pharmacy*. 67 (23), S. 2015-2024.
- 18 Cirillo, I.; Mannens, G.; Janssen, C. (2008): „Disposition, metabolism, and excretion of [¹⁴C]doripenem after a single 500-milligram intravenous infusion in healthy men“. In: *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 52 (10), S. 3478-3483.
- 19 Samtani, M. N.; Flamm, R.; Kaniga, K. (2010): „Pharmacokinetic-pharmacodynamic-model-guided doripenem dosing in critically ill patients“. In: *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 54 (6), S. 2360-2364.
- 20 Gaddum, J. H. (1961): „Push-Pull cannulae“. In: *Journal of Physiology*. 155, S. 1-2.
- 21 Delgado, J. M.; DeFeudis, F. V.; Roth, R. H.; Ryugo, D. K.; Mitruka, B. M. (1972): „Dialytrode for long term intracerebral perfusion in awake monkeys“. In: *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*. 198, S. 9-21.
- 22 Plock, NeleKloft, Charlotte (2005): „Microdialysis—theoretical background and recent implementation in applied life-sciences“. In: *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 25 (1), S. 1-24.
- 23 Kova, Andreas; Nolting, Arno; Derendorf, Hartmut (1997): „Mikrodialyse zur Bestimmung freier Arzneistoffe in Geweben“. In: *Pharmazie in Unserer Zeit*. 26 (1), S. 17-23

-
- 24 Chahine, E.; Ferrill, M.; Poulakos, M. (2008): „Doripenem (Doribax)—a new parenteral carbapenem“. In: *Obstetrics & Gynecology*. 111 (5), S. 1206-1207
- 25 Nakamura, Kogenta; Ikawa, Kazuro; Yamada, Yoshiaki u. a. (2012): „Determination of doripenem penetration into human prostate tissue and assessment of dosing regimens for prostatitis based on site-specific pharmacokinetic–pharmacodynamic evaluation“. In: *Journal of Chemotherapy*. 24 (1), S. 32-37.
- 26 European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. 2014. *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, version 4.0*. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/Breakpoint_table_v_4.0.pdf.
- 27 Abgerufen am 27. 01. 2017 von http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/000891/WC500037149.pdf.