



Fyzikálně-chemické vlastnosti kolistinu a jejich dopady do klinické praxe

Jitka Rychlíčková^{1,2}, Vendula Kubíčková³

¹Farmakologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

²International Clinical Research Center, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně

³Ústav farmakologie, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého, Olomouc

Kolistin je úzkospektré baktericidní antibiotikum ze skupiny lipopeptidů, účinné pouze proti gram-negativním patogenům. Pacientům je podáván ve formě proléčiva – kolistin methansulfonátu, jehož spontánní hydrolýzou dochází k uvolnění vlastního účinného kolistinu. Stabilita kolistin methansulfonátu je závislá na koncentraci, teplotě, pH i složení nosného roztoku. V klinické praxi pak jeho stabilita sehrává roli v případě inhalačního či intravenózního podávání; v případě terapeutického monitorování léčiv je zásadní správné uchovávání vzorků a zvolený typ zkumavek a laboratorních pomůcek. Cílem tohoto přehledového článku je upozornit na jednotlivé rizikové momenty používání kolistinu a jeho terapeutického monitorování.

Klíčová slova: kolistin, stabilita, nebulizace, adsorpce, LC-MS.

Physico-chemical properties of colistin and their impact on clinical practice

Colistin, a lipopeptide antibacterial agent, has a narrow-spectrum bactericidal activity only against gram-negative bacteria. It is administered as an inactive prodrug – colistin methanesulphonate, which is spontaneously converted to the active colistin. Its stability is concentration-,

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORKY: PharmDr. Jitka Rychlíčková, Ph.D., BCPS, rychlickova@med.muni.cz
Farmakologický ústav LF MU
Kamenice 753/5, Brno, 625 00

Převzato z: Klin Farmakol Farm 2022;36(1):29-33

Článek přijat redakcí: 31. 1. 2021

Článek přijat k publikaci: 21. 3. 2022



temperature-, and pH-dependent; moreover, the type of the carrier solution also plays a role. The stability of the colistin prodrug solutions has several implications for clinical practice, whether in intravenous or inhalation administration. Appropriate storage and properly selected type of test tubes and laboratory equipment are essential in therapeutic drug monitoring procedures. The aim of this paper is to emphasize several aspects for safe and effective colistin use and therapeutic monitoring.

Key words: colistin, stability, nebulization, adsorption, LC-MS.

Úvod

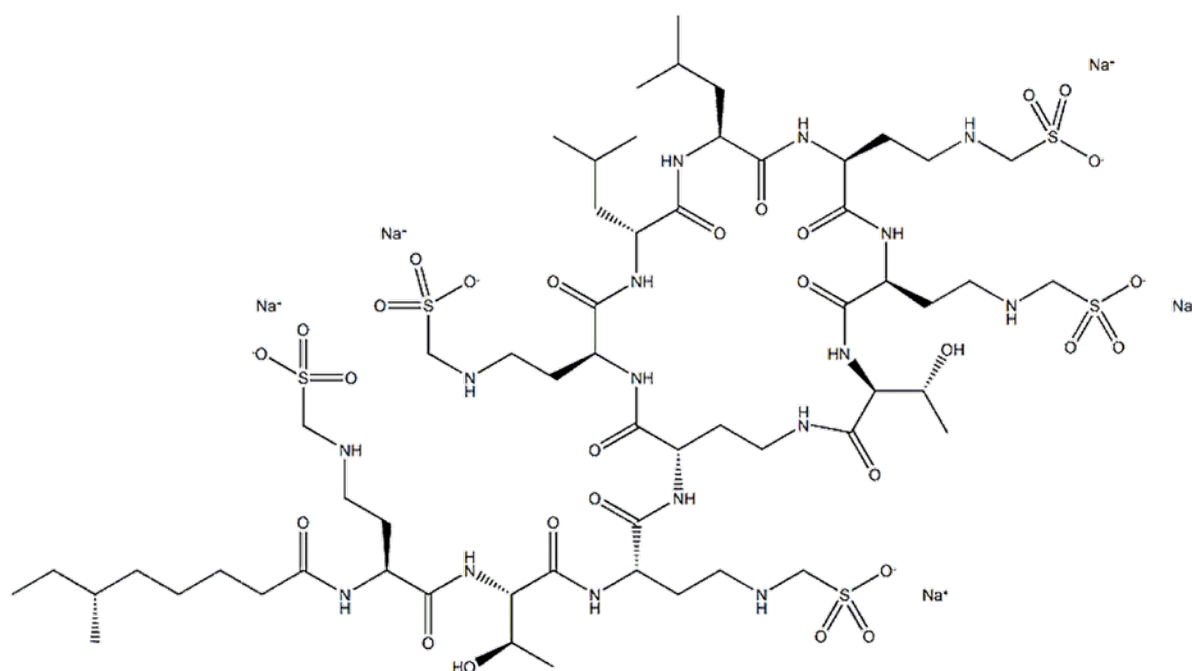
Lipopeptidová antibiotika, polymyxin B a kolistin, představují výjimečně účinná antibiotika v terapii infekcí způsobených multirezistentními gram-negativními patogeny jako *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Klebsiella pneumoniae*. Aktuálně se jejich použití v klinické praxi, navzdory jejich stáří, stává čím dál častější – především s ohledem na vývoj rezistence a chybějící nová léčiva. Mechanismus účinku kolistinu (resp. obou polymyxinů) stále není zcela objasněn. Jedním z předpokládaných mechanismů rychlého antimikrobiálního účinku je destabilizace vnější membrány gram-negativních patogenů probíhající dvoustupňově (interakce pozitivně nabitě molekuly kolistinu s negativně nabitou membránou, kompetitivní odstranění dvojmocných iontů z povrchových lipopolysacharidů vnější membrány gram-negativních bakterií a její destabilizace), leč nezávisle na metabolické aktivitě bakterie (1, 2). Vedle tohoto efektu kolistinu stojí další teorie – neutralizace bakteriálních endotoxinů, indukovaná fúze vnější a vnitřní membrány bakterií spojená se ztrátou její funkce, nebo oxidační stres (3–5). Nicméně většina zmíněných mechanismů úzce souvisí s fyzikálně-chemickými vlastnostmi molekuly kolistinu.

Z chemického hlediska je kolistin pozitivně nabitá amfifilní lipopeptidová molekula sestávající z několika částí – cyklický heptapeptid spojený

tripeptidovým můstkem s mastnou kyselinou (1). Odtud tedy zařazení mezi lipopeptidová (někdy i polypeptidová) antibiotika (2). Nejznámější a v praxi používané soli kolistinu jsou dvě následující – kolistin sulfát a kolistin methansulfonát. V České republice je aktuálně obchodován právě kolistin methansulfonát (neboli kolistimethát sodný; CMS) indikovaný pro intravenózní a inhalační podání. CMS je antimikrobiálně zcela neaktivní pro léčivo vzniklé připojením pěti sulfomethylových skupin k primárním aminům molekuly kolistinu (viz obrázek 1) (1). Cílem této úpravy byla redukce toxicity kolistinu (6). Hydrolýzou CMS vznikají parciálně sulfomethylované metabolity, které rovněž nemají vlastní antimikrobiální účinek; až odštěpením všech pěti sulfomethylových jednotek je získán antimikrobiálně účinný kolistin. CMS má na rozdíl od kolistinu celkově negativní povrchový náboj a s každým odštěpeným sulfomethylovým substituentem se molekula stává kladněji nabitá, tedy za fyziologického pH.

Stabilita CMS, její význam pro praxi a faktory ovlivňující stabilitu

CMS byl syntetizován s cílem redukce nežádoucích účinků kolistinu (nephrotoxicity, neurotoxicity, ototoxicity), resp. jeho dráždivosti v dýchacích cestách při nebulizaci (6, 7). Přeměna CMS na vlastní účinný kolistin je na

Obr. 1. Struktura kolistin methansulfonátu (CMS)

jedné straně žádoucí, neboť jedině tak můžeme využít antimikrobiálního účinku; na druhé straně ale předčasná aktivace proléčiva kompromituje výše uvedený záměr redukce nežádoucích účinků, případně stojí za dalšími problémy. Příkladem může být kazuistika mladé pacientky s cystickou fibrózou, u níž došlo k rozvoji syndromu akutní dechové tísně (ARDS, acute respiratory distress syndrome). Jako pravděpodobná příčina byl identifikován lékárnou připravený premix CMS určený k nebulizaci, ve kterém došlo s ohledem na délku uchovávání před vlastním použitím (uvedeno 5 týdnů) ke spontánní hydrolyze CMS na kolistin (8). FDA pak vydala doporučení k používání pouze čerstvě upravených roztoků. Dalším příkladem je potřeba ověřování stability CMS v infuzním roztoku jednak v kontextu potenciálního použití kontinuální infuze v nemocničním prostředí, jednak pro případ ambulantní antibiotické terapie, kdy je pacient

vybaven premixem infuzního roztoku CMS například v elastomerické pumpě. V neposlední řadě nezapomínejme na riziko in vitro degradace CMS a falešný nárůst koncentrací kolistinu ve vzorcích odebraných pro jeho stanovení. Rizikové jsou pochopitelně vzorky, kde je přítomnost CMS očekávatelná s ohledem na jeho biologický poločas, a také vzorky, které nejsou analyzovány ihned po odběru.

Přeměna CMS na kolistin probíhá ve vodných roztocích spontánně, hydrolyzou. Její rychlost se odvíjí od celé řady faktorů – koncentrace CMS v roztoku, složení a pH roztoku, teplota prostředí, případně i materiál zku-mavek/infuzních obalů. Právě závislost stability CMS na koncentraci a zcela rozdílné koncentrace roztoků CMS ve třech výše nastíněných klinických situacích (roztok pro nebulizaci, infuzní roztok a vzorky plazmy) jsou důvo-dem, proč se stabilitním datům a dalším fyzikálními vlastnostem budeme nadále věnovat v návaznosti na konkrétní účel použití.

Stabilita a další fyzikálně-chemické vlastnosti roztoku CMS pro inhalační podání, důsledky pro klinickou praxi

Inhalační podání CMS je dlouhodobě zavedeno v léčbě infekcí způsobených *Pseudomonas aeruginosa* u pacientů s cystickou fibrózou, nicméně postupně získává na popularitě i v terapii ventilátorových pneumonií způsobených multirezistentními gram-negativními patogeny. Koncentrace roztoků pro nebulizaci se při obvyklém dávkování 1–2 MIU (miliony meziná-rodních jednotek) CMS ředěných do 3 ml resp. 6 ml fyziologického roztoku (FR) pohybují kolem 26 mg/ml, tedy řádově 1 000x výše než koncentrace plazmatické. Existují ale práce popisující podání vyšších dávek: 4 MIU po 8 hodinách (ředění nespecifikováno), 5 MIU po 8 hodinách (40 mg/ml CMS ve vodě pro injekci) (9, 10).



Stabilitou roztoku CMS pro nebulizaci se v návaznosti na doporučení FDA podmíněné případem rozvoje ARDS po podání premixu CMS zabývaly následující dvě práce. Obě práce používaly prakticky srovnatelnou koncentraci roztoku CMS – 77,5 mg/ml ve vodě a FR (11), resp. 75 mg/ml CMS ve sterilní vodě (12) a v obou pracích byla prokázána výborná stabilita CMS v roztoku s méně než 1 % formovaného kolistinu po celou dobu sledování – po dobu 24 hodin při 21 °C (12), resp. po dobu 1 roku při 4 °C a 25 °C v temnu (11). K oběma pracím je třeba ale podotknout, že koncentrace CMS byla vyšší než standardně používaná a že stabilita ve FR, který je oficiálně doporučovaný jako nosný roztok pro nebulizaci, je nižší (viz níže) (13). Přenositelnost těchto výsledků do praxe je tudíž limitovaná a i z hlediska mikrobiologické stability je žádoucí používat čerstvě upravené roztoky.

V rámci volby nosného roztoku je na místě vedle vlivu na stabilitu připomenout změny osmolality, které se odvíjejí od použitého roztoku a které mohou ovlivnit toleranci nebulizace. Dodd a kol. sledoval objektivně měřené změny plicních funkcí a subjektivní vjemy spojené s inhalačním podáním hypotonického (nosným roztokem sterilní voda), izotonického (voda a FR 1 : 1) a hypertonického roztoku (FR) CMS v dávce 2 MIU u dospělých pacientů s cystickou fibrózou. Po aplikaci všech roztoků došlo k podobnému poklesu FEV1 (forced expiratory volume in one second; usilovně vydechnutý objem za první sekundu), lišil se ale čas, kdy k maximálnímu poklesu došlo – nejrychlejší nástup změn byl pozorován u hypertonického roztoku, nejpomalejší pak u roztoku hypotonického; stejně tak byl hypertonický roztok pacienty nejméně preferovanou formou (14). Navozená bronchokonstrikce je dávana do souvislosti právě s tonicitou roztoku pro nebulizaci, nicméně nezapomínejme na detergenční vlastnosti molekuly

kolistinu, které mohou rovněž stát za degranulací mastocytů (15, 16). O to významněji ve vyšších dávkách.

S vyššími inhalačními dávkami CMS souvisí také praktické aspekty – objem komůrek pro nebulizační roztok, jenž je zpravidla limitován na 10 ml či ještě méně. Při doporučeném ředění 1 MIU CMS do 3 ml FR může aplikace vyšších dávek vyžadovat rozdělení aplikace jedné dávky do více bolusů, čímž se prodlužuje také čas aplikace ev. roste riziko podání nesprávné dávky. Řešením může být použití menšího objemu nosného roztoku; vyšší koncentrace nepředstavuje riziko z hlediska stability CMS, ale s rostoucí koncentrací CMS dochází ke změně fyzikálních vlastností roztoku (hlavně viskozity) a mění se tak i vlastnosti pro tvorbu aerosolu. Bihan a kol. porovnával standardní ředění 4 MIU CMS ve 12 ml (26 mg/ml) a experimentální ředění 4 MIU CMS v 6 ml FR (53 mg/ml), a to jak ve smyslu charakteru produkováných částic, tak ve smyslu změn farmakokinetiky. U koncentrovanějšího roztoku byla zpočátku pozorována větší velikost generovaných částic, nicméně stále v limitu, který umožňuje depozici v distálních dýchacích cestách. Také celková délka nebulizace byla významně kratší u koncentrovanějšího roztoku. Farmakokinetika CMS a kolistinu se naopak s ředěním nezměnila (13). S ohledem na velmi dobrou rozpustnost CMS, koncentrační závislost stability a obdobnou kinetiku může nižší objem nosného roztoku představovat praktické řešení pro účelné dávkování nebulizace.

Stabilita roztoku CMS pro intravenózní podání, důsledky pro klinickou praxi

Optimální dávkování intravenózního kolistinu je stále předmětem výzkumu. Doporučené udržovací dávky jsou u pacientů s normálními



renálními funkcemi 9–10,9 MIU denně rozdělené do dvou resp. třech dávek; u kriticky nemocných je pak doporučována sytící dávka 9 MIU (17, 18). Dávka je pak obvykle rekonstituovaná do 50 ml FR (v perfuzorové stříkačce). Koncentrace roztoků CMS pro intravenózní podání je tak přibližně 4,8–14,4 mg/ml (řádově 1000× výše než koncentrace plazmatické, násobně nižší než v roztocích pro nebulizaci). Kolistin je také (hlavně v zahraničí) připravován lékárnou pro ambulantní/domácí použití do elastomerických pump či do infuzních vaků (zpravidla s větším objemem než perfuzorová stříkačka) a pro odložené použití.

Stabilitní data CMS pro infuzní podání jsou dostupná, nicméně dostatečně nereflektují rozptyl koncentrací, materiálů infuzních obalů a faktorů vnějšího prostředí, které v klinické praxi podání CMS doprovázejí. Wallace a kol. testuje stabilitu CMS v koncentraci 4 mg/ml ve FR i v 5% glukóze v infuzním vaku uchovávaném v temnu při teplotě 4 °C a 21 °C. V obou nosných roztocích dochází k postupnému nárůstu koncentrací kolistinu; během 48 hodin spontánně konvertují přibližně 4 % CMS při vyšší teplotě, zatímco při nižší teplotě je to pouze 0,3 % (11). Během 12–24 hodin po naředění, tedy v časech, které kopírují potenciální délku jedné infuze při kontinuálním podání, degradují na kolistin při pokojové teplotě přibližně 2–3 % (11). Abdulla a kol. a Post a kol. sledovali stabilitu CMS v elastomerických pumpách pro ambulantní pacienty, tedy v odlišném materiálu a současně při nižších koncentracích – 0,8 mg/ml (19), resp. 0,8 mg/ml, 1,6 mg/ml a 2,4 mg/ml (20). Nicméně Post a kol. díky použití gradientu koncentrací dokazuje vztah stability a koncentrace – k největší konverzi CMS docházelo u roztoku s nejnižší koncentrací (3,7 % CMS hydrolyzovalo v průběhu 8denního uchovávání při 20 °C a na světle vs. 2,6 % a 2,3 % u vyšších koncentrací). V práci Posta a kol. byla ale ještě navíc sledována

stabilita CMS v infuzním vaku (2 MIU CMS ve 100 ml FR; 1,6 mg/ml) (20). Právě zde docházelo k nejnižší degradaci CMS v průběhu 8denního sledování v porovnání se všemi koncentracemi použitými v elastomerických pumpách (při 4 °C resp. 20 °C byl podíl formovaného kolistinu 1,7 % resp. 2,1 %) (20).

Pro klinickou praxi mají stabilitní data význam především v případě potenciálního použití kontinuálních infuzí. Tento způsob podání prozatím nemá silnou oporu v publikacích (21, 22), nicméně teoretický předpoklad založený na farmakokineticko-farmakodynamické (PK/PD) a bezpečnostní charakteristice kolistinu by tento způsob podání opodstatňoval. Na druhé straně nebyl v tomto omezeném souboru pozorován protektivní efekt kontinuálních infuzí ve smyslu redukce nefrotoxicity ani lepšího terapeutického efektu (22). Stejně tak lze pouze spekulovat o klinických dopadech nitrožilního podání vzniklého kolistinu.

Stabilita CMS ve vzorcích pro terapeutické monitorování, důsledky pro klinickou praxi

Plazmatické koncentrace CMS se pohybují v rozmezí 0–50 mg/l; z dostupných dat jsou píkové koncentrace zpravidla 10–20 mg/l (23, 24). Nicméně je třeba mít na paměti, že CMS je pouze proléčivo a vlastní antimikrobiální efekt je vázaný na kolistin. Plazmatické koncentrace kolistinu se v dostupné literatuře pohybují v širokém rozmezí 0–13 mg/l (24–26), nicméně cílová průměrná koncentrace v ustáleném stavu cSS, average by měla odpovídat přibližně 2 mg/l (17). Problematická může být in vitro degradace CMS na kolistin v průběhu uchovávání vzorků před analýzou, která pak vede k falešně vyšším detekovaným hodnotám. Logickým dů-



sledkem pak může být neúčelné snížení dávek antibiotika s cílem prevence na dávce závislých nežádoucích účinků.

Stabilitou CMS a kolistinu v klinicky relevantních koncentracích se zabýval Dudhani a kol. V jeho experimentu byly připraveny tři typy vzorků – kolistin v koncentraci 1,7 mg/l a CMS 2 mg/l a 30 mg/l v plazmě s pH 7,4; vzorky byly dále uchovávány při -20 °C, -70 °C a -80 °C (27). Koncentrace CMS v obou typech vzorků zůstávala při nižších teplotách stabilní po dobu 4 měsíců; ovšem při -20 °C docházelo k významné degradaci na kolistin – po dvou měsících uchovávání poklesla hodnota CMS o více než 26 % (v případě 2 mg/l) a současně se objevila měřitelná hladina de novo formovaného kolistinu (přibližně 0,4 mg/l); stabilita CMS ve vyšší koncentraci byla lepší. Co se týká stability kolistinu, tedy samotného analytu, na nějž je vázán farmakologický účinek, opět je zde zřejmá teplotní závislost – při -70 °C a -80 °C nepřesahuje degradace kolistinu po dobu 6–8 měsíců 7 %, zatímco při -20 °C byl obdobný rozsah degradace pozorován už po jednom měsíci. Podobná data publikoval Gobin a kolektiv (28). Na základě těchto výsledků je tedy zřejmé, že uchovávání vzorků při -20 °C není vhodné a i při uchovávání při -80 °C (resp. -70 °C) by analýza měla být provedena do 4 měsíců od odběru (27).

Praktickou otázkou je stabilita CMS a kolistinu v případě rozmrazení vzorku. Z dostupných dat vyplývá zachování stability při dvou (28), resp. třech (pouze kolistin) cyklech zmrazení/rozmrazení (29, 30). Obecně CMS je v roztoku méně stabilní než kolistin, proto by při zpracování vzorků, kde je přítomnost CMS očekávatelná, měl být počet rozmrazení minimalizován. To souvisí i s transportem vzorků do analytické laboratoře. Při ponechání vzorku plazmy s CMS při pokojové teplotě dochází v řádu jednotek hodin k významnému vzestupu koncentrací de novo formovaného kolistinu (28).

Za zmínku ještě stojí potenciál adsorpce kolistinu na některé plasty, především polystyren; naopak polypropylen vykazuje nižší riziko adsorpce (31). Příčinou jsou opět fyzikálně-chemické vlastnosti kolistinu, hlavně amfifilní charakter a pozitivní náboj jeho molekuly a rizikovým faktorem je práce se vzorkem v kapalném skupenství, počet expozic novým, nesaturovaným povrchům a koncentrace kolistinu (31). Jev adsorpce tak mohl a může sehrávat roli při určování MIC bakterií a stanovování PK/PD cílů a v kinetických studiích využívajících mikrodialýzu, či materiál získaný bronchoalveolární laváží. Při zpracovávání plazmy nebo séra preventují obsažené proteiny adsorpci kolistinu na plastové povrchy (31).

Metody stanovení kolistinu a kolistin methansulfonátu

Bylo publikováno mnoho metod pro kvantifikaci kolistinu v biologické matrici, zahrnující chromatografii na tenké vrstvě, imunologické či mikrobiologické metody nebo kapilární elektroforézu. Uvedené metody však postrádají citlivost a selektivitu a jsou časově náročné. Optimální analytická metoda by měla být rychlá, jednoduchá, přesná a dostatečně citlivá. Tyto podmínky v současnosti nejlépe splňuje spojení kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí (LC-MS), o čemž svědčí i nedávno publikované metodiky (32, 33). Kolistin, také známý jako polymyxin E, je komplexní směs několika složek, z nichž dvě hlavní jsou kolistin A (polymyxin E1) a kolistin B (polymyxin E2). Při měření koncentrací kolistinu jsou stanovovány právě tyto dvě hlavní složky (2). Jak již bylo zmíněno, kolistin je podáván ve formě CMS. Vzhledem k nestabilitě molekuly CMS je prodrug stanovován nepřímo kyselou hydrolýzou příslušných vzorků a následným stanovením kolistinu (28, 32).



Metody LC-MS/MS často využívají různé analytické kolony, mobilní fáze a chromatografické podmínky s cílem zkrátit dobu analýzy, zlepšit tvar píku či detekovat analyt při nízkých koncentracích. Ve většině metod pro detekci kolistinu byly pro chromatografickou separaci využity kolony C18, jako mobilní fáze voda a acetonitril obsahující 0,1 % kyseliny mravenčí a jako interní standard polymyxin B (32, 33). Většina metod také uvádí ionizaci elektrosprejem (ESI) v pozitivním módu. Prekursorové molekulární ionty colistinu mohou být jednou až trojnásobně nabitě jako: $[M+H]^+$, $[M+2H]^{2+}$ a $[M+3H]^{3+}$, při m/z 1 170, 586, 391 pro kolistin A a 1 156, 579, 386 pro kolistin B. Produktové ionty spolu s přehledem vybraných metod jsou uvedeny v Tabulce 1 (28, 34–42). Stanovení colistinu z biologické matrice metodou kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí je přesné a rychlé s vysokou citlivostí a specificitou.

Závěr

Kolistin je úzkospektré baktericidní lipopeptidové antibiotikum zachovávající si účinnost vůči gram-negativním patogenům, díky čemuž se vrací do klinického použití. Je nositelem unikátních fyzikálně-chemických vlastností, které podmiňují nejen jeho mechanismus účinku a toxicitu, ale je třeba je zohlednit i v podmínkách laboratoře či při úpravě léčiva do aplikační formy. Rizikem je vždy předčasná konverze proléčiva na kolistin a s tím související riziko nežádoucích účinků či zkreslení koncentrace analytu při terapeutickém monitorování léčiv. Terapeutické monitorování léčiv je v případě kolistinu žádoucí modalitou, kterou lze zajistit pomocí dostupných LC-MS metod a která může pomoci zlepšit poměr benefitů a rizik spojených s podáním tohoto antibiotika.

Tato práce je podpořena grantem Verification of colistin adsorption on the ECMO circuit (DSGC-2021-0179) v rámci projektu OP VVV "Zkvalitnění schémat Doktorské studentské grantové soutěže a jejich pilotní implementace", reg.č. CZ.02.2.69/0.0/0.0/19_073/0016713.

Tab. 1. Přehled vybraných LC-MS metod pro stanovení kolistinu a CMS

Typ kolony	IS	MF		Eluce	Doba analýzy [min]	Iontový přechod	m/z		Zdroj
		A	B				kolistin A	kolistin B	
Xbridge C18 (150 × 2,1 mm; 5 μm)	polymyxin B	0,1% kyselina mravenčí ve vodě	0,1% kyselina mravenčí v ACN	isokratická A : B (80 : 20)	3,8	pozitiv	585,5 → 101,2	578,5 → 101,2	[28]
Xbridge BEH-Amide (50 × 2,1 mm; 2,5 μm) HILIC	×	0,1% kyselina mravenčí v ACN	0,1% kyselina mravenčí ve vodě	gradientová	12	pozitiv	390,7 → 100,9	386,0 → 100,9	[34]



Synergi Fusion RP C18 (150 × 2 mm; 4 μm)	polymyxin B	0,1% kyselina mravenčí vodě	0,1% kyselina mravenčí v ACN	gradientová	11	pozitiv	585,7 → 101,1; 202,3; 241,3	578,7 → 101,1; 202,3; 227,3	[35]
Kinetex C18 (50 × 3 mm; 2,6 μm)	polymyxin B	0,1% kyselina mravenčí ve vodě	0,1% kyselina mravenčí v ACN	gradientová	6	pozitiv	585,5 → 101,1; 241,1	578,5 → 101,1; 227,2	[36]
Acquity UPLC BEH C18 (100 × 2,1 mm; 1,7 μm)	×	0,2% kyselina mravenčí a 5% ACN ve vodě	ACN	gradientová	10	pozitiv	390,60 → 101,07; 241,19	385,90 → 101,07; 227,17	[37]
Atlantis dC18 (100 × 2,1 mm; 3 μm)	klarithromycin	voda	0,2% kyselina mravenčí v ACN	isokratická A : B (50 : 50)	4	pozitiv	585,6 → 101,4	578,7 → 101,3	[38]
Kinetex XB-C18 (100 × 2,1 mm; 2,6 μm)	polymyxin B	ACN : MeOH (1 : 1)	0,1% kyselina mravenčí ve vodě	gradientová	3,5	pozitiv	390,7 → 101,3	386,0 → 101,2	[39]
MassTox	polymyxin B	0,1% kyselina mravenčí ve vodě	0,1% kyselina mravenčí v MeOH	gradientová	3,5	pozitiv	585,5 → 534,9; 576	578,5 → 527,9; 568,9	[40]
Acquity UPLC C18 (150 × 4,6 mm; 3,5 μm)	polymyxin B	0,1% kyselina mravenčí ve vodě	0,1% kyselina mravenčí v ACN	gradientová	2,5	pozitiv	390,9 → 385,1	386,2 → 101,0	[41]
Acquity UPLC BEH C18 (50 × 2,1 mm; 1,7 μm)	sulphadiazin 13C6	0,1% kyselina mravenčí ve vodě	0,1% kyselina mravenčí v ACN	gradientová	3,5	pozitiv	390,8 → 86,1; 101,0	386,0 → 86,0; 101,1	[42]
						negativ	1 167,8 → 1 079,4; 1124,1	1 153,7 → 1 065,8; 1 110,0	

IS – interní standard; MF – mobilní fáze; ACN – acetonitril; MeOH – methanol; x – není specifikováno nebo není použito



LITERATURA

1. Bergen PJ, Li J, Rayner CR, Nation RL. Colistin methanesulfonate is an inactive prodrug of colistin against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50(6):1953-1958.
2. Bialvaei AZ, Samadi Kafil H. Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Curr Med Res Opin*. 2015;31(4):707-721.
3. Warren HS, Kania SA, Siber GR. Binding and neutralization of bacterial lipopolysaccharide by colistin nonapeptide. *Antimicrob Agents Chemother*. 1985;28(1):107-112.
4. Velkov T, Thompson PE, Nation RL, Li J. Structure--activity relationships of polymyxin antibiotics. *J Med Chem*. 2010;53(5):1898-1916.
5. Sampson TR, Liu X, Schroeder MR, Kraft CS, Burd EM, Weiss DS. Rapid killing of *Acinetobacter baumannii* by polymyxins is mediated by a hydroxyl radical death pathway. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(11):5642-5649.
6. Ehrentauf SF, Muenster S, Kreyer S et al. Extensive Therapeutic Drug Monitoring of Colistin in Critically Ill Patients Reveals Undetected Risks. *Microorganisms*. 2020;8(3):415.
7. Westerman EM, Le Brun PP, Touw DJ, Frijlink HW, Heijerman HG. Effect of nebulized colistin sulphate and colistin sulphomethate on lung function in patients with cystic fibrosis: a pilot study. *J Cyst Fibros*. 2004;3(1):23-28.
8. McCoy KS. Compounded colistimethate as possible cause of fatal acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2007;357(22):2310-2311.
9. Abdellatif S, Trifi A, Daly F, Mahjoub K, Nasri R, Ben Lakhal S. Efficacy and toxicity of aerosolised colistin in ventilator-associated pneumonia: a prospective, randomised trial. *Ann Intensive Care*. 2016;6(1):26.
10. Lu Q, Luo R, Bodin L et al. Efficacy of high-dose nebulized colistin in ventilator-associated pneumonia caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Anesthesiology*. 2012;117(6):1335-1347.
11. Wallace SJ, Li J, Rayner CR, Coulthard K, Nation RL. Stability of colistin methanesulfonate in pharmaceutical products and solutions for administration to patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52(9):3047-3051.
12. Healan AM, Gray W, Fuchs EJ, Griffiss JM, Salata RA, Blumer J. Stability of colistimethate sodium in aqueous solution. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(12):6432-6433.
13. Bihan K, Zahr N, Becquemin MH et al. Influence of diluent volume of colistimethate sodium on aerosol characteristics and pharmacokinetics in ventilator-associated pneumonia caused by MDR bacteria. *J Antimicrob Chemother*. 2018;73(6):1639-1646.
14. Dodd ME, Abbott J, Maddison J, Moorcroft AJ, Webb AK. Effect of tonicity of nebulised colistin on chest tightness and pulmonary function in adults with cystic fibrosis. *Thorax*. 1997;52(7):656-658.
15. Schoeffel RE, Anderson SD, Altounyan RE. Bronchial hyperreactivity in response to inhalation of ultrasonically nebulised solutions of distilled water and saline. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1981;283(6302):1285-1287.
16. Boisson M, Jacobs M, Grégoire N et al. Comparison of intrapulmonary and systemic pharmacokinetics of colistin methanesulfonate (CMS) and colistin after aerosol delivery and intravenous administration of CMS in critically ill patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(12):7331-7339.
17. Tsuji BT, Pogue JM, Zavascki AP et al. International Consensus Guidelines for the Optimal Use of the Polymyxins: Endorsed by the American College of Clinical Pharmacy (ACCP), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), Infectious Diseases Society of America (IDSA), International Society for Anti-infective Pharmacology (ISAP), Society of Critical Care Medicine (SCCM), and Society of Infectious Diseases Pharmacists (SIDP). *Pharmacotherapy*. 2019;39(1):10-39.
18. Colomycin. Souhrn údajů o přípravku. Státní ústav pro kontrolu léčiv [online]. [cit. 2022-01-19]. Dostupné z: <https://www.sukl.cz>.
19. Abdulla A, van Leeuwen RWF, de Vries Schultink AHM. Stability of colistimethate sodium in a disposable elastomeric infusion device. *Int J Pharm*. 2015;486:367-369.
20. Post TE, Kamerling IMC, van Rossen RCJM et al. Colistin methanesulfonate infusion solutions are stable over time and suitable for home administration. *European Journal of Hospital Pharmacy*. 2018;25:337-339.
21. Michalopoulos A, Kasiakou SK, Rosmarakis ES, Falagas ME. Cure of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteraemia with continuous intravenous infusion of colistin. *Scand J Infect Dis*. 2005;37(2):142-145.
22. Kassamali Z, Curello J, Gregson A. Comparison of continuous versus intermittent intravenous infusion of colistimethate sodium (colistin) for treatment of carbapenem-resistant gram negative bacterial infections. 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2012, April 9-12. Amsterdam, Netherlands.
23. Plachouras D, Karvanen M, Friberg LE et al. Population pharmacokinetic analysis of colistin methanesulfonate and colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(8):3430-3436.
24. Mohamed AF, Karaikos I, Plachouras D et al. Application of a loading dose of colistin methanesulfonate in critically ill patients: population pharmacokinetics, protein binding, and prediction of bacterial kill. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(8):4241-4249.



25. Markou N, Markantonis SL, Dimitrakis E et al. Colistin serum concentrations after intravenous administration in critically ill patients with serious multidrug-resistant, gram-negative bacilli infections: a prospective, open-label, uncontrolled study. *Clin Ther.* 2008;30(1):143-151.
26. Menna P, Salvatorelli E, Mattei A, Cappiello D, Minotti G, Carassiti M. Modified Colistin Regimen for Critically Ill Patients with Acute Renal Impairment and Continuous Renal Replacement Therapy. *Chemotherapy.* 2018;63(1):35-38.
27. Dudhani RV, Nation RL, Li J. Evaluating the stability of colistin and colistin methanesulphonate in human plasma under different conditions of storage. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(7):1412-1415.
28. Gobin P, Lemaître F, Marchand S, Couet W, Olivier JC. Assay of colistin and colistin methanesulphonate in plasma and urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(5):1941-1948.
29. Hanai Y, Matsuo K, Kosugi T et al. Rapid, simple, and clinically applicable high-performance liquid chromatography method for clinical determination of plasma colistin concentrations. *J Pharm Health Care Sci.* 2018;4(22).
30. Binhashim NH, Alvi SN, Hammami MM. LC-MS/MS Method for Determination of Colistin in Human Plasma: Validation and Stability Studies. *International Journal of Analytical Mass Spectrometry and Chromatography.* 2021;9(1).
31. Karvanen M, Malmberg C, Lagerbäck P, Friberg LE, Cars O. Colistin Is Extensively Lost during Standard In Vitro Experimental Conditions. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(11):e00857-17.
32. Dagla I, Karkoula E, Baira E, Tsarbopoulos A, Gikas E. Analytical methodologies used for the determination of colistin in biological fluids. Is it still a challenge? *J Pharmaceut Biomed.* 2019;164:777-788.
33. Zabidi MS, Abu Bakar R, Musa N, Wan Yusuf WN. Analytical methodologies for measuring colistin levels in pharmacokinetic studies. *J Liq Chromatogr Relat.* 2020;43:671-686.
34. Qi B, Gijzen M, Van Brantegem P, De Vocht T, Deferm N, Abza GB, Nauwelaerts N, Wauters J, Spriet I, Annaert P. Quantitative determination of colistin A/B and colistin methan-

esulfonate in biological samples using hydrophilic interaction chromatography tandem mass spectrometry. *Drug Test Anal.* 2020;12:1183-1195.

35. Leporati M, Bua RO, Mariano F, Carignano P, Stella M, Biancone L, Vincenti M. Determination by LC-MS/MS of Colistins A and B in Plasma and Ultrafiltrate From Critically Ill Patients Undergoing Continuous Venovenous Hemodiafiltration. *Ther Drug Monit.* 2014;36(2):182-191.

36. Yuan H, Yu S, Chai G, Liu J, Zhou Q (Tony). A LC-MS/MS method for simultaneous analysis of the cystic fibrosis therapeutic drugs colistin, ivacaftor and ciprofloxacin. *J Pharm Anal.* 2021;11(6):732-738.

37. Peng C, Zuo S, Qiu Y, Fu S, Peng L. Determination of Colistin in Contents Derived from Gastrointestinal Tract of Feeding Treated Piglet and Broiler. *Antibiotics.* 2021;10(4):422.

38. Binhashim NH, Alvi SN, Hammami MM. LC-MS/MS Method for Determination of Colistin in Human Plasma: Validation and Stability Studies. *Int J Anal Mass Spectrom Chromatogr.* 2021;9:1-11.

39. Zhao M, Wu X-J, Fan Y-X, Guo B-N, Zhang J. Development and validation of a UHPLC-MS/MS assay for colistin methanesulphonate (CMS) and colistin in human plasma and urine using weak-cation exchange solid-phase extraction. *J Pharmaceut Biomed.* 2016;124:303-308.

40. Cangemi G, Barco S, Castagnola E, Tripodi G, Favata F, D'Avolio A. Development and validation of UHPLC-MS/MS methods for the quantification of colistin in plasma and dried plasma spots. *J Pharmaceut Biomed.* 2016;129:551-557.

41. Bihan K, Lu Q, Enjalbert M, Apparuit M, Langeron O, Rouby J-J, Funck-Brentano C, Zahr N. Determination of Colistin and Colistimethate Levels in Human Plasma and Urine by High-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Ther Drug Monit.* 2016;38(6):796-803.

42. Gaugain M, Raynaud A, Bourcier S, Verdon E, Hurtaud-Pessel D. Development of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method to determine colistin, bacitracin and virginiamycin M1 at cross-contamination levels in animal feed. *Food Addit Contam A.* 2021;38(9):1481-1494.