



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Penetration von Cefazolin und Linezolid in das Sternum
von Patienten nach intravenöser Verabreichung“

verfasst von

Mario Schwentenwein

angestrebter akademischer Grad

Magister der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2014

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Pharmazie

Betreut von:

Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Walter Jäger

Für Fynn und Lena

DANKSAGUNG

Die vorliegende Diplomarbeit entstand am Department für klinische Pharmazie und Diagnostik 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.

Frau Mag. Dr. Alexandra Maier-Salamon möchte ich für die Einführung bei den Arbeiten im Labor, für die Hilfsbereitschaft beim Schreiben der Arbeit und dem ausgezeichneten Arbeitsklima herzlich danken.

Zudem danke ich auch meiner Familie, die mir in der Studienzeit finanziell sowie moralisch den Rücken freigehalten haben. An dieser Stelle möchte ich mich bei Lena für ihr Verständnis bedanken, da sie mich auch in schweren Zeiten des Studiums ertragen musste.

Abschließend möchte ich mich bei all jenen Studienkollegen und Freunden bedanken, die mich während der Studienzeit unterstützt, kritisiert und motiviert haben.

INHALTSVERZEICHNIS

<u>1</u>	<u>PROBLEMSTELLUNG</u>	<u>1</u>
<u>2</u>	<u>EINLEITUNG</u>	<u>3</u>
2.1	POSTOPERATIVE MEDIASTITIS	3
2.1.1	INZIDENZ UND RISIKOFAKTOREN	5
2.1.2	MIKROBIELLE ÄTIOLOGIE	5
2.1.3	DIAGNOSE UND SYMPTOME	7
2.1.4	THERAPIE	7
2.2	CEFAZOLIN	10
2.2.1	WIRKMECHANISMUS	10
2.2.2	PHARMAKOKINETIK	12
2.3	LINEZOLID	13
2.3.1	WIRKUNGSMECHANISMUS	13
2.3.2	PHARMAKOKINETIK	15
2.4	MIKRODIALYSE	18
<u>3</u>	<u>EXPERIMENTELLER TEIL</u>	<u>20</u>
3.1	MATERIALIEN	20
3.1.1	CHEMIKALIEN	20
3.1.2	GERÄTE	20
3.2	METHODEN	21
3.2.1	PATIENTEN	21
3.2.2	IMPLANTATION DER MIKROSONDE	21
3.2.3	APPLIKATION DER ARZNEISTOFFE UND PROBENENTNAHME	22
3.2.4	PROBENAUFBEREITUNG	24
3.2.5	HPLC-SYSTEM	24
3.2.6	AUSWERTUNG	27
<u>4</u>	<u>ERGEBNISSE</u>	<u>29</u>

4.1	ERSTELLUNG EINES HPLC-SYSTEMS ZUR TRENNUNG VON CEFAZOLIN UND LINEZOLID AUS BIOLOGISCHER MATRIX	29
4.2	CEFAZOLIN	30
4.2.1	KONZENTRATIONS-ZEITPROFIL FÜR CEFAZOLIN IN PLASMA	31
4.2.2	KONZENTRATIONS-ZEITPROFIL VON CEFAZOLIN IN MIKRODIALYSAT	33
4.3	LINEZOLID	36
4.3.1	KONZENTRATIONS-ZEITPROFIL VON LINEZOLID IN PLASMA	36
4.3.2	KONZENTRATION VON LINEZOLID IN MIKRODIALYSAT	38
<u>5</u>	<u>DISKUSSION</u>	<u>41</u>
<u>6</u>	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	<u>45</u>
<u>7</u>	<u>TABELLENANHANG</u>	<u>46</u>
<u>8</u>	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	<u>52</u>

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Der Mittelfellraum (Mediastinum)	4
Abbildung 2: VAC (Vacuum-assisted-closure Therapy) Technik	8
Abbildung 3: Überlebensrate mit VAC-Behandlung bei einer Follow-up Studie nach Herzoperation und darauffolgender poststernalen Mediastinitis	9
Abbildung 4: Strukturformel von Cefazolin.....	10
Abbildung 5: Antibiotika und deren Angriffspunkte am Bakterium	11
Abbildung 6: Strukturformel von Linezolid	13
Abbildung 7: Linezolid blockiert die Eiweißproduktion im Ribosom von Bakterien	14
Abbildung 8: Metabolismus von Linezolid	16
Abbildung 9: Prinzip der Mikrodialyse. (A) unbewegliche Sonde, (B) Die gewünschten Moleküle passieren die semipermeable Membran und werden samt der Perfusionsflüssigkeit Richtung Abflussstelle transportiert.	18
Abbildung 10: Zeitlicher Gradientenverlauf für die Analyse von Cefazolin und Linezolid	25
Abbildung 11: Chromatogramm einer Kontrolllösung (80 % Methanol)	26
Abbildung 12: Chromatogramm einer Cefazolinlösung (5 µg/ml)	26
Abbildung 13: Chromatogramm einer Linezolidlösung (5 µg/ml)	27
Abbildung 14: Eichkurve für Cefazolin.....	28
Abbildung 15: Eichkurve für Linezolid.....	28
Abbildung 16: Chromatogramm einer Plasmaprobe vor Verabreichung von Linezolid und Cefazolin.....	29
Abbildung 17: Chromatogramm einer Plasmaprobe 2 Stunden nach Verabreichung von 4 g Cefazolin und 600 mg Linezolid.....	30
Abbildung 18: Konzentration von Cefazolin im Plasma.	31
Abbildung 19: Konzentration von Cefazolin in Mikrodialysat.	33
Abbildung 20: Linezolid-Konzentrationskurve im Plasma.....	36
Abbildung 21: Konzentration von Linezolid in Mikrodialysat	38

Abbildung 22: Vergleich der AU von Cefazolin in Plasma und Mikrodialysat.....	42
Abbildung 23: Vergleich der AUC von Linezolid in Plasma und Mikrodialysat.....	43

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Mikrobielle Ätiologie von postoperativer Mediastinitis	6
Tabelle 2: Gewebskonzentrationen von Linezolid in 12 Patienten nach einer Hüftoperation	15
Tabelle 3: Pharmakokinetische Parameter für Linezolid und dessen Hauptmetaboliten	17
Tabelle 4: Patientendaten	22
Tabelle 5: Zeitlicher Ablauf der Versuchsreihe	23
Tabelle 6: Parameter des HPLC-Systems	25
Tabelle 7: Konzentration von Cefazolin im Plasma	32
Tabelle 8: Konzentration (µg/ml) von Cefazolin im Mikrodialysat des Knochengewebes	35
Tabelle 9: Konzentration von Linezolid im Plasma	37
Tabelle 10: Konzentration (µg/ml) von Linezolid im Mikrodialysat des Knochengewebes	39
Tabelle 11: Cefazolinkonzentration (µg/ml) im Plasma der einzelnen Patienten	46
Tabelle 12: Cefazolinkonzentration (µg/ml) im Mikrodialysat (Abnahme:rechts) der einzelnen Patienten	47
Tabelle 13: Cefazolinkonzentration (µg/ml) im Mikrodialysat (Abnahme: links) der einzelnen Patienten	48
Tabelle 14: Linezolidkonzentration (µg/ml) im Plasma der einzelnen Patienten	49
Tabelle 15: Linezolidkonzentration (µg/ml) im Mikrodialysat (Abnahme: rechts) der einzelnen Patienten	50
Tabelle 16: Linezolidkonzentration (µg/ml) im Mikrodialysat (Abnahme: links) der einzelnen Patienten	51

1 PROBLEMSTELLUNG

Infektionen in Folge von Operationen sind auch heute trotz Einsatzes antibakterieller Arzneistoffe und der Einhaltung moderner Hygienemaßnahmen ein therapeutisches Problem. Postoperative Wundinfektionen führen zu einer gesteigerten Morbidität- und Letalitätssrate, einem verlängerten Klinikaufenthalt und somit zu erhöhten Therapiekosten.

Als Hauptkomplikation bei Herzoperationen tritt die postoperative Infektion des Sternums (Mediastinitis) auf, da die mediane Sternotomie, die Längsdurchtrennung des Brustbeins, der Standardzugang für herzchirurgische Eingriffe ist. Die postoperative Mediastinitis kommt zwar nur selten vor (Inzidenz < 10 %), allerdings weist sie eine Mortalität von bis zu 50% auf. Zusätzlich zu verschiedenen operativen Behandlungsmethoden, die dazu dienen, Keimfreiheit im Mediastinum zu erreichen, werden die betroffenen Patienten mit Antibiotika behandelt. Antibiotika werden mittlerweile bei Herzoperationen routinemäßig zur Prophylaxe der Mediastinitis verabreicht.

Cefazolin, ein Cephalosporin der ersten Generation, und Linezolid, ein Makrolidantibiotikum, werden aufgrund ihrer bereits bekannten guten Gewebegängigkeit zur Therapie von bakteriellen Infektionen des Knochengewebes klinisch eingesetzt. Cefazolin, das durch Einführung einer Mercapto-Gruppe in Position-3 gut verträglich gemacht wurde, erreicht zudem schnell einen hohen Serumspiegel und besitzt eine relativ geringe Serumbindung. Bei Linezolid, einem Oxazolidonderivat, sind aufgrund der speziellen Interaktion mit der 50S-Untereinheit bakterieller Ribosomen, kaum Kreuzresistenzen zu erwarten. Es gibt jedoch nur

wenige Studien, die die Vorteile und etwaige Nachteile dieser Chemotherapeutika prüfen und belegen.

In der vorliegenden Diplomarbeit soll anhand der HPLC-Analyse von Plasmaproben und Gewebsflüssigkeitsproben, die mittels Mikrodialyse aus dem Sternumgewebe gewonnen werden, die Konzentration beider Antibiotika im Knochengewebe bestimmt werden.

2 EINLEITUNG

Trotz verbesserter Operationstechniken, der Erforschung der Entstehung von Infektionen und dem prophylaktischen Einsatz von Antibiotika vor Operationen sind postoperative Wundinfektionen immer noch ein großes Problem in der medizinischen Therapie. Nach Harnwegsinfekten sind postoperative Wundinfektionen die zweithäufigste Ursache nosokomialer Infekte, d.h. Infekte, die im Zuge eines Krankenhausaufenthalts oder in einem Pflegeheim erworben wurden. Man schätzt, dass zwischen 2 – 5 % aller operierten Patienten einen postoperativen Wundinfekt entwickeln, die wiederum ca. ein Viertel aller nosokomialen Infektionen ausmachen.

2.1 Postoperative Mediastinitis

Das Mediastinum ist das Gebiet in der Mitte des Brustraums und wird Medistinal- oder Mittelfeldraum genannt. Diese Zone, die zwischen den beiden Pleurahöhlen, beziehungsweise zwischen den Lungen liegt, wird beidseitig durch den Partes mediastinales und die Pleura parietales abgegrenzt. Begrenzt wird es nach vorne hin durch das Brustbein und den Rippenknorpel. Nach hinten stellen die Wirbelkörper und die hintere Brustwand die Grenze dar. Kaudal begrenzt wird das Mediastinum durch das Zwerchfell und kranial steht es mit dem Hals durch dessen Bindegeweberaum in direktem Zusammenhang (siehe Abbildung 1). Da bei Herzoperationen die Längsdurchtrennung des Brustbeins der Standardzugang zum Brustbereich ist, tritt als Komplikation häufig eine bakteriell bedingte eitrige Entzündung des Weiteilgewebes und der Organe im Mittelfellraum (Mediastinitis) auf.

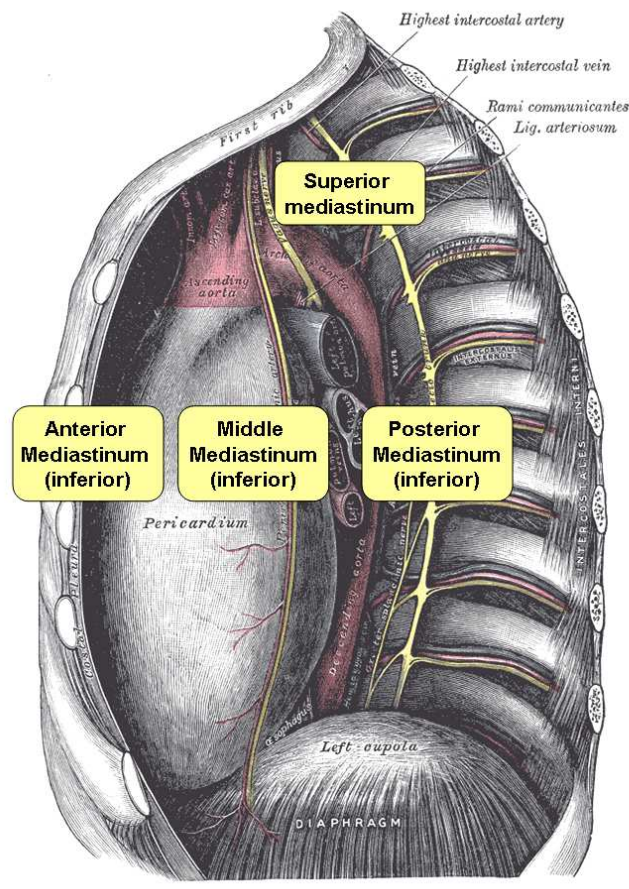


Abbildung 1: Der Mittelfellraum (Mediastinum) (1)

Die akute Infektion der mediastinalen Strukturen ist ein medizinischer Ernstfall und weist eine hohe Letalität auf. Prinzipiell gibt es zwei Möglichkeiten des Krankheitsverlaufes, nämlich descendal und ascendal. Deszendierend heißt, dass die Infektion über eine sich an der Oberfläche befindende Wundheilstörung beginnt, sich zu einer Infektion des Brustbeins mit oder ohne Beteiligung des Knochenmarks (Sternumosteitis) weiterentwickelt und schließlich in der Mediastinitis endet. Aszendierend ist der genau umgekehrte Weg, nämlich von der Mediastinitis zur Sternumosteitis und schließlich kann sich die Infektion über die Weichteile bis an die Oberfläche des Körpers ausdehnen. Unbehandelt endet eine Entzündung des Mittelfellraums durch Sepsis und/oder Mehrfachorganversagen letal. (2, 3)

2.1.1 Inzidenz und Risikofaktoren

Das Auftreten der akuten, postoperativen Mediastinitis und der Sternumosteomyelitis ist mit einer Häufigkeit von 1 – 4 % selten. Aber durch perioperative Infektionen ausgelöste Komplikationen weisen eine hohe Mortalität auf, nämlich bis zu 50 % (4, 5, 6, 7) durchschnittlich 10 – 25 %. (8) Mögliche chirurgische Risikofaktoren für das Auftreten einer poststernalen Mediastinitis sind: (9, 6, 10)

1. Die Entnahme beider Arteriae thoracicae internae als Anschlussarterien
2. Die intraoperative Verwendung von Knochenwachs
3. lange Operationszeiten
4. Eine kardiale Re-Operation

Mögliche Risikofaktoren den Patienten selbst betreffend sind: (6, 10)

1. Insulinpflichtiger Diabetes Mellitus
2. COPD-Erkrankung
3. Adipositas
4. Herzinsuffizienz
5. terminale Niereninsuffizienz
6. Bestrahlung des Operationsabschnittes
7. Osteoporose am Sternum
8. Immunsuppression

2.1.2 Mikrobielle Ätiologie

Postoperative Wundinfektionen können entweder auf endogenem Weg durch die Normalflorabewohner des Patienten oder auf exogenem Weg durch das OP-Personal oder die Umgebung verursacht werden. Man nimmt an, dass ca 10 % aller

chirurgischen Wundinfektionen durch exogene Quellen ausgelöst werden. Durch das Desinfizieren der Hände, des Fußbodens und durch das Tragen von Mund- und Kopfschutz kann dieses Kontaminationsrisiko stark reduziert, jedoch nicht gänzlich beseitigt werden.

Bei endogenen Infektionen ist meist die mikrobielle Flora im Operationsgebiet verantwortlich, vor allem Hautkeime wie *Staphylokokkus aureus* oder koagulase-negative Staphylokokken. Die mit einer Inzidenz von 1 – 4 % nach einer Sternotomie auftretende Mediastinitis, wird ebenso durch Mikroorganismen ausgelöst. Bei den beteiligten Organismen handelt es sich meist um folgende (siehe Tabelle 1):

Tabelle 1: Mikrobielle Ätiologie von postoperativer Mediastinitis (11)

Bacterial etiology	Number of patients	With positive blood cultures	Median time from operation (or reoperation) to symptoms of infection (days)	90-Day all cause mortality
Gram-positive bacteria				
<i>Coagulase negative staphylococci</i> ^a	54	4 (7%)	7,5	11 (20%)
<i>Staphylococcus aureus</i> ^b	31	21 (68%)	7,0	4 (13%)
<i>Alpha streptococci</i> ^c	6	1 (17%)	3,5	0
<i>Propionibacterium</i>	4	1 (25%)	5,5	1 (25%)
Other gram-positive bacteria ^d	2	1 (50%)	6,0	1 (50%)
Gram-negative bacteria				
<i>Klebsiella sp.</i>	6	6 (100%)	4,0	2 (33%)
<i>Enterobacter sp.</i>	5	0	7,0	2 (40%)
<i>Escherichia coli</i>	3	2 (67%)	3,0	1 (33%)
Other gram-negatives ^e	6	1 (17%)	7,5	1 (17%)
Fungus				
<i>Candida albicans</i>	1	0	11,0	1 (100%)
Negative cultures	8	0	9,5	0
SUM	126	37 (29%)	7,0	24 (19%)

^aIn combination with *Enterococcus* in three patients and with *Propionibacterium* in one.

^bIn combination with *Propionibacterium* in one patient and with *Escherichia coli* in one.

^cIn combination with *Mycoplasma pneumoniae* in one and with b-hemolytic *Streptococcus C* in one.

^d*S. pneumoniae* (1), *Enterococcus* (1).

^e*H. parainfluenzae* (2), *Citrobacter* (1), *Hafnia* (1), *Pseudomonas* (1), *Enterobacter* (1), *Serratia* (1)

2.1.3 Diagnose und Symptome

Diagnostiziert wird eine postoperative Mediastinitis meist klinisch mit Hilfe der typischen Zeichen einer lokalen Wundinfektion. Viele Patienten zeigen außerdem Sekretion aus der Wunde, einen erhöhten CRP – Wert (CRP: C-Reaktives Protein), Leukozytose und Fieber. Etwa jeder zweite Patient hat zusätzlich noch eine Sternuminstabilität. Um möglichst zweifelsfrei eine postoperative Mediastinitis zu diagnostizieren, benötigt es eine der folgenden Punkte: (12)

1. Einen Organismus, isoliert vom mediastinalen Gewebe
2. Vom behandelnden Chirurgen gesehene Infektion während der Operation
3. Schmerzen im Brustbereich
4. sternale Instabilität
5. Fieber – in Kombination mit aus dem Brustbereich kommendem Eiter oder einem aus dem Blut oder aus der Drainage isoliertem Organismus.

2.1.4 Therapie

Besteht der Verdacht, dass es sich bei der vorliegenden Infektion um eine sternale Wundinfektion handelt, muss umgehend mit einer adäquaten Therapie begonnen werden. Bei oberflächlichen Wundheilungsstörungen reichen konservative Wundbehandlungen meist aus. Diese beinhalten eine Reinigung, regelmäßiger Verbandswechsel und Kühlung.

Eine Spülung mit einem Katheter, während der Brustkorb geschlossen ist (closed chest catheter irrigation), galt lange Zeit als Goldstandard. Diese Behandlung hatte allerdings Sterblichkeitsraten von 4,8 - 10,8 %. (13) Seit einigen Jahren gilt die VAC (Vacuum-assisted-closure Therapy) - Technik kombiniert mit Antibiotika als

Goldstandard im Bereich der Wundversorgung. (14, 15) Die VAC-Technik ist seit 1997 bekannt und basiert auf dem Anlegen von negativem Druck auf der Wunde (siehe Abbildung 3).

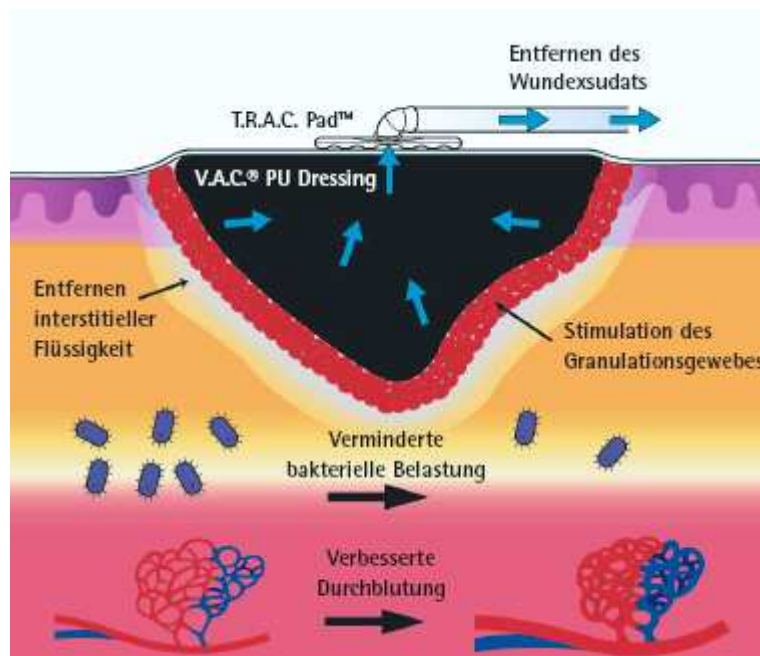


Abbildung 2: VAC (Vacuum-assisted-closure Therapy) Technik (16)

Durch die andauernde Sogkraft wird flüssiger Überschuss abtransportiert, das Gewebsödemrisiko gesenkt und nebenbei die bakterielle Kolonisation verhindert. (17) Durch Anlegung eines negativen Drucks auf die Oberfläche der Wunde fördert man die Wundheilung mehrfach. Einerseits stellt die Pumpe eine feuchte Wundheilung sicher, andererseits reduziert sich so auch überschüssiges, für Mikroorganismen als Nährboden geeignetes, Wundsekret. Durch das angelegte Vakuum werden die Bakterien auch in ihren Anzahl reduziert, außerdem stimuliert negativer Druck die Durchblutung der Wunde und somit die Sauerstoffzufuhr. Zudem wird die Produktion von Granulationsgewebe angeregt. Es zeigte sich eine kürzere Heilungsdauer als bei klassischer Spülung bei Ausheilung der Infektion und hoher Überlebensrate.

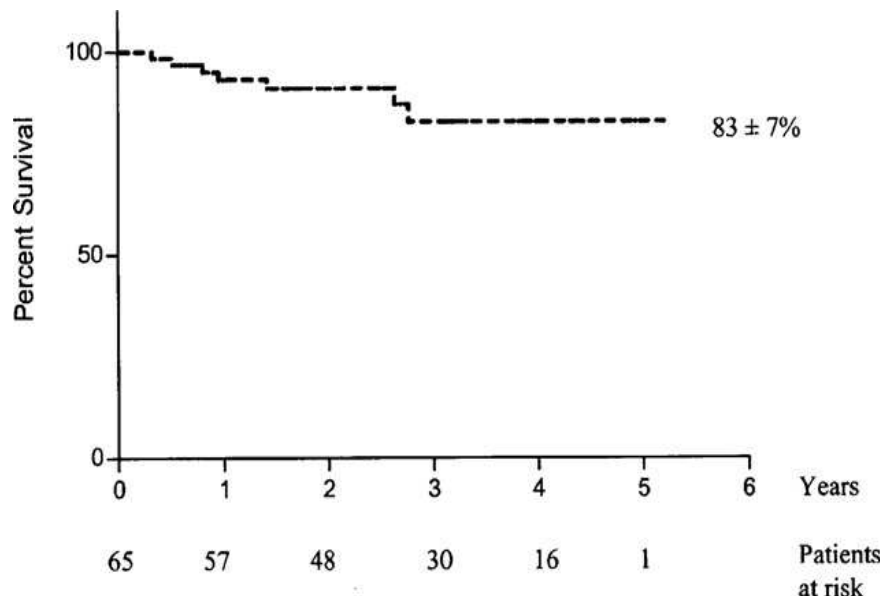


Abbildung 3: Überlebensrate mit VAC-Behandlung bei einer Follow-up Studie nach Herzoperation und darauffolgender poststernaler Mediastinitis (18)

Liegt eine tiefere Störung der Wundheilung vor, dann reichen diese konservativen Maßnahmen nicht aus. Besonders Patienten, nach einer unterzogenen Sternotomie, müssen zusätzlich eine Therapie mit geeigneten Antibiotika erhalten. Im Allgemeinen wird durch eine perioperative und postoperative Antibiotikaphylaxe das Infektionsrisiko gesenkt. Eine Infektion kann dadurch allerdings nicht vollständig ausgeschlossen werden.

2.2 Cefazolin

Cefazolin ($C_{14}H_{14}N_8O_4S_3$; (6*R*,7*R*)-3-[(5-Methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)-thiomethyl]-8-oxo-7-[2-(1*H*-tetrazol-1-yl)-acetamido]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carbonsäure; Molekulargewicht: 454.507 g/mol) ist ein halbsynthetisches Cephalosporin, welche wiederum zu den β -Laktam-Antibiotika gehören. (19)



Abbildung 4: Strukturformel von Cefazolin

Es besitzt eine gute in vitro Aktivität gegen methicillin - empfindliche Staphylokokken (MIC_{90} : 1mg/l) und nicht enterokokkale Streptokokken (MIC_{90} : 0,1-2mg/l). (20) Es wird sehr gut vertragen und besitzt eine gute Knochengängigkeit. (21, 22) Kontraindiziert ist Cefazolin bei einer Hypersensitivität gegenüber Cephalosporinen oder Penicillinen.

2.2.1 Wirkmechanismus

Natürlich vorkommende Cephalosporine sind nur schwach antibiotisch wirksam, aber durch Substitution und Einführung verschiedenster Seitenketten in Position 3 und 7 des Grundgerüsts wird die Proteinbindung, die β – Lactamase – Stabilität, die Resorption aus dem Gastro – Intestinal Trakt, die Stabilität gegenüber einer Desacetylierung und das antibakterielle Wirkungsspektrum positiv beeinflusst. Eine Öffnung des β – Lactam – Rings z.B. durch Enzyme der Bakterien führt zum

Wirkungsverlust. (19) Cephalosporine wirken bakterizid. Als bakterizid darf man Antibiotika bezeichnen, die Bakterien so sehr beschädigen, dass sie einen irreversiblen Zelltod auslösen. Die Gruppe der Cephalosporine wirken nur auf Keime, die proliferieren. Das heißt Persister, das sind ruhende Keime, sind gegenüber Cephalosporinen unempfindlich, aber nicht resistent. Die fehlende Wirksamkeit gegenüber Enterokokken ist allen Cephalosporinen gemein.

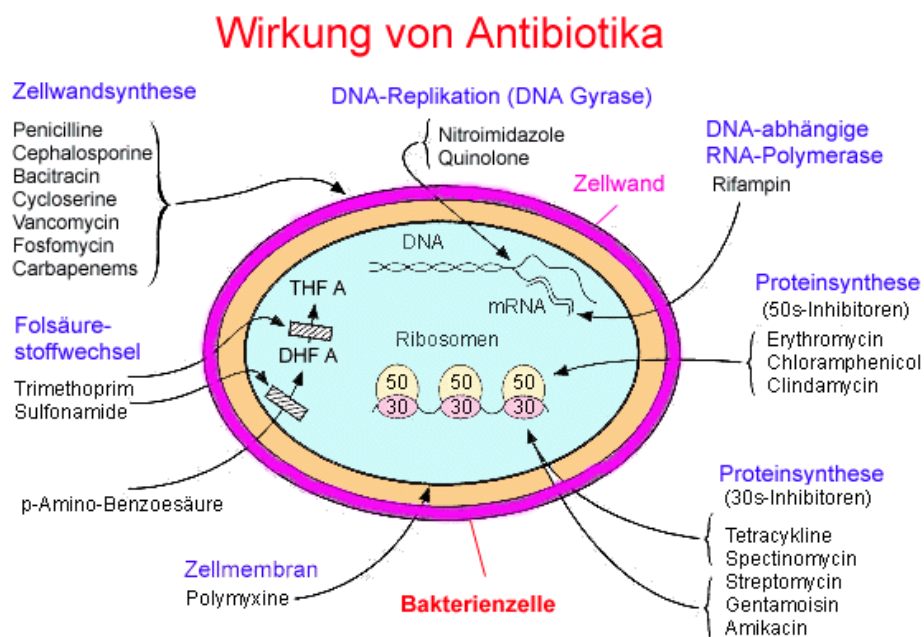


Abbildung 5: Antibiotika und deren Angriffspunkte am Bakterium (23)

β – Lactam-Antibiotika, und somit auch Cephalosporine, hemmen die Zellwandsynthese von Bakterien indem sie mit der Murein-Transpeptidase interagieren und so die Quervernetzung der linearen Glycopeptidstränge stören (siehe Abbildung 5). Weiters gibt es auch Carboxypeptidasen und Endopeptidasen, welche ebenso eine regulatorische Funktion bei der Synthese der Zellwand haben. Eben diese Peptidasen werden auch als Penicillin-bindende Proteine bezeichnet (PBP). Mittlerweile sind mindestens 7 verschiedene Enzyme dieser Klasse bekannt. Wie die Abtötung der Bakterien genau funktioniert ist nicht geklärt. Man nahm früher

an, dass Bakterien die Penicillinen ausgesetzt waren, an einer Lyse, die durch Osmose verursacht wurde, zu Grunde gehen. Heutzutage geht man von einer Beteiligung von Autolysinen aus, die durch Antibiotika aktiviert werden. (23)

2.2.2 Pharmakokinetik

Cephalosporine der ersten Generation, wie Cefazolin, werden im Gastro – Intestinaltrakt nicht resorbiert, sondern müssen per Injektion verabreicht werden. Das sensible Erregerspektrum umfasst folgende Bakterien: (24)

- Gram – positive Bakterien: Methicillin – empfindlicher *Staphylococcus aureus* (MSSA); Coagulase – negativer *Staphylococcus*; Penicillin – empfindlicher *Streptococcus pneumoniae* und *Strept. species plurales*.
- Gram – negative Bakterien: *Moraxella catarrhalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*

Bei einer Dosierung für Erwachsene von 1 - 2 g intravenös oder intramuskulär alle 8 Stunden wird ein Spitzenplasmaspiegel (C_{max}) von 188 µg/ml erreicht. Für den prophylaktischen Gebrauch vor einer Operation werden üblicherweise 1 g intravenös oder intramuskulär 30 – 60 Minuten vor einer Operation gegeben. Für die Nachbehandlung sind 0,5 – 1 g intravenös oder intramuskulär alle 6 – 8 h üblich. (24)

Die Proteinbindung von Cefazolin beträgt 74 – 86 %. Das Verteilungsvolumen beträgt 10 L und die Halbwertszeit 1,8 h. (24) Da Cefazolin ausschließlich über die Niere bzw. über den Urin unverändert ausgeschieden wird, muss bei Beeinträchtigung der Nierenfunktion die Dosis entsprechend angepasst werden. (19)

2.3 Linezolid

Chemisch betrachtet gehört Linezolid ($C_{16}H_{20}FN_3O_4$; (S)-N-((3-(3-Fluor-4-(4-morpholinyl)phenyl)-2-oxo-5-oxazolidinyl)-methyl]-acetamid; Molekulargewicht: 337.3461 g/mol) zu den 2-Oxazolidinonen. (25) Diese wirken auf gram-positive Bakterien wie Streptokokken, Pneumokokken, Enterokokken und Staphylokokken.

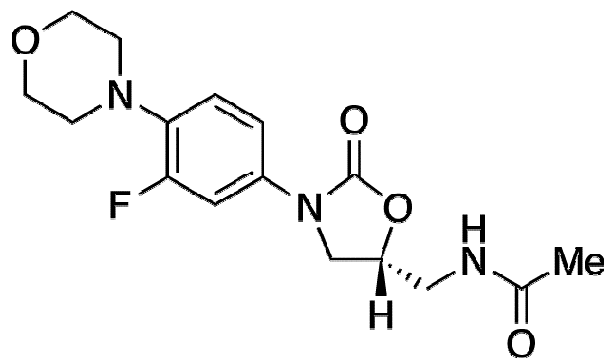


Abbildung 6: Strukturformel von Linezolid (26)

Linezolid gilt als Reserveantibiotikum und wird bei multiresistenten Keimen eingesetzt. Es gibt derzeit noch keine Parallelresistenzen. Indiziert ist dieses Antibiotikum bei Pneumonien und zur Behandlung von Haut- und Weichteilerkrankungen. Es wirkt gegen gram-positive Bakterien. Als Wechselwirkung sei die reversible Hemmung der Monoaminoxidasen A und B zu nennen. (27)

2.3.1 Wirkungsmechanismus

Bei der Proteinsynthese wird die vorhandene genetische Information zunächst auf die mRNA (messenger RNA) übertragen. Diese bildet im Zytoplasma einen Komplex mit der ribosomalen 50S-Einheit und der Starter-tRNA (transfer RNA). Hier legt sich nun die ribosomale 30S-Einheit an. Durch Bindung der tRNA mit dem entsprechenden Anticodon an das Trinukleotid der mRNA (Codon) wird eine

Aminosäure codiert. Durch Störung der Bindung von tRNA an der Akzeptorstelle im Initiationskomplex wird das Bakterium an der Proteinsynthese gehindert. Humane Ribosomen unterscheiden sich trotz ähnlicher Funktion in ihrem Aufbau deutlich vom bakteriellen Gegenstück, daher gibt es selten Nebenwirkungen beim Menschen, die die Proteinsynthese betreffen. (28) Linezolid stört die Proteinbiosynthese von Bakterien also in einer sehr frühen Phase.

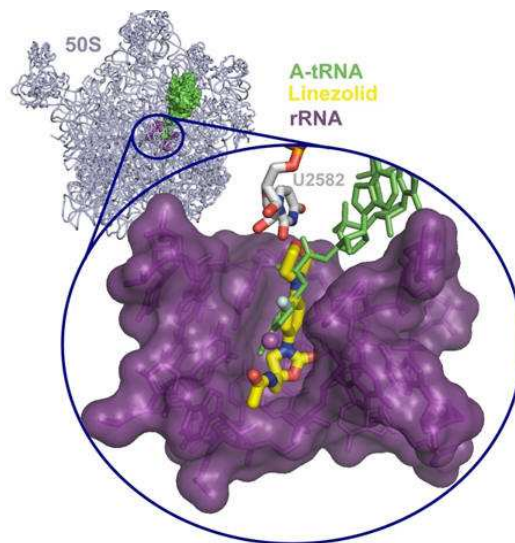


Abbildung 7: Linezolid blockiert die Eiweißproduktion im Ribosom von Bakterien (29)

Linezolid zeigt in erster Linie einen bakteriostatischen Effekt gegen Staphylokokken und Enterokokken bei 2-, 4- und 10-facher MIC₉₀-Konzentration. (30, 31) Eine geringe bakterizide Wirkung konnte in Modellen gegen *Streptococcus pneumoniae* und *S. Pyogenes* festgestellt werden. (32) Durch klinische Studien konnte auch eine Wirkung von Linezolid gegen gram positive Erreger, wie *Staphylococcus aureus*, coagulase-negative Staphylococci, Enterokokken und Streptokokken nachgewiesen werden. (33, 34). Die minimale Hemmkonzentration, bei der 90 % aller Pathogene (MIC₉₀) im Wachstum gehemmt werden, liegt abhängig vom gram positiven Bakterium zwischen 0,5 und 4 µg/l. (35, 38, 36, 37). Zum Beispiel pathogene gram positive Bakterien, wie *Staphylococcus epidermis* und

Staphylococcus aureus, welche bei Infektionen während einer Herzoperation, leider immer wieder auftreten. In vitro wurde eine sehr langsame Resistenzsteigerung bemerkt. Daher kann man vermuten, dass sich auch in vivo Resistenzen entwickeln. Es gibt eine RNA-Mutation der 23S-rRNA, die zu einer Resistenz führt. (27)

2.3.2 Pharmakokinetik

Linezolid kann intravenös, als orale Suspension oder als Filmtablette verabreicht werden. Es hat eine ausgezeichnete Bioverfügbarkeit von ~100% in gesunden Probanden und die maximale Plasmakonzentration ($C_{\max}$) ist nach 0,5 bis 2 Stunden erreicht. (38, 39, 40) Wurde fettreiche Kost vor der Applikation aufgenommen, verzögert sich die Erreichung der $C_{\max}$ um 1,5 bis 2,2 Stunden und die maximale Plasmakonzentration wird ebenfalls um 15 - 20% gesenkt. (39) Das Verteilungsvolumen liegt im Steady State bei einem gesunden Probanden zwischen 30 bis 50 Liter also 0,5 - 0,6 L/kg welches dem Gesamtkörperwasser entspricht. (43)

Tabelle 2: Gewebskonzentrationen von Linezolid in 12 Patienten nach einer Hüftoperation (41)

Parameter/time	Linezolid		
	median (mg/L)	mean (mg/L)	95% CI (mg/L)
Blood concentration			
10 min	16.9	19.2	15.5–22.8
20 min	14.4	15.8	12.5–19.1
30 min	13.2	14.3	11.3–17.2
8 h	4.1	5.1	3.8–6.5
12 h	2.2	2.8	1.4–4.3
16 h ^a	11.3	11.6	8.8–14.4
Bone concentration			
10 min	8.8	9.1	7.7–10.6
20 min	7.1	8.6	5.6–11.6
30 min	5.7	6.3	3.9–8.6
Fat concentration			
10 min	4.4	4.5	3.0–6.1
20 min	4.2	5.2	4.0–6.4
30 min	3.9	4.1	3.3–4.8
Muscle concentration			
10 min	10.5	10.4	8.1–12.7
20 min	11.8	13.4	10.2–16.5
30 min	10.1	12.0	9.2–14.8

Linezolid hat ein sehr gutes Penetrationsvermögen. 10 min nach Erhalt einer 600 mg Infusion können bereits mittlere Konzentrationen von 9,1 mg/l im Knochen festgestellt werden, die nach 30 min auf 6,3 mg/l abfallen. Im Muskelgewebe kann noch eine höhere Konzentration erreicht werden. Im Fettgewebe ist die Konzentration am niedrigsten. (41) (Tabelle 2) Die Proteinbindung von Linezolid liegt bei ungefähr 31 %. Sie ist nicht konzentrationsabhängig. (42)

Linezolid hat einen relativ komplizierten Metabolismus, der zwei Hauptmetaboliten und einige Nebenprodukte hervorbringt (siehe Abbildung 8).

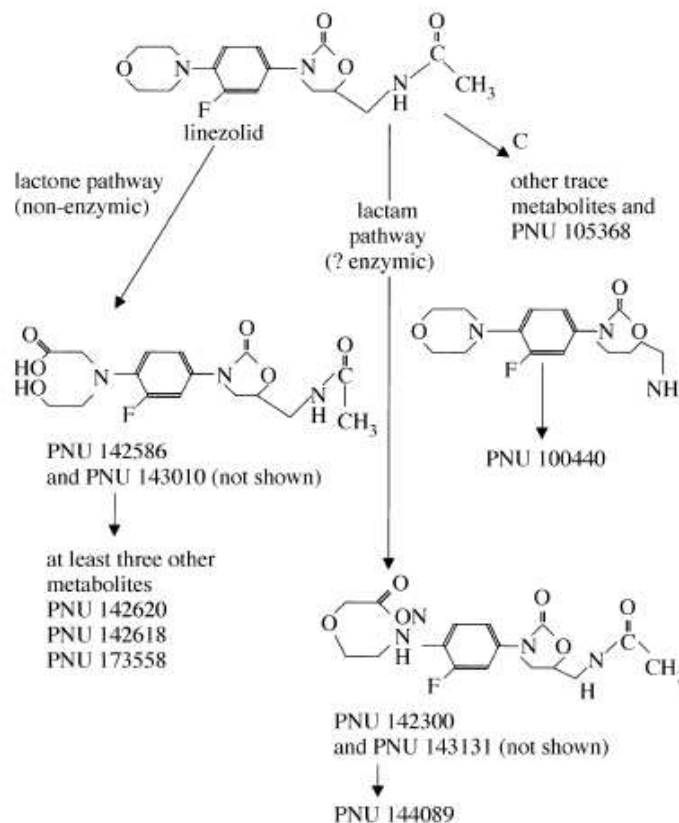


Abbildung 8: Metabolismus von Linezolid (43)

Die Hauptmetaboliten werden durch Oxidation des Morpholinringes produziert. Das Ergebnis davon sind zwei geöffnete Carbonsäurederivate: Ein Aminoethoxyessigsäure Metabolit PNU-142300, dessen Bildung der

geschwindigkeitsbestimmende Schritt in der Clearance von Linezolid ist (44) und ein Hydroxyethylglycin Metabolit.

Tabelle 3: Pharmakokinetische Parameter für Linezolid und dessen Hauptmetaboliten (43)

Parameter	Linezolid	PNU-142586	PNU-142300
AUC_{0-12} (mg·h/L)	99.5 ± 47.5	35.7 ± 17.4	11.5 ± 6.4
C_{max} (mg/L)	17.8 ± 6.03	3.98 ± 1.78	1.61 ± 0.78
T_{max} (h)	0.87 ± 0.35	3.25 ± 0.46	2.00 ± 0.46
$t_{1/2}$ (h)	3.54 ± 1.37	6.38 ± 3.04	4.09 ± 1.12
V_{ss} (L)	29.8 ± 9.42	–	–
C_{min} (mg/L)	2.43 ± 2.15	1.61 ± 0.91	0.36 ± 0.24

AUC_{0-12} , area under the concentration–time curve from 0 to 12 h; C_{max} , maximum concentration of drug in serum; T_{max} , time to maximum concentration of drug in serum; $t_{1/2}$, half-life; V_{ss} , volume of distribution at steady state; C_{min} , minimum concentration of drug in serum.

Die Elimination von Linezolid erfolgt zum größten Teil über den Urin. Im Steady State, welcher nach 4 - 5 Halbwertszeiten erreicht ist, erscheinen 30 % des Linezolid im Urin als Linezolid, 40 % als PNU-142586 und 10% als PNU-142300. Als Linezolid findet sich im Stuhl 0 % der Ausgangsdosis, aber 6 % als PNU-142586 und 3 % als PNU-142300. Ungefähr 65 % der Clearance von Linezolid erfolgen nicht renal. (44) Die Clearance-Rate von Linezolid beträgt 80 ml/min, 65 % davon durch nicht-renale Mechanismen. (45)

2.4 Mikrodialyse

Die Mikrodialyse dient zur Gewinnung und zur anschließenden Untersuchung von Substanzen aus dem Extrazellulärraum. Diese Methode ist seit etwa vier bis fünf Jahrzehnten bekannt. Vorgängermodell war das von J.H. Gaddium im Jahre 1960 beschriebene Verfahren, in man via Kanüle eine Flüssigkeit in das zu analysierende Gewebe pumpte (to push) und mittels einer zweiten Kanüle konnte man diese dann wieder abziehen. (to pull). Nachteile bei dieser **Push-Pull-Sonde** waren zum Beispiel eine mögliche Ödembildung aufgrund Flüssigkeitsaufnahme in die Zellen und der enorme technische Aufwand, da der Flow in beiden Kanülen zu jeder Zeit genau gleich gehalten werden musste. (46)

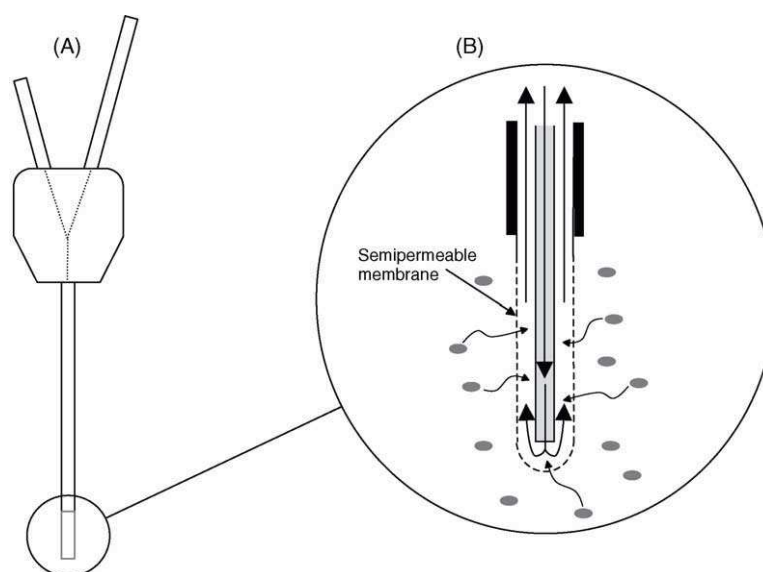


Abbildung 9: Prinzip der Mikrodialyse. (A) unbewegliche Sonde, (B) Die gewünschten Moleküle passieren die semipermeable Membran und werden samt der Perfusionsflüssigkeit Richtung Abflussstelle transportiert. (47)

Der Durchbruch gelang Delgado et al. 1972 mit der Entwicklung der „Dialtrode“. Im Wesentlichen waren das eine Push- und eine Pullkanüle, welche durch einen permeablen Dialysemembranschlauch miteinander verbunden waren. (48) Der Mechanismus basiert im Grunde auf dem Gesetz der Diffusion von

Substanzen entlang eines Konzentrationsgradienten. Zwei, durch eine semipermeable Membran getrennte Kompartimente, liefern die beiden unterschiedlichen Konzentrationen, die nötig sind, damit eine Diffusion erfolgt. (siehe Abbildung 9)

Bei einer in vivo Anwendung bilden das Perfusat in der Mikrodialyse-sonde und der Extrazellulär-raum die beiden Kompartimente. Aufgrund des vorliegenden Konzentrationsunterschiedes können dadurch, zum Beispiel Arzneistoffe oder deren Metaboliten, in die Perfusionslösung wandern. Das Dialysat kann durch den anderen Schenkel (siehe Abbildung 9) abfließen und somit gesammelt und analysiert werden. Wichtige Faktoren bei der Diffusion sind die Porengröße und die Ladung der Membran. Außerdem spielen auch die Substanzeigenschaften des Analyten, wie seine Ladung oder Größe, eine wichtige Rolle. Es gibt auch Unterschiede bei Änderung der Lipophilie/Hydrophilie der Perfusionslösung und bei der Perfusionsgeschwindigkeit. (47)

Eine Diffusion eines Analyten entlang eines Konzentrationsgradienten an einer semipermeablen Membran lässt sich mathematisch durch das Fick'sche Gesetz erklären:

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

Das Verhältnis ΔQ zu Δt beschreibt die in der entsprechenden Zeit transportierte Stoffmenge. Diese Stoffmenge wiederum ist direkt proportional zum Konzentrationsunterschied ΔC und zur Austauschfläche F . Umgekehrt proportional hingegen zur Diffusionsstrecke l .

3 EXPERIMENTELLER TEIL

3.1 Materialien

3.1.1 Chemikalien

Den Studienteilnehmern wurden die Präparate Kefzol[®] 1 g Trockenstechampullen; Zulassungsinhaber: Eli Lilly, Wien und Zyvoxid[®] 2 mg/ml Infusionslösung, Zulassungsinhaber: Pfizer, Wien, verabreicht. 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 Methoden

3.2.1 Patienten

Die untersuchten Proben stammten aus der klinischen Studie („*Cefazolin and Linezolid Penetration Into Sternal Cancellous Bone During Coronary Artery Bypass Grafting*“), die an der Universitätsklinik für Innere Medizin I, Klinische Abteilung für Infektionskrankheiten und Tropenmedizin, durchgeführt wurde. Bei dieser Studie wurden 9 Studienteilnehmern innerhalb von 26 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. Tabelle 4 gibt eine Übersicht über die demographischen Daten der Patienten.

3.2.2 Implantation der Mikrosonde

Für die Entnahme der Mikrodialysatproben durch die Mikrodialysensonde (CMA63[®] microdialysis probe, M Dialysis AB, Stockholm, Schweden) wurden nach der Sternotomie 2 Bohrlöcher mit 3 mm Durchmesser in die Außenschicht des kompakten Knochengewebes des Sternums gebohrt. Die Spitze der Sonde bestand aus einer 0,6 x 10 mm Polyethersulfon – Membran mit einem Cut Off, ab diesem Gewicht kann das Molekül die Membran nicht mehr passieren, von 20 000 Dalton. Es wurde kein Knochenwachs oder Klebstoff verwendet. Die Mikrodialysatsonden wurden ständig mittels Mikroinfusionspumpe (M Dialysis AB, Stockholm, Schweden) mit Ringerlösung (1,5 µl/min) durchgespült. Die Proben wurden gesammelt, beschriftet und für die HPLC – Analyse bei -80°C aufbewahrt.

Tabelle 4: Patientendaten

Parameter	Mittelwerte
Geschlecht (m/w)	5/4
Alter	67 ± 16 Jahre
BMI	26.9 ± 6.2 kg/m ²
Anzahl der Eingriffe	2.4 ± 0.9
Kreatinin	1.05 ± 0.27 mg/dl
Harnstoff im Blut	19.8 ± 5.9 mg/dl
Max. Laktatkonzentration	2.5 ± 1.1 mmol/l
Arterielle Sauerstoffsättigung	97 ± 2 %
Dauer der extrakorporalen Zirkulation	106 ± 56 min
Einsatz der Aorten-Kreuzklemme	58 ± 27 min
Norepinephrin, intraoperativ	0.07 ± 0.05 µg/kg/min
Norepinephrin, postoperativ	0.02 ± 0.03 µg/kg/min
Dobutamin	3.6 ± 0.7 µg/kg/min
Albumin	41.9 ± 3.3 g/dl
Gesamt-Protein	72.2 ± 4.0 g/dl
Proteinbindung Cefazolin	57.0 ± 17.9%
Proteinbindung Linezolid	15.6 ± 5.5 %

3.2.3 Applikation der Arzneistoffe und Probenentnahme

Cefazolin und Linezolid wurden unmittelbar vor Applikation mit den von den Herstellern empfohlenen Lösungsmitteln rekonstituiert. Pro Infusion erhielten alle

Patienten unabhängig vom Gewicht dieselbe Dosierung der beiden Antibiotika:

Cefazolin: 4 g. i.v. über 30 Minuten; Linezolid: 600 mg i.v. über 30 Minuten.

Tabelle 5: Zeitlicher Ablauf der Versuchsreihe

Zeitpunkt (Stunden)	Plasma- proben	Mikrodialysat- proben	Ereignis
0	1	X	Beginn der Infusion
0,5	1	X	
1,0	1	X	
1,5	1	X	
2,0	1	X	
2,5	1	2	Implantation der Mikrosonde
3,0	1	2	
3,5	1	2	
4,0	1	2	
6,0	1	2	Repetitionsdosis Cefazolin 2 g
8,0	1	2	
10,0	1	2	
14,0	1	2	Repetitionsdosis Linezolid 600 mg
14,5	1	2	
15,0	1	2	
15,5	1	2	
16,0	1	2	
18,0	1	2	
20,0	1	2	
22,0	1	2	
24,0	1	2	
26,0	1	2	

Die erste Entnahme von arteriellen Blutproben erfolgte vor der Verabreichung der Infusionen (0 Stunden Wert), und nach 0,5, 1, 1,5 und 2 Stunden. Nach Implantation der Mikrosonden wurden zeitgleich zu den Plasmaproben jeweils links und rechts vom Sternum über eine Mikrosonde Mikrodialysatproben abgenommen. In Tabelle 5 ist zeitliche Ablauf der Versuchsreihe für alle Patienten ersichtlich.

3.2.4 Probenaufbereitung

Die Proben wurden für die weitere Aufarbeitung auf Eis aufgetaut. Anschließend wurde zur Ausfällung der Plasmaproteine jeweils 300 µl Plasma in 1,5 ml Eppendorf-Reaktionsgefäße pipettiert, mit 600 µl auf -20°C gekühltem, reinem Methanol versetzt, mit Hilfe eines Mini-Shakers durchmischt und für 5 Minuten bei 13000 x g zentrifugiert. 500 µl Überstand wurden mit 500 µL Ammonacetpuffer (10 mM, pH 5) vermischt und in ein Autosamplervial überführt. Zur Analyse der Mikrodialysats wurden 20 µL der jeweiligen Probe mit 80 µl Ammonacetpuffer (10 mM, pH 5) versetzt, durchmischt und in ein Autosamplervial überführt.

3.2.5 HPLC-System

Um Cefazolin und Linezolid im Plasma und Mikrodialysat quantitativ nachzuweisen, wurde ein HPLC-System erstellt. In Tabelle 6 sind die Parameter dieses Systems angeführt. Das Verhältnis Eluent A /Eluent B wurde entlang eines Gradienten während der Messung verändert. Hierfür wurde innerhalb der ersten 15 Minuten der Methanolgehalt kontinuierlich von 10 % auf 95 % gesteigert, was für 5 Minuten beibehalten wurde. Innerhalb von 2 Minuten wurde der Anteil an Methanol wieder auf 10 % abgesenkt und bei diesem Mischungsverhältnis wurde die Säule 8 Minuten equilibriert. (Abbildung 10).

Tabelle 6: Parameter des HPLC-Systems zur Trennung von Cefazolin und Linezolid aus biologischer Matrix

Vorsäule	Hypersil BDS-C ₁₈ ; 5 µm, 10 x 4.6mm I.D
Säule	Hypersil BDS-C ₁₈ Column; 5 µm, 250 x 4.6 mm I.D., Thermo Fisher Scientific, Inc (Waltham, MA)
Säulenofen-Temperatur	45°C
UV-Detektor	254 nm
Durchflussgeschwindigkeit	1 ml/min
Eluent A	Ammonacetat 10 mM, pH-Wert: 5
Eluent B	Methanol
Injektionsvolumen	80 µl

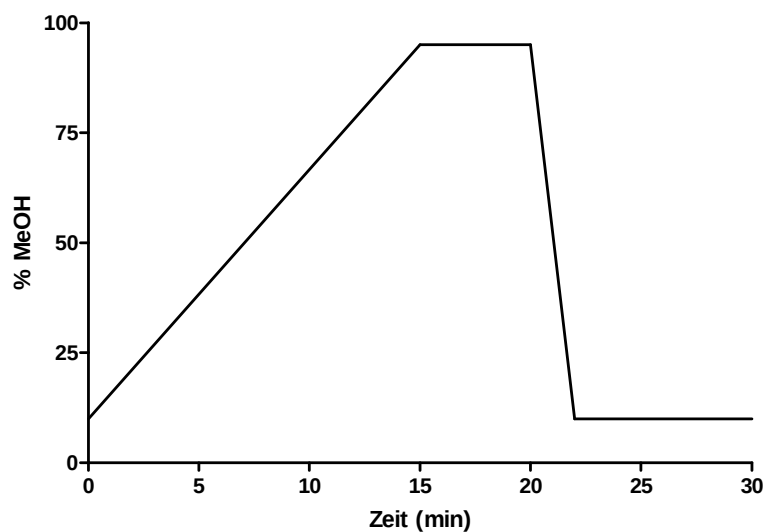


Abbildung 10: Zeitlicher Gradientenverlauf für die Analyse von Cefazolin und Linezolid

Zur Identifizierung der Retentionszeiten wurden jeweils eine Standardlösung von Cefazolin mit der Konzentration von 5 µg/ml (Abbildung 12) und Linezolid mit einer Konzentration von 5 µg/ml (Abbildung 13) analysiert und die Peaks bei 6,85, beziehungsweise 10,65 Minuten ermittelt.

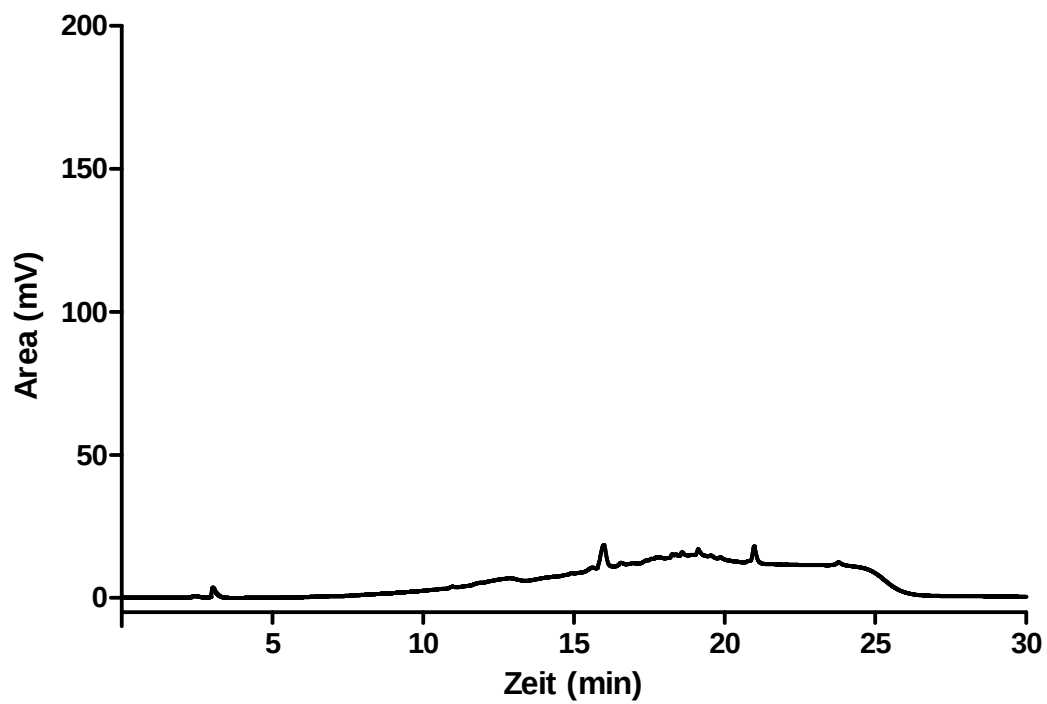


Abbildung 11: Chromatogramm einer Kontrolllösung (80 % Methanol)

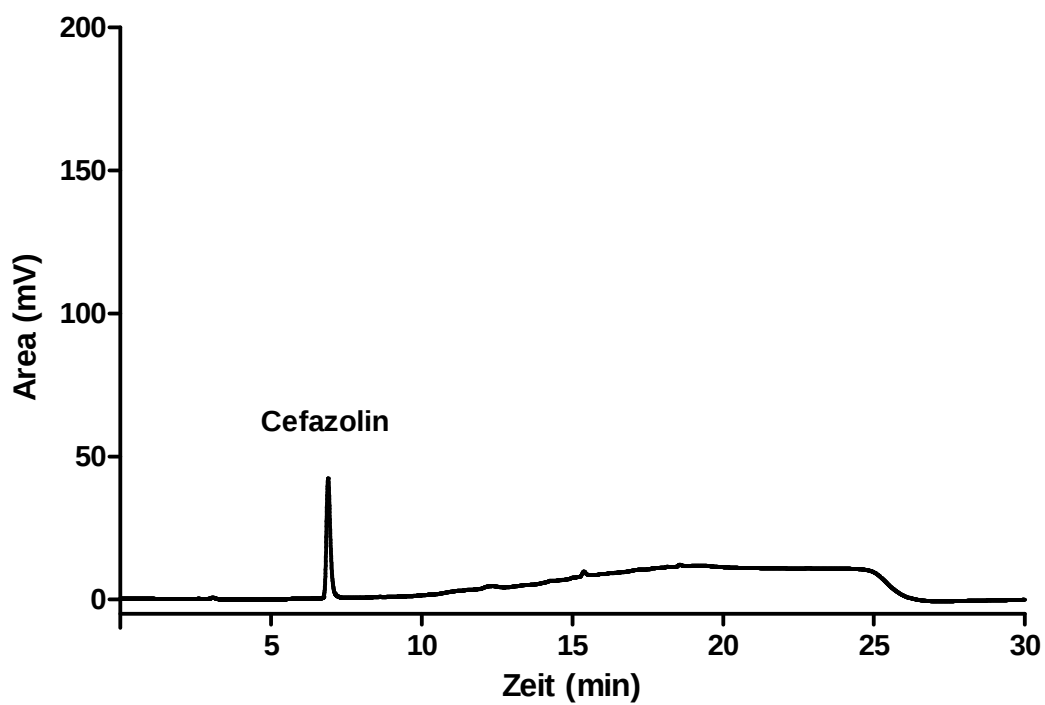


Abbildung 12: Chromatogramm einer Cefazolinlösung (5 µg/ml)

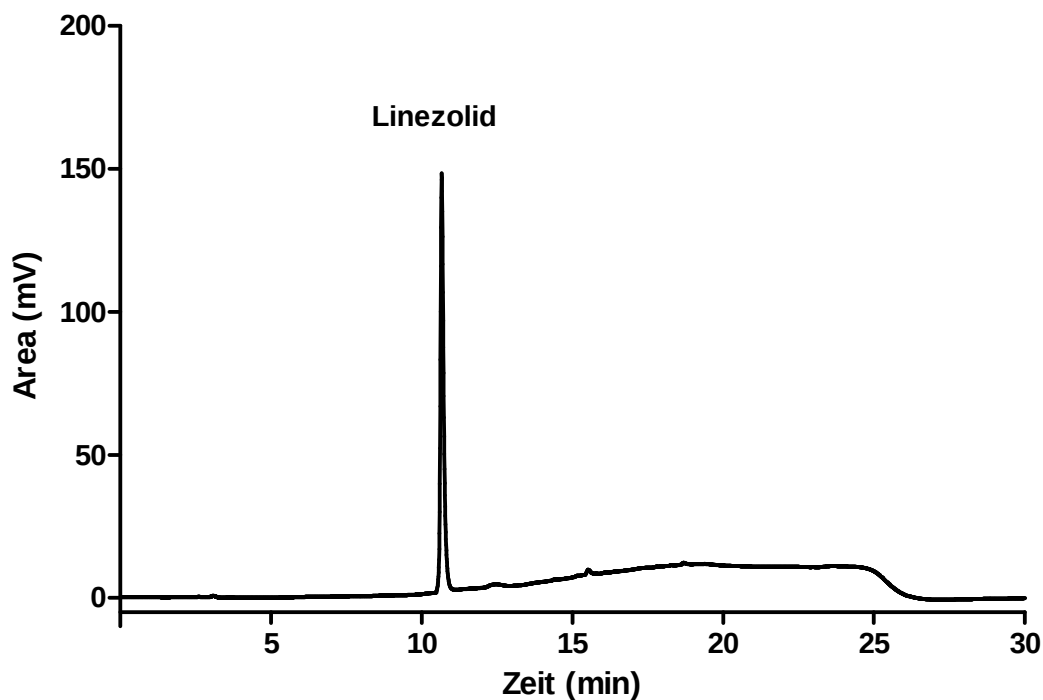


Abbildung 13: Chromatogramm einer Linezolidlösung (5 µg/ml)

3.2.6 Auswertung

Um die Konzentration von Cefazolin und Linezolid im Plasma und Mikrodialysat zu bestimmen, wurde eine Eichgerade unter Verwendung des Computer-Programms Prism 5.00 (GraphPad Software Inc. CA, USA) erstellt. Dazu wurden 2 Verdünnungsreihe mit folgenden Konzentrationen injiziert: Cefazolin: 0,218 µg/ml, 0,437 µg/ml, 0,873 µg/ml, 2,183 µg/ml, 4,367 µg/ml, 8,734 µg/ml, 21,834 µg/ml, 43,669 µg/ml und 87,336 µg/ml; Linezolid: 0,100 µg/ml, 0,250 µg/ml, 0,500 µg/ml, 1,000 µg/ml, 2,500 µg/ml, 5,00 µg/ml, 10,00 µg/ml, 25,00 µg/ml und 50,00 µg/ml. Abbildung 14 und Abbildung 15 zeigen die Korrelation zwischen den ermittelten Peakflächen und den Konzentrationen der Arzneistoffe. Mittels der Eichgerade erfolgte die Quantifizierung der Daten die bei der HPLC-Analyse ermittelt wurden, ebenfalls mit Hilfe des Programms Prism 5.00.

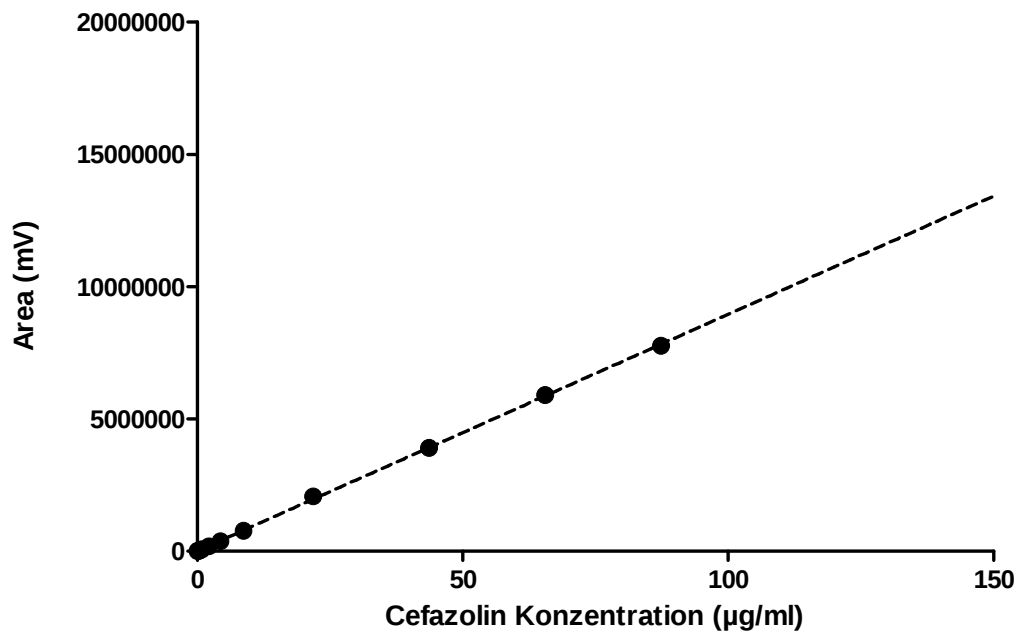


Abbildung 14: Eichkurve für Cefazolin

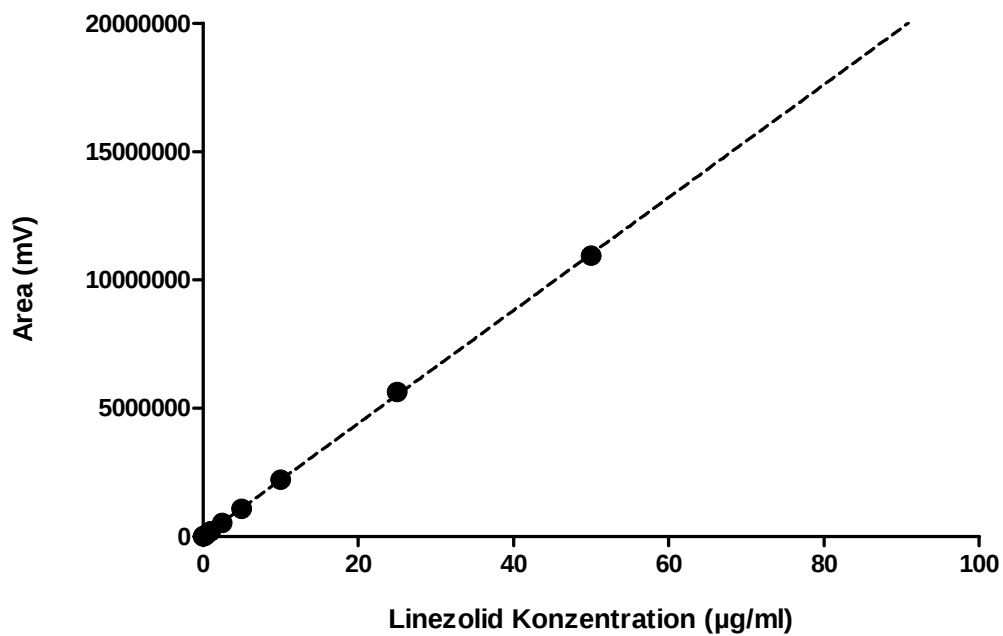


Abbildung 15: Eichkurve für Linezolid

4 ERGEBNISSE

Ziel der vorliegenden Diplomarbeit war es, durch Analyse von Plasmaproben und Gewebsflüssigkeitsproben, die mittels einer Mikrosonde aus Knochengewebe von 9 Patienten gewonnen wurde, die Gewebsgängigkeit der Antibiotika Cefazolin und Linezolid im Knochengewebe zu bestimmen.

4.1 Erstellung eines HPLC-Systems zur Trennung von Cefazolin und Linezolid aus biologischer Matrix

Die in der Literatur beschriebenen HPLC Systeme für Cefazolin und Linezolid ermöglichen nur die Bestimmung von jeweils einer Substanz. Um beide Antibiotika zu erfassen und zu quantifizieren, wurde ein neues HPLC Gradientensystem erstellt.

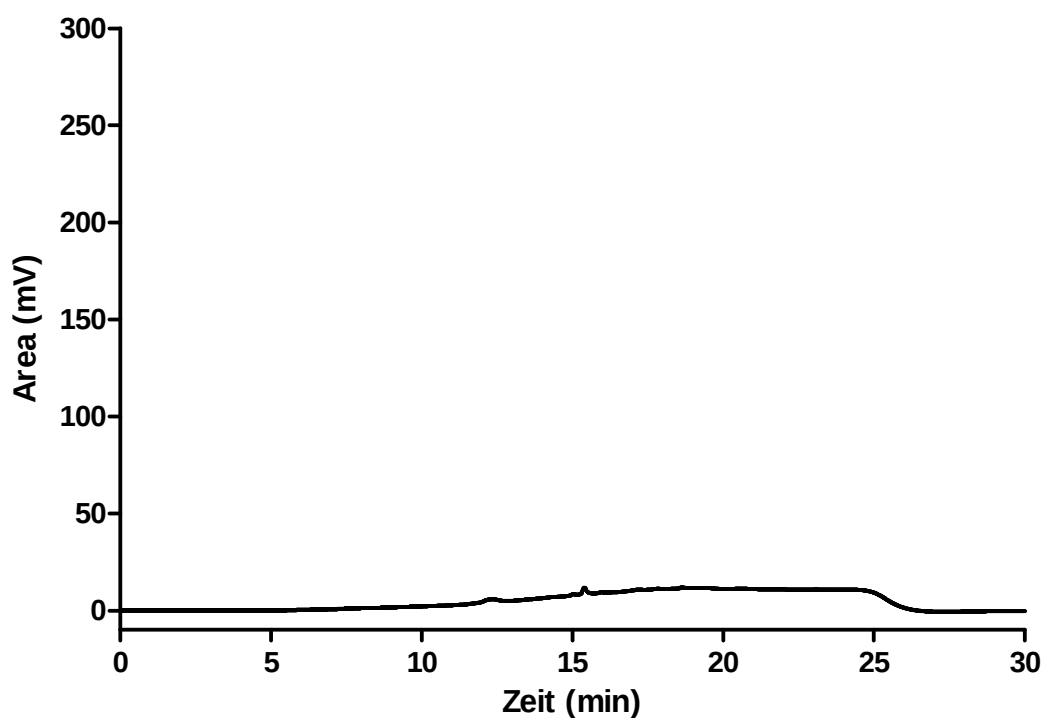


Abbildung 16: Chromatogramm einer Plasmaprobe vor Verabreichung von Linezolid und Cefazolin.

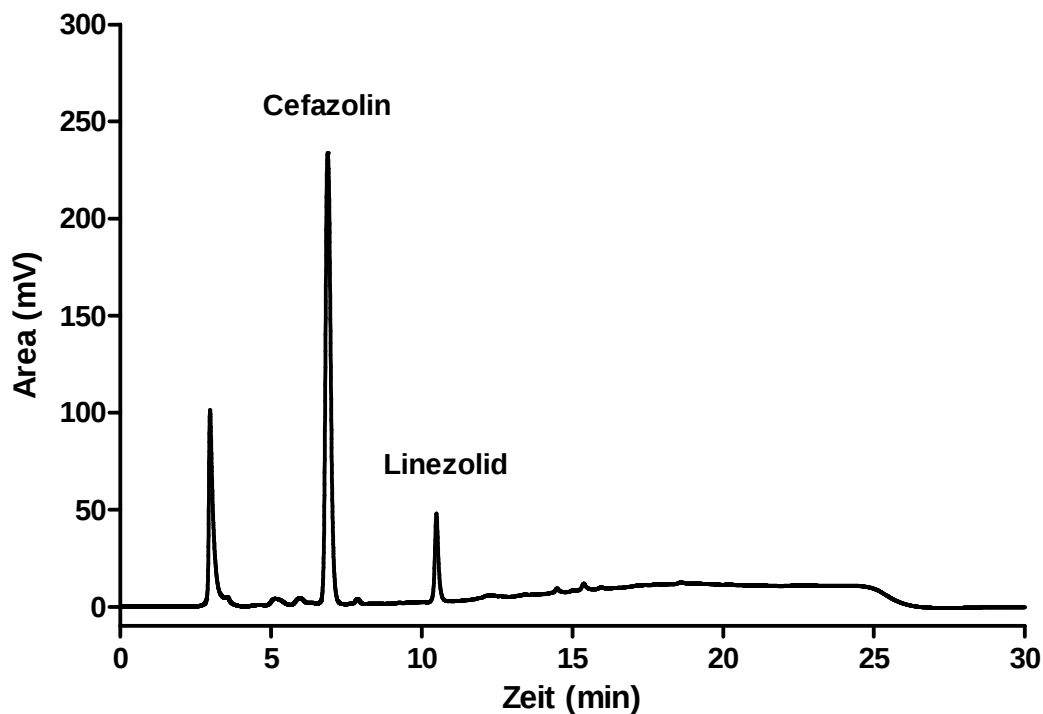


Abbildung 17: Chromatogramm einer Plasmaprobe 2 Stunden nach Verabreichung von 4 g Cefazolin und 600 mg Linezolid.

Abbildung 16 und Abbildung 17 zeigen charakteristische Chromatogramme von Plasmaproben. In Plasma, das vor der Verabreichung der beiden Wirkstoffe abgenommen wurde, sind keine Peaks zu sehen, die die Analyse stören könnten. Cefazolin wird unter diesen Bedingungen mit einer Retentionszeit von 6,85 min eluiert. Das lipophilere Linezolid zeigt eine Retentionszeit von 10,65 Minuten.

4.2 Cefazolin

Nach einer Infusion von 4.0 g Cefazolin wurden zu den Zeitpunkten 0,5, 1, 1,5 und 2 Stunden arterielle Plasmaproben entnommen und analysiert. Nach Implantation der Mikrosonden wurde zeitgleich zu den Plasmaproben jeweils links und rechts vom Sternum über eine Mikrosonde Mikrodialysatproben abgenommen (Zeitraum: insgesamt 26 Stunden). Aus den mittels HPLC-Analyse erhaltenen Daten

der einzelnen Patienten wurden Konzentrations-Zeitprofile für Cefazolin in Plasma und Knochengewebs-Mikrodialysat über den beobachteten Zeitraum erstellt. Die Werte der einzelnen Patienten sind jeweils dem Tabellenanhang zu entnehmen.

4.2.1 Konzentrations-Zeitprofil für Cefazolin in Plasma

Wie in der Tabelle 7 und in Abbildung 18 zu erkennen, erreichte der mittlere Plasmaspiegel von Cefazolin nach der initialen Infusion (4.0 g über 30 Minuten) bereits nach 1 Stunde sein Maximum $c_{\max}$ von $250.93 \pm 116.52 \mu\text{g/ml}$. Die Einzelwerte der Patienten wiesen eine deutliche Streuung auf, so betrug $c_{\max}$ bei Patient 5 nur $102.16 \mu\text{g/ml}$, bei Patient 6 hingegen $424.38 \mu\text{g/ml}$. Nach 4 – 6 Stunden sank die durchschnittliche Konzentration von Cefazolin auf $55,03 + 25,85$, bzw. $83,58 + 71.98 \mu\text{g/ml}$ ab. Auch hier ist wieder signifikante Abweichungen der einzelnen Patientenwerte zu beobachten: Der höchste Wert wurde wiederum in Patient 6 gemessen mit $266.76 \mu\text{g/ml}$, der niedrigste in Patient 9 mit $9,86 \mu\text{g/ml}$.

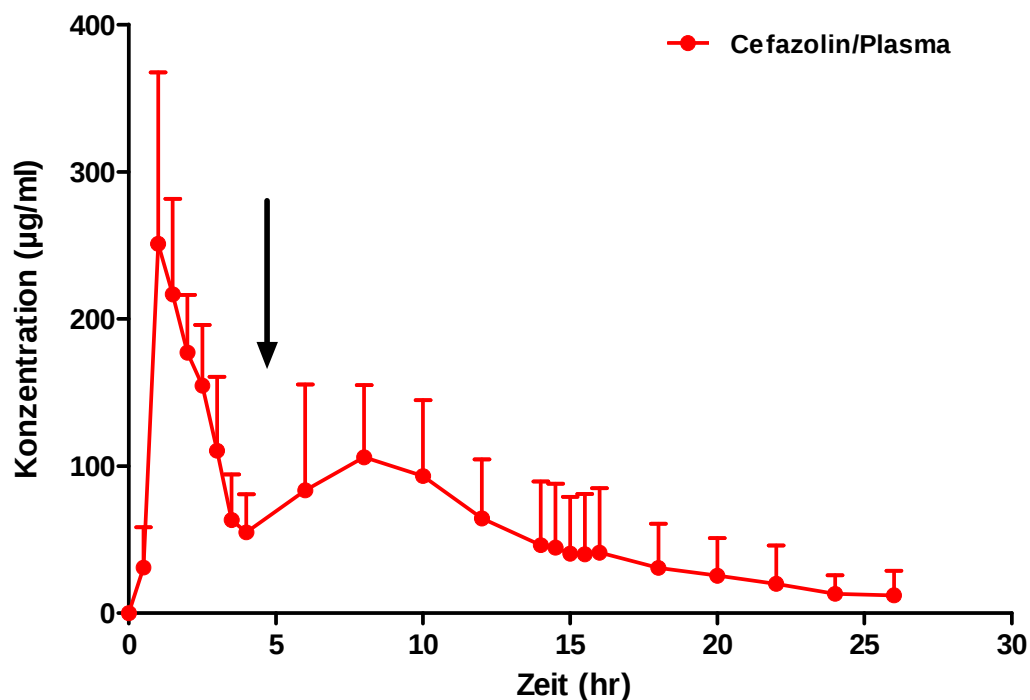


Abbildung 18: Konzentration von Cefazolin im Plasma.

Tabelle 7: Konzentration von Cefazolin im Plasma

Zeit (hr)	Cefazolin Konzentration (µg/ml)	
	<i>Mittelwert</i>	<i>SD</i>
0,0	0,00	0,00
0,5	31,02	27,45
1,0	250,93	116,52
1,5	216,68	64,92
2,0	177,05	39,32
2,5	154,69	41,22
3,0	110,40	50,21
3,5	63,35	30,92
4,0	55,03	25,85
6,0	83,58	71,98
8,0	105,92	49,13
10,0	93,23	51,46
12,0	64,56	39,85
14,0	46,31	43,19
14,5	44,53	43,46
15,0	40,53	38,52
15,5	40,14	40,81
16,0	41,18	43,92
18,0	30,90	29,87
20,0	25,51	25,63
22,0	19,93	26,07
24,0	13,15	12,68
26,0	12,20	16,64

Nach 6 Stunden wurde eine Repetitionsdosis von 2 g Cefazolin verabreicht. Auch hier erreichte der Plasmaspiegel nach einer Stunde sein Maximum von $105,92 \pm 49,13 \mu\text{g/ml}$ mit einer Abweichung zwischen den einzelnen Patienten von $48,80 \mu\text{g/ml}$ (Patient 6) bis $212,53 \mu\text{g/ml}$ (Patient 3). Nach 26 Stunden sank die Cefazolinkonzentration im Plasma auf einen Durchschnittswert von $12,20 \pm 16,64 \mu\text{g/ml}$, wobei die Einzelwerte von $1,80 \mu\text{g/ml}$ (Patient 5) bis $52,32 \mu\text{g/ml}$ (Patient 6) schwanken.

4.2.2 Konzentrations-Zeitprofil von Cefazolin in Mikrodialysat

Gewebsflüssigkeit aus dem Knochengewebe wurde ab 2,5 Stunden nach der ersten Cefazolininfusion mittels Mikrodialyse von der rechten und der linken Seite des Sternums gewonnen und zeitgleich mit den Plasmaproben entnommen.

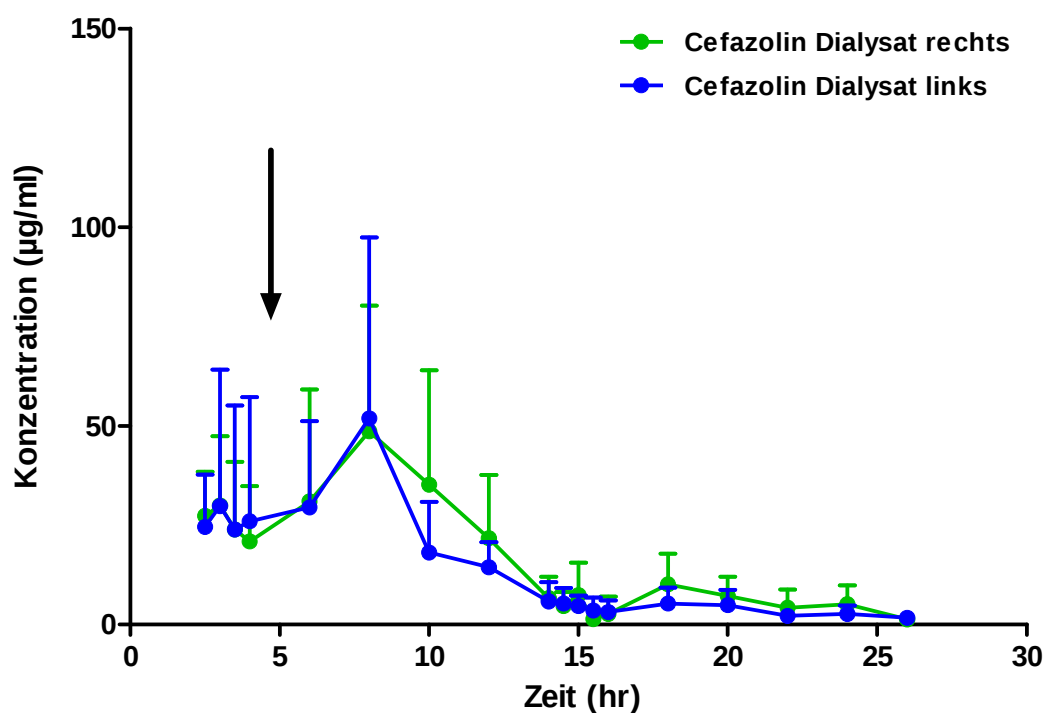


Abbildung 19: Konzentration von Cefazolin in Mikrodialysat.

Wie in Abbildung 19 und Tabelle 8 ersichtlich, zeigte die Cefazolinkonzentration im Mikrodialysat des Knochengewebes einen ähnlichen zeitlichen Verlauf, wie im Plasma beobachtet, wobei jedoch die Konzentration des Arzneistoffes deutlich erniedrigt war.

Zu Beginn wurde ein Mittelwert der Cefazolinkonzentration in der Gewebsflüssigkeit von $27,37 \pm 11,13 \mu\text{g/ml}$ bei der Entnahme auf der linken Seite des Brustbeins und $24,58 \pm 13,14 \mu\text{g/ml}$ auf der rechten Seite gemessen. Der zum gleichen Zeitpunkt gemessene Plasmawert war um das 5 - 6 fache erhöht. Wie auch beim Plasma beobachtet unterlagen die Einzelwerte im Mikrodialysat starken Schwankungen, die von $13,44 \mu\text{g/ml}$ links (Patient 2) bis $49,12 \mu\text{g/ml}$ (Patient 3), beziehungsweise bei Entnahme auf der rechten Seite von $13,11 \mu\text{g/ml}$ (Patient 3) bis $43,39 \mu\text{g/ml}$ (Patient 6) reichten. Interessanterweise zeigte sich im Gegensatz zum Plasma in der Gewebsflüssigkeit des Knochens kein signifikanter Abfall der Cefazolinkonzentration.

Erst nach Verabreichung der Repetitionsdosis nach 6 Stunden kam es wieder zu einem deutlichen Anstieg der Konzentration auf $48,63 \pm 31,61 \mu\text{g/ml}$ rechts bzw. $51,90 \pm 45,55 \mu\text{g/ml}$ links. Im Vergleich zum Plasma waren die Dialysatkonzentrationen nur mehr um 50 % erniedrigt. Die Werte der einzelnen Patienten schwankten von $164,69 \mu\text{g/ml}$ links bei Patient 3 bis $13,84 \mu\text{g/ml}$ rechts bei Patient 4. Analog zum Plasma nehmen die Cefazolinkonzentrationen auch im Mikrodialysat kontinuierlich ab und erreichten nach 26 Stunden einen durchschnittlichen Endwert von $1,34 \pm 1,75 \mu\text{g/ml}$ rechts und $1,73 \pm 1,29 \mu\text{g/ml}$ links. Verglichen mit den Plasmawerten zu diesem Zeitpunkt waren diese Werte durchschnittlich um das Zehnfache erniedrigt.

Tabelle 8: Konzentration ($\mu\text{g/ml}$) von Cefazolin im Mikrodialysat des Knochengewebes (k.a. : keine Abnahme)

Time (hr)	Dialysat rechts		Dialysat links	
	<i>Mittelwert</i>	<i>SD</i>	<i>Mittelwert</i>	<i>SD</i>
0,0	k.a.		k.a.	
0,5	k.a.		k.a.	
1,0	k.a.		k.a.	
1,5	k.a.		k.a.	
2,0	k.a.		k.a.	
2,5	27,37	11,13	24,58	13,14
3,0	29,96	17,43	29,82	34,35
3,5	23,94	17,03	23,97	31,20
4,0	20,93	13,93	26,00	31,22
6,0	30,98	28,19	29,48	21,70
8,0	48,63	31,61	51,90	45,55
10,0	35,22	28,78	18,17	12,66
12,0	21,72	15,95	14,44	6,31
14,0	6,67	5,34	5,82	4,86
14,5	4,64	3,50	5,25	4,03
15,0	7,45	8,16	4,62	2,66
15,5	1,39	0,93	3,50	3,29
16,0	2,67	4,34	3,16	2,90
18,0	10,13	7,68	5,28	4,06
20,0	7,17	4,83	4,89	3,82
22,0	4,26	4,52	2,16	1,44
24,0	5,09	4,77	2,67	2,17
26,0	1,34	1,75	1,73	1,29

4.3 Linezolid

Zeitgleich mit Cefazolin wurden den Patienten 600 mg Linezolid verabreicht, zu den gleichen Zeitpunkten Plasma und Mikrodialysat gesammelt und analysiert. Aus den Daten der einzelnen Patienten wurden Konzentrations-Zeitprofile für Linezolid in Plasma und Knochengewebs-Mikrodialysat erstellt. Die Werte der einzelnen Patienten sind jeweils dem Tabellenanhang zu entnehmen.

4.3.1 Konzentrations-Zeitprofil von Linezolid in Plasma

Nach Verabreichung der Initialdosis von 600 mg Linezolid zum Zeitpunkt 0 erreichte die Plasmakonzentration von Linezolid bereits nach einer Stunde die Maximalkonzentration $c_{\max}$ von durchschnittlich $214,06 \pm 10,49 \mu\text{g/ml}$ (siehe Abbildung 20 und Tabelle 9). Wie bei Cefazolin beobachtet unterlagen auch die Linezolidblutspiegel der einzelnen Patienten starken Schwankungen. Die niedrigste $c_{\max}$ wurde mit $4,15 \mu\text{g/ml}$ bei Patient 5, die höchste $c_{\max}$ mit $37,17 \mu\text{g/ml}$ gemessen.

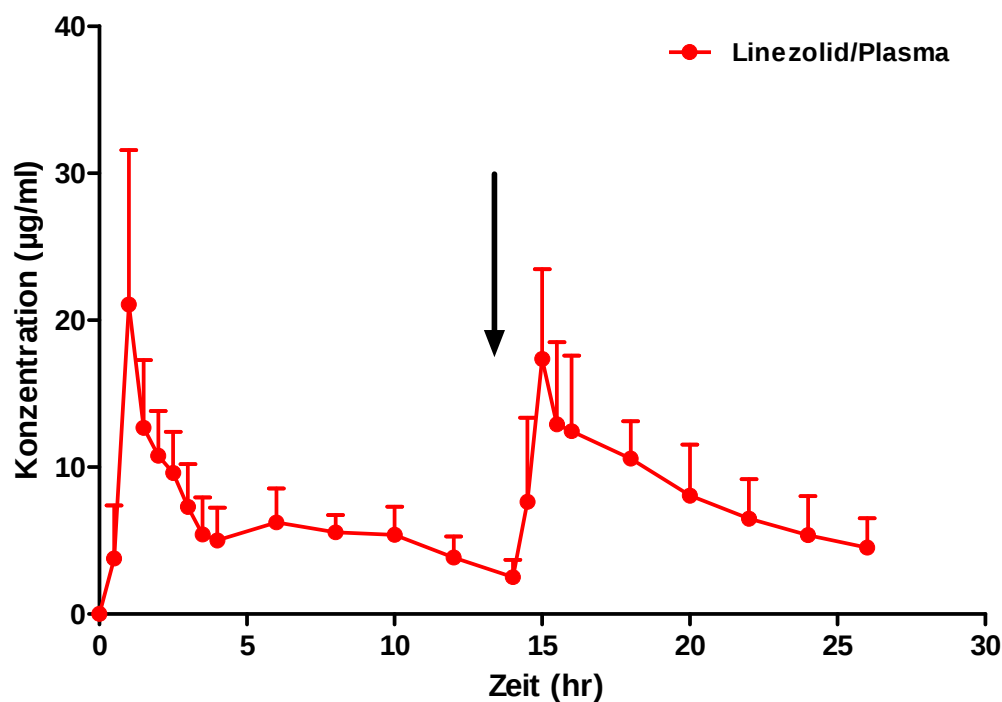


Abbildung 20: Linezolid-Konzentrationskurve im Plasma.

Tabelle 9: Konzentration von Linezolid im Plasma

Zeit (hr)	Linezolid Konzentration (µg/ml)	
	<i>Mittelwert</i>	<i>SD</i>
0,0	0,00	0,00
0,5	3,77	3,61
1,0	21,06	10,49
1,5	12,68	4,59
2,0	10,76	3,05
2,5	9,61	2,79
3,0	7,28	2,91
3,5	5,42	2,52
4,0	5,02	2,22
6,0	6,23	2,32
8,0	5,55	1,17
10,0	5,40	1,91
12,0	3,85	1,43
14,0	2,52	1,17
14,5	7,63	5,72
15,0	17,34	6,11
15,5	12,91	5,59
16,0	12,45	5,15
18,0	10,57	2,55
20,0	8,07	3,47
22,0	6,49	2,68
24,0	5,36	2,66
26,0	4,52	2,00

Die Linezolidkonzentration fiel innerhalb von 3,5 Stunden auf durchschnittlich 25 % der Maximalkonzentration ab und blieb für 11 Stunden auf einem Steady – State mit einer durchschnittlichen Konzentration von $5,54 \pm 1,06$ µg/ml. Nach 14

Stunden wurde eine Repetitionsdosis von 600mg Linezolid gegeben. Wiederum wurde die Maximalkonzentration von $17,34 \pm 6,11 \mu\text{g/ml}$ nach einer Stunde gemessen mit einer Abweichung zwischen den einzelnen Patienten von $9,63 \mu\text{g/ml}$ (Patient 7) bis $27,63 \mu\text{g/ml}$ (Patient 6). Nach 26 Stunden sank die Linezolidkonzentration auf einen Durchschnittswert von $4,52 \pm 2,00 \mu\text{g/ml}$, wobei die Einzelwerte von $1,97 \mu\text{g/ml}$ (Patient 5) bis $7,58 \mu\text{g/ml}$ (Patient 6) schwankten.

4.3.2 Konzentration von Linezolid in Mikrodialysat

Gewebsflüssigkeit aus dem Sternum wurde ab 2,5 Stunden nach der ersten Infusion mittels Mikrodialyse gewonnen und zeitgleich mit den Plasmaproben entnommen.

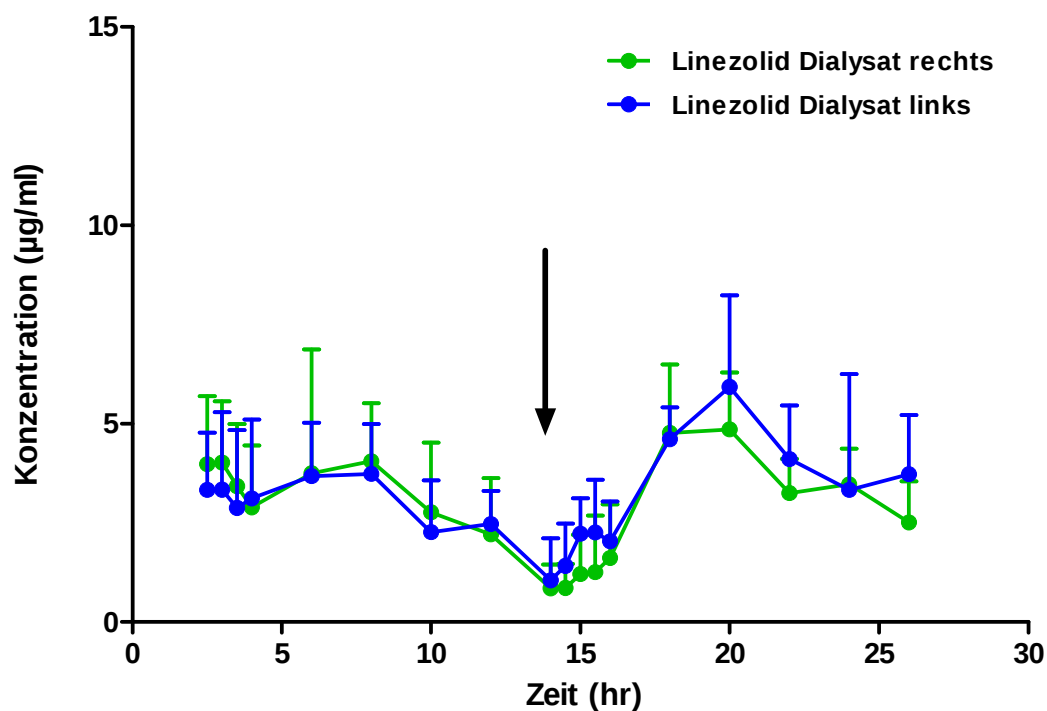


Abbildung 21: Konzentration von Linezolid in Mikrodialysat.

Tabelle 10: Konzentration (µg/ml) von Linezolid im Mikrodialysat des Knochengewebes (k.a. : keine Abnahme)

Time (hr)	Dialysat rechts		Dialysat links	
	<i>Mittelwert</i>	<i>SD</i>	<i>Mittelwert</i>	<i>SD</i>
0,0	k.a.		k.a.	
0,5	k.a.		k.a.	
1,0	k.a.		k.a.	
1,5	k.a.		k.a.	
2,0	k.a.		k.a.	
2,5	3,98	1,71	3,33	1,44
3,0	4,02	1,54	3,34	1,96
3,5	3,43	1,56	2,88	1,96
4,0	2,89	1,56	3,12	1,99
6,0	3,75	3,12	3,68	1,35
8,0	4,06	1,46	3,74	1,25
10,0	2,76	1,75	2,27	1,30
12,0	2,21	1,42	2,47	0,84
14,0	0,85	0,60	1,05	1,06
14,5	0,86	0,61	1,41	1,07
15,0	1,21	0,99	2,23	0,90
15,5	1,26	1,43	2,26	1,33
16,0	1,62	1,35	2,04	1,00
18,0	4,77	1,72	4,61	0,80
20,0	4,86	1,43	5,93	2,31
22,0	3,25	0,86	4,11	1,35
24,0	3,47	0,90	3,33	2,92
26,0	2,52	1,03	3,73	1,50

Wie auch bei Cefazolin, zeigte die Linezolidkonzentration im Mikrodialysat einen ähnlichen zeitlichen Verlauf wie im Plasma beobachtet (siehe Abbildung 21 und Tabelle 10). Anfangs wurde eine mittlere Linezolidkonzentration von $3,33 \pm 1,44$

µg/ml bei der Entnahme auf der linken Seite des Brustbeins und $3,98 \pm 1,71$ µg/ml auf der rechten Seite gemessen. Der zum gleichen Zeitpunkt gemessene Plasmawert war um das Dreifache erhöht. Wie auch beim Plasma beobachtet unterlagen die Einzelwerte im Mikrodialysat starken Schwankungen, die von 0,70 µg/ml links bei Patient 8 bis 4,81 µg/ml bei Patient 3, beziehungsweise bei Entnahme auf der rechten Seite von 1,58 µg/ml bei Patient 3 bis 6,76 µg/ml bei Patient 9 reichten. In den darauffolgenden 12 Stunden fiel der Plasmaspiegel von Linezolid kontinuierlich ab bis zu einem Minimalwert von $0,86 \pm 0,61$ µg/ml rechts beziehungsweise $1,41 \pm 1,07$ µg/ml links.

Im Gegensatz zum Plasma, wo auch nach der Repetitionsdosis das Maximum bereits nach einer Stunde erreicht wurde, trat im Mikrodialysat erst nach 6 Stunden Maximalwerte von $4,86 \pm 1,43$ µg/ml rechts und $5,93 \pm 2,31$ µg/ml links auf. Die Konzentrationen der einzelnen Patienten schwankten von 2,71 µg/ml links bei Patient 4 bis 8,65 µg/ml links bei Patient 7. Bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes nach 26 Stunden kam es zu einem Abfall der Linezolidkonzentration auf durchschnittlich $2,52 \pm 1,03$ µg/ml rechts und $3,73 \pm 1,50$ µg/ml links. Dies entspricht circa 50 % der zu dieser Zeitpunkt gemessenen Plasmakonzentration von Linezolid.

5 DISKUSSION

Postoperative Wundinfektionen führen zu einer gesteigerten Morbiditäts- und Letalitätsrate, verlängerten Klinikaufenthalten und letztendlich zu erhöhten Therapiekosten. Die postoperative Infektion des Sternums und eine daraus resultierende Mediastinitis eine Hauptkomplikation bei Herzoperationen. Antibiotika werden sowohl prophylaktisch als auch postoperativ zur Prophylaxe der Mediastinitis zusätzlich zu operativen Methoden eingesetzt. In der vorliegenden Diplomarbeit sollte erstmals die Gewebegängigkeit der beiden klinisch bewährten Antibiotika Cefazolin und Linezolid in das Knochengewebe des Sternums quantifiziert werden. Zu diesem Zweck wurden bei 9 Patienten, die sich einem Eingriff am Herzen unterzogen, mittels einer Mikrosonde, von beiden Seiten des Brustbeins Mikrodialysat entnommen, via HPLC – Analyse die Konzentration der beiden Arzneistoffe in der Gewebsflüssigkeit bestimmt und mit dem jeweiligen Plasmaspiegel korreliert.

Nach einer Infusion von 4 g Cefazolin über 30 Minuten und einer Repetitionsdosis von 2 g nach 6 Stunden, betrug die durchschnittliche AUC von Cefazolin im Plasma $1628,6 \pm 819,4 \mu\text{g/ml/26 Stunden}$. Die kumulative Konzentration des Arzneistoffes im Mikrodialysat des Gewebes im Sternum erreichte durchschnittlich 20 – 30 % der Plasmakonzentration, wobei es keinen signifikanten Unterschied zwischen der Abnahme auf der rechten ($\text{AUC} = 441,3 \pm 284,5 \mu\text{g/ml/24 Stunden}$) und der linken Seite des Sternums ($\text{AUC} = 311,3 \pm 101,1 \mu\text{g/ml/26 Stunden}$) gab (Abbildung 22).

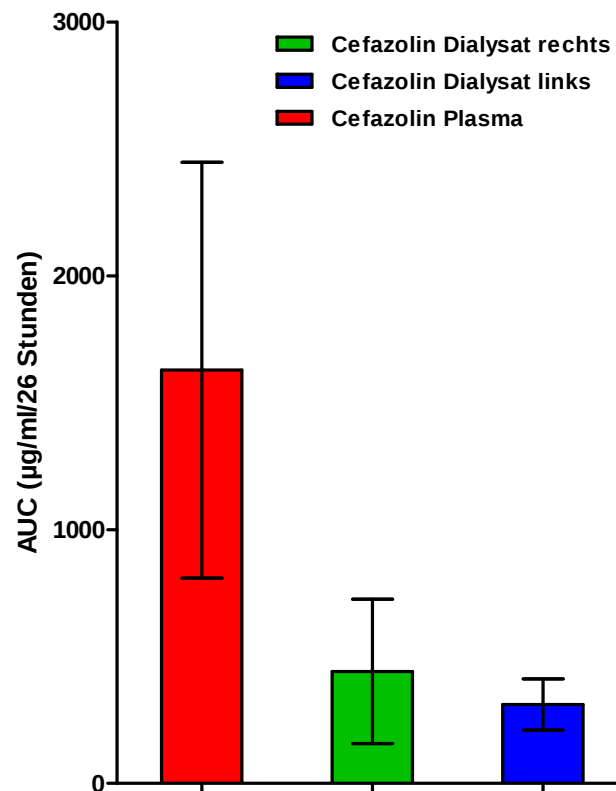


Abbildung 22: Vergleich der AU von Cefazolin in Plasma und Mikrodialysat.

Die Wirkung von Cefazolin ist zeitabhängig („time dependent killing“) und erfordert, dass die Cefazolinkonzentration für mindestens 30 – 40 % des Therapieintervalls über der MIC von 2 µg/ml liegt. (49, 50) Im Plasma lagen die Konzentrationen bei allen neun Patienten auch nach 20 – 26 Stunden noch um das circa 10 – fache über der MIC. Obwohl im Mikrodialysat die Cefazolinkonzentration gegen Ende des Versuchszeitraumes von 26 Stunden auf Werte knapp über den geforderten Wert von 2 µg/ml, bzw. bei 3 / 9 Patienten sogar leicht darunter sank, ist eine ausreichende Penetration des Knochengewebes mit Cefazolin gewährleistet. Eine für die Wirksamkeit ausreichende Konzentration von Cefazolin im Gewebe konnte auch in einer vergleichbaren Studie von Douglas et al. nachgewiesen werden. (49) Hierbei wurde mittels Mikrodialyse die Gewebskonzentration von Cefazolin im

Interstitialraum des subkutanen Fettgewebes nach einer Verabreichung von 2 g Cefazolin als 3 Minuten Bolusgabe untersucht. Interessanterweise zeigte sich als Folge der Linezolidinfusion nach 14 Stunden ein leichter Anstieg des Cefazolinspiegels im Mikrodialysat, jedoch nicht im Plasma, möglicherweise durch Verdrängung von Cefazolin, das eine hohe Proteinbindung von 74 – 86 % aufweist, aus der Proteinbindungsstelle.

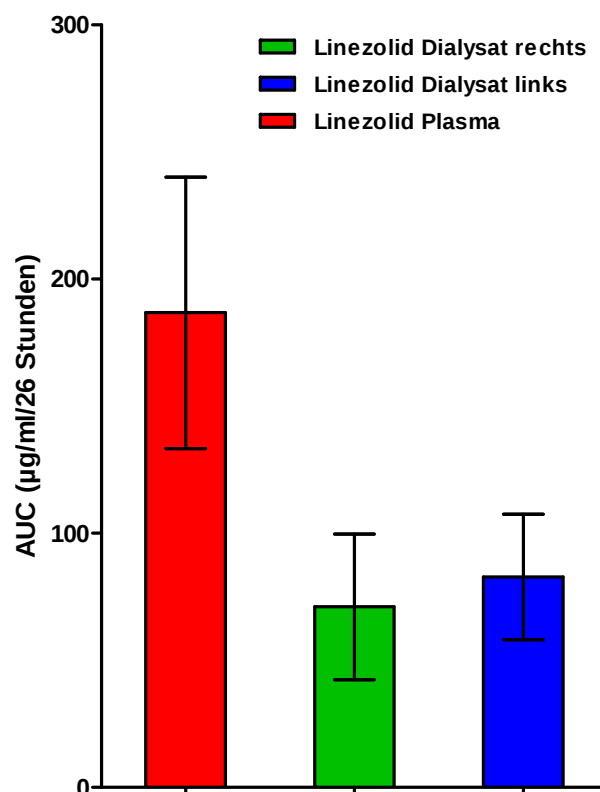


Abbildung 23: Vergleich der AUC von Linezolid in Plasma und Mikrodialysat.

Wie in Abbildung 23 ersichtlich, betrug nach einer Infusion von 600 mg Linezolid i.v. über 30 Minuten und einer Repetitionsdosis von 600 mg nach 14 Stunden, die mittlere AUC von Linezolid im Plasma $186,78 \pm 53,41 \mu\text{g/ml/26 Stunden}$. Die kumulative Konzentration des Arzneistoffes im Mikrodialysat des Gewebes betrug im Vergleich hierzu durchschnittlich 40 % der Plasmakonzentration

und – wie schon bei Cefazolin beobachtet – gab es keinen signifikanten Unterschied, ob die Entnahme des Mikrodialysats auf der linken Seite ($82,79 \pm 24,72 \mu\text{g/ml/26}$ Stunden) oder der rechten Seite des Brustbeins ($71,05 \pm 28,65 \mu\text{g/ml/26}$ Stunden) erfolgte. Für die Wirkung von Linezolid ist eine MIC_{90} , die minimale Hemmkonzentration, bei der 90 % aller Pathogene am Wachstum gehindert werden, von $0,5 - 4 \mu\text{g/ml}$ (35, 36, 37, 38) erforderlich.

Die Studie zeigte eine ausgezeichnete Penetration von Linezolid in den spongiösen Knochen, die auch in der Literatur beschrieben wird. (51) Allerdings übertrafen die Gewebskonzentrationen nur in 56% der gemessenen Zeit die MIC_{90} von *Staphylococcus aureus* auf der linken Seite des Sternums. Außerdem wurden die empfohlenen 24 – Stunden AUC/MIC-target-ratio nur für *Staphylococcus epidermidis*, nicht aber für *Staphylococcus aureus* erreicht. (52) Daher wird die beobachtete Linezolid-Konzentration unter Umständen nicht ausreichend sein, um im vollen Umfang vor Infektionen zu schützen. Traunmüller et al. kam zu vergleichbaren mittleren Gewebekonzentrationen im spongiösen Knochen von Diabetikern mit einer bakteriellen Infektion des Fußes. (53) Weiters waren die Ergebnisse komparabel zu Mikrodialysedaten im spongiösen Schweineknochen von Stolle et al. (54)

Es werden noch mehrere Studien notwendig sein um das Makrolidantibiotikum Linezolid therapeutisch optimal auszunutzen. Auch ein Drug – Monitoring kann in einigen Fällen angebracht sein, um einerseits eine Überdosierung mit den damit verbundenen Nebenwirkungen, andererseits einen Therapiemisserfolgs zu verhindern. (55)

6 ZUSAMMENFASSUNG

Eine Sternuminfektion ist die Hauptkomplikationen bei Herzoperationen, die zwar nur in < 10 % der Patienten auftritt, jedoch eine Morbiditätsrate von 50 % aufweist. Zur Prophylaxe werden daher hochdosierte Antibiotika, wie Cefazolin, ein Cephalosporin der ersten Generation, und Linezolid, ein neues Makrolidantibiotikum, routinemäßig verabreicht. In der vorliegenden Diplomarbeit sollte mittels HPLC-Analyse von Plasma- und Gewebsflüssigkeitsproben, die mittels Mikrodialyse aus dem Sternumgewebe gewonnen wurden, die tatsächliche Konzentration der Arzneistoffe im Knochengewebe bestimmt werden, um jetzige Dosierschemata eventuell neu zu adaptieren.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde aufgezeigt, dass die erforderliche Wirkkonzentration von Cefazolin im Knochengewebe für mindestens 30 – 40 % des Therapieintervalls erreicht wurde und somit eine ausreichende Penetration des Knochens mit Cefazolin gewährleistet ist. Für Linezolid konnte eine ausgezeichnete Penetration von in den spongiösen Knochen gezeigt werden. Jedoch lag die Gewebskonzentrationen nur in 56 % der gemessenen Zeit über der erforderliche Wirkkonzentration. Das verwendete Dosierschema für Linezolid ist daher unter Umständen nicht ausreichend, um im vollen Umfang vor Infektionen zu schützen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die gemessenen Konzentrationen von Cefazolin in Plasma und Knochengewebe ausreichend sind, um bestmöglichen Schutz vor bakteriellen Infektionen zu gewährleisten. Die Verwendung von Linezolid ist aufgrund seines guten Penetrationsverhaltens vielversprechend, jedoch ist eine Anpassung des Dosierschemas speziell bei einer Infektion mit *Staphylococcus aureus* zu empfehlen.

7 TABELLENANHANG

Tabelle 11: Cefazolinkonzentration ($\mu\text{g/ml}$) im Plasma der einzelnen Patienten

Zeit (hr)	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5	Patient 6	Patient 7	Patient 8	Patient 9
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,50	0,00	58,03	72,06	0,00	49,54	17,43	41,03	41,10	0,00
1,00	244,64	342,67	378,08	119,12	102,16	424,38	230,57	136,40	280,40
1,50	227,90	213,70	350,64	187,43	105,23	246,10	182,39	230,83	205,87
2,00	159,24	184,91	240,88	119,30	142,06	222,71	145,91	187,39	191,07
2,50	125,06	144,97	223,19	126,55	106,83	207,64	115,93	173,11	168,92
3,00	69,43	133,93	232,12	120,00	87,35	75,59	84,48	86,32	104,40
3,50	40,29	71,13	136,49	46,62	65,06	57,66	26,27	66,39	60,24
4,00	61,73	42,50	104,92	37,32	18,28	82,28	39,33	55,14	53,80
6,00	60,79	77,94	73,25	55,80	52,75	266,76	79,20	75,90	9,86
8,00	96,29	117,60	212,53	121,96	73,43	48,80	109,01	121,49	52,20
10,00	45,07	70,08	189,49	66,71	48,21	159,65	53,67	112,08	94,12
12,00	36,11	53,77	134,59	39,71	42,08	131,22	56,57	56,83	30,13
14,00	13,33	32,61	109,54	20,17	19,35	130,63	33,30	42,34	15,56
14,50	18,18	30,22	91,73	16,34	17,16	141,67	23,16	40,88	21,39
15,00	16,59	30,20	77,00	18,87	17,16	129,70	18,19	35,91	21,20
15,50	11,36	29,66	84,34	15,85	16,29	130,90	17,48	38,05	17,32
16,00	18,32	23,85	72,24	11,45	16,64	148,02	24,71	35,16	20,24
18,00	17,03	10,25	48,85	24,33	14,61	104,38	17,02	27,75	13,94
20,00	9,87	18,03	72,74	12,80	7,31	67,16	16,47	19,07	6,20
22,00	8,78	12,04	39,27	6,96	4,44	83,52	5,99	10,14	8,28
24,00	5,61	5,73	29,65	5,65	1,84	37,52	4,87	18,95	8,55
26,00	2,63	4,64	25,00	4,75	1,80	52,32	4,25	10,12	4,32

Tabelle 12: Cefazolinkonzentration ($\mu\text{g/ml}$) im Mikrodialysat (Abnahme:rechts) der einzelnen Patienten

Time (hr)	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5	Patient 6	Patient 7	Patient 8	Patient 9
0,00									
0,50									
1,00									
1,50									
2,00									
2,50	17,97	29,23	13,11	22,79	28,58	43,39	20,73		43,16
3,00	10,20	26,99	59,72	41,30	17,94	46,89	20,73		15,94
3,50	10,58	19,57	56,07	45,04	11,09	19,59	13,71		15,84
4,00	3,76	16,31	21,08	24,89	8,48	50,43	21,64		20,84
6,00	29,67	7,38			21,69	86,63	20,91		19,57
8,00	20,38	27,93	101,21			73,10	32,08		37,10
10,00	5,10	33,82	88,43			23,32	40,62		20,04
12,00	9,05	10,83	49,50			12,99	32,18		15,80
14,00	6,08	0,46				13,50	6,62		
14,50	4,20	0,27				8,77	5,30		
15,00	18,70	1,44				8,27	1,40		
15,50	2,46	0,79					0,91		
16,00	0,33						7,68		
18,00	3,42	4,33	22,66			9,91	10,32		
20,00	2,50	3,24	14,14			8,86	10,86		3,40
22,00	1,61		11,88			6,85	4,43		0,79
24,00	1,04	1,62	11,25			6,43			
26,00	0,52	0,65					3,96		0,25

Tabelle 13: Cefazolinkonzentration (µg/ml) im Mikrodialysat (Abnahme: links) der einzelnen Patienten

Time (hr)	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5	Patient 6	Patient 7	Patient 8	Patient 9
0,00									
0,50									
1,00									
1,50									
2,00									
2,50	17,29	13,44	49,12	16,35	22,92		28,35		
3,00	13,46	8,91	106,31	28,68	16,52		21,79		13,03
3,50	12,63	6,67	93,11	25,42	6,49		8,28		15,16
4,00	6,57	5,47	96,59	9,49	8,28	19,00	13,86	59,45	15,26
6,00	33,11	12,83	47,67	6,08	75,94	29,12	13,67	31,10	15,80
8,00	26,89	36,06	164,69	13,84	43,79	74,06	24,02	44,79	38,99
10,00	5,04	36,03		11,87	1,97	17,65	26,72	27,93	
12,00	6,42	14,71		10,66	11,35		12,05	22,74	23,14
14,00	5,14	1,34					10,98		
14,50	5,44	0,47					4,79	10,30	
15,00	3,14	1,93		4,96			4,14	8,93	
15,50	2,46	0,42		1,22			4,81	8,59	
16,00	0,20			4,09			6,35	5,13	
18,00	3,11	0,52		4,39			11,08	7,32	
20,00	2,95	0,10		2,03			8,70	9,65	5,88
22,00	2,55			1,50			3,15		3,59
24,00	2,33	0,68						4,99	
26,00	2,02			1,33			1,58	3,98	1,50

Tabelle 14: Linezolidkonzentration ($\mu\text{g/ml}$) im Plasma der einzelnen Patienten

Time (hr)	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5	Patient 6	Patient 7	Patient 8	Patient 9
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,50	0,12	3,66	8,79	0,00	1,72	6,53	8,81	4,33	0,00
1,00	27,79	17,83	37,17	18,76	4,15	30,74	24,34	8,03	20,74
1,50	13,45	11,62	20,01	9,26	5,72	16,35	8,25	12,30	17,16
2,00	9,89	9,14	14,53	5,86	8,93	14,66	8,53	11,63	13,67
2,50	7,95	8,54	13,07	6,40	7,53	13,25	6,49	11,12	12,17
3,00	5,75	8,14	14,02	6,90	5,55	5,22	3,98	8,01	8,01
3,50	3,82	6,45	10,70	3,33	5,94	4,70	1,79	5,71	6,33
4,00	6,09	4,16	8,38	2,73	1,96	7,43	2,93	5,32	6,14
6,00	6,81	7,84	5,74	4,74	5,71	10,01	6,90	6,84	1,52
8,00	6,19	5,94	7,21	3,57	4,21	4,70	5,49	6,40	6,28
10,00	4,09	3,93	7,87	3,22	3,38	7,98	5,48	7,30	5,34
12,00	4,11	3,09	5,27	2,05	2,94	6,55	3,71	4,48	2,47
14,00	1,98	1,93	3,92	1,22	1,65	4,28	2,45	3,80	1,45
14,50	3,06	21,06	9,44	8,76	4,97	9,21	6,26	3,66	2,24
15,00	17,20	21,39	21,88	10,48	11,01	27,63	9,63	20,22	16,65
15,50	8,37	11,66	21,97	6,75	11,13	21,80	9,39	15,08	10,04
16,00	12,92	9,11	18,06	4,60	10,61	22,14	9,89	13,68	10,99
18,00	12,33	10,65	11,32	9,89	9,75	15,54	6,59	10,99	8,05
20,00	8,84	7,13	16,18	6,10	5,79	9,54	7,29	7,78	3,96
22,00	9,12	5,68	9,67	3,45	4,25	10,66	3,88	5,38	6,32
24,00	7,57	2,96	7,19	3,36	2,138	5,39	3,01	9,95	6,67
26,00	4,78	2,78	6,07	3,15	1,97	7,58	3,19	7,12	4,03

Tabelle 15: Linezolidkonzentration ($\mu\text{g/ml}$) im Mikrodialysat (Abnahme: rechts) der einzelnen Patienten

Time (hr)	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5	Patient 6	Patient 7	Patient 8	Patient 9
0,00									
0,50									
1,00									
1,50									
2,00									
2,50	3,39	3,92	1,58	2,52	5,13	5,51	3,06		6,76
3,00	2,57	4,19	6,31	4,08	3,22	6,27	3,12		2,39
3,50	2,36	3,60	6,44	5,09	2,10	2,86	2,18		2,77
4,00	1,12	2,53	1,57	3,30	1,53	5,88	3,52		3,69
6,00	4,58	0,43		0,12	2,39	8,95	5,89		3,90
8,00	2,57	4,00	5,80			5,12	2,12		4,74
10,00	2,00	3,82	5,54		0,19	2,14	3,85		1,81
12,00	1,02	1,58	3,67		0,56	1,28	3,99		3,37
14,00	1,63	0,08			0,53	1,22	0,79		
14,50	1,52	0,06				0,89	0,98		
15,00	2,29					1,03	0,33		
15,50	2,27						0,25		
16,00	0,66						2,57		
18,00	4,21	4,86	7,28			2,50	5,00		
20,00	3,74	5,08	5,20			2,67	6,62		5,85
22,00	3,22		4,47			2,43	3,67		2,46
24,00	2,69	4,02	4,45			2,73			
26,00	2,10	2,71					3,84		1,41

Tabelle 16: Linezolidkonzentration ($\mu\text{g/ml}$) im Mikrodialysat (Abnahme: links) der einzelnen Patienten

Time (hr)	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5	Patient 6	Patient 7	Patient 8	Patient 9
0,00									
0,50									
1,00									
1,50									
2,00									
2,50	3,71	2,02	4,81	4,07	3,84		4,17	0,70	*
3,00	3,39	1,47	7,52	2,33	3,12		3,14		2,38
3,50	2,93	1,05	6,61	3,58	1,27		1,35		3,37
4,00	2,31	1,03	6,76	1,40	1,74	3,12	2,28	5,87	3,54
6,00	4,64	1,63	4,46	1,21	4,49	4,90	3,46	4,37	3,93
8,00	3,32	3,53		1,53	4,44	5,67	2,76	4,38	4,28
10,00	1,03	3,93		1,56	0,66	1,96	3,06	3,69	
12,00	1,38	2,12		1,71	2,56		2,81	3,93	2,79
14,00	1,39	0,22			0,19		2,40		
14,50	2,33	0,09					0,99	2,24	
15,00	2,67			1,95			1,11	3,17	
15,50	2,71			0,85			1,57	3,89	
16,00	0,60			2,56			2,18	2,83	
18,00	4,06			4,20			5,79	4,40	
20,00	4,58			2,71			8,65	7,07	6,62
22,00	3,58			2,43			5,29		5,12
24,00	3,54			0,32				6,14	
26,00	3,66			2,45			3,18	6,29	3,06

8 LITERATURVERZEICHNIS

- 1 <http://en.academic.ru/dic.nsf/enwiki/665449> (2014)
- 2 Macrí P, Jiménez MF, Novoa N, Varela G. *A descriptive analysis of a series of patients diagnosed with an acute mediastinitis*. Arch Bronc. **2003**; 39(9):428-30.
- 3 Bulut M, Balci V, Akköse S, Armağan E. *Fatal descending necrotising mediastinitis*. Emerg Med J. **2004**; 21(1):122-3.
- 4 De Feo M, Renzulli A, Ismeno G, Gregorio R, Della Corte A, Utili R, Cotrufo M. *Variables predicting adverse outcome in patients with deep sternal wound infection*. Ann Thorac Surg. **2001**; 71(1):324-31.
- 5 De Fontaine S, Devos S, Goldschmidt D. *Reduction mammoplasty combined with pectoralis major muscle flaps for median sternotomy wound closure*. Br J Plast Surg **1996**; 49:220-222.
- 6 El Oakley RM, Wright JE. *Postoperative mediastinitis: classification and management*. Ann Thorac Surg. **1996**; 61(3):1030-6.
- 7 Francel TJ, Kouchoukos NT. *A rational approach to wound difficulties after sternotomy: reconstruction and long term results*. Ann Thorac Surg. **2001**; 72(4):1419-29.
- 8 Schimmer C, Sommer SP, Bensch M, Elert O, Leyr R. *Management of poststernotomy mediastinitis: experience and result of different therapy modalities*. Thorac Cardiovasc Surg. **2008**; 56(4):200-4.
- 9 Culliford AT, Cunningham Jr JN, Zeff RH, Isom OW, Teiko P, Spencer FC. *Sternal and costochondral infections following open-heart surgery: A review of 2594 cases*. J Thorac Cardiovasc Surg. **1976**; 72:714-726.
- 10 Ennker IC, Albert A, Pietrowski D, Bauer K, Ennker J, Florath I. *Impact of gender and outcome after coronary artery bypass surgery*. Asian Cardiovasc Surg Ann. **2009**; 17:253-8.
- 11 Gardlund B, Bitkover CY, Vaage J. *Postoperative mediastinitis in cardiac surgery microbiology and pathogenesis*. Eur J Cardiothorac Surg. **2002**; 21:825-30.
- 12 Mangram AJ, Horan TC, Pearson ML, Silver LC, Jarvis WR. *Guideline for Prevention of Surgical Site Infection*. Am J Infect Control **1999**; 27:97-132.
- 13 Rand RP, Cochran RP, Aziz S, Hofer BO, Allen MD, Verrier ED, Kunzelman KS. *Prospective trial of catheter irrigation and muscle flaps for sternal wound infection*. Ann Thorac Surg. **1998**; 65:1046-1049.
- 14 Hersh RE, Jack JM, Dahman MI, Morgan RF, Drake DB. *The vacuum-assisted closure device as a bridge to sternal wound closure* Ann Plast Surg. **2001**; 46:250-4.
- 15 Agarwal JP, Oglivie M, Wu LC, Lohmann RF, Gottlieb LJ, Franczyk M, Seng DH. *Vacuum-assisted closure for sternal wounds: a first line therapeutic management approach*. Plastic Reconstr Surg. **2005**; 116(4):1035-41.

- 16 www.kci-austria.at (**2013**)
- 17 De Feo M, Vicchio M, Santè P, Cerasuolo F, Nappi G. *Evolution in the treatment of mediastinitis: single-center experience*. Asian Cardiovasc Thorac Ann. **2011**; 19:39-43.
- 18 Sjögren J, Malmsjö M, Gustafsson R, Ingemansson R. *Poststernotomy mediastinitis: a review of conventional surgical treatments, vacuum-assisted closure therapy and presentation of the Lund University Hospital mediastinitis algorithm*. Card Thor Surg. **2006**; 30:898-905.
- 19 <http://www.drugbank.ca/drugs/DB01327> (**2013**)
- 20 Karchmer AW. Cephalosporins,. In: G.L. Mandell, J.E. Bennett and R. Dolin (cd.), *Principles and practice of infectious diseases*, 5th cd. Churchill Livingstone, Philadelphia, PA. **2000**; pp 274-91
- 21 Cunha BA, Gossling HR, Pasternak HS, Nightingale CH, Quintiliani R.. *Penetration of cephalosporine into bone*. Infection **1984**; 12:80-84.
- 22 Fass, R.. *Treatment of osteomyelitis and septic arthritis with cefazolin*. Antimicrob. Agents Chemother. **1978**; 13:405-411.
- 23 www.arzneistoffe.net/Wirkungsmechanismus%20der%20Cephalosporine.html (**2013**)
- 24 <http://www.antimicrobe.org/drugpopup/Cefazolin.pdf> (**2013**)
- 25 <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00601> (**2013**)
- 26 http://www.chemicalbook.com/Search_DE.aspx?keyword=497-25-6 (**2013**)
- 27 Mutschler: Arzneimittelwirkungen Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie; 9.Auflage; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart **2008**; pp 833
- 28 Mutschler: Arzneimittelwirkungen Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie; 9.Auflage; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart **2008**; pp 821
- 29 <http://www.organische-chemie.ch/chemie/2008aug/antibiotika.shtm> (**2013**)
- 30 Jones RN, Johnson DM, Erwin ME. *In vitro antimicrobial activities and spectra of U-100592 and U-100766, two novel fluorinated oxazolidinones*. Antimicrob Agents Chemother. **1996**; 40(3):720-26.
- 31 Bowker KE, Wootton M, Holt HA, Macgowan AP. *In vitro activity of linezolid against Gram-positive isolates causing infection in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients*. J Antimicrob Chemother. **2002**; 49(3):578-80.
- 32 Zurenko GE, Yagi BH, Schaadt RD, Allison JW, Kilburn JO, Glickman SE, Hutchinson DK, Barbachyn MR, Brickner SJ. *In vitro activities of U-100592 and U-100766; novel oxazolidinone antibacterial agents*. Antimicrob Agents Chemother. **1996**; 40(4):839-45.
- 33 Wilcox M, Nathwani D, Dryden M. *Linezolid compared with teicoplanin for the treatment of suspected or proven Gram-positive infections*. J Antimicrob Chemother. **2004**; 53(2):335-44.
- 34 Rubinstein E, Cammarata S, Oliphant T, Wunderink R. *Linezolid Nosocomial Pneumonia Study Group. Linezolid (PNU-100766) versus vancomycin in the*

- treatment of hospitalized patients with nosocomial pneumonia: a randomized, double-blind, multicenter study.* Clin Infect Dis. **2001**; 32(3):402-12.
- 35 ZYVOX package insert; Pfizer Inc. New York, NY, USA (2007). Accessed on July 15 2007. http://www.pfizer.com/pfizer/download/uspi_zyxox.pdf (**2013**)
- 36 Johnson AP, Warner M, Livermore DM. *Activity of linezolid against multi-resistant Gram-positive bacteria from diverse hospitals in the United Kingdom.* J Antimicrob Chemother. **2000**; 45(2):225-30.
- 37 Draghi DC, Sheehan DJ, Hogan P, Sahn DF. *In vitro activity of linezolid against key gram-positive organisms isolated in the United States: results of the LEADER 2004 surveillance program.* Antimicrob Agents Chemother. **2005**; 49(12):5024-32.
- 38 Gee T, Ellis R, Marshall G, Andrews J, Ashby J, Wise R. *Pharmacokinetics and tissue penetration of linezolid following multiple oral doses.* Antimicrob Agents Chemother. **2001**; 45:1843-5.
- 39 Welshman IR, Stalker DJ, Wajszczuk CP. *Linezolid absolute bioavailability and the effect of food on oral bioavailability.* Biopharm Drug Dispos. **2001**; 22(3):91-7.
- 40 Hendershot PE, Antal EJ, Welshman IR, Batts DH, Hopkins NK. *Linezolid: pharmacokinetic and pharmacodynamics evaluation of co-administration with pseudoephedrine HCl, phenylpropanolamine HCl, and dextromethorphan HBr.* J Clin Pharmacol. **2001**; 41:563-72.
- 41 Lovering AM, Zhang J, Bannister GC, Lankester BJA, Brown JHM, Narendra G, MacGowan AP. *Penetration of linezolid into bone, fat, muscle and haematoma of patients undergoing routine hip replacement.* J Antimicrob Chemother. **2002**; 50:73-77.
- 42 Pawsey SD, Daley-Yates PTR, Wajszczuk CP. *U-1007666 safety, toleration and pharmacokinetics after oral and intravenous administration.* Abstracts of the First European Congress of Chemotherapy. **1996**; F151.
- 43 Slatter JG, Stalker DJ, Fennstra KL, Welshman IR, Bruss JB, Sams JP, Johnson MG, Sanders PE, Hauer MJ, Fagerness PE, Stryd RP, Peng GW, Shobe EM. *Pharmacokinetics, metabolism and excretion of linezolid following an oral dose of ¹⁴C linezolid to healthy human subjects.* Drug Metab Dispos. **2001**; 29:1136-45.
- 44 MacGowan AP. *Pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of linezolid in healthy volunteers and patients with Gram-positive infections.* J Antimicrob Chemother. **2003**; 51, Suppl. S2, ii17-ii25
- 45 Pharmacia Zyvox (linezolid) Clinical Information Pack Pharmacia, Peapack, NJ, USA (**2001**)
- 46 Gaddium JH. *Push-Pull cannulae.* J Physiol. **1961**; 155:1-2.
- 47 Plock N, Kloft C. *Microdialysis—theoretical background and recent implementation in applied life-sciences.* Eur J Pharm Sci. **2005**; 25:1–24.

- 48 Delgado JM, DeFeudis FV, Roth RH, Ryugo DK, Mitruka BM. *Dialytrode for long term intracerebral perfusion in awake monkeys*. Arch Int Pharmacodyn Ther. **1972**; 198:9-21.
- 49 Douglas A, Udy AA, Wallis SC, Jarrett P, Stuart J, Lassig-Smith M, Deans R, Roberts MS, Taraporewalla K, Jenkins J, Medley G, Lipman J, Roberts JA. *Plasma and Tissue Pharmacokinetics of Cefazolin in Patients Undergoing Elective and Semielective Abdominal Aortic Aneurysm Open Repair Surgery*. Antimicrob Agents Chemother. **2011**; 55(11):5238-42.
- 50 European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. 2010. MIC distributions. www.eucast.org (**2013**)
- 51 Estes KS, Derendorf H. *Comparison of the pharmacokinetic properties of vancomycin, linezolid, tigecyclin and daptomycin*. Eur J Med Res. **2010**; 15(12):533-43.
- 52 Craig WA. *Basic pharmacodynamics of antibacterials with clinical applications to the use of beta-lactams, glycopeptides and linezolid*. Infect Dis Clin North Am. **2003**; 17(3):479-501.
- 53 Traunmüller F, Schintler MV, Spendel S, Popovic M, Mauric O, Scharnagl E, Joukhadar C. *Linezolid concentrations in infected soft tissue and bone following repetitive doses in diabetic patients with bacterial foot infections*. Int J Antimicrob Agents **2010**; 36(1):84-6.
- 54 Stolle LB, Plock N, Joukhadar C, Arpi M, Emmertsen KJ, Buerger C, Riegels-Nielsen P, Kloft C. *Pharmacokinetics of linezolid in bone tissue investigated by in vivo microdialysis*. Scand J Infect Dis. **2008**; 40(1):24-9.
- 55 Pea F, Furlanut M, Cojutti P, Cristini F, Zamparini E, Franceschi L, Viale P. *Therapeutic Drug Monitoring of Linezolid: a Retrospective Monocentric Analyse*. Antimicrob Agents Chemother. **2010**; 54(11):4605-10.

CURRICULUM VITAE

Persönliche Informationen

Name: Mario Schwentenwein

Geburtsdatum: 21.01.1985

Geburtsort: Wiener Neustadt

Eltern: Gerald Schwentenwein, Baumeister, selbstständig
Marlene Schwentenwein, Angestellte

Staatsbürgerschaft: Österreich

Ausbildung:

1991 – 1995 Volksschule Schattendorf / Burgenland

1995 – 2003 Gymnasium Mattersburg

Wintersemester 2003: Immatrikulation an der Universität Wien Pharmazie

Berufserfahrung:

2007 – 2013 Angestellter der Universität Wien, Tutor im Labor
„Qualitative Pharmazeutische Analytik“