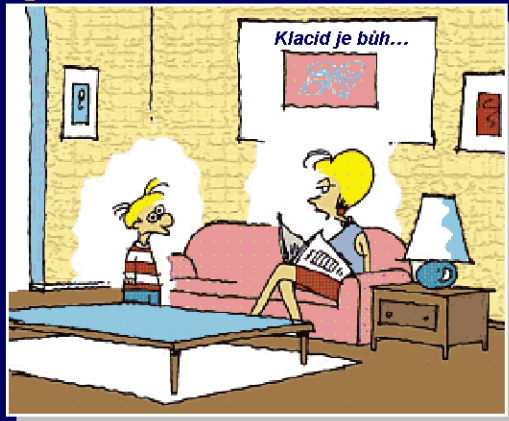
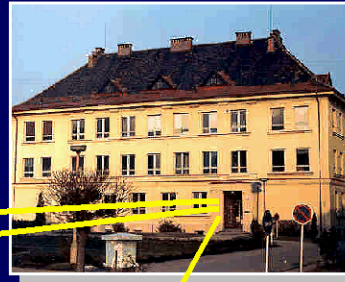


Once upon a time ...



Dynamika rezistence v bakteriálních populacích

**Tomáš Látal
Trios, spol. s r.o.**

Mikrobiologická praxe

- (správná) indikace mikrobiologického vyšetření,
- (správný) odběr a transport vzorku,

- (správné) provedení mikrobiologického vyšetření,
- (vhodný) závěr (= výsledek, komentář výsledku, doporučení, mikrobiologická konzultace, ...),

- (správné) akceptování "závěru" mikrobiologa klinickým lékařem,
- zahájení léčby

Chybovost každého kroku procesu 1- 5 % ... $(1-0.03)^6 \Rightarrow 0.88$

Ale ... !!!

- Správná velikost dávky ?
- Správné dávkování v čase ?
- Řádná léčba až do předepsaného konce ?

Co když ne ?

- Jak popsat ?
- Jak prokázat funkčnost dynamických procesů ?
- Jak prokázat chybovost těchto procesů ?
- Jak prokázat původ chybovost těchto procesů ?
- ...

Matematické modely - princip

- popis dynamických dějů s využití matematického a statistického výpočetního aparátu
- subjekty a procesy, které se odehrávají v modelu jsou popsány veličinami s hodnotami definovanými v čase
- náhodná veličina

Proč zde matematické modely ?

Průkazný aparát pro :

- popis vzniku a vývoje rezistence během léčby ATB
- odpovědi na otázky úspěchu nebo neúspěchu léčby ATB

Příklady situací hodných zájmu

- p-st převládnutí R-mutant v průběhu léčby ATB v závislosti na expozici ATB,
- simulace podmínek, kdy mohou být vysoké, neobvyklé dávky ATB úspěšné v prevenci vzniku a vývoje R,
- podmínky úspěšného potlačení vzniku a vývoje R léčbou kombinací několika ATB,
- podmínky, kdy nedodržení předepsané léčby je příčinou jejího selhání (a toto selhání je přitom způsobené R).

Model A. – teorie

"Základní matematický model" – východiska

$$C^0 = D / V$$

$$C = C + C^0$$

$$g_s = b - x$$

$$dC/dt = - k_{el}C$$

C ... koncentrace ATB

D ... podaná dávka

V ... distribuovaný objem

C⁰ ... zvýšení koncentrace při každé dávce

g_s ... čistá míra růstu S-populace

b ... míra buněčného dělení

x ... míra bakterií zničených ne-ATB

k_{el} ... eliminační konstanta (elim. ATB)

Model A. – teorie

"Základní matematický model" – východiska

$$dS/dt = g_S S - f_S(C)S$$

(kolik naroste S - kolik je zničeno S)

$$dR/dt = g_R R - f_R(C)R$$

(kolik naroste R - kolik je zničeno R)

kde :

$$f_S(C) = k_{kS} C / (C + C_{50S})$$

kde :

$$f_R(C) = k_{kR} C / (C + C_{50R})$$

$f_S(C), f_R(C)$... fce vymírání S-, resp. R-populace v záv. na koncentraci

k_{kS}, k_{kR} ... max. míra zničení S-, resp. R-populace

C_{50S}, C_{50R} ... koncentrace při 0.5 k_{kS} , resp. 0.5 k_{kR}

Model A. – teorie

"Základní matematický model" – východiska

Model je doplněn náhodnou složkou, kt. vyjadřuje výskyt R-mutant.

Výskyt se řídí Poissonovým rozložením s mírou μ , když se S bakterie dělí.

Princip:

Za čas dt je $R \Rightarrow R+1$ s pravděpodobností $\mu b S dt$.

Model A. – teorie

"Základní matematický model" – souhrn

- 1) modelujeme změny koncentrace ATB v čase
- 2) dynamicky se mění velikost S- a R- populace (jako funkce koncentrace)
- 3) R-mutanty vznikají a vyvíjejí se v čase se jako náhodná veličina

Model A.

"Základní matematický model" – použití

Modelování pravděpodobnosti vzniku, vývoje a dynamiky rezistence během léčby antibiotiky ???

Vst. podmínky:

- hostitel infikovaný S_0 bakteriemi (na poč. léčby zcela S)
- lék je udržován na konstantní koncentraci C^A

Model A.
"Základní matematický model" – použití

Řešení :

- čistá míra růstu $b - x - f(C^A)$
- podávání léku v adekvátní dávce \Rightarrow S populace se kontinuálně zmenšuje
- p-st výskytu R-mutant je **úměrná** počtu buněčných dělení během doby do zničení S populace

Model A.
"Základní matematický model" – použití

Řešení :

počet R-mutant, které se vyskytnou
během intervalu léčby:

$$E(M) = \int_{t_0}^{t_{\text{ext}}} \mu b S(t) dt$$

μ ...míra mutací
 t_0 ...čas zahájení léčby,
 t_{ext} ...čas, kdy je S- populace potlačena

$$E(M) = \mu S_0 \frac{b}{(x + f(C^A) - b)}$$

Model A.

"Základní matematický model" – závěry

$$b \sim (x + f(C^{\wedge}) - b) \quad \Rightarrow \quad E(M) \sim \mu S_0$$

Jestliže má míra dělení buněk při nepřítomnosti jakékoliv obrany hostitele nebo léku **stejný řád** jako celková míra úbytku v přítomnosti obrany hostitele a léku, pak $E(M) \sim \mu S_0$

Toto číslo je stejné jako pravděpodobnost počtu mutantů přítomných v populaci na začátku léčby. Jestliže stávající populace neobsahuje žádné rezistentní mutanty, to naznačuje, že μS_0 je menší než 1.

Proto tedy, jestliže žádné rezistentní mutanty nejsou přítomné na začátku léčby a jestliže antibiotikum (plus jakákoliv obrana hostitele) ničí bakterie v míře takové, že jejich čistý pokles se vyskytuje v míře srovnatelné s jejich skutečnou mírou buněčného dělení, potom pravděpodobně žádné mutanty nemohou vyvstat během léčby.

Model A.

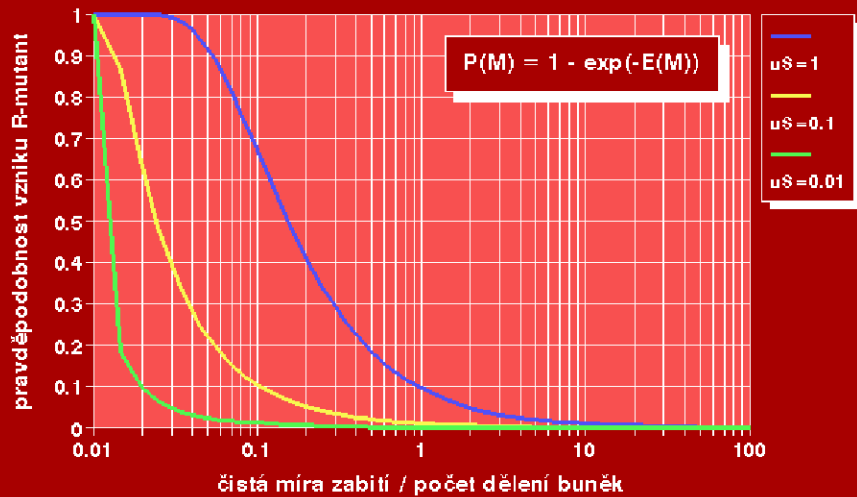
"Základní matematický model" – závěry

Pravděpodobnost objevení R-mutanty je (dle Poissonova rozložení):

$$P(M) = 1 - \exp[-E(M)]$$

- Pokud je čistá míra úbytku velmi nízká při srovnání s mírou buněčného dělení, pak pravděpodobnost, že se rezistentní mutanta objeví, může být (velmi) vysoká.
- Např. už pokud je čistá míra zabíjení S-populace rovna míře buněčného dělení, vznik a vývoj rezistence lze předpokládat v 10 % případů.
- $P(M)$ se rapidně zmenšuje s růstem míry zabíjení nebo jak se součin zvětšuje počáteční velikosti populace a míry mutací.

Pravděpodobnost vzniku R-mutant během léčby



Model A.

"Základní matematický model" – závěry

Jestliže koncentrace antibiotika je nízká tak, že připustí čistý růst S-populace => S-populace bude časem tak velká, že dá povstat R-mutantům !!!

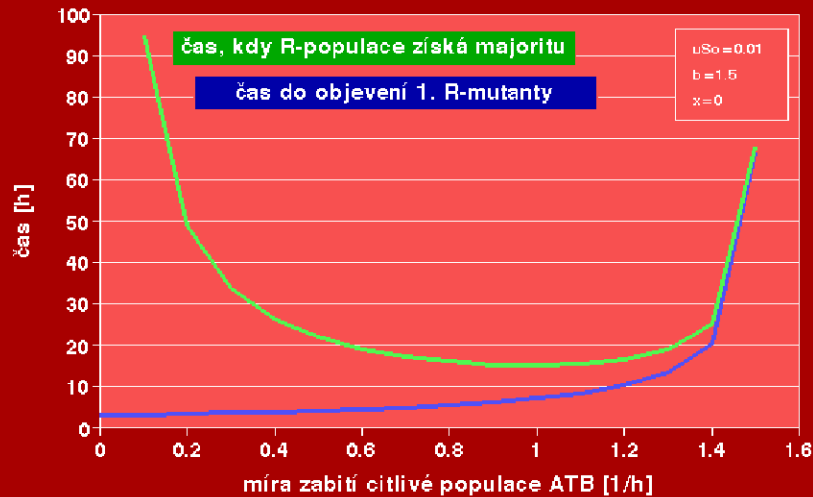
Lze vyjádřit průměrný čas výskytu první R-mutanty (t_1)

$$t_1 = \frac{1}{b - x - f(C^\wedge)} \ln \left\{ \frac{b - x - f(C^\wedge)}{S_0 b \mu} + 1 \right\}$$

Lze vyjádřit průměrný čas převládnutí R-mutant (t_2)

$$t_2 = \frac{1}{b' - b + f(C^\wedge)} \ln \left\{ \frac{b - x - f(C^\wedge)}{b \mu} + S_0 \right\}$$

Čas vzniku a převládnutí rezistentní subpopulace



Model A.

"Základní matematický model" – závěry

R-mutanty získají převahu v populaci nejrychleji, když míra jejich zabíjení dosahuje středních hodnot.

Selekce je nejvíce účinná na středních hodnotách !!!

Když je ničení S-populace moc rychlé, první R-mutanta má dlouhý čas na objevení.

Když je ničení S-populace moc pomalé, je selekce ve prospěch R-mutant slabá.

Maximum selekce lze opět vyjádřit matematicky (min., dos.).

Tato předpověď je ve shodě s častým pozorováním, že růst bakterií na subinhibičních koncentracích může efektivně selektovat rezistentní mutanty.

Model B. – teorie

"Model kombinované léčby" – východiska

Podklad léčba kombinací 2 (3) antibiotik

- frekvence 1R-mutant ... Φ
- frekvence 2R-mutant ... Φ^2
- frekvence 3R-mutant ... Φ^3

Φ je často řádu $1:10^6$ až $1:10^9$ => $\Phi^2 = 10^{-12}$

$\Phi^3 = 10^{-18}$

=> přinejmenším 1 lék v kombinovaném schématu by měl být účinný

Model B. – teorie

"Model kombinované léčby (2 léky)" – východiska

$$C^0 = D / V$$

$$dC_1/dt = -k_{el1}C_1$$

$$dC_2/dt = -k_{el2}C_2$$

$$C_1 = C_1 + C_1^0$$

$$C_2 = C_2 + C_2^0$$

C_1, C_2 ... koncentrace ATB_1, ATB_2

D ... podaná dávka

V ... distribuovaný objem

C_1^0, C_2^0 ... zvýšení koncentrace při každé dávce

K_{el1}, k_{el2} ... eliminační konstanta (elim. ATB)

Model B. – teorie

"Model kombinované léčby (2 léky)" – východiska

$$dS/dt = g_S S - f_S(C_1, C_2) S \quad (\text{kolik naroste } S - \text{kolik je zničeno } S)$$

$$dR_1/dt = g_{R1} R_1 - f_{R1}(C_2) R_1 \quad (\text{kolik naroste } R_1 - \text{kolik je zničeno } R_1)$$

$$dR_2/dt = g_{R2} R_2 - f_{R2}(C_1) R_2 \quad (\text{kolik naroste } R_2 - \text{kolik je zničeno } R_2)$$

$$dR_{12}/dt = g_{R12} R_{12} \quad (\text{kolik naroste } R_{12})$$

$f_S(C_1, C_2)$... fce vymírání S-populace v záv. na koncentracích C_1 a C_2
 $f_{R1}(C_2)$, $f_{R2}(C_1)$... fce vymírání R_1 , R_2 - populací v záv. na konc. C_2 a C_1

Model B. – teorie

"Model kombinované léčby (2 léky)" – východiska

Model je doplněn náhodnou složkou, kt. vyjadřuje výskyt R_1 -mutant a R_2 -mutant.

Výskyt se řídí Poissonovým rozložením s mírami μ_1 , μ_2 .

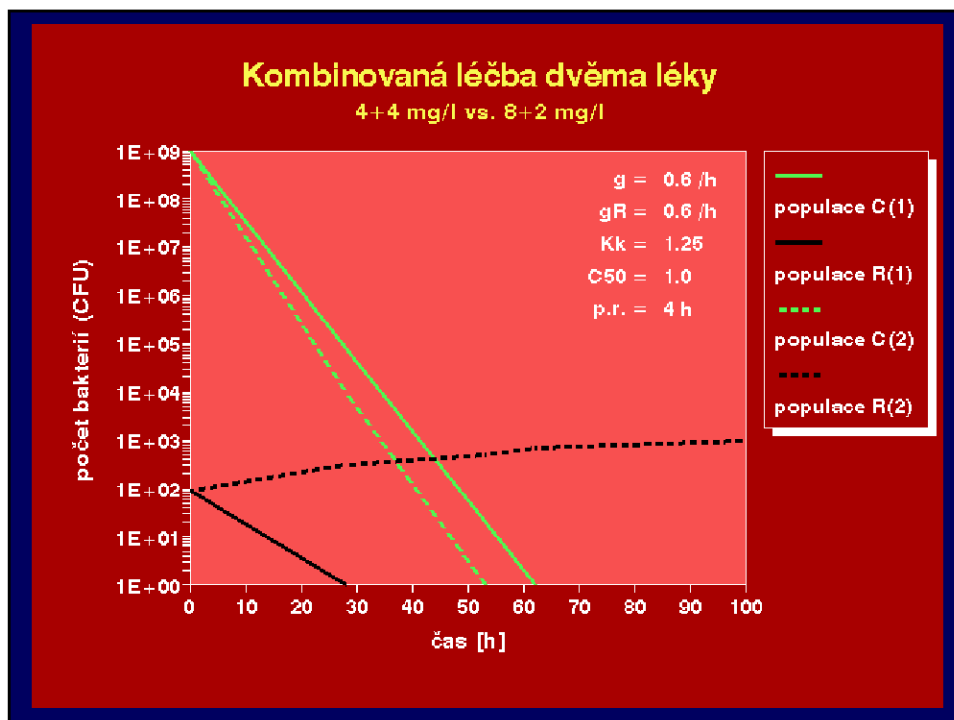
Princip:

Za čas dt je $R_{12} \Rightarrow R_{12} + 1$
s pravděpodobností $(\mu_1 b_1 R_2 + \mu_2 b_2 R_1) dt$.

Model B. – teorie

“Model kombinované léčby (2 léky)” – souhrn

- 1) modelujeme změny koncentrací ATB_1 a ATB_2 v čase
- 2) dynamicky se mění velikosti S , R_1 , R_2 , R_{12} populací (jako funkce koncentrací ATB_1 a ATB_2)
- 3) R_1 , R_2 , R_{12} mutanty vznikají a vyvíjejí se v čase jako náhodny veličiny



Model B. – teorie

“Model kombinované léčby” – závěry

Selhání kombinovaného léčbného režimu je výsledkem přerůstání 1R-subpopulací => potenciální vznik 2R- (3R-) mutant.

Při léčbě infekce, která obsahuje 1R-subpopulace, je eliminace těchto 1R-populací zajímavá v souvislosti s úspěchem takové léčby.

Jestliže je přítomná subpopulace rezistentní k jednomu z léků v 2-lékovém režimu již na začátku léčby, potom *rychlá eliminace* této subpopulace (*relativně k míře buněčného dělení*) bude minimalizovat pravděpodobnost, že se vyvine multirezistence.

Model C. (varianta 1) - teorie

“Nedodržování režimu dávkování” – východiska

p ... pravděpodobnost užití dávky pacientem
(při kombinované léčbě !)

$$0 \leq p \leq 1$$

- každé rozhodnutí je nezávislé na užití jiné dávky
- vynechání dávky není kompenzováno později

Model C. (varianta 1) – teorie “Nedodržování režimu dávkování” – východiska

Chybějící dávka =>

- růst bakterií za snížené koncentrace ATB
- snížení efektivní koncentrace v intervalu příští dávky (režimy s frekventním dávkovacím schématem)

Dále předpokládáme efekty jen na násled. dávkovací interval !

Model C. (varianta 1) “Nedodržování režimu dávkování” – použití

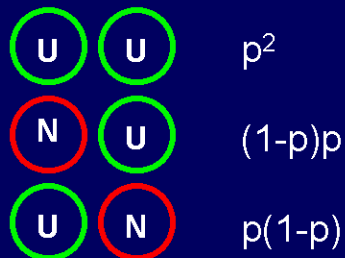
t ... celkový čas léčby
 τ ... interval mezi dávkami
 t / τ ... počet intervalů

p ... pravděpodobnost vzetí dávky
 $p(t / \tau)$... prům. počet vzatých dávek

Model C. (varianta 1)

“Nedodržování režimu dávkování” – použití

Formulace farmakodynamické rovnice, která vyjadřuje zbývající bakterie B po čase t podávání léku :

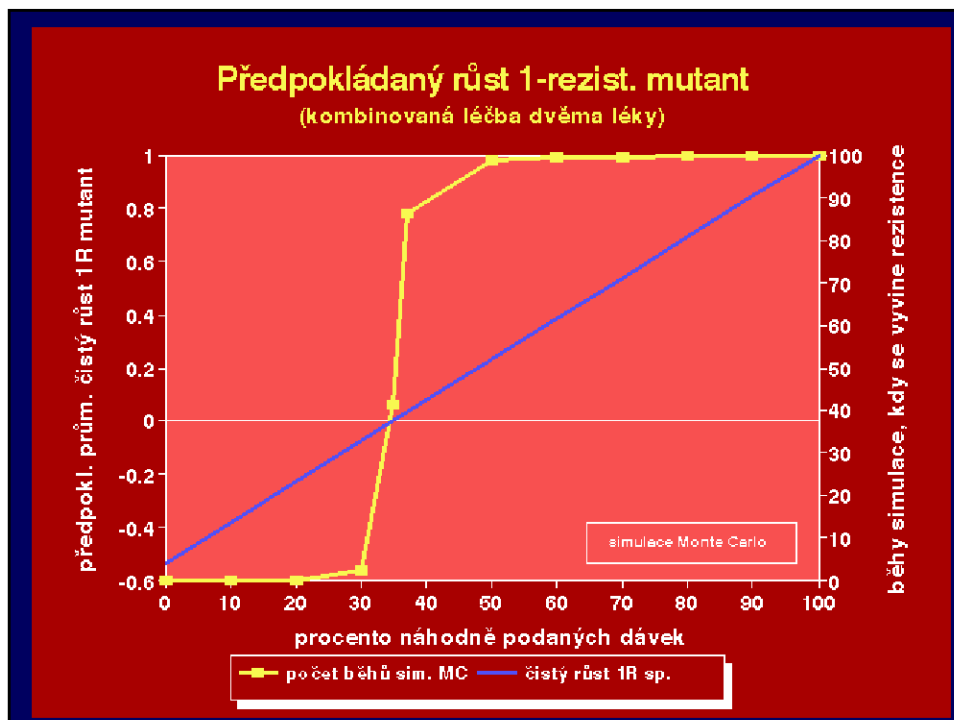


$$\ln \frac{B(t)}{B(0)} = g_1 t + p^2 f(C) + (1-p)p f(C) + p(1-p) f(C)$$

Model C. (varianta 1)

“Nedodržování režimu dávkování” - souhrn

- náhodnou veličinou simulujeme nedodržení dávky
- nedodržování a další parametry dosazujeme do FD rovnice
- simulací Monte Carlo zjišťujeme průměrný čistý růst 1R-mutant



Model C. (varianta 1)

“Nedodržování režimu dávkování“ - závěry

pravděpodobnost nedodržování užití dávek

zvyšuje

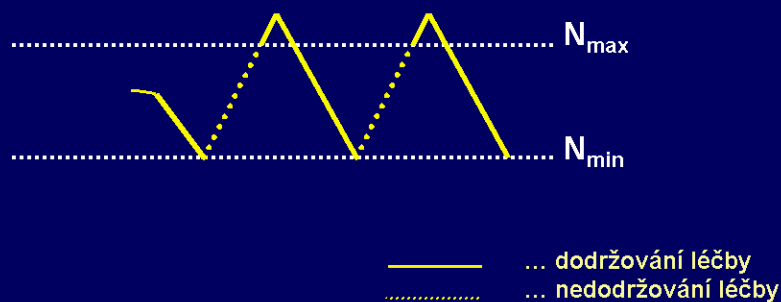
počet běhů simulace, během kterých dochází k vzniku a vývoji 1R-populace

Model C. (varianta 2) – teorie “Nedodržování režimu dávkování” – použití

p ... pravděpodobnost užití dávky pacientem

- pravděpodobnost je dána úrovní symptomů u pacienta

Substituce : symptom => počet bakterií



Model C. (varianta 2) “Nedodržování režimu dávkování”

Výskyt selekce 1R-mutant :

- S-populace je ničena pomaleji během těch dávkovacích intervalů, kdy je lék podáván,
- populace má prostor růst během těch dávkovacích intervalů, kdy lék podáván není,
- postupně se zvyšující velikost 1R-populace umožní vznik a vývoj 2R-populace.

(podmínky viz. dále)

Model C. (varianta 2) "Nedodržování režimu dávkování"

Podmínky :

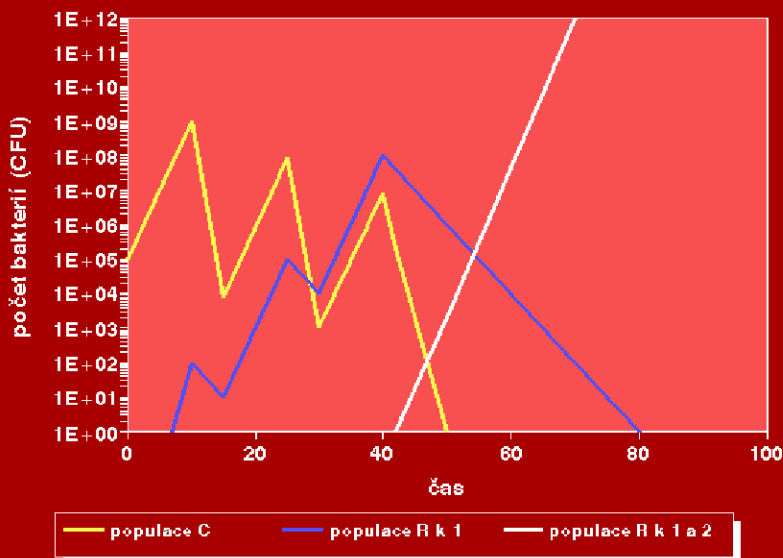
- $$\frac{\delta_S}{\delta_R} \ln(\Phi N_{\max}) > \ln\left(\frac{N_{\max}}{N_{\min}}\right)$$
 1R-populace nesmí během intervalů dodržování léčby vyhnout

- $$\frac{\delta_S g_S}{\delta_R g_R} > \dots$$
 1R-populace se musí během cyklu $N_{\max}-N_{\min}-N_{\max}$ doporučně zvyšovat



δ_S, δ_R ... míra růstu S-, resp. R-populace
 Φ ... frekvence výskytu 1R-mutant
 N_{\min}, N_{\max} ... mezní velikosti populace dle definice modelu
 g_S, g_R ... míra růstu při absenci léku

Předpokládaný růst 1-rezist. mutant (kombinovaná léčba dvěma léky)



Shrnutí

1. Jsou k dispozici modely, které mohou modelovat dynamické procesy, ke kterým dochází v bakteriálních populacích vlivem antibiotické léčby hostitele.
2. Modely :
 - základní model selekce rezistentí mutanty
 - model při léčbě kombinací antibiotik
 - 2 modely nedodržování léčby
3. Využití modelů :
 - pravděpodobnost vývoje 1R-, 2R-, ... mutant
 - simulace (ne)úspěchu léčby
 - zkoumání příčiny selhání a optimalizace dávkovacího schématu.