

Raport/Studiu

Stabilirea relevanței și a posibilității extrapolării la om a datelor experimentale obținute *in vitro* și *in vivo*

efectuat în cadrul proiectului *Abordarea bioeconomică a
agenților antimicrobieni – utilizare și rezistență*
(cod - PN-III-P1-1.2-PCCDI-2017-0361).

Colectiv de redacție:

Coordonator: Prof. dr. Gabriela Tănăsie, Prof. dr. Carmen Panaitescu

Membri: Conf. Dr. Carmen Tatu, Doctorand Cristina Gaspar, Doctorand Alina -
Georgiana Simina

Acknowledgements

Activities under this work were carried out in the *Oncogen Research Center* -
financed by project "*A bio-economical approach of the antimicrobial agents - use and
resistance*", in the frame of contract PCCDI 7/19.03.2018, code: PN-III P1-1.2-FPRD-
2017.

Data finalizării: 27.09.2021

1. Introducere

Studiile observaționale și experimentale pe oameni, în microbiologie dar și în toxicologie, sunt limitate de costurile și considerațiile etice ale acestora. Frecvent sunt studiate expunerile involuntare (de exemplu, la locul de muncă), deși numai retrospectiv, în loc de experimentul controlat, evident de dorit. Interesant este că epidemiologia și studiile clinice suferă de această variabilitate a oamenilor și trebuie să facă o distincție clară între pericol și riscul de bază. Întrebarea care se pune este dacă rezultatele pot fi generalizate, adică extrapolate la alte populații și scenarii de expunere. În acest scop, sunt discutate separat sistemele *in vitro*, sistemele *in vivo* pe modele animale precum și, mai nou, diferitele modele teoretice.

Modelele de infecții *in vitro* și *in vivo* la animale oferă o multitudine de date privind susceptibilitatea și toxicitatea microbiologică înainte ca un antibiotic sau un alt tip de preparat cu efect antibacterian să fie testat la oameni. Datele din aceste studii sunt necesare pentru a intra în studiile primare la om și, după dezvoltarea clinică, pentru a obține aprobarea punerii pe piață din partea Food and Drug Administration (FDA) sau a Agenției Europene pentru Medicamente (EMA). Multe ținte farmacocinetice/farmacodinamice derivate din date preclinice au fost confirmate în studii la om (Abdul-Aziz și colab., 2015; Tangden și colab., 2017). Cu toate acestea, modelele preclinice posedă limitări inerente. Datele *in vitro* sunt în general susceptibile să se coreleze cu eficacitatea microbiologică la om, cu condiția să existe un nivel similar de creștere bacteriană și expunere la antibiotic (adică o concentrație similară a acestuia pe o perioadă similară de timp) la locul *in vivo* al infecției. Modelele derivate din experimentele animale sunt utilizate pentru a prezice farmacocinetica umană și sunt aplicate pentru a înțelege corelația expunere-răspuns *in vivo* pe măsură ce dezvoltarea se apropie de testarea umană. Și aici, complexitatea și particularitățile gazdei umane nu pot fi întotdeauna prezise (Tangden și colab., 2020).

2. Modelele *in vitro*

Orice sistem *in vitro* reprezintă o simplificare imensă a corpului uman. Un manual bine-cunoscut de biologie moleculară și celulară (Alberts și colab., 2002) enumeră mai mult de 200 de tipuri diferite de celule care ar putea reprezenta un model *in vitro* pentru diferite interacțiuni biologice, iar cel puțin 20% dintre acestea se pretează pentru studiul unor noi preparate antibacteriene. Este imposibil ca pentru toate acestea să se stabilească niște condiții fiziologice de cultură care să modeleze în totalitate interacțiunile din corpul uman. Astfel, va exista întotdeauna o extrapolare implicată dacă trebuie să prezicem cum ar fi reacționat întregul organism. Este probabil ca multe tipuri de celule să nu fie implicate critic în mecanisme legate de declanșarea efectelor adverse și ne putem aștepta la

R.2.7.2 Stabilirea relevanței și posibilității extrapolării la om a datelor experimentale *in vitro* și *in vivo* rezultate semnificative dintr-o abordare mai simplificată. Studiul mecanismelor și căilor implicate în declanșarea unor efecte adverse se pot baza pe un model care identifică secvența de evenimente moleculare și celulare necesare pentru a produce un efect toxic atunci când un organism este expus la o substanță.

Etaple de construcție a unui astfel de model includ:

- organizarea informațiilor despre interacțiunile biologice și mecanismele de toxicitate în modele care descriu modul în care expunerea la o substanță poate provoca boli sau vătămări.
- generarea unor teste biochimice sau de biologie celulară pentru elementele care ar putea fi utilizate pentru a dezvolta strategii de testare a toxicității vizate.
- identificarea corectă a etapelor unui mecanism de toxicitate care necesită o caracterizare îmbunătățită ([U.S. Department of Health and Human Services, National Toxicology Program](#)).

În unele cazuri, vor exista puncte de declanșare (evenimente de inițiere moleculară) sau etape cruciale într-o secvență (evenimente cheie), care reflectă suficient mecanismul și permit sistemelor foarte simple să fie testate. Atât modelele *in silico*, cât și cele *in vitro* sunt promițătoare pentru a prezice rezultatele adverse, atunci când reflectă aceste inițieri moleculare și evenimente cheie. Va exista întotdeauna un compromis între complexitatea și completitudinea modelului și calitatea extrapolării. Fiecare element pe care îl omitem ar putea reprezenta poarta de intrare a unui efect de modulare încă necunoscut. Cât de simplă poate fi intrarea va depinde foarte mult de calitatea parametrilor de intrare și de extrapolare.

Limitări ale modelelor *in vitro*

Există multe surse potențiale de discrepanță între datele *in vitro* și *in vivo*. Modelele tipice de celule au multe limitări, de exemplu **micoplasma** reprezintă un model inacceptabil, multe culturi nu sunt controlate pentru infecții; disponibilitatea și controlul mai ridicat al reactivilor de cultură celulară au îmbunătățit situația, dar multe micoplasme derivate din infecțiile respiratorii umane se găsesc în culturi.

Alte probleme tehnice sunt legate de **diferențierea favorizată de condițiile de creștere și selecția celulelor**. Multe funcții celulare sunt stimulate în timpul culturii - funcțiile celulare și masa celulară sunt menținute numai atunci când este necesar.

Lipsa oxigenului poate constitui de asemenea un element perturbator al modelelor. Culturile normale de celule dense consumă oxigenul dizolvat în mediu în câteva ore și trebuie să utilizeze metabolismul anaerob.

Lipsa unor linii metabolice implicate în apărarea celulară în cazul celulelor în cultură, a fost de asemenea un factor demn de luat în discuție. Celulele își pierd capacitățile de apărare în cultură, devenind sensibile la insultele toxice care ar putea astfel să se manifeste excesiv față de condițiile *in vivo*.

Parametri de cinetică în cultură a compușilor testați (de exemplu, solubilitate, distribuție, legare și reacții chimice), sunt de multe ori neglijați.

Originea tumorală a multor celule determină *in vitro* o instabilitate genetică dramatică care încă nu este luată în considerare frecvent, contribuind la rezultate diferite de cele așteptate.

Utilizarea unor linii celulare improprii, care nu respectă buna practică a culturii celulare pot situa rezultatele obținute în afara standardelor de raportare pentru testările *in vitro*. Mai mult, unele dintre tehnicile de cultură mai organotipice mai nou descrise pot fi de ajutor, oferind modele mai relevante cu densități celulare adecvate / contacte celulare în 3D, coculturi de celule relevante. În concluzie, cu cât modelul este mai relevant, cu atât extrapolarea probabilă va fi mai corectă (Hartung, 2018).

Absența unui sistem imunitar funcțional este o limitare inerentă la toate modelele *in vitro*. Deși unele date despre efectele antibacteriene ale neutrofilelor au apărut din modelele animale, aceste efecte nu sunt luate în considerare în mod obișnuit în interpretarea datelor (Guo și colab., 2011). Prin urmare, implicațiile clinice ale fenomenelor observate *in vitro*, cum ar fi regenerarea bacteriilor persistente, nerezistente sau selecția subpopulațiilor rezistente, rămân incerte. Dimpotrivă, persistența bacteriană nu poate fi capturată *in vitro*, ceea ce face ca rezultatele de laborator să fie incompatibile cu studiile clinice de eficacitate care evaluează antibioticele cu un mecanism de acțiune care se bazează pe replicarea bacteriană activă.

Concentrațiile bacteriene și antibiotice imită de obicei o încărcare bacteriană ridicată și concentrații sanguine neletale, în timp ce o gamă de densități bacteriene poate fi prezentă în țesutul infectat, iar profilul curbei de concentrație-timp al medicamentului poate diferi.

Mai mult, **bacteriile sunt cultivate în mod normal *in vitro* în medii de cultură în care nutriția, temperatura și pH-ul sunt strict controlate**, în timp ce condițiile de creștere fizică *in vivo* pot fi mai puțin favorabile. Unele modele *in vitro* permit studierea efectelor antibacteriene în prezența biofilmelor (Tolker-Nielsen, 2015), care împiedică foarte mult activitatea antibioticelor. Cu toate acestea, aceste modele nu pot simula și aborda în mod exhaustiv toate capriciile unei infecții dinamice *in vivo*, cum ar fi fluctuația (și creșterea) încărcăturilor bacteriene și factorii locali de mediu, inclusiv modificările gazdei în sechestrarea și stocarea fierului.

3. Modelele *in vivo*

Modelele animale oferă mai multe avantaje între care sunt de remarcat costul în general mai scăzut al studiilor pe animale non-primate comparativ de exemplu cu studii la om, precum și capacitatea de a studia etapele ulterioare ale infecției și capacitatea de a alege și chiar de a manipula fondul genetic al gazdei. În ultima jumătate de secol studiile *in vivo* au fost sursa primară de informații în ceea ce privește abordarea unor noi variante chimioterapeutice.

La această oră există multe motive pentru a renunța la această abordare, inclusiv etice și economice, dar lipsa relevanței umane este cea mai importantă. Există un grad relativ redus de suprapunere a rezultatelor studiilor pe animale cu cele din studiile clinice

R.2.7.2 Stabilirea relevanței și posibilității extrapolării la om a datelor experimentale *in vitro* și *in vivo*

la om, ilustrând incertitudinea asociată și nevoia și provocarea de a extrapola de la studii pe animale la oameni. Acest lucru este deosebit de relevant atunci când studiile pe animale sunt utilizate ca puncte de referință pentru validarea sistemelor *in vitro*, care, prin definiție, nu pot depăși neajunsurile testelor pe animale. Unele lucrări au arătat pe baza unor seturi mari de date (big-data), problemele de reproductibilitate ale studiilor pe animale în cazul modelelor de iritarea conjunctivală sau de sensibilizarea tegumentară (Hoffman 2015, Dumont și colab. 2016).

Studiile pe animale necesită extrapolare intraspecie, și, de asemenea, între diferite specii de animale - în dezvoltarea medicamentelor veterinare, de exemplu, unde există diferențe considerabile între rase, ar putea fi necesară și o etapă de extrapolare intraspecie. Acolo unde există puține diferențe între țintele farmacologice, adică atunci când substanțele interacționează cu molecule mici care pot fi biologic foarte diferite, ar trebui așteptate unele diferențe în metabolism și un număr mare de variații în cinetică. În acest sens, reacțiile de apărare și dezvoltarea unor mecanisme de rezistență ar putea varia de fapt mai mult decât vulnerabilitatea inițială a diferitelor specii.

Pentru a extrapola rezultatele la complexitatea umană trebuie luate în calcul problemele metodologice ale studiilor pe animale (și chiar ale studiilor *in vivo* umane) considerate critice pentru predicția efectelor substanței testate. Hartung grupează aceste motive generatoare de diferențe după cum urmează:

a. Subiecții incluși în studii:

- grupuri prea mici de animale (de multe ori consangvinizate cu fundal genetic omogen) sau grupuri mari de indivizi cu fond genetic eterogen
- animale studiile sunt realizate frecvent pe animale tinere adulte iar loturile umane includ subiecți de toate vârstele
- multe modele de studiu aleg animalele de același sex
- disparitate mare a speciilor și raselor de animale, cu o varietate de căi metabolice și metaboliți ai medicamentelor, ducând la variații de eficacitate și toxicitate

b. Modele de boli

- bolile induse pe modele animale sunt cel mai des artificiale, adică se utilizează diferite modele de inducere a bolilor la animale sănătoase prin provocarea unor leziuni diferite de starea reală a persoanelor umane bolnave
- utilizarea de modele animale acute pentru fenomene cronice
- diferențe între modele de boală monofactorială versus cele multifactoriale la om
- în modelele de șoarece knock-out, răspunsurile adaptive la animale sunt subestimate

c. Dozele testate

- diferitele modele implică variații ale schemelor de dozare a medicamentelor (terapeutice până la toxice) și ale regimului (de obicei o dată pe zi) care au o relevanță incertă pentru ceea ce se întâmplă în bolile umane (optim terapeutic)
- farmaco- și toxicocinetica substanțelor diferă între animale și oameni

d. Condiții diferite de testare a animalelor față de cele ale pacienților bolnavi

- condiții de locuire și nutriție uniforme, optime pentru loturile animale față de situații umane variabile

R.2.7.2 Stabilirea relevanței și posibilității extrapolării la om a datelor experimentale *in vitro* și *in vivo*

- animalele testate sunt stresate
 - în general modelele animale nu țin cont de administrarea concomitentă a altor tratamente pentru comorbidități, situații frecvente la om
 - examen fizic limitat pentru animale comparativ cu cel extensiv la om
 - examen de laborator clinic standardizat pentru animale comparativ cu cel individualizat la om
 - analiză histopatologică extinsă la animale și doar excepțională la om
 - durata monitorizării înainte de determinarea rezultatului bolii variază și poate să nu corespundă latenței bolii la om
- e. Designul studiului *in vivo*
- o cauză frecventă de eroare o reprezintă variabilitatea modului de selecție a animalelor, metodele de randomizare, alegerea sau nu a terapiei de comparație
 - grupurile experimentale mici au putere inadecvată pentru a fi extrapolate la om, iar uneori se realizează doar o analiză statistică simplă care nu ține cont de potențialele confuzii
 - alegerea unei varietăți de tipuri de rezultat, care au o relevanță incertă pentru starea clinică umană (**Hartung, 2018**)

Limitări ale modelelor de infecție animală

Dezavantajele modelelor de infecție a animalelor includ **incapacitatea de a studia aspectele restricționate de gazdă ale bolii** sau chiar a răspunsului gazdei precum și **dificultate în stabilirea relevanței pentru oameni a rezultatelor obținute**. Datele din modelele de infecție la animale pot fi discordante cu cele observate în studiile la om. O limitare majoră a modelelor de infecție animală este **variabilitatea între specii** în ceea ce privește farmacocinetica antibioticelor, susceptibilitatea sau rezistența la diverse infecții și toxicitatea medicamentelor. De exemplu, pe lângă diferențele de mărime și enzime care afectează clearance-ul medicamentului, solubilitatea dependentă de pH poate diferi de la o specie la alta și, prin urmare, poate afecta rata și gradul de absorbție. Datorită diferențelor de specie în absorbția, distribuția, metabolismul și excreția unui anumit medicament, extrapolările de la animale trebuie efectuate cu prudență. Cu toate acestea, în cadrul acestor limitări, majoritatea patogeniei bacteriene au fost efectuate studii pe animale și au oferit o bogăție de informații despre interacțiunile gazdă-agent patogen.

Modelul infecției experimentale umane

Acest model ar putea fi un model ideal *in vivo* pentru a studia agenții patogeni umani. Desigur, preocupări precum siguranța la subiecții umani și transmisibilitatea către public împiedică capacitatea de a efectua experimente de infecție umană cu majoritatea agenților patogeni. Cu toate acestea, în limitele impuse de considerentele etice și medicale, câteva modele de infecție experimentală umană sunt în prezent în uz. Aceste modele oferă capacitatea de a recapitula cu precizie cinetica bolilor naturale umane.

R.2.7.2 Stabilirea relevanței și posibilității extrapolării la om a datelor experimentale *in vitro* și *in vivo*

Modelele de infecție umană permit studiul unui agent patogen uman în contextul presiunilor specifice, derivate de la gazdă, împreună cu care agentul patogen a evoluat. O astfel de presiune derivată de la gazdă este de exemplu atacul peptidelor antimicrobiene. Un alt avantaj al modelelor umane este că pot să fie adaptate pentru testarea unor noi terapii pentru tratamentul infecțiilor sau testarea unor candidați la vaccin pentru prevenirea bolilor.

Ca și în cazul oricărui model, modelele de infecție umană au limitări. Pentru motive de siguranță, aceste modele sunt, în general, limitate la infecții locale și la stadiile incipiente ale bolii, cu tratament la debutul simptomelor sau disconfortului. Infecțiile pe termen lung, infecțiile sistemice, precum și sechelele nu pot fi examinate în siguranță la voluntarii umani. Pentru a putea garanta controlul infecției, modelele umane sunt de obicei limitate la una sau două tulpini bacteriene de tip sălbatic bine caracterizate, care sunt ușor de tratat și nu adăpostesc plasmide sau fagi care ar putea transmite material genetic către flora microbiană a gazdei. Multe alte aspecte ale modelelor de infecție umană, cum ar fi ruta de inoculare și dozare, sunt mult mai puțin flexibile decât la modelele animale.

Lucrând în cadrul acestor limitări, totuși, modelele de infecție în experimentul uman reproduc cu precizie boala dobândită în mod natural și furnizează informații importante despre relația gazdă-agent patogen care este direct relevantă pentru oameni (Bauer și Shafer, 2015). Pentru majoritatea agenților patogeni, nu există nicio opțiune pentru experimentarea umană; cercetătorii se bazează pe diferitele modele nevertebrate și vertebrate pentru a studia mecanismele patogene.

4. Modelele matematice și simulările prospective

Modelarea farmacocinetică și farmacodinamică rezumă datele preclinice sau clinice utilizând funcții matematice. Obiectivele pot fi testarea ipotezelor alternative cu privire la relațiile concentrație-efect, efectele tardive ale agentului testat observate în experimentele preclinice, ținând cont de diferențele dintre specii și definirea celor mai informative modele de studiu bazate pe cunoștințele disponibile. Un punct forte al modelării non-liniare a efectelor mixte este că variabilitatea la diferite niveluri, de exemplu, variabilitatea între pacienți și de la o zi la alta la pacienți, poate fi separată de variabilitatea reziduală (Nguyen și colab., 2017). Modelul dezvoltat poate fi aplicat pentru a efectua simulări pentru a testa scenariile de tip „what if” („ce-ar fi dacă”).

Odată dezvoltat, un model poate fi adaptat sau extins cu date noi. Pentru dezvoltarea unui nou compus, este util să procedăm treptat, respectând următorii pași:

- să dezvoltăm un model bazat pe date din experimente ce utilizează concentrații statice;
- să folosim modelul pentru a proiecta experimente cu concentrații dinamice;
- să actualizăm modelul, dacă este necesar, pe baza datelor generate din experimente dinamice și apoi repetați ultimii pași pentru datele despre animale.

Extensiile modelului pot fi făcute cu informații despre diferite tulpini sau combinații de antibiotice. În special pentru acesta din urmă, devine rapid imposibil de explorat o matrice completă de concentrații, iar modelarea poate ajuta la cuantificarea interacțiunilor,

R.2.7.2 Stabilirea relevanței și posibilității extrapolării la om a datelor experimentale *in vitro* și *in vivo* deoarece concentrațiile variază în funcție de timp. Odată stabilit un model, acesta poate fi aplicat pentru a explora diferite scenarii de dozare. Aceste așa-numite simulări de probabilități de atingere a țintei sunt frecvent utilizate pentru a stabili punctele de întrerupere a susceptibilității clinice (Mouton și colab., 2012). Mai mult, modelele pot fi folosite pentru a defini când trebuie prelevate probele care pot oferi cea mai mare informație, ceea ce este deosebit de semnificativ în studii mai mari, unde sunt posibile mai puține probe pe pacient sau animal inclus în studiu.

Limitări ale modelelor matematice

Standardul de aur pentru evaluarea unui model constă din diagnostice bazate pe simulare și **verificări predictive vizuale**. Pentru a genera o astfel de verificare predictivă un număr mare de seturi de date sunt simulate din modelul dezvoltat și șablonul de date originale este înlocuit cu date experimentale cum ar fi numărul de CFU observat *in vitro* sau concentrațiile plasmatice ale medicamentelor determinate *in vivo*. Datele simulate sunt apoi comparate cu datele originale pentru a explora dacă datele originale ar fi putut apărea din model, adică dacă modelul are o capacitate bună de simulare (Ambrose și colab., 2007).

Un model matematic este limitat de datele din care a fost derivat și de ipotezele făcute în construcția sa. Chiar dacă un model are o bună verificare predictivă, **extinderea dincolo de condițiile utilizate** pentru a dezvolta modelul ar trebui făcută cu prudență. Mai mult, în simulări profilele farmacocinetice vor varia pentru fiecare pacient simulat, în timp ce ținta este de obicei fixă și presupusă a fi corectă. Prin urmare, este important să înțelegem incertitudinea dată de țintă, care este de obicei derivată din modele animale. Pe măsură ce sunt colectate datele clinice, obiectivele ar putea fi schimbate cu cele derivate clinic, care se pot extinde dincolo de expunerea la medicamente și stabilirea concentrației minime eficiente (Tangden și colab., 2020).

5. Concluzii și perspective de viitor

Modelele *in vitro* și modelele animale sunt esențiale pentru evaluarea timpurie a efectelor microbiologice ale noilor tratamente cu antibiotice și selecția acestora printre compușii candidați. Datele derivate din studiile preclinice sunt utilizate pentru a stabili punctele de întrerupere clinice și multe ținte farmacocinetice stabilite în astfel de modele au fost confirmate în studii la om. Prin procese structurate și iterative, modelarea integrează datele *in vitro* și *in vivo* cu datele de farmacocinetică ale populației umane pentru a optimiza dozarea și pentru a putea să informeze proiectarea viitorului studiu.

Toate aceste abordări vor rămâne esențiale, având în vedere volumul de muncă, costurile și fezabilitatea adesea scăzută a studiilor clinice randomizate alimentate corespunzător, adaptate la populații specifice de pacienți și agenți patogeni. Mai mult, vor continua să sprijine luarea deciziilor clinice pentru situațiile în care pacienții nu se

R.2.7.2 Stabilirea relevanței și posibilității extrapolării la om a datelor experimentale *in vitro* și *in vivo*

încadrează în modelul standard, adică cei cu parametri farmacocinetici variabili sau care au contactat agenți patogeni rari sau dificil de tratat. Este nevoie de mai multă muncă pentru a îmbunătăți calitatea și validitatea externă a studiilor preclinice, inclusiv abordări metodologice mai standardizate. Eforturile sunt în curs de desfășurare, de exemplu, inițiativa recentă a Medicamentelor inovatoare, lansată recent, Colaborare pentru prevenirea și tratarea infecțiilor bacteriene rezistente la mai multe medicamente (COMBINE), care își propune să dezvolte protocoale standardizate pentru modelul de infecție la rozătoare. Optimizarea instrumentelor tradiționale disponibile a devenit tot mai importantă pe măsură ce ne bazăm din ce în ce mai mult pe date non-clinice pentru a prezice regimurile de tratament de succes. În studiile clinice, farmacocinetica și farmacodinamica produsului testat ar trebui să fie sistematic și de rutină evaluate. Ar fi utile, de exemplu, caracterizarea agenților patogeni cauzali și analize ale rezultatelor microbiologice și clinice stratificate în funcție de profilurile farmacocinetice ale pacientului, modul de administrare și în funcție de aplicarea unui tratament standard sau a terapiei ghidată de monitorizare (Tangden și colab., 2020).

Modelele *in vivo* sunt instrumente puternice pentru stabilirea importanței a mecanismelor de rezistență la peptide antimicrobiene în infecțiile bacteriene. O limitare a studiilor *in vivo*, totuși, este că poate fi dificil de stabilit cauza exactă a scăderii capacității de realizare a unor mutații. Transportatori și proteazele au adesea substraturi suplimentare și modificări ale suprafeței poate afecta interacțiunile dintre suprafața bacteriană și componentele gazdei. Mai mult, astfel de studii *in vivo* pot stabili fără echivoc rolul important al peptidelor antimicrobiene în bariera imună înăscută a gazdei la infecția bacteriană. Deoarece aceste peptide reprezintă o componentă veche a rezistenței gazdei la infecție, și microbii au co-evoluat probabil cu producătorii umani de peptide antimicrobiene, nu este surprinzător faptul că agenții patogeni de succes au dezvoltat mecanisme să reziste acțiunii lor în timpul infecției. În timp ce numeroase mecanisme de rezistență la aceste peptide au fost identificate și pot fi studiate cu mare rigoare în condiții de laborator, testarea semnificației apariției de rezistență în timpul infecțiilor umane se poate face numai folosind sisteme de modelare a procesului infecțios (Bauer și Shafer, 2015). În timp ce sistemele de cultură de organe și celule pot oferi informații valoroase, acestea nu pot reproduce pe deplin mediul în care au loc interacțiuni microb-sistem de apărare al gazdei.

Bibliografie

- Abdul-Aziz MH , Lipman J , Mouton JW , Hope WW , Roberts JA . Applying pharmacokinetic/pharmacodynamic principles in critically ill patients: optimizing efficacy and reducing resistance development. *Semin Respir Crit Care Med* 2015;36:136–53
- Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. *Molecular Biology of the Cell* 4th ed. New York: Garland Science; 2002
- Ambrose PG , Bhavnani SM , Rubino CM , Louie A , Gumbo T , Forrest A , et al. Pharmacokinetics-pharmacodynamics of antimicrobial therapy: it's not just for mice anymore. *Clin Infect Dis* 2007;44:79–86 .
- Bauer ME, Shafer WM. On the *in vivo* significance of bacterial resistance to antimicrobial peptides, *Biochimica et Biophysica Acta* 1848 (2015) 3101–3111
- Dumont C, Barroso J, Matys I, et al. Analysis of the Local Lymph Node Assay (LLNA) variability for assessing the prediction of skin sensitisation potential and potency of chemicals with non-animal approaches. *Toxicol In Vitro* 2016;34:220–228
- Guo B , Abdelraouf K , Ledesma KR , Chang KT , Nikolaou M , Tam VH . Quantitative impact of neutrophils on bacterial clearance in a murine pneumonia model. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55:4601–5 .
- Hartung T, Perspectives on *In Vitro* to *In Vivo* Extrapolations, *Appl In Vitro Toxicol*. 2018 Dec 1; 4(4): 305–316
- Hoffmann S. LLNA variability: An essential ingredient for a comprehensive assessment of non-animal skin sensitization test methods and strategies. *ALTEX* 2015;32;379–383
- Mouton JW , Brown DF , Apfalter P , Cantón R , Giske CG , Ivanova M , et al. The role of pharmacokinetics/pharmacodynamics in setting clinical MIC break- points: the EUCAST approach. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18:E37–45 .
- Nguyen TH , Mouksassi MS , Holford N , Al-Huniti N , Freedman I , Hooker AC , et al. Model evaluation of continuous data pharmacometric models: metrics and graphics. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* 2017;6:87–109
- Tängdén T , Ramos Martin V , Felton TW , Nielsen EI , Marchand S , Bruggemann RJ , et al. The role of infection models and PK/PD modelling for optimizing care of critically ill patients with severe infections. *Intensive Care Med* 2017; 43:1021–32
- Tolker-Nielsen T . Biofilm development. *Microbiol Spectr* 2015; 3:MB-0 0 01-2014
- COMBINE: Collaboration for prevention and treatment of MDR bacterial infections. <https://www.imi.europa.eu/projects-results/project-factsheets/combine>
- <https://ntp.niehs.nih.gov/whatwestudy/niceatm/comptox/ct-aop/aop.html>