

EFICIENȚA TERAPEUTICĂ ȘI FARMACOCINETICA PRODUSULUI ROMÂNESC AMPICILINĂ + SULBACTAM

D.Buiuc, Antonia Poiată*, V.Luca**, V.Munteanu***, M.Cojocaru***,
Daniela Diculencu*, E.Diaconu***, Maria Buiuc***, Roxana Gheorghiu*.*

INTRODUCERE

La introducerea în terapie penicilinele cu spectru larg au dovedit activitate bună asupra: stafilococilor, enterococilor, enterobacteriilor și bacteriilor anaerobe, în prezent eficiența lor este foarte limitată de betalactamaze, care au conferit rezistență bacteriilor la aceste antibiotice (8, 14),

Pentru depășirea rezistenței mediate de betalactamaze sunt aplicate două strategii importante: utilizarea unor noi betalactamine, care rezistă la inactivarea enzimatică și asocierea antibiotic betalactamic + inhibitor de betalactamază.

Studii "in vitro" au arătat că inhibitorii de betalactamaze (IBL) restaurează activitatea antibacteriană a betalactaminelor cu care sunt asociați (7). Acești inhibitori "sinucigași" sunt betalactamine cu activitate antimicrobiană nesemnificativă (13). Ei inhibă ireversibil betalactamazele printr-o reacție de acilare, similară celei prin care betalactamina se fixează de proteinele de legare a penicinelor (PBP) (10).

Am testat eficiența combinației ampicilină + sulbactam (produs al Centrului de Cercetări pentru Antibiotice Iași în colaborare cu S.A. Antibiotice Iași) în terapia infecțiilor cauzate de bacterii producătoare de betalactamaze.

MATERIAL ȘI METODE

Pacienți

Studiul cuprinde un număr de 10 pacienți (cinci bărbați și cinci femei) cu vârsta cuprinsă între 1 și 61 de ani, spitalizați în Clinica de Boli Infecțioase a Universității de Medicină și Farmacie "Gr. T. Popa" Iași, în perioada iulie-noiembrie 1994 (**tabel I**)

Criteriile de selectare a pacienților au fost:

a) Pentru infecții respiratorii: debut recent, spută purulentă, temperatură $>38^{\circ}\text{C}$, leucocite $>10.000/\text{mm}^3$, VSH mult crescută, imagine radiologică sugestivă pentru pneumonie (alveolită); proteina C reactivă (PCR) $>33\text{mg}\%$;

b) Pentru infecții urinare: disurie, polakiurie, febră, frison, prezența în urina omogenizată a >10 leucocite/ mm^3 și minimum 1-2 bacterii din aceeași categorie microscopică/câmp, VSH crescută;

c) Pentru boală diareică acută: >4 scaune muco-sanguinolente/zi, dureri abdominale colicative, tenesme rectale, febră;

d) Pentru febră tifoidă: debut insidios, stare tifică, febră în platou, tulburări digestive caracteristice, splenomegalie, erupție maculară discretă la baza toracelui și pe flancuri, leucopenie cu limfocitoză relativă, VSH crescută;

ABSTRACT

THERAPEUTICAL EFFICIENCY AND PHARMACOKINETICS OF THE AMPICILLIN + SULBACTAM COMBINATION

Inhibitor-lactamine combinations represent one strategy to overcome beta-lactamase-mediated resistance.

The efficiency of the combination ampicillin + sulbactam (A/S) was studied in 10 patients. Ampicillin and sulbactam (3g/day) were administered intramuscularly for a minim 5-7 days. After single doses of 500 mg A and 250 mg S, peak serum and urinary levels were effective, much higher than MICs for lactamase producing organisms and the synergy observed in vitro is reflected in vivo. The clinical response was favourable in 9 of evaluable patients.

The combination was effective in respiratory, digestive, biliary infections and meningitis caused by ampicillin-resistant bacteria.

Key words: inhibitors (IBL), ampicillin + sulbactam, pharmacokinetics, clinical efficacy.

e) Pentru meningită: debut acut, febră 40°C , cefalee, vărsături, hiperestezie cutanată, fotofobie, prezența semnelor de iritație meningeală; lichid cefalorahidian (L.C.R.) purulent cu polimorfonucleare neutrofile $>88\%$, prezența agentului patogen (meningococ) la examenul direct, PCR = $34\text{mg}\%$;

TABEL I

**DATE DESPRE PACIENȚII
INCLUȘI ÎN STUDIU**

Pacient	Sex	Vârsta	Greutate	Înălțime	Diagnostic
1.	B.	60	70	1,73	Infecție căi biliare
2.	B.	47	85	1,70	Infecție căi biliare
3.	B.	17	61	1,65	Dizenterie
4.	B.	30	63	1,72	Septicemie
5.	B.	61	64	1,68	Pneumonie bacteriană
6.	F.	44	51	1,62	Infecție urinară
7.	F.	51	56	1,60	Infecție urinară
8.	F.	34	62	1,67	Infecție urinară
		43	64	1,67	
9.	F.	6	23	1,10	Febră tifoidă
10.	F.	1	10	0,60	Meningită meningococică

f) Pentru infecții biliare: febră, greață, vărsături, tulburări de tranzit, durere în hipocondrul drept, cu sau fără icter; leucocitoză cu neutrofilie, VSH crescută, antecedente de suferință biliară.

Pacienții alergici la antibioticele betalactamice nu au fost incluși în studiu. Experimentul s-a desfășurat în concordanță cu Declarația de la Helsinki: pacienții și-au dat acordul pentru includerea în studiu.

*Dr. D. Buiuc, Dr. Antonia Poiată, Dr. Daniela Diculescu, Dr. Roxana Gheorghe, Universitatea de Medicină și Farmacie "Gr. T. Popa" Iași, Catedra de Microbiologie

**Dr. V. Luca, Clinica de Boli Infecțioase - U.M.F. Iași

***V. Munteanu, M. Cojocaru, E. Diaconu, Maria Buiuc - S.C. Antibiotice S.A. - Iași.

Etiologia infecțiilor a fost stabilită prin examenul bacteriologic al prelevatelor patologice reprezentative fiecărui sindrom, obținute înaintea tratamentului antibacterian (3).

Antibiograma izolatelor clinic semnificative, identificate microscopic și prin teste biochimice (*Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella oxytoca*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*) a fost făcută difuzimetric. Tulpinile cu zona de inhibiție a creșterii >15 mm față de asocierea betalactamină + inhibitor au fost considerate sensibile (9).

Pacienții cu infecții determinate de tulpini sensibile la ampicilină au fost excluși din studiu, cu excepția pacientului cu meningită meningococică.

ADMINISTRAREA ANTIBIOTICULUI

Ampicilină+sulbactam (2:1), 3g/zi a fost administrată la interval de 6 ore, intramuscular, timp de minimum 5-7 zile pentru adulți. La copii s-au administrat 100 mg/kgc/zi în febra tifoidă și 200mg/kgc/zi în meningita meningococică, sub controlul evoluției reactanților de fază acută.

Testele de laborator: hemoglobină, hematocrit, număratoarele de leucocite, trombocite, timp de protrombină, creatinină serică, uree, fosfatază alcalină, bilirubină, LDH, glicorahie, albuminorahie, citologie L.C.R., Na, K, Ca, analize de urină (urocultură, sediment urinar) au fost efectuate înainte, în timpul și după tratament.

Evaluarea terapiei, clinică și bacteriologică am făcut-o la pacienții care au urmat tratamentul cu asocierea ampicilină+sulbactam cel puțin 5 zile.

Răspunsul clinic a fost clasificat astfel:

- Vindecare: pacient devenit asimptomatic;
- Ameliorare: îmbunătățire semnificativă a simpto-melor, dar cu semne persistente de infecție;
- Recădere: ameliorarea simptomelor, urmată de deteriorarea în cursul terapiei sau post-tratament;
- Eșec terapeutic: absența răspunsului semnificativ la tratament.

Pentru evaluarea bacteriologică am urmărit:

- a) Prezența agentului patogen sensibil la ampicilină+sulbactam, înaintea tratamentului;
- b) Corelarea datelor privind sensibilitatea, obținute "in vitro" cu cele obținute "in vivo";
- c) Cel puțin o evaluare bacteriologică la sfârșitul terapiei sau post-terapeutic.

Eficiența terapeutică a fost interpretată după cum urmează:

- eradicarea patogenului inițial din prelevate semnificative în cursul sau după tratament;
- persistența agentului etiologic în prelevate în cursul sau după tratament;
- suprainfecția sau reinfecția (eradicarea patogenilor inițiali, cu apariția unor patogeni noi, semnificativi clinic, în cultura probelor prelevate pe parcursul bolii).

DETERMINĂRI FARMACOCINETICE

Prelevarea probelor. Probele de sânge și urină au fost prelevate la intervale de 1h, 3h, și 6h după injectarea i.m. a dozei unice de 500/250 mg

ampicilină + sulbactam. Serul a fost separat prin centrifugare la 4°C și testat imediat sau stocat la -70°C până la prelucrare.

Concentrațiile serice și urinare de ampicilină și sulbactam au fost determinate prin metoda difuziei în agar (5). Concentrația serică de ampicilină a fost determinată cu tulpina *Sarcina lutea* ATCC 9341, iar cele urinare cu tulpina *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Diluțiile standard de antibiotic au fost preparate din ser normal de om (pentru probele de sânge) și urină normală, diluată 1/10 în fosfat tampon pH₇ (pentru probele de urină). Probele și diluțiile de antibiotic în volume de 80 l au fost depuse în cilindri de oțel inoxidabil, plasați pe plăci cu mediu Mueller-Hinton. După incubare peste noapte la 37°C, am înregistrat diametrele zonelor de inhibiție.

Dozarea sulbactamului am făcut-o cu tulpina indicator *Klebsiella pneumoniae* 619, producătoare de beta-lactamază, în mediu Mueller-Hinton cu 10 μg/ml penicilină (12). Zonele de inhibiție din jurul probelor și diluțiilor standard de sulbactam sunt proporționale cu cantitatea de inhibitor care blochează beta-lactamaza și favorizează acțiunea penicilinei asupra tulpinii indicator.

CALCULAREA REZULTATELOR

Am proiectat valorile diametrelor zonelor de inhibiție ale concentrațiilor cunoscute de ampicilină și sulbactam într-un sistem de coordonate: pe abscisă, diametrul zonei de inhibiție (mm), iar pe ordonată, în scară logaritmică, concentrațiile de antibiotic (μg/ml). Prin punctele obținute am trasat curba doză-răspuns a antibioticului standard. Concentrația de antibiotic în probă testată se obține proiectând valoarea medie a diametrului zonei de inhibiție din jurul probei pe curba doză-răspuns și pe ordonată.

Rezultate

Diagnosticul etiologic

Lotul studiat a fost împărțit în pacienți cu infecții documentate clinic și pacienți cu infecții documentate clinic și microbiologic (tabel II). Diagnosticul de febră tifoidă a fost stabilit serologic.

TABEL II AGENȚI ETIOLOGICI IZOLAȚI ȘI SPECTRUL LOR DE SENSIBILITATE

Diagnostic	Produs patologic	Patogen izolat	Sensibilitatea la antibiotice
Pneumonie	Spută K.	<i>pneumoniae</i>	S:A/S; R: P,A
Dizenterie	Materii fecale	<i>Sh.flexneri</i>	S:A/S; R: A,C,T,CTX
Infecție urinară	Urină	<i>E.coli</i>	S:A/S; R:A,C,T
Infecție urinară	Urină	<i>K.oxytoca</i>	S:A/S; R:A,C,T
Meningită	L.C.R. N.	<i>meningitidis</i>	S:A/S;

S=sensibil; R=rezistent; A=ampicilină; A/S = ampicilină + sulbactam; P = penicilină; C = cloramfenicol; T = tetraciclină; Ctx = cotrimoxazol

TABEL III

CONCENTRAȚIILE SERICE ȘI URINARE DE AMPICILINĂ ȘI SULBACTAM DUPĂ ADMINISTRAREA DOZEI UNICE DE 750 MG I.M. (500 MG AMPICILINĂ ȘI 250 MG SULBACTAM)

Ampicilină							Sulbactam						T 1/2 Ampicilină	T 1/2 Sulbactam		
Pacient			Sânge			Urină			Sânge			Urină				
	1h	3h	6h	1h	3h	6h	1h	3h	6h	1h	3h	6h				
1.	6,7	4,7	0,93	182	5.500	316	7,8	5,0	1,5	355	486	284	3h 50min	3h 40min		
2.	5,9	4,1	1,0	213	460	314	3,1	2,4	nd	500	640	330	4h 15min	4h 30min		
3.	5,6	1,5	0,75	102	637	250	1,8	1,7	nd	294	637	141	2h 00 min.	5h 15min		
4.	5,1	7,9	2,2	270	930	500	3,9	2,4	nd	330	640	400	3h 10min	3h 15min		
5.	10,3	6,2	2,3	310	870	76	4,3	2,0	nd	360	670	320	3h 50min	3h 10min		
Media (x)	8,74	4,9	1,4	215	679	291	4,2	2,7		367	614	295				
Abat.st(*)	4,00	2,3	2,5	80	212	152	2,2	1,3		78,3	373	95				
ASE(**)	1,79	1,0	1,13	36	95,4	42,6	1,0	0,5		35,1	32,7	42,9				

(*) Abaterea standard

(**) Abaterea standard empirică

Evoluția concentrațiilor serice și urinare de A/S

Concentrațiile de ampicilină și sulbactam în ser și urină, după injectarea i.m. a dozei unice de 750 mg (500 mg ampicilină, 250 mg sulbactam) sunt prezentate în **tabelul III** și **figurile 1** și **2**. La o oră de la administrare, valoarea concentrațiilor medii serice a fost de 8,74 $\mu\text{g/ml}$ ampicilină (timp de înjumătățire - $t_{1/2}$ 2h-3h 50min) și 4,18 $\mu\text{g/ml}$ sulbactam ($t_{1/2}$ 3h 10min - 4h 30min).

Eficiența terapeutică

A fost apreciată în funcție de evoluția clinică și evoluția testelor de laborator.

Scăderea febrei s-a produs în medie după două zile, iar simptomatologia a dispărut în medie după 4 zile.

Criteriile biologice de evaluare a eficienței tratamentului au fost: a) numărul total de leucocite în sângele periferic, care s-a normalizat în medie după 6 zile; b) neutrofilia, care s-a suprapus peste evoluția numărului total de leucocite; c) proteina C reactivă (PCR), dozată în dinamică, s-a normalizat în 1,8 zile.

Evaluarea microbiologică a fost făcută prin demonstrarea eradicării agentului etiologic în cazurile în care acesta a fost izolat (Neisseria meningitidis, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Shigella flexneri) (**tabel IV**).

TABEL IV

URMĂRIREA BACTERIOLOGICĂ A EFICIENȚEI TRATAMENTULUI

Diagnostic	Total	Eradicare documentară	Eradicare prezumtivă
Pneumonie	1	-	da
Febră tifoidă	1	-	da
Dizenterie	1	da	-
Infecție urinară	3	da	-
Septicemie	1	-	-
Colangită acută	1	-	da
Ascită infectată	1	-	da
Meningită			
meningococică	1	da	-

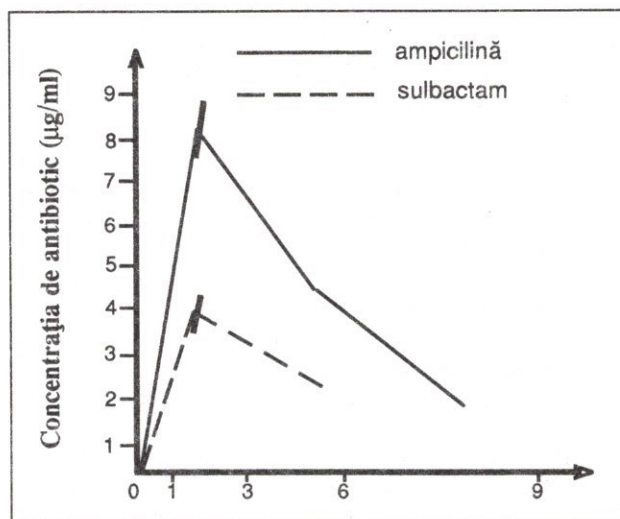


Fig. 1. Evoluția concentrației serice de ampicilină și sulbactam după administrarea dozei unice de 500/250 mg A/S.

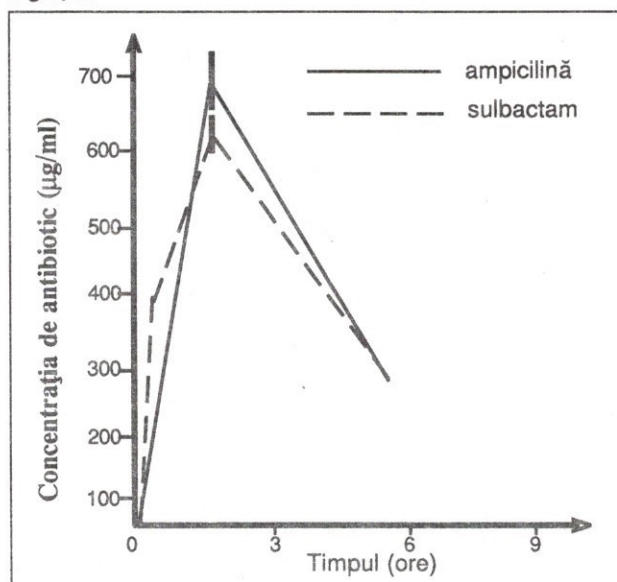


Fig. 2. Concentrațiile urinare de ampicilină și sulbactam după administrarea dozei unice de 500/250 mg A/S

Reacții adverse nu am observat la nici un pacient din lotul în studiu care a primit ampicilină+sulbactam.

DISCUȚII

Tratamentul cu asocierea ampicilină+sulbactam a fost considerat eficient în 9 din 10 cazuri. Într-un caz de septicemie cu floră mixtă, la un bolnav cu ciroză hepatică, decompensată vascular și parenchimatous, în cursul spitalizării a intervenit o insuficiență renală acută. Bolnavul a fost externat la cererea familiei, starea la externare fiind agravată. Acest caz a fost considerat un eșec terapeutic.

Ampicilina+sulbactam este eficientă în infecțiile respiratorii, în infecțiile urinare, în infecțiile căilor biliare, în meningite și în infecții ale căilor digestive cauzate de bacterii producătoare de betalactamaze.

Cu doza de 3g/zi (la adult) se obțin rezultate favorabile în majoritatea cazurilor, concretizate prin normalizarea concentrației serice a PCR (cel mai precoce și fidel marker de eficiență terapeutică antibacteriană) (2).

Concentrațiile serice și urinare ale ampicilinei+sulbactam depășesc semnificativ concentrațiile minime inhibitorii (CMI) față de majoritatea tulpinilor frecvent implicate în infecții. (11).

Cele mai multe izolate urinare de *E.coli* care produc enzime de tipul TEM-1 sunt sensibile la asocierea betalactamină+inhibitor de beta-lactamază, dar sensibilitatea este diminuată în cazul tulpinilor hiperproducătoare.

Studiile întreprinse de noi asupra tipurilor de enzime prezente la enterobacteriile circulante în partea de Est a României au evidențiat predominanța betalactamazelor TEM-1 (6).

Literatura consemnează, pentru asocierea amoxicilină+acid clavulanic (Augmentin), administrat în doze orale de 250/125 mg, concentrații urinare maxime de 500 µg/ml amoxicilină și 125 µg/ml acid clavulanic. Experimentele, pe un model de infecție urinară la animal au demonstrat că produsul are acțiune sinergică bactericidă asupra tulpinilor de *E.coli* NCTC 11560 care produce beta-lactamază de tip TEM-1 (CMI amoxicilină+acid clavulanic - 8/4 µg/ml) și *E.coli* JT₄ hiperproducătoare de TEM-1 (CMI amoxicilină+acid clavulanic - 32/16 µg/ml) (15).

Este posibil ca amoxicilina asociată cu acidul clavulanic să selecteze mutanți producători de TEM-1 și alte beta-lactamaze cu spectrul larg, dacă în organismul gazdă sunt prezente populații heterogene care conțin plasmide de rezistență (4).

Arenoso și colab. în 1993 (1) au urmărit nivelurile serice pentru trei combinații de aminopenicilină cu inhibitor de beta-lactamază: ampicilină+sulbactam, amoxicilină+sulbactam, amoxicilină+acid clavulanic administrate în cantități echivalente și au consemnat concentrații serice maxime la 30 de minute pentru ampicilină + sulbactam (3,4 µg/ml) și la 1,30 ore pentru amoxicilină + acid clavulanic (4,6 µg/ml). Comparând amoxicilina + sulbactam cu amoxicilina + acid clavulanic, nivelurile serice maxime au fost obținute la 1,30 ore (5,9 µg/ml respectiv 6,3 µg/ml).

Eficiența ampicilinei+sulbactam asupra bacteriilor producătoare de beta-lactamaze izolate în cazurile studiate de noi este evidentă.

CONCLUZII

- Produsul ampicilină+sulbactam 2:1, administrat parenteral (injecții i.m.) poate fi utilizat în pneumonii, infecții urinare, meningite, infecții digestive, infecții biliare, septicemii cauzate de bacterii producătoare de beta-lactamaze;

- Produsul și-a demonstrat eficiența în infecțiile căilor biliare, asociate sau nu cu suferință parenchimatousă;

- Concentrațiile serice și urinare de ampicilină + sulbactam depășesc CMI față de majoritatea tulpinilor implicate în infecții;

- Asocierea nu a dat reacții adverse în cursul tratamentului (cu excepția durerilor intense la locul administrării i.m.);

- Evoluția practic paralelă a concentrațiilor serice ale acestor antibiotice asociate asigură protecția eficientă a betalactaminei activă bactericid;

- Monoterapia cu ampicilină + sulbactam este sigură și costul tratamentului este convenabil;

- Este necesară și obținerea produsului pentru administrarea i.v.

BIBLIOGRAFIE

1. ARENOSO H., CASELLAS J.M., SOUTRIC J., TOME G., GOLDBERG M. *Serum levels, serum bactericidal power and killing curves in volunteers after aminopenicillins with beta-lactamases suicidal inhibitors.*
Abstr.499. 6th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Disease, 28-31 March, 1993, Spain Seville.
2. BUIUC D. - *Participarea investigației microbiologice la instituirea și ghidarea antibioticoterapiei infecțiilor.*
Raport la al 4-lea Congres Național de Microbiologie Medicală, Cluj, 1-3 sept, 1988 volum Congres, p.78-94.
3. BUIUC D. - *Bazele microbiologice ale terapiei antimicrobiene.*
În: Microbiologie medicală. Ed. Didactică și Pedagogică, București, 1992, 233-56.
4. DU BOIS S.K., MARIOTTE M.S., AMYES S.G.B. *Does clavulanic acid select extended-spectrum beta-lactamases.*
Abstr.487. 6th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 28-31 March, 1993, Spain, Seville.
5. EDBERG S.C., SABATH I.D. - *Determination of antibiotic levels in body fluids; technique and significance.*
In: Lorian V. (editor) *Antibiotics in Laboratory medicine.* Williams and Wilkins, Baltimore, 1981, p.206-63.
6. GHEORGHIE R., POIATĂ A., NICOLAS M.H., ESPINASSE F., CONSTANTINU S., BUIUC D. - *Enterobacteriaceae strains*

isolated in the eastern region of Romania to beta-lactamase inhibitors: beta-lactamase types.

Abstr.244. 7th european Congress of Clinical Microbiology and Infectious disease. Vienna, Austria, March 26-30, 1995.

7. HAIKIAS K.D., YANGCO B.G. - "In vitro" study of the susceptibility of enteric isolates to two different concentrations of ampicillin/sulbactam (A/S).

18 ICC Stockholm, 1993, Abstre 385 p.187

8. LIVERMORE D.M. Determinants of the activity of -lactamase inhibitor combinations.

J.Antimicrob. Chemother, 1993, 31, suppl A, p.9-21.

9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility testing for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A2.

The British Society for Antimicrobial Chemotherapy London, 1991.

10. NEU H.C. - Lactam antibiotics: structural relationship affecting "in vitro" activity and pharmacologic properties.

Rev. Infect. Dis., 1986, 8, suppl.3, p.272-9.

11. POIATĂ A., GHEORGHIU R., DICULENCU D., BUIUC D. Rezistența față de -lactamine la enterobacteriacee din estul României.

Comunicare la Sesiunea Științifică a Institutului de Sănătate Publică și Cercetări Medicale, Iași, 1993, 4-5 iunie.

12. POIATĂ A., BUIUC D. - Dozarea microbiologică a inhibitorului de -lactamază Sulbactam cu tulpina *Klebsiella pneumoniae* 619.

În: curs de brevetare, 1995.

13. STROESCU V. Bazele farmacologice ale practicii medicale.

Ed. medicală 1989, vol.2, p.1076-9.

14. THORBURN E.C., ALLAN E. - "In vitro" comparison of Amoxycillin plus Clavulanic acid and Ampicillin, plus Sulbactam against -lactamase positive *Haemophilus influenzae* and *Staphylococcus aureus*.

Abstr. 378, 18 I.CC, Stockholm, 1993.

15. THORBURN E.C., MOIESWORTH S.J., WARRACK J.K. Bactericidal effects of clavulanic acid and amoxicillin+clavulanic acid against Gramnegative bacili in "an vitro" model simulating urinary concentrations.

Abstr.486. 6th European Congress of Clinical Microbiology and infectious Diseases, 28-31 March, 1993, Spain, Seville.

REZUMAT

Combinatiile beta-lactamină+inhibitor de beta-lactamină reprezintă una din strategiile pentru depășirea rezistenței bacteriene mediate plasmidic.

Eficiența combinației ampicilină+sulbactam a fost studiată pe 10 pacienți (A/S). Au fost administrate i.m. A/ S (3 g/zi) pentru minimum 5 - 7 zile.

După doza unică de 500 mg A și 250 mg S concentrațiile serice și urinare maxime, au fost eficiente, depășind valorile CMI ale bacteriilor producătoare de lactamaze implicate curent în infecții. Sinergismul constatat "in vitro" a fost confirmat "in vivo". Răspunsul clinic a fost favorabil pentru 9 pacienți.

Combinatia a fost eficientă în infecții: respiratorii, urinare, biliare și în meningitele cauzate de bacterii ampicilin-rezistente.

Cuvinte cheie: inhibitori de beta-lactamaze (IBL), ampicilină + sulbactam, farmacocinetică, eficiență clinică.