การประเมินผลทางจุลชีววิทยา และทางคลินิกของยาแอสทรีโอแนม ในการรักษาโรคติดเชื้อเนื่องจากแบคทีเรียชนิดกรัมลบ

นางสาว สุรัชนี เศวตศิลา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชาจุลชีววิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2533

ISBN 974 - 577 - 213 - 5

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

016382
I 10305040

MICROBIOLOGICAL AND CLINICAL EVALUATION OF AZTREONAM IN TREATMENT OF GRAM NEGATIVE BACTERIAL INFECTIONS

MISS SURATCHANEE SAWAITASILA

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy
Department of Microbiology
Graduate School
Chulalongkorn University
1990

ISBN 974 - 577 - 213 - 5

Thesis Title Microbiological and Clinical Evaluation of Aztreonam in Treatment of Gram Negative Bacterial Infections

By Miss Suratchanee Sawaitasila

Department Microbiology

Thesis Advisor Professor Somsak Lolekha, M.D., Ph. D.

Associate Professor Saree Virunhaphol, M.Sc. in Pharm

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree.

Thavorn Vajrabhaya
.....Dean of Graduate School

(Professor Thavorn Vajrabhaya, Ph. D.)

Thesis Committee

Santi Thoongsuwan
.....Chairman

(Associate Professor Santi Thoongsuwan, Ph.D.)

Somsak Lolekha
.....Member

(Professor Somsak Lolekha, M.D., Ph.D.)

Saree Virunhaphol
.....Member

(Associate Professor Saree Virunhaphol, M.Sc. in Pharm)

Vimolmas Lipipun
.....Member

(Assistant Professor Vimolmas Lipipun, Ph.D.)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สุรัชนี เศวตศิลา : การประเมินผลทางจุลชีววิทยาและทางคลินิกของยาแอสทรีโอแนมในการรักษาโรคติดเชื้อเนื่องจากแบคทีเรียชนิดกรัมลบ
(MICROBIOLOGICAL AND CLINICAL EVALUATION OF AZTREONAM IN TREATMENT OF GRAM NEGATIVE BACTERIAL INFECTIONS)
อ.ที่ปรึกษา : ศ.ดร. สมศักดิ์ ไล่ศัตรา, 100 หน้า. ISBN 974-577-213-5

ในการตรวจสอบผลในห้องปฏิบัติการของแอสทรีโอแนมที่มีต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดกรัมลบสายพันธุ์ต่าง ๆ จำนวน 351 สายพันธุ์ โดยวิธี two-fold serial agar dilution method พบว่าร้อยละ 90 ของเชื้อ Aeromonas spp. (30 สายพันธุ์), Escherichia coli (66 สายพันธุ์), Klebsiella spp. (52 สายพันธุ์), Proteus spp. (19 สายพันธุ์), Salmonella spp. (28 สายพันธุ์), Serratia spp. (20 สายพันธุ์) และ Shigella spp. (32 สายพันธุ์) ถูกยับยั้งด้วยความเข้มข้นของยาต่ำสุดน้อยกว่า 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ร้อยละ 50 และร้อยละ 90 ของเชื้อ Enterobacter spp. (53 สายพันธุ์) ถูกยับยั้งด้วยความเข้มข้นของยาต่ำสุดที่ 0.15 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ แอสทรีโอแนมสามารถยับยั้งร้อยละ 90 ของเชื้อ P. aeruginosa (29 สายพันธุ์) และ Acinetobacter spp. (22 สายพันธุ์) ด้วยความเข้มข้นต่ำสุดที่ 11.9 และ 86 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ในการศึกษาผลทางคลินิกของยาแอสทรีโอแนมในเด็กทั้งเพศชายและหญิง อายุระหว่าง 3 เดือนถึง 14 ปี จำนวน 10 คน ซึ่งป่วยด้วยโรคติดเชื้อแบคทีเรียชนิดกรัมลบในทางเดินปัสสาวะ (90%) และติดเชื้อชนิดกรัมลบที่ผิวหนัง (10%) พบว่า เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคได้แก่ P. aeruginosa, P. mirabilis, E. coli, K. pneumoniae และ E. cloacae ผู้ป่วย 9 ราย ได้รับยาขนาด 30 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมทุก 6-8 ชั่วโมงทางหลอดเลือดดำ ผู้ป่วยอีก 1 รายได้รับยาขนาดเดียวกันทางกล้ามเนื้อทุก 8 ชั่วโมง ผู้ป่วยได้รับยาเป็นเวลาโดยเฉลี่ย 10 ± 2.65 วัน เมื่อสิ้นสุดการรักษาพบว่า ผู้ป่วยหายขาด 1 ราย, อาการดีขึ้น 8 ราย และไม่ตอบสนองต่อการรักษา 1 ราย ผลทางจุลชีววิทยาพบว่า เชื้อก่อโรคทุกตัวถูกทำลาย แต่เกิด superinfection ในผู้ป่วย 1 ราย และพบ colonization ของแบคทีเรียชนิดอื่น หรือเชื้อราในผู้ป่วย 5 ราย ผู้ป่วยเหล่านี้มีสภาวะที่เอื้อต่อการติดเชื้อง่าย จากการศึกษาระดับยาในซีรั่ม พบว่าความเข้มข้นของแอสทรีโอแนมในซีรั่มหลังจากได้รับยาเป็นเวลา 8 ชั่วโมง มีค่าสูงกว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งร้อยละ 90 ของแบคทีเรียชนิดกรัมลบเกือบทุกตัว ส่วนการศึกษาผลข้างเคียงพบว่ายาปฏิชีวนะชนิดนี้มีผลข้างเคียงน้อย โดยสรุปแอสทรีโอแนมสามารถใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อเนื่องจากแบคทีเรียชนิดกรัมลบได้อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา จุลชีววิทยา
ปีการศึกษา 2532 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวแผ่นเดียว

SURATCHANEE SAWAITASILA : MICROBIOLOGICAL AND CLINICAL EVALUATION OF AZTREONAM IN TREATMENT OF GRAM NEGATIVE BACTERIAL INFECTIONS.
THESIS ADVISOR : PROF. SOMSAK LOLEKHA M.D., Ph.D. 100 PP.

The in vitro antibacterial activity of aztreonam against 351 gram negative microorganisms were determined by using a two-fold serial agar dilution method. Aztreonam inhibited 90% of strains (N) of Aeromonas spp. (N = 30), Escherichia coli (N = 66), Klebsiella spp. (N = 52), Proteus spp. (N = 19), Salmonella spp. (N = 28), Serratia spp. (N = 20) and Shigella spp. (N = 32) at a concentration of < 2 ug/ml. Fifty percent (50%) of strains of Enterobacter spp. (N = 53) were inhibited by 0.15 ug/ml aztreonam and 90% by 10 ug/ml. Aztreonam also inhibited 90% of strains of P. aeruginosa (N = 29) and Acinetobacter spp. (N = 22) at concentrations of 11.9 ug/ml and 86 ug/ml respectively. In clinical studies, aztreonam was administered to 10 pediatric patients with gram negative infections which included urinary tract infection (90%) and skin infection (10%). The patients were 5 males and 5 females with the ages ranged from 3 months to 14 years. The etiological organisms were P. aeruginosa, P. mirabilis, E. coli, K. pneumoniae, and E. cloacae. Based on the severity of the infections, aztreonam was given for a mean duration of 10.6 ± 2.65 days, i.v. (30 mg/kg, 6 - 8 hourly) in 9 patients and i.m. (30 mg/kg, 8 hourly) in one patient. At the end of the treatment, one patient was clinically cured, 8 improved and one failed to respond to the antibiotic treatment. All of the initial pathogens were eradicated at the completion of treatment. Superinfection occurred in one patient and colonization with other bacteria or fungi were developed in five patients. All of these patients had other compromising underlying conditions. Aztreonam's serum levels were over the MIC_{90} to most of gram negative bacteria at the eighth hour after injection. Adverse effects of the antibiotic were minimal. It is very suggestive that aztreonam can be used effectively and safely in the treatment of gram negative bacterial infections.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาควิชา จุลชีววิทยา
สาขาวิชา จุลชีววิทยา
ปีการศึกษา 2532

ลายมือชื่อนิสิต สุรัชนี เสวาสิลา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to express my grateful thanks to Professor Dr. Somsak Lolekha, my thesis advisor, Associate Professor Saree Virunhapol, my thesis co-advisor and the head of the Department of Microbiology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University for their most valuable supervision. I am also indebted to Associate Professor Santi Thoongsuwan and Assistand Professor Vimolmas Lipipun. Apart from this, I also appreciate their warm and sincere personal concern throughout the period of this research work.

My grateful thanks are also due to Mrs. Surang Dej sirilert, Miscellaneous Bacteriological Section, Divison of Clincal Microbiology, Miss Wirarat Kammuang, head of Microbiological Assay of Antibiotic Section, Divison of Drug Analysis, Department of Medical Sciences. Dr. Somchai Rheanprayoon, head of Microbiological Section, Department of Pathology, Chulalongkorn University. Dr. Somporn Srifungfong, Department of Pathology, Siriraj Hospital for facilities and providing me the opportunities and means carry out this study program.

The clinical study would never have succeeded without great help from Dr. Surasak Prataungtum, Department of Pediatrics to whom I am very grateful for his kindness and cooperation. I want to express my sincere thanks to Miss Dusadee Charoenpipop, Miss Suwadee Doencham and Mrs. Wanta Yingyong for their very helpful cooperation in many laboratory and clinical works.

I wish to express my gratitude to The Graduate School, Chulalongkorn University, for granting partial financial support to conduct this study.

I would like to express my thanks to Mrs. Orachorn Poolsup, Squibb.

Fareast Limited for providing much useful information and for her cooperation. My grateful thanks are also due to Assistant Professor Pintip Pongpech and Mrs. Arpapun Tongboonraud for their kindness and help in language correction.

Finally, I wish to express my thanks to all of those whose names have not been mentioned and to those who in one way or another helped to make this work a reality.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Table of contents page

Thai Abstract ---------- IV

English Abstract ---------- V

Acknowledgements ---------- VI

Contents

List of Abbreviations ---------- XI

List of Tables ---------- XII

List of Figures ---------- XIV

Chapter 1 Introduction ---------- 1

Objective ---------- 4

Materials and Methods ---------- 4

Significance of the study ---------- 7

Chapter 2 Review of Literatures

Background ---------- 9

Structure - activity relationships ---------- 11

Mode of action ---------- 15

Interaction with Beta - Lactamase ---------- 16

Antibacterial Activity ---------- 19

Antibacterial combination ---------- 22

Discdiffusion studies ---------- 23

Effects on intestinal microflora ---------- 25

Clinical Pharmacology

- Healthy subjects ---------- 27

- Patients ---------- 28

- Clinical efficacy and Safety ---------- 29

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Chapter 3 Materials and Methods ---------- 33

A In Vitro Study ---------- 33

Determination of Minimal Inhibitory Concentration ---------- 33

1 Test medium ---------- 33

2 The antibiotic diluent

3 Preparation of the antimicrobial dilutions

4 Preparation of the test plates

5 Preparation of the inoculum

6 Inoculations of agar plates

7 Reading of test results

B Clinical Study ---------- 36

1 Drug used ---------- 36

1.1 Method of reconstitution and route of administration

1.1.1 For intravenous injection

1.1.2 For intramuscular injection

1.2 Dose of aztreonam

2 Criteria for Selecting the Patients ---------- 37

3 Antimicrobial Susceptibility test ---------- 37

3.1 Medium and preparation of plates

3.2 Discs

3.3 Preparation of the inoculum

3.4 Preparation of test plates

3.5 Interpretation of the test results

4 Determination of patients' serum levels of aztreonam after injection ---------- 39

4.1 The assay medium

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.2 **Assay microoraganism**

4.3 Preparation of plates

4.4 **Working standard**

4.4.1 Preparation of the diluting solution

4.4.2 Dilution of the standard

4.5 Preparation of the sample

4.6 Assay procedures

4.6.1 Preparation of the standard plates

4.6.2 Standard curve determination

5 Method of clinical evaluation ---------- 44

6 Study for bacteriological efficacy of aztreonam ---------- 45

Chapter 4 Results

A **In Vitro Study** ---------- 49

B **Clinical Study** ---------- 62

- **Bacteriological results** ---------- 67

Chapter 5 Discussion and Conclusion ---------- 72

Appendix I ---------- 76

Appendix II ---------- 77

Appendix III ---------- 81

References ---------- 93

Vita ---------- 100

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

LIST OF ABBREVIATIONS

^{o}C	=	degree celsius
$conc^{n}$	=	concentration
cont	=	continue
fig	=	figure
gm, g	=	gram
μg	=	microgram
h, hr	=	hour
I.M., im.	=	intramuscular
I.V., iv.	=	intravenous
KG; kg	=	kilogram
L	=	litre
μl	=	microlitre
MIC	=	minimal inhibitory concentration
mg	=	milligram
ml	=	milli litre
mm	=	millimetre
n, No	=	number
NSS	=	normal saline solution
p., pp.	=	page
wt	=	weight
yrs	=	years

CHULALONGKORN UNIVERSITY

Lists of **Tables** page

Table 1. Antimicrobial susceptibility pattern of various gram negative bacteria to gentamicin and co-trimoxazole during the years of 1974 and 1975 2

2. Antibacterial spectrum of aztreonam ---------- 20

3. Antibacterial Activity against Beta-Lactamase Producers ------ 21

4. Overall clinical and microbiological responses ---------- 30

5. Clinical adverse reactions multiple-dose aztreonam studies ---------- 31

6. Cumulative percentage of gram negative bacteria to MIC (μg/ml) of aztreonam ---------- 50

7. Overall geometric means and ranges of MICs of aztreonam to gram negative bacteria ---------- 61

8. Sex, age, weight, diagnosis, causative organism, site of infection, bacteriological respense, clinical response of pediatric patients treated with aztreonam ------ 63

9. Dosing interval, Route of administration, Serum level, Duration of treatment in children treated with aztreonam. ---- 66

10. In vitro activity of aztreonam against causative organisms compared to bacteriological response ---------- 68

11. The overall clinical response ---------- 70

12. The overall response for specific infections ---------- 71

13. The comparison of the MIC_{90} of aztreonam to gram negative bacteria ---------- 73

14. Interpretation of reaction on Triple Sugar Iron agar ------- 76

15. First-stage diagnostic table for gram negative bacteria ---- 77

16. Second-stage for mobile Enterobacteriaceae and similar organisms ---------- 78

17. Second-stage table for Shigella, Klebsiella, Pasteurella and Acinitobacillus ---------- 79

18. Second-stage table for Pseudomonas, Chromobacterium, Flavobacterium, and Acinetobacter spp. ---------- 80

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Lists of Figures

page

Figure 1. Structure of naturally occuring monobactams ---------- 12

2. Structures of beta-lactam antibiotics ---------- 12

3. Molecular modification of the monobactam nucleus, 3-aminomonobactamic acid ---------- 13

4. Structure-activity relationships in the aztreonam molecule ---------- 14

5. Beta-lactamase induction ---------- 18

6. Correlation between inhibitory zone diameters and minimal inhibitory concentrations ---------- 24

7. Effect of a 100-mg/Kg ip. dose of cefoperazone and aztreonam on hamster caecal flora ---------- 26

8. The activity of aztreonam against Acinetobacter spp. (22 isolates) ---------- 51

9. The activity of aztreonam against Aeromonas spp. (30 isolates) ---------- 52

10. The activity of aztreonam against E. coli (53 isolates)---- 53

11. The activity of aztreonam against Enterobacter spp. (66 isolates) ---------- 54

12. The activity of aztreonam against Klebsiella spp. (52 isolates) ---------- 55

13. The activity of aztreonam against P. aeruginosa (29 isolates) ---------- 56

14. The activity of aztreonam against Proteus spp.
(19 isolates) ---------- 57

15. The activity of aztreonam against Salmonella spp.
(28 isolates) ---------- 58

16. The activity of aztreonam against Serratia spp.
(20 isolates) ---------- 59

17. The activity of aztreonam against Shigella spp.
(32 isolates) ---------- 60

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University