

ผลการต่อต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบในหลอดทดลอง
และผลการรักษาในผู้ป่วยเด็กที่ติดเชื้ออย่างรุนแรงของยาฟิเพอราซิลิน



นางสาวพัชริน กิตติพิบูลย์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาเภสัชวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


พ.ศ. 2529

ISBN 974-566-715-3

013569

I16645170

In Vitro Antibacterial Activity of Piperacillin against Gram
Negative Bacteria and Its Therapeutic Efficacy in Children
with Severe Bacterial Infection



MISS PUCHRIN KITTIPIBUL

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfilment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy

Department of Pharmacology

Graduate School

Chulalongkorn University

1986



| | |
|-------------------|---|
| หัวข้อวิทยานิพนธ์ | ผลการต่อต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบในหลอดทดลอง และผลการรักษาในผู้ป่วยเด็กที่ติดเชื้ออย่างรุนแรงของยาฟิเพอราซิลิน |
| ชื่อนิสิต | นางสาวพัชริน กิตติพิบูลย์ |
| อาจารย์ที่ปรึกษา | ศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมศักดิ์ โล่ห์เลขา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สดใส อัสววิไล |
| ภาควิชา | เภสัชวิทยา |
| ปีการศึกษา | 2528 |

บทคัดย่อ

ฟิเพอราซิลิน เป็นยาในกลุ่มเพนนิซิลินกึ่งสังเคราะห์ตัวใหม่ที่มีออกฤทธิ์กว้าง จุดประสงค์ของการวิจัย คือการประเมินผลของยาตัวนี้ต่อการต้านเชื้อแกรมลบ จำนวน 406 สายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วยของโรงพยาบาลในกรุงเทพ 3 แห่ง (รามธิบดี, จุฬาลงกรณ์ และ ราชวิถี) และ *Pseudomonas pseudomollis* ที่ได้จากโรงพยาบาลอุบลราชธานี นอกจากนี้ยังทำการประเมินผลการรักษาในผู้ป่วยเด็กที่ติดเชื้ออย่างรุนแรงพร้อมทั้งศึกษาค่าเภสัชจลนศาสตร์ของยาในคนปกติและระดัทยาในผู้ป่วยบางราย

ผลการทดสอบความไวของเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยโดยวิธี disc diffusion method พบว่า 80% ของเชื้อ *Enterobacteriaceae* ส่วนใหญ่ไวต่อฟิเพอราซิลิน ยกเว้นในเชื้อ *E. coli* พบว่ามีความไวเพียง 28% และเชื้อ *Enterobacter spp.* มีความไวเพียง 43% ส่วนเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Pseudomonas pseudomollis* พบว่ามีความไว 81% และ 100% ตามลำดับ ลักษณะการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อจากสามโรงพยาบาลเป็นแบบเดียวกัน และพบการดื้อยาของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ในกลุ่มยาเพนนิซิลินด้วยกัน ระหว่างฟิเพอราซิลินและไทคาร์ซิลินด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (6) เท่ากับ 0.69

จากการทดลองด้วยวิธี Broth dilution technique พบว่าที่ MIC 8 µg/ml สามารถยับยั้งเชื้อ *Enterobacteriaceae* ส่วนใหญ่ได้มากกว่า 80% ยกเว้น *E. coli* และ *Enterobacter spp.* ที่ถูกยับยั้งได้เพียง 48% และ 42% ตามลำดับ ส่วนในเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Pseudomonas pseudomallii* ถูกยับยั้งได้ 61% และ 100% ตามลำดับ พบ Inoculum effect ในเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Pseudomonas pseudomallii* ที่ 10^6 CFU/ml และ 10^7 CFU/ml และพบว่าไม่มีความแตกต่างกันในความไวของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ที่แยกได้จากโรงพยาบาล 3 แห่งในกรุงเทพมหานครถึงแม้จะมีวิธีการใช้ยาปฏิชีวนะที่แตกต่างกันก็ตาม

ในการประเมินผลทางคลินิกนั้น พบว่าผู้ป่วยที่ติดเชื้ออย่างรุนแรง 7 รายที่ได้รับการรักษาด้วยฟิเพอราซอลินตัวเดียว และ 8 รายที่ไ้รับยากลุ่มอื่นรวมด้วย (แอมมิโนไกลโคไซด์, เพนนิซิลิน และ เซฟาโรสปอรินตัวอื่น ๆ) อายุของคนไข้โดยเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 1 เดือนถึง 13 ปี 11 รายใน 14 รายมีโรคอื่น ๆ นอกจากโรคติดเชื้อรวมด้วยได้แก่ acute lymphoblastic leukemia 2 ราย, chronic myelocytic leukemia 1 ราย, aplastic anemia 1 ราย, CNS diseases 4 ราย, bronchopulmonary dysplasia 2 ราย และ obstructive uropathy 1 ราย คนไข้ได้รับยาฟิเพอราซอลินของ 200-300 มก./กก./วัน ทางหลอดเลือดดำทุก 4-6 ชั่วโมง พบการติดเชื้อของระบบต่าง ๆ รวม 7 ระบบ โดยมีบริเวณติดเชื้อ (site of infection) 18 แห่ง ประกอบด้วยระบบทางเดินหายใจ 7 แห่ง, ระบบทางเดินปัสสาวะ 5 แห่ง, ระบบผิวหนังและเนื้อเยื่อ 2 แห่ง, ระบบเลือด 1 แห่ง, ระบบประสาทส่วนกลาง 1 แห่ง, ระบบหูชั้นกลาง 1 แห่ง และระบบทางเดินอาหาร 1 แห่ง ผู้ป่วยทุกรายได้รับการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะอื่นซึ่งไม่ได้ผลแล้วก่อนที่จะได้รับการรักษาด้วยยาฟิเพอราซอลิน 73% ของการติดเชื้อของคนไข้หายเป็นปกติและดีขึ้น ฟิเพอราซอลินสามารถกำจัดเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ 3 ใน 11 สายพันธุ์ และลดจำนวนเชื้อลง ใน 5 ราย และสามารถกำจัดเชื้อ *Pseudomonas pseudomallii* จากการติดเชื้อที่ผิวหนัง และกำจัดเชื้อ *Proteus mirabilis* จากคนไข้ที่เป็น ปุ่มกอกหูอักเสบ (Mastoiditis) ผลทางจุลชีววิทยาปรากฏว่าได้ผลดีถึง 71% พบอาการไข้ (drug fever) ในคนไข้เด็ก 5 ราย (35%) หลังจากได้รับยานี้ 8 วัน และอาการดังกล่าวจะหายไปภายใน 24 ชม. หลังจากหยุดยาฟิเพอราซอลิน

การศึกษาคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของฟิเพอราซิลินในคนปกติ 7 รายโดยให้ยาครั้งเดียวทางหลอดเลือดดำในขนาด 2 และ 4 กรัม ขนาดเฉลี่ยของยาเท่ากับ 40 และ 80 มก./กก. และได้ค่าความเข้มข้นของยาในซีรัมเฉลี่ยหลังจากฉีดยาทันทีเท่ากับ 342.31 ± 37.97 และ 599.38 ± 68.08 ไมโครกรัม/มล. ค่าครึ่งชีวิตเฉลี่ยในช่วงปลายของการได้รับยา ($t_{1/2\beta}$) เท่ากับ 50 และ 51 นาที ค่าปริมาตรการกระจาย (Volume of distribution) ที่จุดอิมิตัว (Steady state) เท่ากับ 11 และ 13 ลิตร/1.73 ม² ค่าเฉลี่ยของยาที่ตรวจพบในปัสสาวะภายใน 24 ชม. เท่ากับ 80 และ 87% ส่วนค่าเฉลี่ยของยาในผู้ป่วยหลังจากได้รับยาประมาณ 10 นาทีในขนาด 200 มก./กก.วัน (ขนาดเฉลี่ยของยาเท่ากับ 45 มก./กก.) เท่ากับ 85.51 ไมโครกรัม/มล.

กล่าวโดยสรุปคือผลทางจุลชีววิทยาและผลทางคลินิกของยาฟิเพอราซิลินในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรียกรัมลบได้ผลเป็นที่น่าพอใจ ประกอบกับผลทางเภสัชจลนศาสตร์ในคนปกติสนับสนุนผลดังกล่าว เราจึงสามารถใช้เหตุผลนี้ในการพิจารณาเลือกใช้ยาฟิเพอราซิลินเพื่อการรักษาผู้ป่วยเด็กที่ติดเชื้ออย่างรุนแรงด้วยขนาดของยา 200-300 มก./กก./วัน ทุก 4-6 ชั่วโมง การใช้ยาฟิเพอราซิลินร่วมกับยาแอมมิโนไกลโคไซด์ควรรักษาด้วยยาดียั้งขึ้น โดยเฉพาะผู้ป่วยที่มีการติดเชื้ออย่างรุนแรงโดยไม่ทราบสาเหตุ

ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

high with 80% and 100% of susceptibility, respectively. The antibiotic resistance of isolated strains from three hospital showed the same pattern. There was the cross resistance between piperacillin and ticarcillin ($\delta = 0.69$) in resistance strain of *Pseudomonas aeruginosa*.

The determination of minimum inhibitory concentration (MICs) and minimum bactericidal concentration (MBCs) of tested strains by broth dilution technique revealed that piperacillin at MIC 8 $\mu\text{g/ml}$ inhibited more than 80% of most of the *Enterobacteriaceae* excepted *E. coli* (48%) and *Enterobacter spp.* (42%). This MIC (8 $\mu\text{g/ml}$), also inhibited 61% and 100% of *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas pseudomallii*. The inoculum effect of 10^6 CFU/ml and 10^7 CFU/ml was found in *Pseudomonas aeruginosa* and 10^7 CFU/ml in *Pseudomonas pseudomallii*. Susceptibility pattern of clinical isolated *Pseudomonas aeruginosa* from 3 hospital centers in Bangkok were the same (by statistic method) independent with the pattern of antimicrobial was found in these hospitals.

In clinical efficacy evaluation, 7 patients with serious bacterial infections were treated with piperacillin alone and 8 patients recieved combination of piperacillin and other drugs (aminoglycosides, other penicillins and cephalosporins). Age of patient varied from one month to 13 years, out of 14 children had underlying compromised factor (acute lymphoblastic leukemia 2, chronic myelocytic leukemia 1, aplastic anemia 1, CNS. diseases 4, bronchopulmonary dysplasia 2, obstructive uropathy 1). Piperacillin 200-300 mg/kg/day was given intravenously every 4-6 hours. There were 18 sites of infections in 7 systems, pulmonary 7, urinary tract

5, skin and soft tissue 2, blood 1, CNS 1, mastoid and middle ear 1, and gastrointestinal 1. All of them failed to respond to other antimicrobial agents prior to piperacillin. Seventy three percents (73%) of these infections improved or cured. Piperacillin eradicated 3 out of 11 strains of *Pseudomonas aeruginosa* and markedly reduced the number of organisms in 5 cases. It eradicated *Pseudomonas pseudomallei* from the soft tissue infection and eradicated *Proteus mirabilis* from a patient with mastoiditis. Microbiological response was good in 71%. Drug fever was observed in 5 children after 8 days of therapy (35%). All of the fever disappeared within 24 hours after the discontinuation of piperacillin.

The pharmacokinetics of piperacillin were studied in 7 normal subjects. Mean concentration of 342.31 ± 37.97 and 599.38 ± 68.08 $\mu\text{g/ml}$ were measured at the end of single intravenously bolus doses of 2 g and 4 g (average 40 and 80 mg/kg/day). The antibiotics had a mean terminal half life of 50 and 51 min after intravenous administrations. The apparent volume of distribution at steady state was 11 and 13 litres/ 1.73 m^2 . Mean urinary recovery in 24 h was 80 and 87%. Mean serum drug level in 3 patients were 85.51 $\mu\text{g/ml}$ at 10 min after the dose of 200 mg/kg/day (average 45 mg/kg/dose)

In conclusion, the favorable results of antibacterial activity and clinical efficacy of piperacillin supported by its pharmacokinetics properties in normal subjects proved to be good reasons for selecting this drug in the treatment of severe bacterial infection in paediatric patients at doses of 200-300 mg/kg/day, every 4-6 hours. Combination of piperacillin and aminoglycoside is preferred in the case of serious bacterial infection of unknown etiology.



ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to extend my appreciation and grateful thanks to Professor Dr. Somsak Lolekha for his keen, interest, kind and meaningful guidance during this research and to Assistant Professor Sodsai Aswavilai for her valuable advice, supervision, comment and being such a kind and helpful consultant in this thesis.

I am very grateful thanks to Associate Professor Prasan Dhumma-upakorn and Assistant Professor Pornpen Premyothin and Associate Professor Vilailuk Imudom for their kind advices, co-operation, and encouragement through out post graduate study.

I am grateful thanks to Professor Dr. Panida Chaiyaneth for her kind and advices in bacteriological experiment and thanks to bacteriologist Mrs. Katsrinee Thipsuwan for her helpful bacteria collection at Ramathibodi hospital.

I am also grateful thanks to Associate Professor Dr. Kavee Pupaibul and bacteriologist Miss Kunchalee lertpocasombat and Miss Suwana bunrumloek and grateful thanks to Assistant Professor Dr. Nareekul Surapat and bacteriologist at Rajvithi hospital.

My special thanks to Miss Dusadee Charernpipop, Miss Suwapee Duancham, Miss Wantha Wasu and Miss Kuanchai Petlum, the staff of microbiology for their willing co-operation and guidance in laboratory technique.

My sincere thanks to all nurses, Residents in Paedriatic wards of Ramathibodi hospital for their co-operation during this study.

Finally, The author thanks the Graduate School, Chulalongkorn University, for granting her financial support to conduct this research project.



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



CONTENTS

| | Page |
|--|------|
| THAI ABSTRACT | iv |
| ENGLISH ABSTRACT | vii |
| ACKNOWLEDGEMENTS | x |
| LIST OF ABBREVIATIONS | xiv |
| LIST OF FIGURES | xv |
| LIST OF TABLES | xvii |
| CHAPTER | |
| I INTRODUCTION | 1 |
| - General Introduction of Piperacillin | 1 |
| - Chemistry | 3 |
| - Antibacterial activity | 4 |
| - Pharmacokinetics | 7 |
| - Clinical Trials | 9 |
| - Side Effects | 13 |
| - Dosage and Administration | 13 |
| - Aim of the Thesis | 13 |
| II MATERIAL AND METHODS | 16 |
| A IN VITRO STUDIES | 16 |
| B IN VIVO STUDIES | 22 |

| | Page |
|-----------------------------|------|
| III RESULTS | 33 |
| Results of Study A | 33 |
| Results of Study B | 56 |
| IV DISCUSSION | 78 |
| Discussion of Study A | 78 |
| Discussion of Study B | 80 |
| Conclusion | 83 |
| REFERENCES | 84 |
| VITA | 100 |



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF ABBREVIATIONS



| | | |
|-----------------|---|------------------|
| °C | = | degree celcius |
| µg | = | microgram |
| mg | = | milligram |
| g | = | gram |
| kg | = | kilogram |
| \bar{q} | = | every |
| h | = | hour |
| µl | = | microlitre |
| m ² | = | square metre |
| ml | = | millilitre |
| L | = | litre |
| No. | = | number |
| I.V. | = | intravenous |
| I.M. | = | intramuscular |
| K ⁺ | = | potassium ion |
| Na ⁺ | = | sodium ion |
| RBC | = | red blood cell |
| WBC | = | white blood cell |

ศูนย์วิทยุทันตกรรม
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



LIST OF FIGURES

| Figure | | Page |
|--------|--|------|
| 1 | Basic chemical structure of piperacillin | 3 |
| 2 | Relative values of MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$) of <i>Acinetobacter spp.</i> | 41 |
| 3 | Relative values of MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$) of <i>E. coli</i> ... | 42 |
| 4 | Relative values of MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$) of <i>Enterobacter spp.</i> | 43 |
| 5 | Relative values of MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$) of <i>Citrobacter spp.</i> | 44 |
| 6 | Relative values of MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$) of <i>Klebsiella spp.</i> | 45 |
| 7 | Relative values of MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$) of <i>Indole positive proteus</i> | 46 |
| 8 | Relative values of MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$) of <i>Proteus mirabilis</i> | 47 |
| 9 | Relative values of MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$) of <i>Ps. aeruginosa</i> | 48 |
| 10 | Relative values of MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$) of <i>Ps. pseudomallii</i> | 49 |
| 11 | Relative values of MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$) of <i>Salmonella spp.</i> | 50 |

| Figure | | Page |
|--------|--|------|
| 12 | Relative values of MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$) of <i>Serratia</i> spp. | 51 |
| 13 | Relative values of MICs ($\mu\text{g/ml}$) of <i>Ps. aeruginosa</i> from three hospital centers | 52 |
| 14 | Relative values of MBCs ($\mu\text{g/ml}$) of <i>Ps. aeruginosa</i> from three hospital centers | 53 |
| 15 | Regression Lines from serum concentration time Profile after two doses of Piperacillin | 58 |



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF TABLES

| Table | | Page |
|-------|--|------|
| 1 | NCCLS (National Committee for clinical Laboratory standards) | 18 |
| 2 | Antimicrobial susceptibility of isolated gram negative bacteria to piperacillin and other antimicrobial drugs | 35 |
| 3 | The susceptibility test of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> from three hospital centers to piperacillin and other antibiotics | 36 |
| 4 | Cumulative percentage of MIC ($\mu\text{g/ml}$) of gram (-) bacteria to piperacillin | 39 |
| 5 | Cumulative percentage of MBC ($\mu\text{g/ml}$) of gram (-) bacteria to piperacillin | 40 |
| 6 | Activity of piperacillin against gram negative organisms in the values of $\text{MIC}_{50,90}$ and $\text{MBC}_{50,90}$ | 54 |
| 7 | The Inoculum effect of two different organisms on MICs ($\mu\text{g/ml}$) and MBCs ($\mu\text{g/ml}$) of piperacillin | 55 |
| 8 | Pharmacokinetic data of piperacillin in normal subject after IV bolus injection | 59 |
| 9 | The plasma values from patients after IV bolus piperacillin administration (200 mg/kg/day) | 61 |

| Table | Page |
|-------|--|
| 10 | Sex, age, weight, diagnosis, causative organism, site of infection, bacteriological response, clinical response of paedriatic patients treated with piperacillin 63 |
| 11 | Dosing interval, Duration, Previous antibiotic and Concomitant antibiotic in children treated with piperacillin 68 |
| 12 | Causative organisms and infection sites in patients treated with piperacillin 71 |
| 13 | In vitro activity of piperacillin against <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> compared to bacteriological response 72 |
| 14 | The overall bacteriological response for 25 causative organisms 73 |
| 15 | The overall clinical responses 74 |
| 16 | Clinical and bacteriological responses according to infection sites of evaluable cases 75 |