



DIPLOMARBEIT / DIPLOMA THESIS

Titel der Diplomarbeit / Title of the Diploma Thesis

„Pharmakokinetik von Ampicillin und Sulbactam in
Hämodialysepatienten“

verfasst von / submitted by

Hüseyin Sanli

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the degree of
Magister der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2016 / Vienna, 2016

Studienkennzahl lt. Studienblatt /
degree programme code as it appears on
the student record sheet:

A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt /
degree programme as it appears on
the student record sheet:

Diplomstudium Pharmazie

Betreut von / Supervisor:

Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Walter Jäger

Mitbetreut von / Co-Supervisor:

DANKSAGUNG

Diese Diplomarbeit wurde am Department für pharmazeutische Chemie, Division für klinische Pharmazie und Diagnostik, an der Fakultät für Lebenswissenschaften der Universität Wien erarbeitet.

An dieser Stelle möchte ich meinen Dank an Herrn Univ. Prof. Mag. Dr. Walter Jäger für die Ermöglichung dieser Arbeit richten.

Bei Frau Mag. Dr. Alexandra Maier-Salamon muss ich mich vor allem für ihre Geduld und natürlich für Ihre Hilfsbereitschaft bei der Einführung und beim Schreiben dieser Diplomarbeit bedanken.

Ich bin dankbar dafür, dass ich das Glück hatte, meine Familie jederzeit hinter mir zu wissen und sie als Beistand zu haben. Ebenfalls möchte ich meine dankenden Worte auch an die restlichen Unterstützerinnen und Unterstützer richten, die es mir ermöglicht haben, diese Arbeit fertigzustellen.

INHALTSVERZEICHNIS

<u>1</u>	<u>PROBLEMSTELLUNG</u>	<u>1</u>
<u>2</u>	<u>EINLEITUNG</u>	<u>2</u>
2.1	DIE CHRONISCHE NIERENINSUFFIZIENZ	2
2.2	DIALYSE	6
2.3	HÄMODIALYSE	7
2.4	DIALYSE-SHUNT	11
2.4.1	HIGH-FLUX UND LOW-FLUX	13
2.5	DIALYSE UND ARZNEISTOFFE	14
2.5.1	AMPICILLIN UND SULBACTAM	14
2.5.2	WIRKWEISE VON AMPICILLIN MIT SULBACTAM	15
2.5.3	SULBACTAM ALS MONOTHERAPIE	20
2.5.4	PHARMAKOKINETIK	21
<u>3</u>	<u>EXPERIMENTELLER TEIL</u>	<u>23</u>
3.1	MATERIALIEN	23
3.1.1	CHEMIKALIEN	23
3.1.2	GERÄTE	23
3.2	PATIENTEN	24
3.3	DURCHFÜHRUNG DER STUDIE	24
3.4	AUFARBEITUNG UND HPLC-ANALYSE DER PROBEN	25
3.5	AUSWERTUNG DER DATEN	29
<u>4</u>	<u>ERGEBNISSE</u>	<u>30</u>
4.1	PHARMAKOKINETIK VON AMPICILLIN WÄHREND EINER HÄMODIALYSE-BEHANDLUNG	30
4.2	PHARMAKOKINETIK VON SULBACTAM WÄHREND EINER HÄMODIALYSE-BEHANDLUNG	35

4.3	PHARMAKOKINETIK VON AMPICILLIN UND SULBACTAM NACH MEHREREN AUF EINANDERFOLGENDEN HÄMODIALYSE-BEHANDLUNGEN	38
<u>5</u>	<u>DISKUSSION</u>	<u>44</u>
<u>6</u>	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	<u>47</u>
<u>7</u>	<u>ABSTRACT</u>	<u>48</u>
<u>8</u>	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	<u>50</u>

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Anzahl der Patienten in Österreich, die jährlich neu an einer Nierenersatztherapie teilnehmen.	2
Abbildung 2: Ursachen für eine Niereninsuffizienz.	3
Abbildung 3: Peritonealdialyse	7
Abbildung 4: Aufbau einer Hämodialyse.	8
Abbildung 5: Diffusion und Konvektion.	10
Abbildung 6: Dialyse-Shunt	12
Abbildung 7: Strukturformel Ampicillin	15
Abbildung 8: Struktur von Sulbactam.	16
Abbildung 9: Gradientenverlauf für die HPLC-Analyse von Unasyn (Ampicillin/Sulbactam).	26
Abbildung 10: Chromatogramm einer Ampicillin-Lösung (5 µg/ml).....	27
Abbildung 11: Chromatogramm einer Sulbactam-Lösung (5 µg/ml).....	27
Abbildung 12: Chromatogramm einer Plasmaprobe nach der Infusion von Unasyn.	28
Abbildung 13: Chromatogramm einer Dialysatprobe 0,5 Stunden nach Beginn der HD.	28
Abbildung 14: Eichkurve für Ampicillin und Sulbactam.....	29
Abbildung 15: Mittelwert der Ampicillin-Konzentration in Plasma und Dialysat während einer Hämodialyse-Behandlung.....	30
Abbildung 16: Zeitlicher Verlauf der Ampicillin-Konzentration im arteriellen Plasma während einer Hämodialyse-Behandlung	32
Abbildung 17: Zeitlicher Verlauf der Ampicillin-Konzentration im venösen Plasma während einer Hämodialyse-Behandlung.....	33
Abbildung 18: Zeitlicher Verlauf der Ampicillin-Konzentration im Dialysat während einer Hämodialyse-Behandlung.....	34
Abbildung 19: Mittelwert der Sulbactam-Konzentration in Plasma und Dialysat während einer Hämodialyse-Behandlung.....	35
Abbildung 20: Zeitlicher Verlauf der Sulbactam-Konzentration im arteriellen Plasma während einer Hämodialyse-Behandlung	36
Abbildung 21: Zeitlicher Verlauf der Sulbactam-Konzentration im Dialysat während einer Hämodialyse-Behandlung.....	37
Abbildung 22: Mittelwert der Ampicillin-Konzentration in Plasma nach mehreren aufeinanderfolgenden Hämodialyse-Behandlungen	38
Abbildung 23: Zeitlicher Verlauf der Ampicillin-Konzentration im Plasma nach mehreren aufeinanderfolgenden Hämodialyse-Behandlungen.....	40

Abbildung 24: Mittelwert der Sulbactam-Konzentration in Plasma nach mehreren aufeinanderfolgenden Hämodialyse-Behandlungen.....	41
Abbildung 25: Zeitlicher Verlauf der Sulbactam-Konzentration im Plasma nach mehreren aufeinanderfolgenden Hämodialyse-Behandlungen.....	42

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Die Stufen einer Niereninsuffizienz	4
Tabelle 2: MHK-Grenzwerte für Ampicillin laut EUCAST	19
Tabelle 3: Von der EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) festgelegten Grenzwerte für die MHK für Ampicillin/Sulbactam	20
Tabelle 4: Pharmakokinetik von Ampicillin/Sulbactam i.v. verabreicht an gesunde mittelalte freiwillige Probanden	21
Tabelle 5: Mittlere Ampicillin-Konzentration ($\mu\text{g/ml}$) in Plasma und Dialysat während einer Hämodialyse-Behandlung	31
Tabelle 6: Ampicillin-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) im arteriellen Plasma während einer Hämodialyse-Behandlung	32
Tabelle 7: Ampicillin-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) im venösen Plasma während einer Hämodialyse-Behandlung	33
Tabelle 8: Ampicillin-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) im Dialysat während einer Hämodialyse-Behandlung	34
Tabelle 9: Mittlere Sulbactam-Konzentration ($\mu\text{g/ml}$) in Plasma und Dialysat während einer Hämodialyse-Behandlung	35
Tabelle 10: Sulbactam-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) im arteriellen Plasma während einer Hämodialyse-Behandlung	36
Tabelle 11: Sulbactam-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) im Dialysat während einer Hämodialyse-Behandlung	38
Tabelle 12: Mittlere Ampicillin-Konzentration($\mu\text{g/ml}$) in Plasma nach mehreren aufeinanderfolgenden Hämodialyse-Behandlungen	39
Tabelle 13: Ampicillin-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) im Plasma nach mehreren aufeinanderfolgenden Hämodialyse Behandlungen	40
Tabelle 14: Mittlere Sulbactam-Konzentration($\mu\text{g/ml}$) in Plasma und Dialysat nach mehreren aufeinanderfolgenden Hämodialyse Behandlungen	42
Tabelle 15: Sulbactam-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) im Plasma nach mehreren aufeinanderfolgenden Hämodialyse-Behandlungen	43

1 PROBLEMSTELLUNG

Um eine erfolgreiche Antibiotikatherapie zu gewährleisten, sollten diese richtig dosiert werden, um unter anderem auch Resistenzen zu vermeiden. Bei Dialysepatienten scheint diese Aufgabe noch schwieriger zu sein, da viele Arzneistoffe durch die Dialyse entfernt werden, diesbezüglich kann man auch vom Auswaschen der Medikamente sprechen. Bei Antibiotika ist die Gefahr groß, dass sich Resistenzen bilden, wenn die minimale Hemmkonzentration (minimum inhibitory concentration, mic) unterschritten wird bzw. muss diese überschritten werden, damit sie wirken können.

Die Kombination Ampicillin mit Sulbactam wird bei diversen bakteriellen Infektionen angewendet. Als Beispiel können hier Infektionen der oberen und unteren Luftwege, einschließlich Entzündungen der Nasennebenhöhlen, des Mittelohrs und des Kehlkopfes, bakterielle Lungenentzündung und vieles mehr erwähnt werden. Sie wird auch prophylaktisch bei kardiovaskulären Operationen eingesetzt und soll das Risiko einer postoperativen Wundinfektion senken.

Ampicillin ist ein β -Lactamantibiotikum und hemmt irreversibel die Transpeptidase bei der Mureinsynthese. Da alle Penicilline durch β -Lactamasen gespalten werden, macht es Sinn, zusätzlich einen β -Lactamase-Hemmer wie Sulbactam einzusetzen. Dies reduziert die Wahrscheinlichkeit einer Resistenz erheblich und macht diese Kombination unentbehrlich.

Anhand dieser Diplomarbeit soll die Pharmakokinetik für Ampicillin und Sulbactam anhand von Plasma und Dialysatproben von sieben Dialysepatienten überprüft werden, um daraus Schlussfolgerungen für die Dosierung ziehen zu können.

2 EINLEITUNG

Trotz des Fortschrittes, den die Medizin im letzten und aktuellen Jahrhundert verzeichnet hat, handelt es sich beim Problem der Niereninsuffizienz noch immer um eine aktuelle Thematik. In Österreich war von 2005 bis 2014 ein Gesamtzuwachs von ungefähr 1200 Personen pro Jahr zu verzeichnen, die an einer Nierenersatztherapie teilnahmen. (siehe Abbildung 1) Die Problematik zeichnet sich dadurch aus, dass Infektionen bei Dialysepatienten die zweithäufigste Todesursache darstellen. Aus diesem Grund ist es besonders wichtig, die Antibiotikatherapie den besonderen Umständen der Dialyse anzupassen

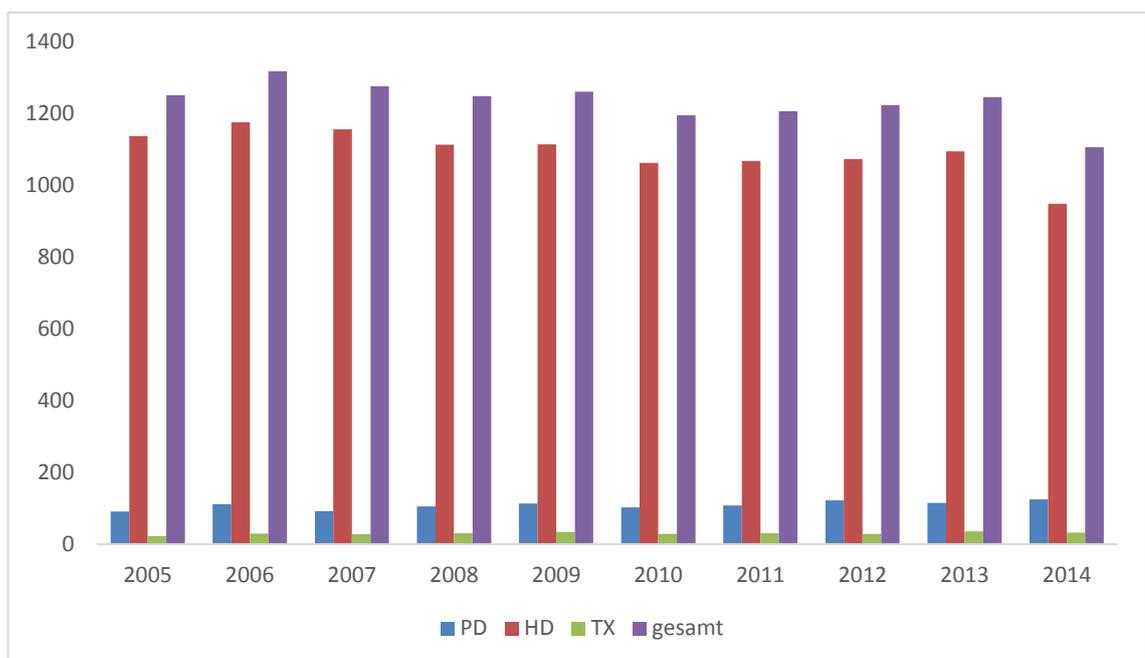


Abbildung 1: Anzahl der Patienten in Österreich, die jährlich neu an einer Nierenersatztherapie teilnehmen. (1)

2.1 Die chronische Niereninsuffizienz

Bei einer chronischen Nierenerkrankung handelt es sich um eine progrediente Schädigung der Niere mit Einschränkung sämtlicher Funktionen, die über einen längeren Zeitraum besteht. Nach den aktuellen Richtlinien wird die chronische

Niereninsuffizienz als das letzte Stadium einer Nierenerkrankung angesehen, die im engeren Sinn als ESRD (End Stage Renal Disease) bezeichnet wird. (2,3,4)

Im Durchschnitt leiden in Österreich ungefähr 400 000 Personen an chronischer Niereninsuffizienz. Als Ursache sind verschiedene Erkrankungen anzuführen, wobei Diabetes mellitus mit Abstand die häufigste Ursache darstellt, gefolgt von arterieller Hypertonie. (siehe Abbildung 2) (5)

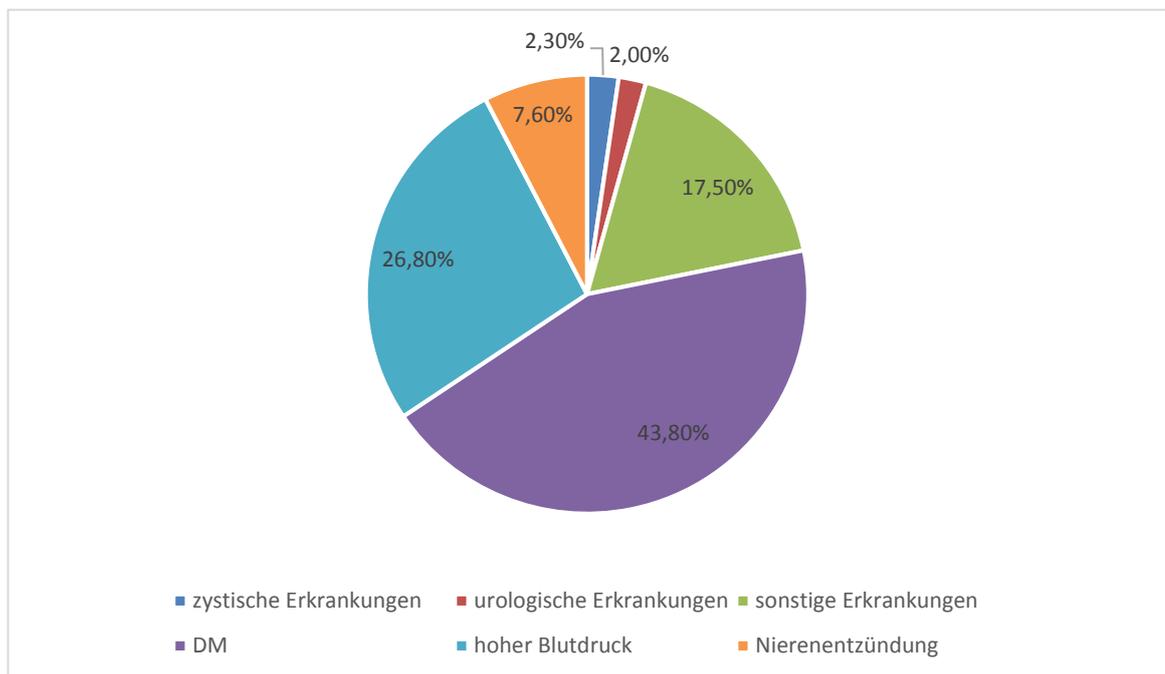


Abbildung 2: Ursachen für eine Niereninsuffizienz. (6)

Um den Grad der Niereninsuffizienz zu bestimmen, wird die glomeruläre Filtrationsrate, kurz GFR, für die Berechnung herangezogen, die man seit 1979 mit der Cockcroft-Gault-Formel (7) kalkulieren kann. :

$$\text{CrCl (ml/min)} = \frac{(140 - \text{Alter}) * \text{Gewicht [in kg]}}{72 * \text{SCr}} \quad (* 0,85 \text{ bei Frauen})$$

Daraus geht hervor, dass eine gesunde Person eine GFR für Kreatinin von 95 – 110 ml pro Minute aufweisen sollte. (siehe Tabelle 1)

Tabelle 1: Die Stufen einer chronischen Niereninsuffizienz. (8)

Stadium	Beschreibung	GFR (ml/min/1,73m ²)
1	Schädigung mit normaler oder erhöhter GFR	≥90
2	Schädigung mit milder Einschränkung der GFR	60-89
3	Moderate Einschränkung der GFR	30-59
4	Schwere Einschränkung der GFR	15-29
5	Nierenversagen	<15 oder Dialyse

Laut den Richtlinien der K/DOQI (The National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative) wird eine chronische Niereninsuffizienz folgendermaßen definiert. Die Beeinträchtigung der Nieren sollte länger als drei Monate andauern und durch histologische Veränderungen dokumentiert worden sein. Zusätzlich muss der Schaden durch Nachweis der Proteinurie/Albuminurie, Hämaturie bestätigt und durch eine Echographie diagnostiziert worden sein. Alternativ dazu muss sich die GFR über einen längeren Zeitraum (>3 Monaten) unter 60 ml/min/1,73 m² befinden, wobei Schädigungen an den Nieren hier nicht unbedingt nachweisbar sein müssen. (4)

Die K/DOQI gibt auch vor, die Patienten schon im 4. Stadium auf die Nierenersatztherapie vorzubereiten, um eine bessere Compliance zu erreichen. (9) Damit die Nierenersatztherapie so lange wie möglich hinausgezögert werden kann,

empfehlen Nephrologen mit dem Auftreten einer Proteinurie schon bei einer GFR von unter $60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ die Therapie mitzugestalten.

Die Gesellschaft für Nephrologie in Kanada empfiehlt mindestens 12 Monate vor Beginn einer Nierenersatztherapie, mit der Behandlung bei einem Nephrologen zu beginnen. Tatsächlich waren im Jahre 2000 aber nur 40 % aller Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz weniger als ein halbes Jahr in Therapie beim Nephrologen, bevor die Nierenersatztherapie gestartet werden musste. Oft betrug diese Zeitspanne nur einen Monat, wodurch die Progressionsverzögerung der Nierenerkrankung nicht mehr durchgeführt werden kann, denn die chronische Niereninsuffizienz ist laut mehreren Studien ab einer GFR von unter $30 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ (Stadium 4) üblich progredient. Je nach Grunderkrankung schwankt die Zeitdauer bis zur terminalen Niereninsuffizienz sehr stark.

Bei einer GFR von unter $15 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ sollte definitionsgemäß mit der Dialysebehandlung gestartet werden, wenn der Stoffwechsel entgleist, der Elektrolyt- und der Säure-Basen-Haushalt nicht mehr mit üblichen Mitteln therapiert werden kann.

Für die Behandlung der terminalen Niereninsuffizienz stehen unterschiedliche Verfahren zum Filtern von harnpflichtigen Substanzen zur Verfügung.

- Blutwäsche (Hämodialyse)
- Bauchwäsche (Peritonealdialyse)
- Nierentransplantation

Die Anzahl der Spendernieren sind für Dialysepatienten nicht ausreichend und daher müssen sie mit einer langen Wartezeit für die Nierentransplantation rechnen. Falls ein Lebendspender in der Familie zu finden ist, kann eine Operation schon vor dem 5. Stadium geplant werden.

Obwohl die Dialyse bei der terminalen Niereninsuffizienz fast täglich durchgeführt wird, sind Auswirkungen auf den Körper zu spüren und zu sehen. Die Haut färbt sich gelb und Patienten leiden unter Juckreiz, da sich harnpflichtige Substanzen in die Haut einlagern. Außerdem können Patienten während der Dialyse auch unter anderen Problemen leiden, wie etwa

- die starke Einschränkung der täglichen Trinkmenge
- Blutdruckschwankungen
- Muskelkrämpfe
- Herzrhythmusstörungen

Die Dialyse ist leider noch immer kein Ersatz für das Funktionieren der Nieren, andererseits können Patienten im letzten Stadium ihrer Erkrankung ohne Dialyse nicht überleben. (7)

2.2 Dialyse

Die Dialyse stellt ein Blutreinigungsverfahren dar. Harnpflichtige Substanzen werden mit Hilfe einer Membran gefiltert und entfernt. Zum einen kann dies mit der Hämodialyse, also extrakorporal, das heißt außerhalb des Körpers, durchgeführt werden. Zum anderen mit der Peritonealdialyse, welche intrakorporal erfolgt. Hier dient das Peritonium als Membran.

Bei der Peritonealdialyse wird frische Waschlösung ins Peritoneum gelassen und nach Aufnahme der harnpflichtigen Substanzen wird die verbrauchte Waschlösung wieder abgelassen. Hierfür wird ein Katheter in die Bauchhöhle eingeführt. (siehe Abbildung 3) Dies begünstigt aber die Entstehung von Infekten. (10,11)

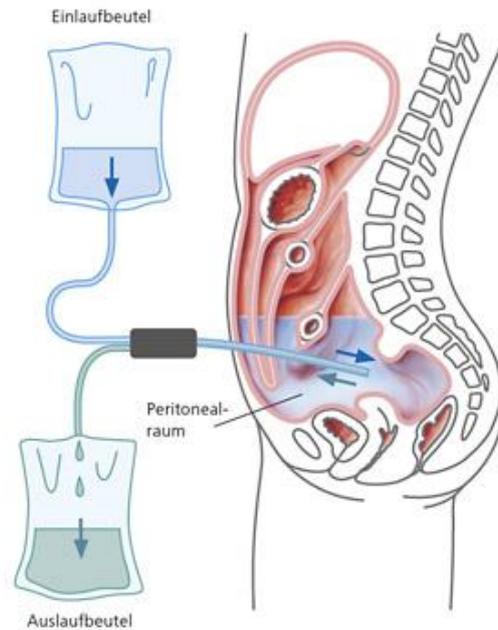


Abbildung 3: Peritonealdialyse (12)

Da aber die Nieren kontinuierlich arbeiten, sind bei der künstlichen Niere Schwankungen von harnpflichtigen Substanzen zu beobachten. Um diese noch im tolerierbaren Bereich zu halten, muss vom Nephrologen ein entsprechender Zeitplan erstellt werden, um toxische Konzentrationsschwankungen zu verhindern bzw. um die Compliance so zu gestalten, dass Blutreinigungsdauer und behandlungsfreie Intervalle vom Patienten angenommen werden. (13)

2.3 Hämodialyse

Die Hämodialyse stellt das häufigste Verfahren der Dialyse dar. (14) Bei dieser Methode liegen zwei Flüssigkeiten vor, die durch eine Membran voneinander getrennt sind: das durch die harnpflichtigen Substanzen verunreinigte Blut und die stoffaufnehmende Waschflüssigkeit. Durch die Membran sind nur bestimmte Stoffe unter einer gewissen Größe durchlässig. Sie dient hier als Filter. Nicht nur die

gelösten Stoffe können hiermit entfernt werden, sondern auch die Lösungsmittelmenge (Wasser) kann reguliert werden (siehe Abbildung 4).

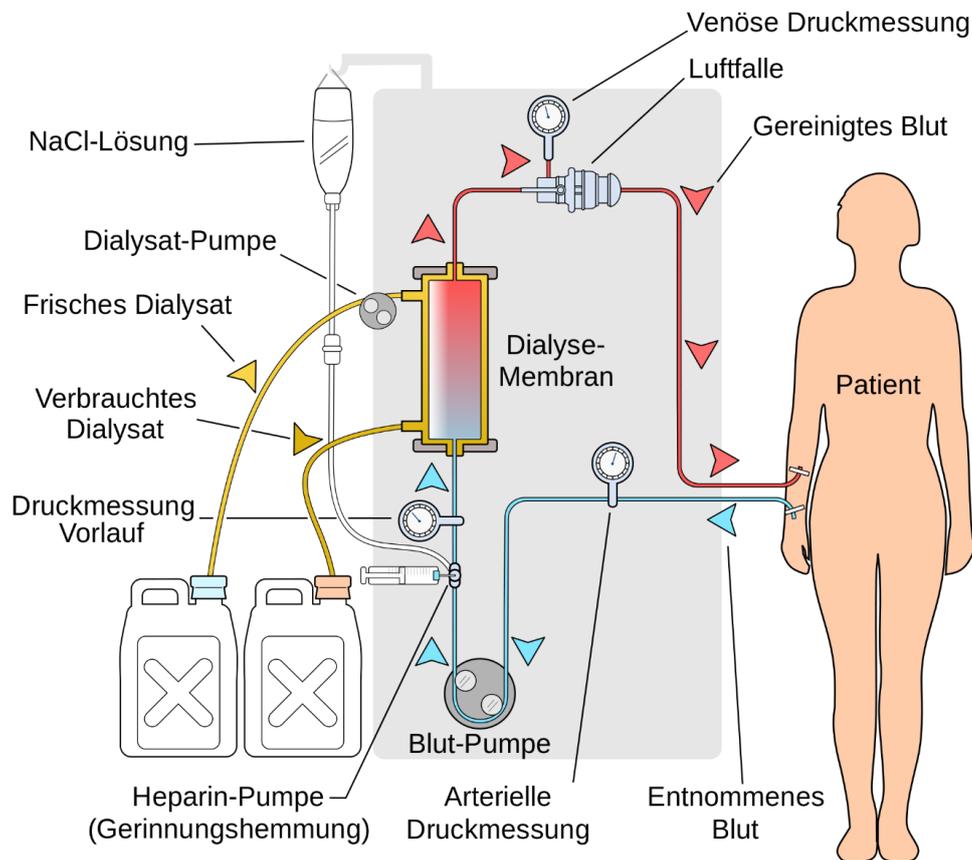


Abbildung 4: Aufbau einer Hämodialyse. (15)

Die Kräfte, die dabei aktiv werden, sind

- ein Konzentrationsgefälle,
- der hydrostatische Druck (Blut)
- und der osmotische Druck, den die gelösten Stoffe ausüben.

Alle drei Kräfte können gemeinsam oder alleine wirken. Die damit entstehenden Stofftransportmechanismen können zusätzlich mit der Membraneigenschaft, die Selektivität und die Transportgeschwindigkeit der zu entfernenden Substanzen regulieren. Die harnpflichtigen Substanzen werden extrakorporal mit Hilfe der

Dialysemembran entfernt. Stoffwechselendprodukte oder Toxine, die noch membrangängig sind, werden von der Waschflüssigkeit (Dialysat) aufgenommen. (16)

Diffusion:

So wie auf zellulärer Ebene, wenn keine speziellen Transporter vorzufinden sind, stellt auch die Dialyse einen Konzentrationsausgleich dar. Die Teilchen wandern vom Ort der höheren Konzentration zum Ort der niederen Konzentration. (siehe Abbildung 5) Diese Art von Transport nennt man Molekulardiffusion. In diesem Fall wandern die hochkonzentrierten harnpflichtigen Substanzen in die Waschflüssigkeit. Die Wanderungsgeschwindigkeit der Teilchen hängt von der Konzentration und der Molekülgröße der wandernden Stoffe ab. Durch die poröse Membran diffundieren nur Teilchen unter einer bestimmten Größe. Dieser Vorgang wird als Permeation bezeichnet, die semipermeable Membran lässt nur einen Teil der gelösten Substanzen durch.

Ultrafiltration:

Die bis jetzt beschriebenen Vorgänge betreffen nur den Transport von gelösten Substanzen. Das ist bei der Diffusion und der Membranpermeation der Fall. Bei der Hämodialyse wird zusätzlich durch die hydrostatische Druckdifferenz eine Ultrafiltration des Lösungsmittels erreicht, wobei die gelösten Teilchen je nach Durchlässigkeit der Membran mit dem Lösungsmittel mitwandern, was als Konvektion bezeichnet wird. (siehe Abbildung 5) (13)

Bei der Diffusion findet ein Konzentrationsausgleich statt. Teilchen wandern vom Ort der höheren zum Ort der niederen Konzentration. Bei der Konvektion

wandern die gelösten Stoffe mit dem Lösungsmittel mit. Dieser Vorgang entsteht aufgrund der Druckdifferenz bei der Ultrafiltration (17)

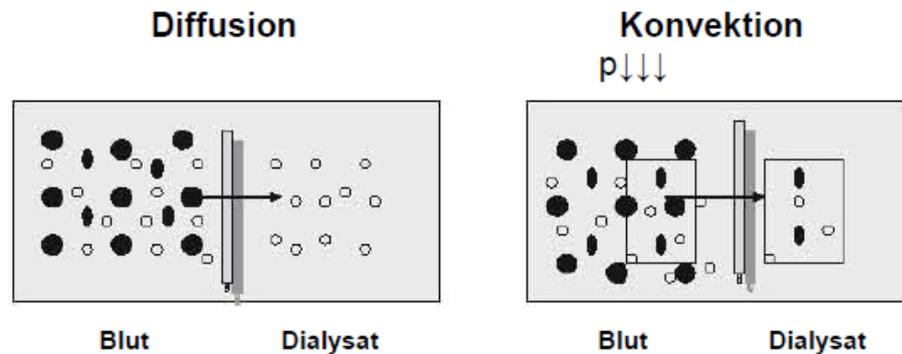


Abbildung 5: Diffusion und Konvektion. (17)

Osmose:

Wenn nur das Lösungsmittel aufgrund der Größe der Poren durchgelassen wird und die gelösten Substanzen zurückgehalten werden, entsteht eine hydrostatische Druckdifferenz (osmotischer Druck). Dadurch bewegt sich das Lösungsmittel (Wasser) von der verdünnteren in die konzentrierte Lösung, was wiederum zu einem Konzentrationsausgleich führt.

Bisher erfolgte also die Nennung der nachgestellten Vorgänge:

- Gelöste Teilchen wandern entsprechend ihrem Konzentrationsgradienten (Diffusion).
- Gelöste Teilchen wandern bei der Ultrafiltration von Wasser mit. (Konvektion)
- Wasser verschiebt sich durch den osmotischen Gradienten.

Durch Änderung dieser Faktoren kann die Dialyse den Anforderungen entsprechend verändert werden. Als Beispiel kann hier die Zusammensetzung des Dialysates genannt werden. Um dem Körper einen erhöhten Elektrolyt- und Flüssigkeitsverlust zu ersparen, können Elektrolyte wie z.B. Natrium, Kalium,

Magnesium, Calcium bzw. Substanzen, welche die Osmolarität betreffen, hinzugefügt werden. Auch erhöhte Konzentrationen im Blut können dadurch reguliert werden. Eine Hyperkaliämie im Blut kann durch eine niedere Konzentration dieser Stoffe im Dialysat korrigiert werden bzw. bei einer Hypocalämie vice versa. Indem ein Überdruck auf Blutseite bzw. Unterdruck auf der Dialysatseite ausgeübt wird, kann der durch die Eiweißkörper ausgelöster osmotischer Druck ausgeglichen werden. So kann auch überschüssiges Wasser aus dem Blut durch Druck auf der Blutseite oder Osmose und Sogwirkung auf Dialysatseite entfernt werden.(13)

2.4 Dialyse-Shunt

Nach dem Prinzip der Hämodialyse muss dem Körper immer wieder Blut entnommen, gereinigt und dies dem Körper wieder zurückgeführt werden. Um die Blutgefäße durch die Prozedur nicht zu schädigen, wird ein Dialyse-Shunt angelegt.(18) (siehe Abbildung 6)

Dieser verbindet zwei Gefäße, in diesem Fall eine Schlagader und einen Vene miteinander. Da ein Druckunterschied zwischen Vene und Schlagader besteht, muss die Vene sich der Situation anpassen. In der Vene ist der Druck im Vergleich zur Schlagader niedriger. Wird nun ein Shunt dazwischen angelegt, weitet sich die Vene aus und die Venenwand verdickt sich. Dieser Prozess dauert einige Wochen, bis sich die Vene soweit angepasst hat, dass sie für die Dialyse immer wieder angestochen werden kann. Wenn keine brauchbare Vene gefunden wird, muss eine Prothese (ein dünner Kunststoffschlauch), welche unter die Haut eingebracht wird, mit einer Schlagader verbunden werden. In diesem Fall wird die Prothese angestochen. Die Shunt-Operation wird meist mit einer lokalen Betäubung durchgeführt. Dabei werden

über einen Hautschnitt Vene und Schlagader mittels einer Naht miteinander verbunden. Anschließend wird die Haut wieder zugenäht.

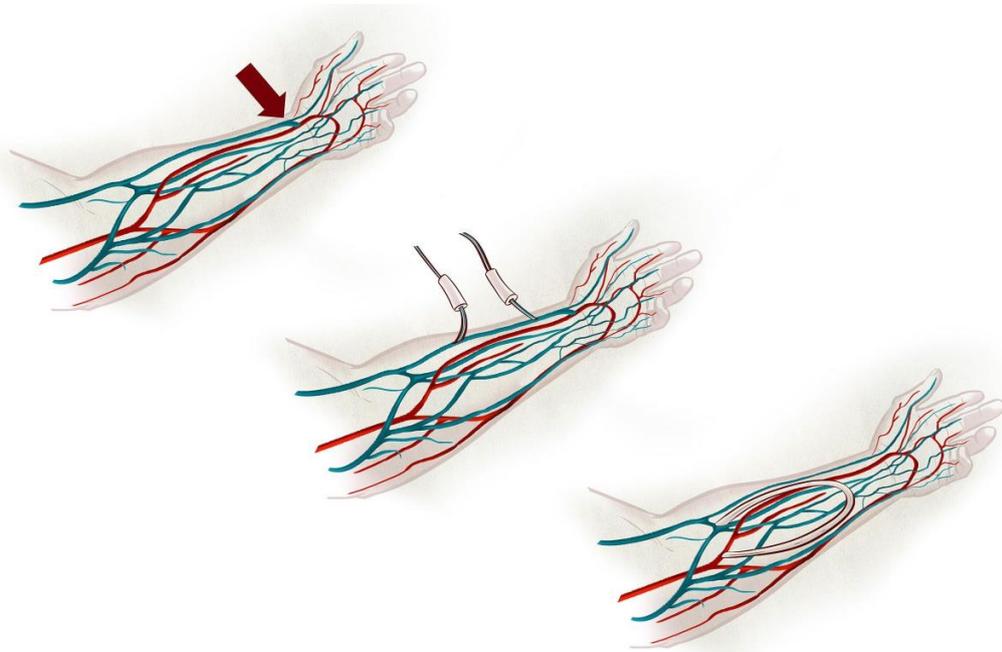


Abbildung 6: Dialyse-Shunt (19)

Die Shuntanlage ist an mehreren Stellen durchführbar. Zumeist wird der Shunt bei Rechtshändern links bzw. vice versa bei Linkshändern angelegt. So kann der weniger gebrauchte Arm für die Dialyse verwendet werden. Einer der wenigen Komplikationen, die beim Legen eines Dialyse-Shunts entstehen können, sind Blutergüsse oder Infektionen. Es kann auch sein, dass der Shunt sich durch ein Blutgerinnsel verschließt. So ein Fall kann kurz nach der Operation auftreten, aber auch viel später. In solchen Fällen ist es zumeist möglich den Shunt wieder zu öffnen. (19)

2.4.1 High-Flux und Low-Flux

Nach dem Prinzip der Hämodialyse werden gelöste Teilchen durch eine semipermeable Membran durch Diffusion und Ultrafiltration entfernt. Die eingesetzten Membranen werden in zwei Gruppen eingeteilt. Nämlich in low-flux, bei der Membranen eingesetzt werden, die eine geringe Permeabilität für Wasser haben und high-flux, die durch „nicht-zellulose Membranen“ eine erhöhte Permeabilität für mittelgroße Moleküle zwischen 10000 und 15000 Da aufweisen. Dies beinhaltet viele von den inflammatorischen Proteinen, β_2 Microglobulin und Lipoproteine.

Einige Studien haben gezeigt, dass high-flux-Membranen die „Mittelmoleküle“, wie Lipide oder Homocystein erhöht entfernen, während andere Studien diesen Effekt eher für gering halten. Wegen unzureichender Entfernung von Urämietoxine, zeigen 90 % der Dialysepatienten nach fünf Jahren Symptome einer Amyloidose, die durch β_2 Microglobulin verursacht werden. Der Unterschied zwischen den zwei Membranen war, wenn man die BUN-Werte betrachtet hat, nur gering. Bei der low-flux-Methode hatte man vor der Dialyse einen BUN-Wert von $93,90 \pm 20,51$ mg/dl, der sich nach der Dialyse auf $36,87 \pm 20,51$ mg/dl reduzierte. Bei der high-flux-Methode sank der Wert von $95,32 \pm 19,69$ mg/dl auf $32,35 \pm 8,83$ mg/dl. Die Werte unterschieden sich nicht signifikant.

Der KT/V-Parameter, der ebenfalls die Effektivität einer Dialyse widerspiegelt, ergab bei der high-flux-Dialyse einen Wert von 1,2 – 1,4 (im Mittel $1,27 \pm 0,28$) und bei der low-flux-Dialyse einen Wert von 1 – 1,2 (im Mittel $1,1 \pm 0,32$), was statistisch gesehen für die high-flux-Dialyse spricht. (20)

2.5 Dialyse und Arzneistoffe

Die Dialysierbarkeit einer Substanz wird mittels der Dialysance wiedergegeben. Diese gibt im Grunde wie die Clearance jenes Blutvolumen wieder, das pro Zeiteinheit (ml/min) von einem Stoff gereinigt worden ist. Nur mit dem Unterschied, dass in diesem Fall ein Gerät diese Aufgabe übernimmt. Die Moleküleigenschaften, die dabei für eine gute Dialysierbarkeit sorgen, sind eine hohe Wasserlöslichkeit und eine geringe Molekülgröße. Pharmakokinetische Parameter wie ein geringes Verteilungsvolumen und eine geringe Eisweißbindung müssen ebenfalls für eine gute dialysierbare Substanz gegeben sein. (21)

2.5.1 Ampicillin und Sulbactam

Die Kombination Ampicillin/Sulbactam wurde in den USA entwickelt und 1987 vermarktet. Seit damals wurden etliche Studien durchgeführt, um die Effektivität bei diversen Infektionen zu beweisen. (22) Um die durch β -Lactamase entstehenden Resistenzen bei β -Lactam-Antibiotika zu unterbinden, wurden β -Lactamaseinhibitoren für die Co-Applikation entwickelt. Diese neue Kombination sorgte für eine in vitro Aktivität gegen ein breites Spektrum der Gram-positiven und Gram-negativen Erreger, sowie aerobe und anaerobe Organismen. (23) So wird diese Kombination für die Behandlung von Infektionen der oberen und unteren Atemwege, sowie Sinusitis, Harnwegsinfektionen (Pyelonephritis), Intraabdominelle Infektionen, Peritonitis, Cholecystitis, Endometritis, bakterielle Entzündungen des kleinen Beckens, bakterielle Sepsis, Haut-, Weichteil-, Knochen- und Gelenksinfektionen, Gonokokkeninfektion (alternative Therapie) und prophylaktisch gegen postoperative Wundinfekte verwendet. Ampicillin und Sulbactam sind unwirksam gegen *Pseudomonas aeruginosa*. (22,24)

2.5.2 Wirkweise von Ampicillin mit Sulbactam

Wie alle Penicilline verhindert Ampicillin die bakterielle Zellwandsynthese durch Bindung an PBP (Penicillin Binding Proteins-PBP), die verantwortlich ist für die Zellwandsynthese. (siehe Abbildung 7) Die Mureinsynthese findet nur in teilungsaktiven Keimen statt. Murein verleiht dem Bakterium Stabilität und ist auch für die Form der Bakterien verantwortlich. Chemisch gesehen ist Murein ein Peptidoglykan, die als lineare Polypeptidkette bei der Mureinsynthese querverknüpft werden muss. Dies wird von der Transpeptidase katalysiert, die ein endständiges D-Alanin-D-Alanin-Dipeptid mit einem Glycin quervernetzt. Der β -Lactamring ist ein Struktur analog von diesem Dipeptid und wird von der Transpeptidase gebunden. Die Transpeptidase wird auch als Penicillin-bindendes Proteine (PBP) bezeichnet, weil diese eine hohe Affinität zu Penicillinen hat. Der β -Lactam-Ring ist durch seine Struktur instabil und geht dadurch eine kovalente Bindung mit der Transpeptidasen ein. Diese Reaktion ist irreversibel und ist für die bakterizide Wirkung verantwortlich.

25)

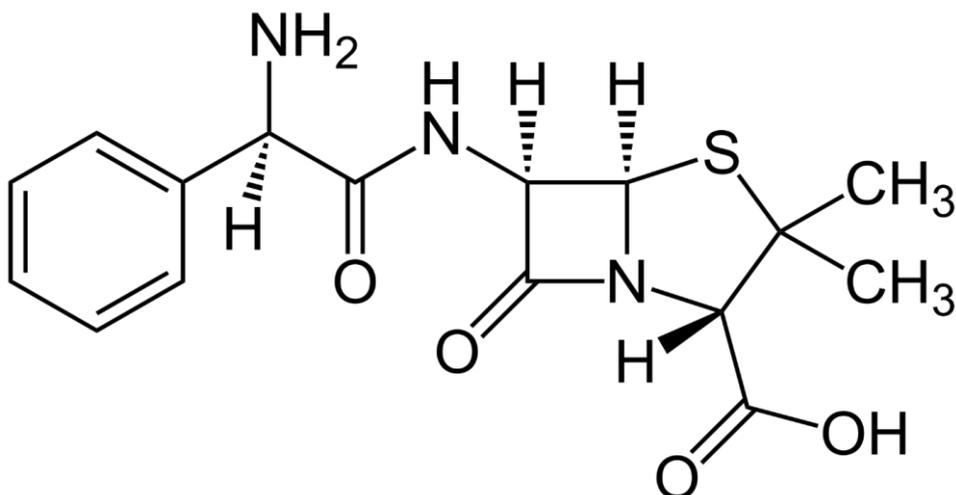


Abbildung 7: Strukturformel Ampicillin

Sulbactam ein β -Lactamasehemmer stärkt die Wirkung von Ampicillin durch Hemmung der Hydrolyse durch β -Lactamasen. Der genauere Ablauf ist kompliziert, aber man weiß, dass Sulbactam von der β -Lactamase als das normale Substrat erkannt wird und ein Acyl-Enzym bildet, indem es mit aktiven Serin-Hydroxy-Gruppe reagiert. Durch weitere Reaktionen wird das Enzym irreversibel gehemmt. (22)

Chemisch gesehen ist Sulbactam ein Penicillinsäuresulfon und zeigt eine Teilaktivität gegen Klasse-A-Enzyme. (siehe Abbildung 8) (26)

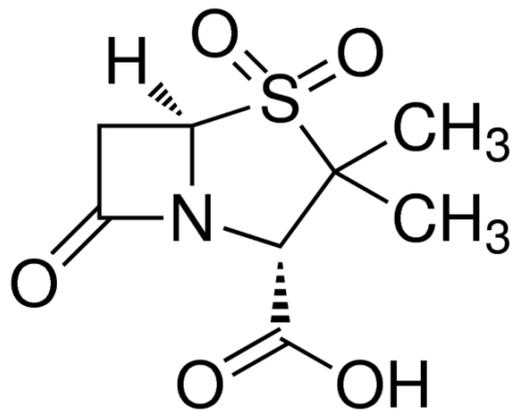


Abbildung 8: Struktur von Sulbactam.

β -Lactaminhibitoren sind eigentlich selbst β -Lactamantibiotika ohne bzw. mit geringer antibakterieller Wirkung. Sie steigern das Spektrum in Kombination mit β -Lactamantibiotika auch für β -Lactamase produzierenden Keime. Die drei kommerziell verfügbaren β -Lactamaseinhibitoren sind Sulbactam, Clavulansäure und Tacobactam. Die molekulare Einteilung der Enzyme wurde aufgrund der Aminosäuresequenz durchgeführt und teilt β -Lactamase in Enzyme der Klasse A, C und D, die Serin für die Hydrolyse von β -Lactam benötigen und Metalloenzyme der Klasse B, die zweiwertiges Zink benötigen. (27) Zusätzlich können β -Lactamasen anhand ihrer Funktionalität eingeteilt werden. Diese Klassifizierung beinhaltet drei

Hauptgruppen, die durch ihr Substrat und die Hemmbarkeit durch β -Lactamase-Inhibitoren eingeteilt werden. Die erste Gruppe ist befähigt Cephalosporine hauptsächlich zu hydrolisieren und kann durch Clavulansäure nicht genügend gehemmt werden. Die zweite Gruppe kann unterschiedlich stark Penicilline, Cephalosporine aufspalten. Aber Clavulansäure ist befähigt diese zu hemmen. Gruppe Drei dreht sich um Penicilline, Cephalosporine und Carbapeneme. Diese Gruppe kann nicht durch Beta-Lactamase-Inhibitoren zerstört werden.

Penicilline werden hauptsächlich durch β -Lactamasen der Gruppe-A-Enzyme hydrolysiert und sind extrachromosomal auf den Plasmiden lokalisiert. Cephalosporine werden durch Gruppe-C-Enzyme zunichte gemacht und sind vor allem auf den Chromosomen lokalisiert. Bei dieser Gruppe ist die Produktion regulierbar.

Die Herstellung und Abgabe der Beta-Lactamasen unterscheidet sich stark zwischen grampositiven und gramnegativen Bakterien. Grampositive Bakterien produzieren eine hohe Menge an β -Lactamasen und schleusen diese noch zellgebunden aus. Durch diesen Prozess ist die ganze Population in Sicherheit. Je nach Anzahl der Bakterien steigt auch die Produktionsmenge an. Mit einer In-Vitro-Untersuchung kann der Inokulum-Effekt gezeigt werden. Die MHK von Penicillin steigt mit der Bakterienpopulation an. Wenn die Staphylococcus-aureus-Population (Penicillinase-bildend) von 10^4 auf 10^6 /ml ansteigt, dann steigt die MHK aufs Zehnfache an.

Die Beta-Lactamasen bei gramnegativen Bakterien bleiben im periplasmatischen Raum und werden nur in geringen Mengen freigesetzt. Aus diesem Grund wird nur eine kleine Menge für die Resistenzbildung benötigt. Ein zunehmendes Problem stellen die durch minimale Mutationen entstandenen ESBL

(Extended-Spectrum-Beta-Lactamasen) dar. Diese sorgen für Resistenzprobleme in Krankenhäusern. Es wird auch unterschieden, wo die genetische Information für die β -Lactamasen lokalisiert wird. Demnach gibt es chromosomale β -Lactamasen, die nahezu bei allen Enterobakterien vorkommen. Ausgenommen sind Salmonella. Man kennt ungefähr 80 plasmidisch codierte β -Lactamasen. Diese können auch über die Art- und Gattungsgrenze hinweg von Bakterien untereinander ausgetauscht werden. Durch den häufigen Einsatz von β -Lactam-Antibiotika und den dadurch entstandenen Selektionsdruck kommt es zu Mutationen, die häufig bei β -Lactamasen (Klasse A) wie TEM, SHV oder OXA zu beobachten sind. Diese minimale Veränderung sorgte für das Entstehen von ESBL. (26,28)

Wie schon erwähnt, zeigt Sulbactam eine Aktivität gegen Klasse-A-Enzyme. Aber verglichen mit Clavulansäure und Tazobactam, ist Sulbactam weniger potent gegen Klasse-A-Enzyme, speziell gegen SHV-1. Gegen β -Lactamasen der Klasse C ist Sulbactam potenter als Clavulansäure. Obwohl es wiederum gegen Klasse-D-Enzyme weniger potent ist als Klasse-A- β -Lactamasen. Ähnlich schaut es mit OXA-Type-Enzymen und TEM-1-Enzymen aus.

Im Allgemeinen kann man sagen, dass β -Lactamase-Inhibitoren eine vernachlässigbare antibakterielle Aktivität haben, aber in Kombination mit β -Lactam-Antibiotika diese stärken. Eine Ausnahme stellt hier Sulbactam dar, das eine intrinsische Aktivität gegen *Acinetobacter* spp. und *Bacteroides fragilis* aufweist. Verantwortlich für diese Aktivität ist eine hohe Affinität gegen PBP. (26)

Tabelle 2: MHK-Grenzwerte für Ampicillin laut EUCAST (29)

Mikroorganismus	Empfindlich \leq	Resistent \geq
Enterobacteriaceae	≤ 8 mg/l	≥ 8 mg/l
Enterococcus spp. ¹	≤ 4 mg/l	≥ 8 mg/l
Haemophilus influenzae	≤ 1 mg/l	≥ 1 mg/l
Staphylococcus spp. ²	$\leq 0,12$ mg/l	$\geq 0,12$ mg/l
Streptococcus A, B, C G	$\leq 0,25$ mg/l	$\geq 0,25$ mg/l
Streptococcus pneumoniae	$\leq 0,5$ mg/l	≥ 2 mg/l
Andere Streptokokken	$\leq 0,5$ mg/l	≥ 2 mg/l
Neisseria meningitidis	$\leq 0,12$ mg/l	≥ 1 mg/l
Gram-negative Anaerobier	$\leq 0,5$ mg/l	≥ 2 mg/l
Gram-positive Anaerobier	≤ 4 mg/l	≥ 8 mg/l
Nicht Spezies-spezifische Grenzwerte	≤ 2 mg/l	≥ 8 mg/l
Listeria monocytogenes	≤ 1 mg/l	≥ 1 mg/l

Tabelle 3: Von der EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) festgelegten Grenzwerte für die MHK für Ampicillin/Sulbactam. (30)

Mikroorganismus	empfindlich	resistent
Enterobacteriaceae	-	>8 mg/l
Enterococcus spp.	≤4 mg/l	>8 mg/l
Haemophilus influenzae ¹	≤1 mg/l	>1 mg/l
Moraxella catarrhalis ¹²	≤1 mg/l	>1 mg/l
Staphylococcus spp	≤0.12	>0.12
Streptococcus A, B, C G	≤0.25	>0.25
Streptococcus pneumoniae	≤0.06	>2
Gram-negative Anaerobier	≤4 mg/l	>8 mg/l
Gram-positive Anaerobier	≤4 mg/l	>8 mg/l
Nicht Spezies-spezifische Grenzwerte*	≤2 mg/l	>8 mg/l

¹ Für Empfindlichkeitstests wird die Sulbactam-Konzentration auf 4 mg/l festgelegt.

2.5.3 Sulbactam als Monotherapie

Die Effizienz von Sulbactam als Monotherapie bzw. in Kombination mit Ampicillin wurde anhand der Studie (Efficacy of sulbactam alone und in combination with ampicillin in nosocomial infections caused by multiresistant *Acinetobacter baumannii*) untersucht. (31) Hier wurde überprüft, ob Sulbactam auch als Monotherapie bei nosokomialen Infekten mit *A. baumannii* eingesetzt werden kann, wenn eine Resistenz gegenüber Imipenem besteht. Daraus ging hervor, dass Sulbactam als Monotherapie zu wenig untersucht worden ist und eventuell bei

anderen nicht lebensbedrohlichen Infekten eingesetzt werden könnte. Sulbactam hat gegen *A. baumannii* eine bakterio-statische Wirkung und die Kombination mit Ampicillin hatte in diesem Fall keine synergistische Wirkung. Dies konnte auch anhand einer anderen Studie aufgezeigt werden, bei der die MICs von *A. baumannii* bei Monotherapie bzw. bei einer Kombination mit β -Lactam-Antibiotika kaum einen Unterschied macht. (32)

2.5.4 Pharmakokinetik

Ampicillin/Sulbactam wird oral nicht so gut resorbiert. Sultamicillin, ein Prodrug, das aus einem doppelten Ester besteht, erreicht eine Absorption von 80 %. Die pharmakokinetischen Parameter bei intravenöser Applikation sind in der folgenden Tabelle aufgeführt. (22)

Tabelle 4: Pharmakokinetik von Ampicillin/Sulbactam i.v. verabreicht an gesunde mittelalte freiwillige Probanden.

Parameter	Ampicillin (2g)	Sulbactam (1g)
C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	82 ± 15	42 ± 7
$V_{d_{ss}}$ (L/kg)	31 ± 9	30 ± 10
$t_{1/2}$	$1 \pm 0,2$	$1 \pm 0,2$
Auc_{∞} ($\mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$)	120 ± 16	72 ± 9
Clearance (mL/min)	281 ± 34	236 ± 27
Renale clearance (mL/min)	144 ± 64	136 ± 58
AUC_{∞} = AUC from zero to infinity	$V_{d_{ss}}$ = Verteilungsvolumen im Steady state	

Vergleiche pharmakokinetischer Daten für Ampicillin/Sulbactam bei jungen und älteren Patienten haben ergeben, dass bei älteren Patienten eine verlängerte

antimikrobielle Aktivität vorhanden ist. Je älter die Patienten, desto höher sind die AUC-Werte, $t_{1/2}$, C_{max} und sowie die renale Clearance. Angesichts der Tatsache, dass Ampicillin/Sulbactam in erster Linie renal eliminiert wird, ist bei Patienten mit renaler Insuffizienz die $t_{1/2}$ erhöht. (22)

Sulbactam wird in erster Linie renal eliminiert, was auch in den ersten 8 - 12 Stunden im Urin mit 75 % nachweisbar ist. Aus diesem Grund ist die Clearance bei Patienten mit einer Niereninsuffizienz erniedrigt. (26) Zwischen Erwachsenen und Kindern ist kein signifikanter Unterschied in der Pharmakokinetik zu beobachten.

Bei Säuglingen unter einer Woche bzw. Frühgeburten ist die $t_{1/2}$ für Ampicillin und Sulbactam signifikant erhöht, was durch eine mangelnde Ausbildung des renalen Systems zu erklären ist. (22) Schwangerschaft erhöht signifikant die Eliminationsrate, senkt sichtbar die AUC, verkürzt die $t_{1/2}$ und steigert die Clearance für Ampicillin im Vergleich zu nicht schwangeren Frauen. Obwohl Sulbactam auch Veränderungen in der Pharmakokinetik aufweist, sind diese nicht statistisch signifikant. Daher sollten schwangere bzw. Frauen, die kürzlich entbunden haben, mit einer höheren Applikationsfrequenz therapiert werden. (33) Die Proteinbindung für Ampicillin und Sulbactam ist mäßig. Ampicillin weist eine Proteinbindung von 38 % und Sulbactam von 28 % auf. (22)

3 EXPERIMENTELLER TEIL

3.1 Materialien

3.1.1 Chemikalien

Den Studienteilnehmern wurde das Präparat Unasyn® 3g Pulver (Pfizer Corporation, Austria) verabreicht. Vor Applikation wurde Unasyn® in 250 ml 0,9 % Natriumchlorid-Lösung ad inj. rekonstituiert. Alle verwendeten Chemikalien wurden von der Firma Sigma, Wien gekauft und waren von analytischer Reinheit.

3.1.2 Geräte

❖ HPLC-Anlage

- MERCK-HITACHI, Chrommaster 5260, Autosampler (Deutschland)
- MERCK-HITACHI, Chrommaster 5410, UV-Detektor (Deutschland)
- MERCK-HITACHI, Chrommaster 5160, Pumpe (Deutschland)
- MERCK-HITACHI, Chrommaster 5310, Säulenofen (Deutschland)

❖ pH-Meter, Orion 250A+, Orion Research Inc. (MA, USA)

❖ Magnetrührer, IKA-Combimag Ret mit Heizung, Janke & Kunkel, IKA Werke (Deutschland)

❖ Minishaker, Vortex Wizard with infrared Detector, VELP Scientifica (Italien)

❖ Mikropipette, Eppendorf Research, 100-1000 µl, Eppendorf AG (Deutschland)

❖ Waage, Satorius, Bauart H51-A1, Satorius Instruments (Deutschland)

❖ Ultraschallbad, Starsonic 60, PMT (Österreich)

❖ Zentrifuge, Biofuge 13, Heraeus Instruments GmbH (Deutschland)

3.2 Patienten

Alle Proben stammten aus der klinischen Studie („*Multi-dose pharmacokinetics of ampicillin/sulbactam and amoxicillin/clavulanic acid during haemodialysis in long-term haemodialysis patients*“), die an der Universitätsklinik für Innere Medizin I, Klinische Abteilung für Infektionskrankheiten und Tropenmedizin durchgeführt wurde. Das Studienprotokoll wurde der Ethikkommission der Medizinischen Universität Wien vorgelegt und von dieser bewilligt. Im Verlauf der Studie wurden von 7 Hämodialysepatienten während der bis zu 7 aufeinanderfolgenden Dialysezyklen Plasma- und Dialysatproben entnommen und zur weiteren Aufbereitung für die HPLC-Analyse bei -80°C aufbewahrt.

Einschlusskriterien:

- Alter über 18 Jahren
- diagnostiziert mit einer therapiebedürftigen bakteriellen Infektion
- Dialysepatienten; Urinproduktion unter 400 ml / 24 h

Ausschlusskriterien:

- Allergie gegen Ampicillin/Sulbactam oder andere β -Laktam-Antibiotika
- Lebenserwartung unter 2 Tagen
- Schwangerschaft
- Einnahme von Probenecid

3.3 Durchführung der Studie

Unasyn (2 Vials zu 3 g = Dosis 6g) wurde unmittelbar vor der Applikation in 250 ml NaCl 0,9% aufgelöst und über 30 Minuten infundiert. Pro Infusion erhielten alle Patienten unabhängig vom Gewicht dieselbe Dosierung.

Dosier- und Probenabnahmeschema:

- **1. Dialyse (HD1):** Applikation von Unasyn nach der HD; keine Blutabnahme
- **2. Dialyse (HD2):**
 - Blutabnahme (venös) vor HD (präHD)
 - Infusion von Unasyn (30 min)
 - Blutabnahme (venös) nach Ende der Infusion
 - Beginn der HD
 - Entnahme von Blut (arteriell + venös) und postkapillares Dialysat zu folgenden Zeitpunkten der HD: 0,5, 1, 2, 2,5 und 4 Stunden
 - Ende der HD
 - Blutabnahme (venös) (postHD)
 - 2. Verabreichung von Unasyn
- **3. - 7 Dialyse (HD3-7):**
 - Blutabnahme (venös) vor HD (präHD)
 - HD
 - Blutabnahme (venös) nach Ende der HD (postHD)
 - Infusion von Unasyn
 - Blutabnahme (venös) nach Ende der Infusion (postInf)

3.4 Aufarbeitung und HPLC-Analyse der Proben

Um Ampicillin und Sulbactam im Plasma und Dialysat quantitativ nachweisen zu können, wurde ein neues, selektives HPLC-System erstellt. Die Trennung der Substanzen aus der Matrix erfolgte auf einer Hypersil BDS-C₁₈ Column; 5 µm, 250 x 4.6 mm I.D. (Thermo Fisher Scientific, Inc, USA) ausgerüstet mit einer Vorsäule

(Hypersil BDS-C₁₈; 5 µm, 10 x 4.6mm I.D), temperiert auf 45°C. Ampicillin und Sulbactam wurden bei einer Wellenlänge von 230 nm detektiert.

Das Verhältnis Eluent A (50 mM Phosphatpuffer + Tetrabutylammoniumsulfat (2 mM), pH-Wert = 8,5 + 10 % Methanol) zu Eluent B (100 % Methanol) wurde entlang eines zeitlichen Gradienten verändert (Durchflussgeschwindigkeit = 1 ml/min): Innerhalb der ersten 30 Minuten wurde der Anteil an Eluent B von 0 % auf 60 % gesteigert, und für 5 Minuten beibehalten. Innerhalb von 2 Minuten wurde der Anteil an Eluent B wieder auf 0 % abgesenkt und die Säule 13 Minuten equilibriert (Abbildung 9).

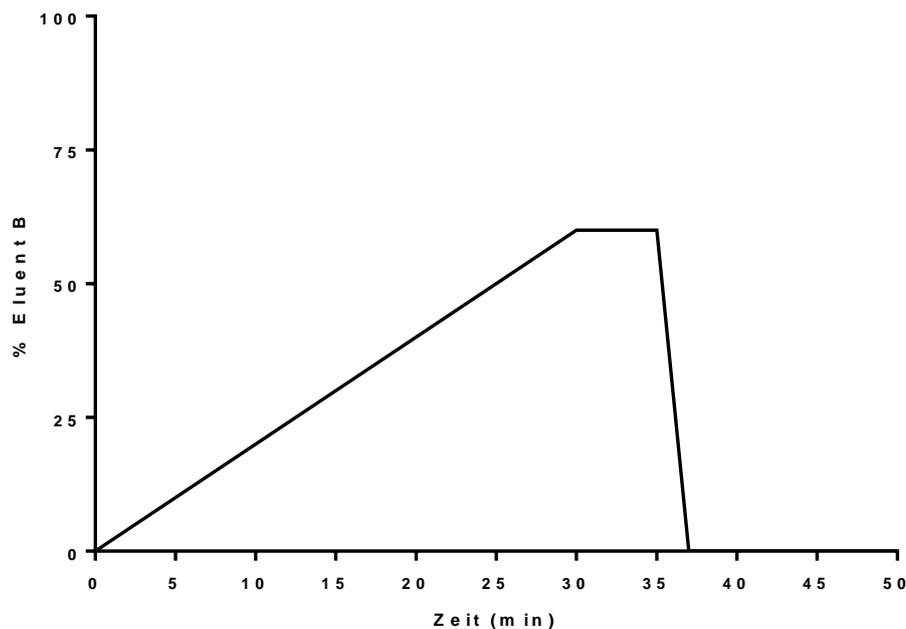


Abbildung 9: Gradientenverlauf für die HPLC-Analyse von Unasyn (Ampicillin/Sulbactam).

Zur Bestimmung der Retentionszeit wurden Standardlösungen von Ampicillin und Sulbactam (jeweilige Konzentration: 5 µg/ml) analysiert. Unter den oben beschriebenen Bedingungen wurde Ampicillin mit einer Retentionszeit von 22,5 min (Abbildung 10), bzw. Sulbactam mit einer Retentionszeit von 13,1 min (Abbildung 11) eluiert.

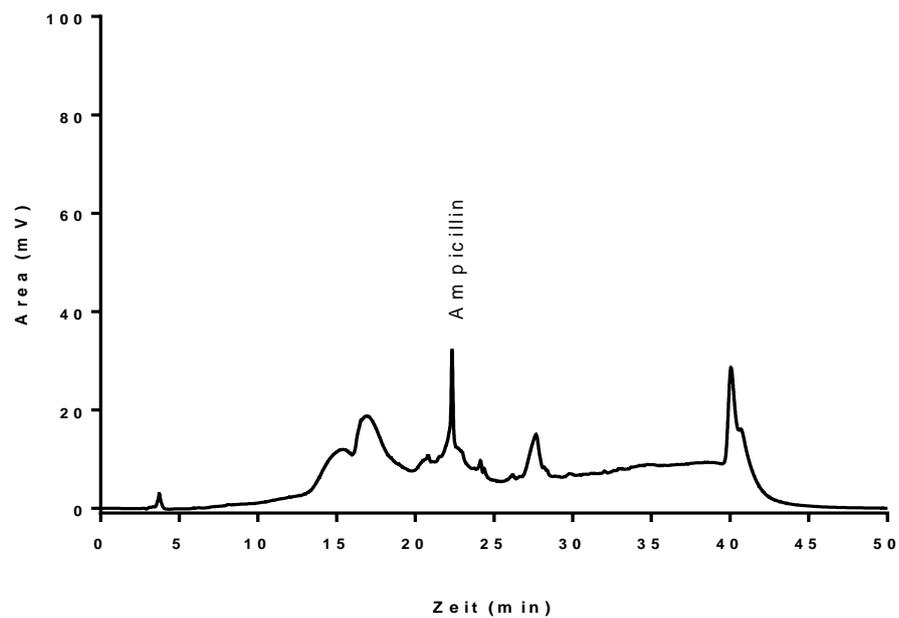


Abbildung 10: Chromatogramm einer Ampicillin-Lösung (5 µg/ml).

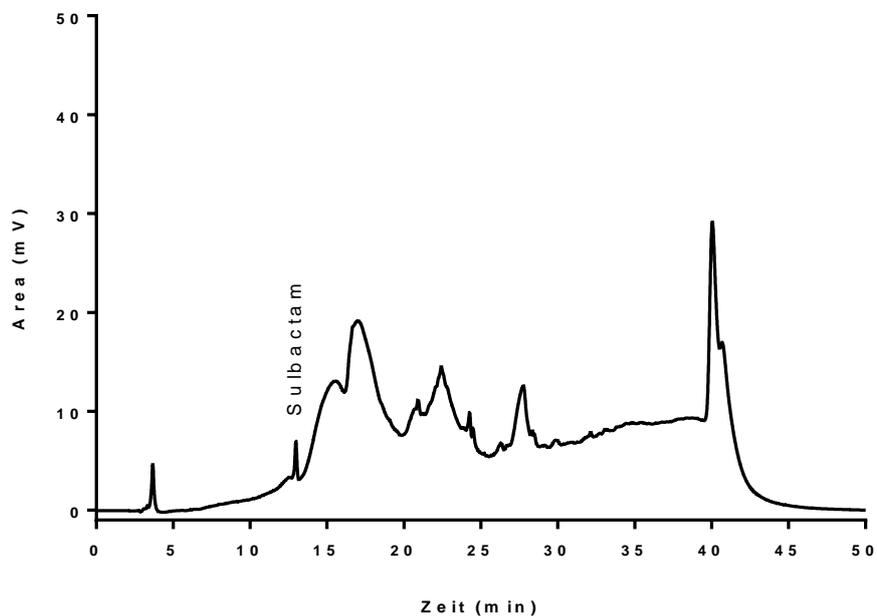


Abbildung 11: Chromatogramm einer Sulbactam-Lösung (5 µg/ml).

Unmittelbar vor der Analyse wurden 200 µl Plasma zur Ausfällung der Plasmaproteine mit 600 µl gekühltem Methanol versetzt und für 5 Minuten bei 13000 x g zentrifugiert. 200 µl Überstand wurden anschließend mit 200 µL Eluent A

vermischt und in ein Autosamplervial überführt. Zur Analyse des Dialysats wurden 400 μ L der jeweiligen Probe mit 400 μ l Eluent A versetzt, durchmischt und in ein Autosamplervial überführt. In den untersuchten Plasma- und Dialysatproben konnten keine störenden Peaks beobachtet werden (Abbildung 12, Abbildung 13).

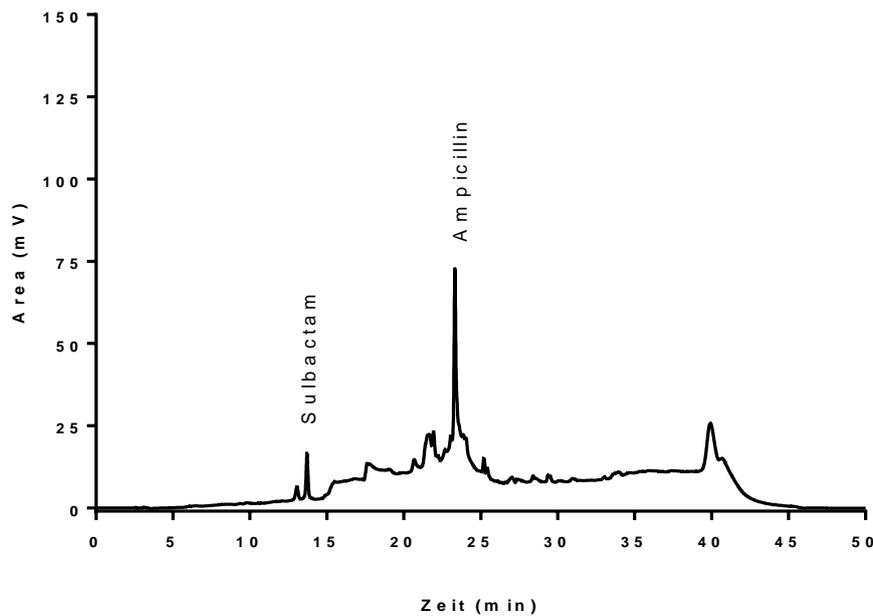


Abbildung 12: Chromatogramm einer Plasmaprobe nach der Infusion von Unasyn

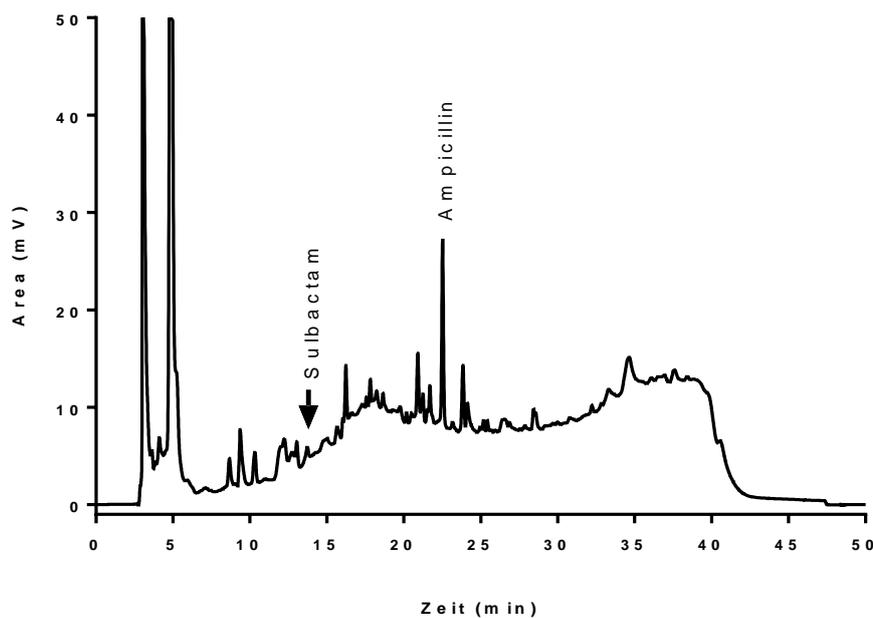


Abbildung 13: Chromatogramm einer Dialysatprobe 0,5 Stunden nach Beginn der HD.

3.5 Auswertung der Daten

Um die Konzentrationen von Ampicillin und Sulbactam im Plasma und Dialysat zu bestimmen, wurden Eichgeraden unter Verwendung des Computerprogramms Prism 6.00 (GraphPad Software Inc. CA, USA) erstellt.

Dazu wurden Verdünnungsreihen mit folgenden Konzentrationen erstellt: Ampicillin: 0,05 µg/ml, 0,10 µg/ml, 0,25 µg/ml, 0,50 µg/ml, 0,75 µg/ml, 1,00 µg/ml, 2,50 µg/ml, 5,00 µg/ml, 7,5 µg/ml und 10,00 µg/ml; Sulbactam: 0,10 µg/ml, 0,25 µg/ml, 0,50 µg/ml, 0,75 µg/ml, 1,00 µg/ml, 2,50 µg/ml und 5,00 µg/ml, und mittels HPLV analysiert. Abbildung 14 zeigt die Korrelation zwischen den gemessenen Peakflächen und den Konzentrationen der beiden Substanzen.

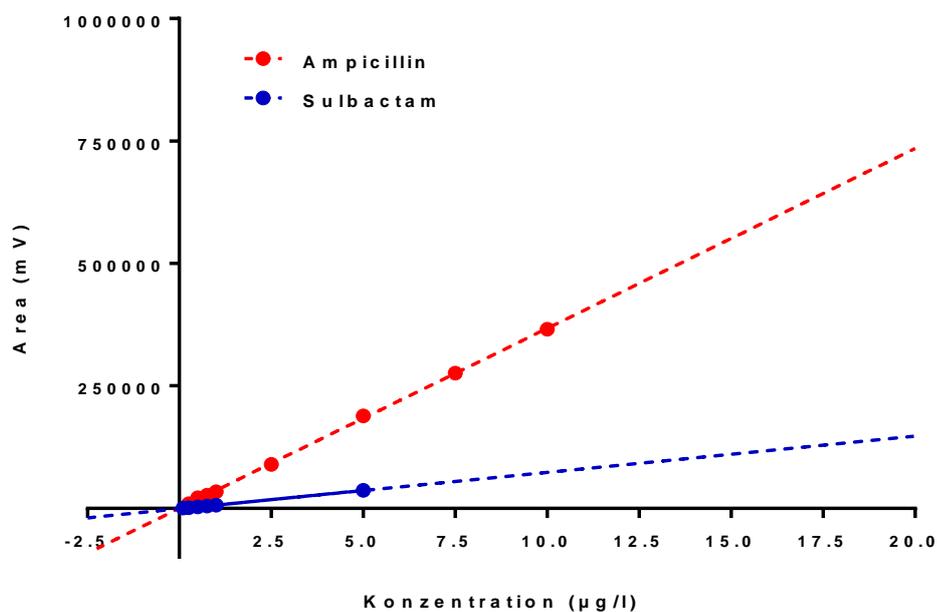


Abbildung 14: Eichkurve für Ampicillin und Sulbactam

4 ERGEBNISSE

Ziel der vorliegenden Diplomarbeit war es, durch Analyse von Plasma und Dialysat, die während der Dialysesitzungen von 7 Patienten gewonnen wurden, die Auswirkungen der Hämodialyse auf die Blutspiegel des Antibiotika Ampicillin und des Laktamasehemmers Sulbactam zu bestimmen.

4.1 Pharmakokinetik von Ampicillin während einer Hämodialyse-Behandlung

Ausgehend von einer Ampicillin-Baseline von $3,99 \pm 4,24 \mu\text{g/ml}$, stieg der Wert nach der Infusion auf C_{max} $145,48 \pm 99,42 \mu\text{g/ml}$ an. Kurz nach Beginn der Dialyse sank dieser auf $57,38 \pm 26,08 \mu\text{g/ml}$ herunter. Stunde um Stunde sank er weiter auf $41,11 \pm 27,61 \mu\text{g/ml}$, $21,33 \pm 12,46 \mu\text{g/ml}$, $15,70 \mu\text{g/ml} \pm 8,54 \mu\text{g/ml}$ ab und am Ende der Dialyse konnte ein Wert von $12 \pm 10,51 \mu\text{g/ml}$ gemessen werden. (siehe Abbildung 15, Tabelle 5)

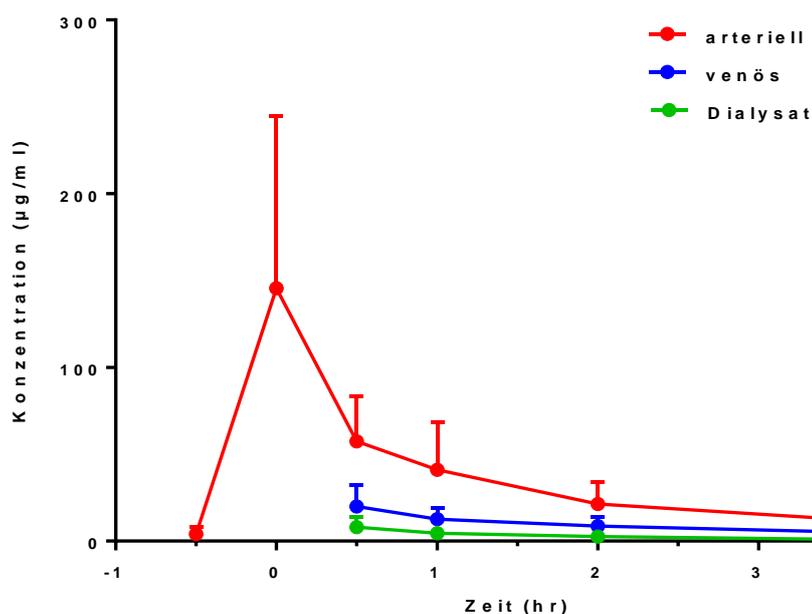


Abbildung 15: Mittelwert der Ampicillin-Konzentration in Plasma und Dialysat während einer Hämodialyse-Behandlung

Tabelle 5: Mittlere Ampicillin-Konzentration ($\mu\text{g/ml}$) in Plasma und Dialysat während einer Hämodialyse-Behandlung

(2.Hämodialyse beginnt zum Zeitpunkt -0,5 mit einer Baseline, Konzentration zum Zeitpunkt 0 nach der Infusion und vor der Hämodialyse (HD))

Zeit (hr)	arteriell			venös			Dialysat		
	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N
-0.500	3.99	4.24	7						
0.000	145.48	99.42	7						
0.500	57.38	26.08	7	19.90	12.05	7	8.04	5.91	6
1.000	41.11	27.61	7	12.58	6.51	7	4.58	3.38	6
2.000	21.33	12.46	7	8.66	5.44	7	2.67	2.63	6
3.500	12.70	10.51	6	5.32	2.89	6	0.96	0.89	5
4.000	15.70	8.54	4	5.77	0.81	3	0.32	0.45	2

Vergleichend dazu, wenn die einzelnen Patienten unter die Lupe genommen werden, ist es auffällig, dass die Baseline im arteriellen Plasma bei allen Patienten stark variiert. Die Patienten 3, 13 und 15 starten die HD 2 ohne eine Konzentration. Womit dieser Wert auch unter der MHK für alle Pathogene darstellt. Nach der Infusion schwankt der Cmax-Wert erheblich. Den niedrigsten Wert hat Patient 5 mit $27,28\mu\text{g/ml}$ und den höchsten Wert hat Patient 16 mit $315\mu\text{g/ml}$. Diese Schwankung könnte sich durch die unterschiedlichen Ausgangsbedingungen der Patienten erklären. Es fehlen leider die einzelnen Patientendaten, wie Geschlecht, KG und die GFR. Eine halbe Stunde später hat Patient 13 den höchsten Wert mit $87,56\mu\text{g/ml}$, was einen höheren Wert im Vergleich zu Patient 16 darstellt, der den höchsten Cmax-Wert hatte. Patient 5 hat in diesem Stadium nur noch $11,78\mu\text{g/mg}$. Eine Stunde nach Dialysebeginn hat Patient 13 eine Ampicillin-Konzentration von $79,72\mu\text{g/ml}$ und Patient 16 von $65,21\mu\text{g/ml}$. Nur Patient 5 und 9 haben die niedrigsten Werte mit $5,6\mu\text{g/ml}$ bzw. $11,78\mu\text{g/ml}$. Zwei Stunden nach Dialysebeginn hat Patient 13 einen Wert von $42,59\mu\text{g/ml}$. Bei Patient 13 scheint die Dialyse ab einer halben Stunde nur wenig Einfluss auf die Ampicillin-Konzentration zu haben, sodass am Ende der Dialyse noch $28,49\mu\text{g/ml}$ zu messen sind. Vergleicht man Patient 1 und 16 miteinander, so hat Patient 1 in diesem Stadium mit $27,12\mu\text{g/ml}$ eine höhere

Ampicillin-Konzentration als Patient 16 mit 25,60 $\mu\text{g/ml}$. Patient 3 und 5 haben in dieser Phase keine messbare Konzentration. Dies gilt auch für Patient 9 nach Ende der Dialyse. (siehe Abbildung 16, Tabelle 6)

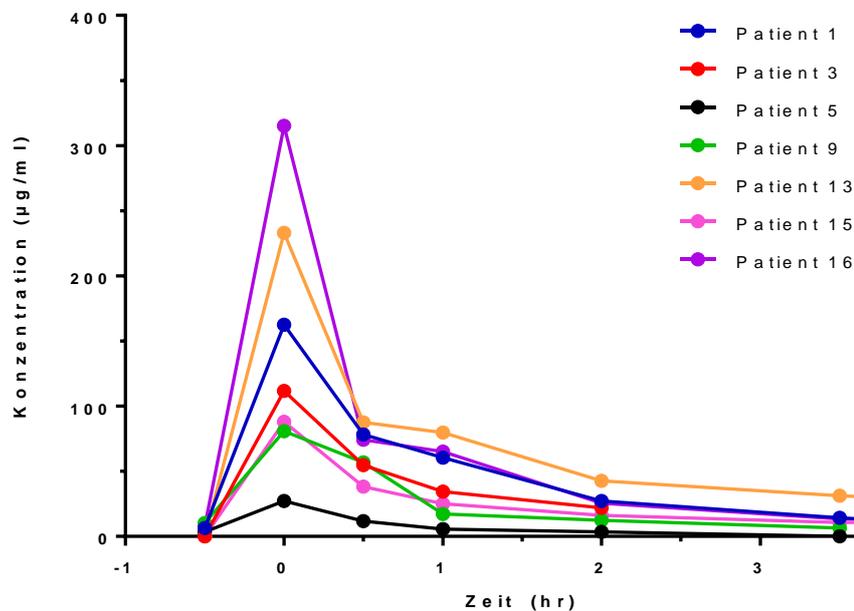


Abbildung 16: Zeitlicher Verlauf der Ampicillin-Konzentration im arteriellen Plasma während einer Hämodialyse-Behandlung

Tabelle 6: Ampicillin-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) im arteriellen Plasma während einer Hämodialyse-Behandlung

Zeit (hr)	Patient 1	Patient 3	Patient 5	Patient 9	Patient 13	Patient 15	Patient 16
-0.50	6.54	0.00	3.39	10.18	0.00	0.00	7.82
0.00	162.53	111.74	27.28	80.74	232.93	88.04	315.10
0.50	78.20	54.79	11.78	56.87	87.56	38.25	74.21
1.00	60.39	34.44	5.60	17.30	79.72	25.10	65.21
2.00	27.12	21.93	3.39	12.37	42.59	16.29	25.60
3.50	14.30		0.00	6.44	31.27	10.70	13.49
4.00	11.00				28.49	11.13	12.18

Im venösen Plasma kann die Konzentration erst nach einer halben Stunde gemessen werden. Zu diesem Zeitpunkt hat Patient 16 den höchsten Wert mit 38,70 $\mu\text{g/ml}$ bzw. Patient 5 mit 2,1 $\mu\text{g/ml}$ den niedrigsten Wert. Nach einer Stunde hat Patient 3 den höchsten Wert mit 20,01 $\mu\text{g/ml}$ und Patient 5 den niedrigsten Wert mit

1,04 $\mu\text{g/ml}$. Ab Stunde 2 hat dieser einen Wert von Null, sodass am Ende der Dialyse nur drei Patienten, nämlich Patient 1, 13 und 15, einen Wert von 4,86 bis 6,40 $\mu\text{g/ml}$ h vorweisen können. Bei den übrigen Patienten kann ab diesem Stadium keine Konzentration mehr gemessen werden. (siehe Abbildung 17, Tabelle 7)

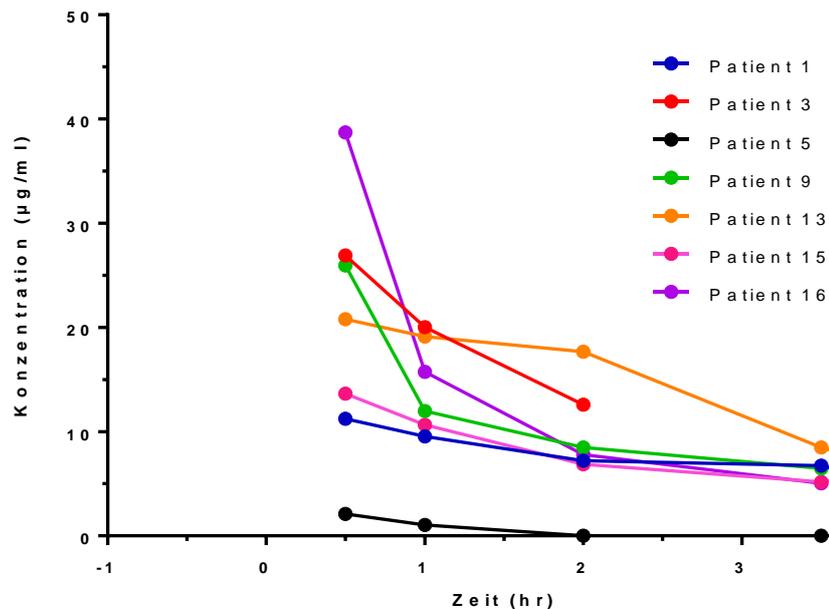


Abbildung 17: Zeitlicher Verlauf der Ampicillin-Konzentration im venösen Plasma während einer Hämodialyse-Behandlung

Tabelle 7: Ampicillin-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) im venösen Plasma während einer Hämodialyse-Behandlung

Zeit (hr)	Patient 1	Patient 3	Patient 5	Patient 9	Patient 13	Patient 15	Patient 16
-0.50							
0.00							
0.50	11.24	26.91	2.10	25.95	20.78	13.65	38.70
1.00	9.54	20.01	1.04	11.99	19.13	10.64	15.73
2.00	7.23	12.58	0.00	8.49	17.67	6.86	7.79
3.50	6.73		0.00	6.47	8.48	5.18	5.03
4.00	4.86				6.40	6.05	

Auch im Dialysat kann die Konzentration erst nach einer halben Stunde gemessen werden. Hier hat Patient 16 nach 0,5 Stunden mit 15,08 $\mu\text{g/ml}$ den höchsten Wert und bei Patient kann ab diesem Stadium keine Konzentration mehr

gemessen werden. Nach einer Stunde hat Patient 3 den höchsten Wert mit 10,30 $\mu\text{g/ml}$. Am Ende der Dialyse hat nur noch Patient 15 einen Wert von 0,64 $\mu\text{g/ml}$ im Dialysat. (siehe Abbildung 18, Tabelle 8)

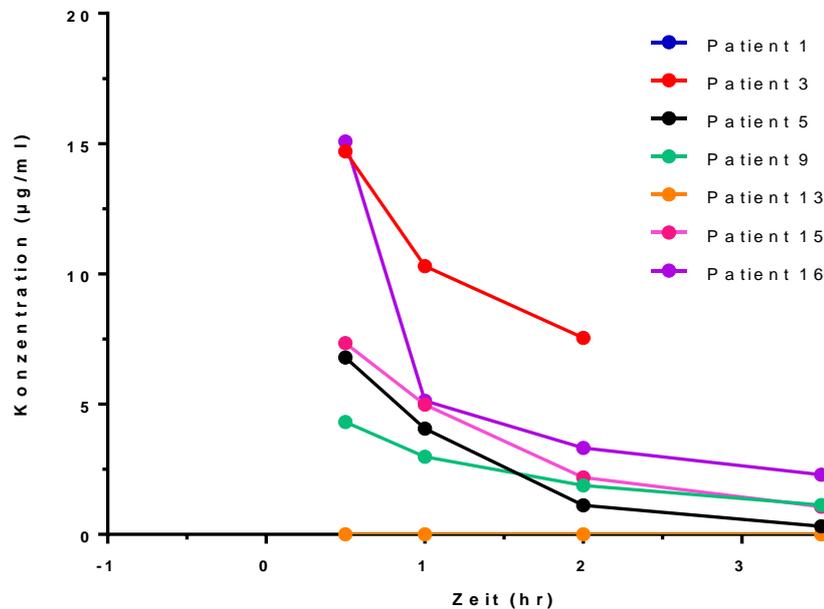


Abbildung 18: Zeitlicher Verlauf der Ampicillin-Konzentration im Dialysat während einer Hämodialyse-Behandlung

Tabelle 8: Ampicillin-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) im Dialysat während einer Hämodialyse-Behandlung

Zeit (hr)	Patient 3	Patient 5	Patient 9	Patient 13	Patient 15	Patient 16
-0.50						
0.00						
0.50	14.70	6.79	4.32	0.00	7.35	15.08
1.00	10.30	4.06	2.98	0.00	4.98	5.12
2.00	7.54	1.12	1.88	0.00	2.19	3.31
3.50		0.32	1.13	0.00	1.07	2.29
4.00				0.00	0.64	

4.2 Pharmakokinetik von Sulbactam während einer Hämodialyse-Behandlung

Vor der Dialyse beträgt die mittlere Sulbactam-Konzentration im arteriellen Plasma und Dialysat $1,62 \mu\text{g/ml} \pm 3,96 \mu\text{g/ml}$. Nach der Infusion steigt dieser Wert auf $48,55 \mu\text{g/ml}$ und sinkt nach Beginn der Dialyse sehr stark ab. (siehe Abbildung 19, Tabelle 9)

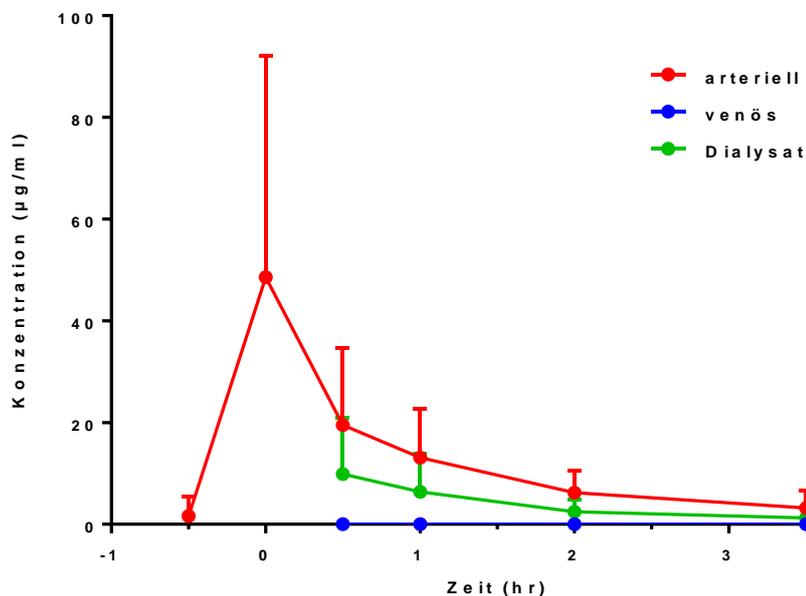


Abbildung 19: Mittelwert der Sulbactam-Konzentration in Plasma und Dialysat während einer Hämodialyse-Behandlung

Tabelle 9: Mittlere Sulbactam-Konzentration ($\mu\text{g/ml}$) in Plasma und Dialysat während einer Hämodialyse-Behandlung

Zeit (hr)	arteriell			venös			Dialysat		
	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N
-0.50	1.62	3.96	6						
0.00	48.55	43.52	7						
0.50	19.50	15.11	7	0.00	0.00	6	9.85	11.12	6
1.00	13.09	9.71	7	0.00	0.00	6	6.38	7.47	6
2.00	6.24	4.41	7	0.00	0.00	6	2.44	2.51	6
3.50	3.18	3.37	6	0.00	0.00	5	1.26	2.12	5
4.00	2.40	3.06	5	0.00	0.00	5	0.26	0.45	3

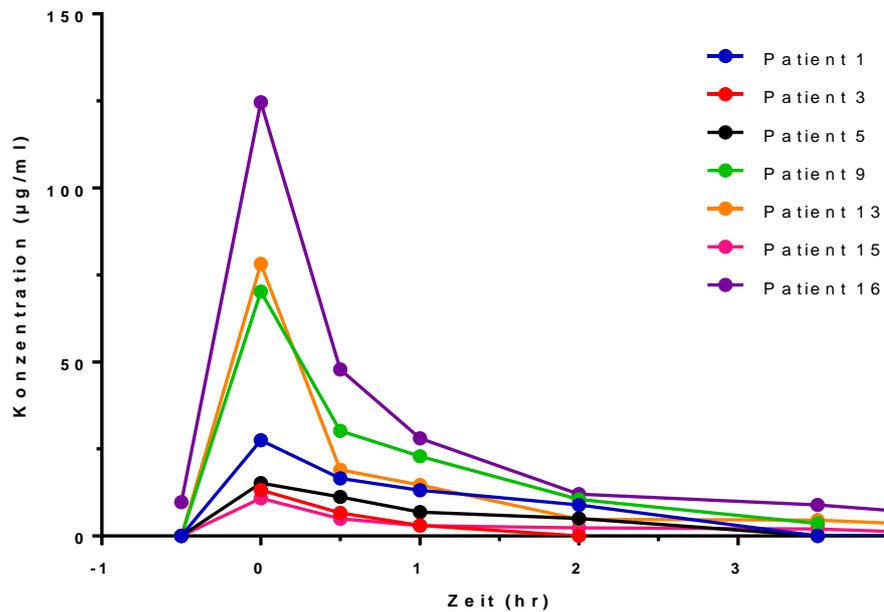


Abbildung 20: Zeitlicher Verlauf der Sulbactam-Konzentration im arteriellen Plasma während einer Hämodialyse-Behandlung

Tabelle 10: Sulbactam-Konzentrationen (µg/ml) im arteriellen Plasma während einer Hämodialyse-Behandlung

Time (hrs)	Patient 1	Patient 3	Patient 5	Patient 9	Patient 13	Patient 15	Patient 16
-0.50	0.00		0.00	0.00	0.00	0.00	9.69
0.00	27.52	13.23	15.17	70.25	78.16	10.85	124.66
0.50	16.56	6.63	11.25	30.21	19.05	5.00	47.82
1.00	13.12	3.06	6.85	22.93	14.63	2.96	28.07
2.00	8.92	0.00	5.04	10.56	4.78	2.35	12.02
3.50	0.00		0.00	3.60	4.53	2.01	8.96
4.00	0.00		0.00		3.60	1.20	7.21

Vergleicht man die einzelnen Patienten, ist es auffällig, dass nur Patient 16 mit einer Baseline von 9,69 µg/ml startet und bei allen anderen keine Konzentration zu messen ist. Nach der Infusion unterscheidet sich Patient 16 mit 124,66 µg/ml erheblich von den restlichen Patienten. Dieser hat bis Ende der Dialyse immer die höchsten Werte, welcher schlussendlich auf 7,21 µl/ml herunterfällt. Den nächst höheren Wert hat Patient 13 mit 78,16 µg/ml. Den niedrigsten Wert hat Patient 15 mit

10,85 µg/ml. Bei Patient 3 ist die Sulbactam-Konzentration schon ab Stunde zwei auf null, wobei Patient 1 und 5 ab Stunde 3,5 diesem folgen. Am Ende der Dialyse haben, abgesehen von Patient 16, zusätzlich auch Patient 13 und 15 einen positive Wert. Bei den restlichen Patienten konnte keine Konzentration mehr gefunden werden. (siehe Abbildung 20, Tabelle 10) Im venösen Plasma liegt die Sulbactam-Konzentration immer bei null. Aus diesem Grund ist keine Abbildung vorhanden

Im Dialysat ist Sulbactam erst nach 0,5 h vorzufinden. Hier hat Patient 16 die höchste gemessene Konzentration mit 31,23 µg/ml. Patient 13 hat schon ab diesem Zeitpunkt keine anzeigbare Konzentration mehr, sodass am Ende der Dialyse nur bei Patient 15 eine positive Konzentration von 0,78 µg/ml gemessen werden konnte. (Abbildung 21, Tabelle 11)

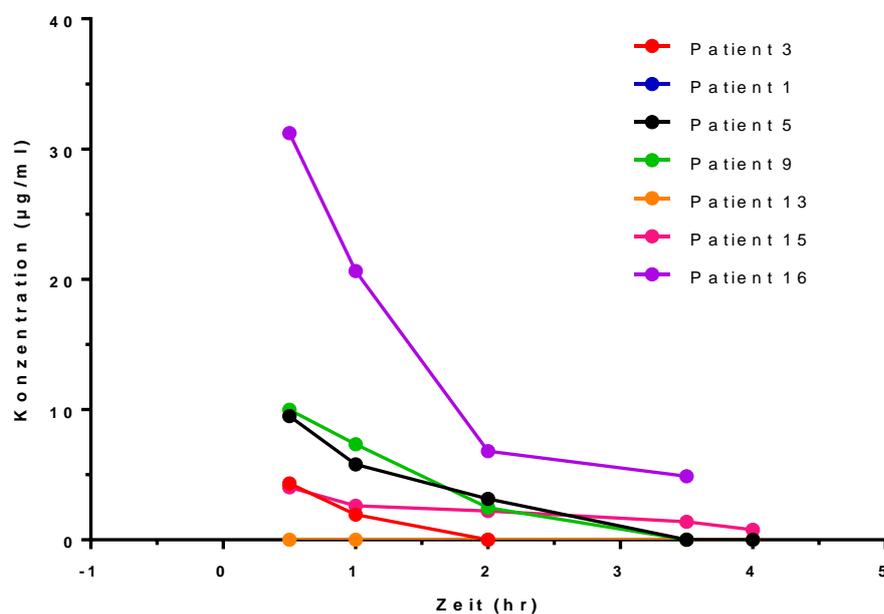


Abbildung 21: Zeitlicher Verlauf der Sulbactam-Konzentration im Dialysat während einer Hämodialyse-Behandlung

Tabelle 11: Sulbactam-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) im Dialysat während einer Hämodialyse-Behandlung

Time (hrs)	Patient 3	Patient 5	Patient 9	Patient 13	Patient 15	Patient 16
-0.50						
0.00						
0.50	4.34	9.50	9.99	0.00	4.03	31.23
1.00	1.93	5.79	7.33	0.00	2.61	20.64
2.00	0.00	3.15	2.47	0.00	2.22	6.80
3.50		0.00	0.00	0.00	1.39	4.89
4.00		0.00		0.00	0.78	

4.3 Pharmakokinetik von Ampicillin und Sulbactam nach mehreren aufeinanderfolgenden Hämodialyse-Behandlungen

Wie in Abbildung 22 und Tabelle 12 zu sehen ist, beträgt der Mittelwert vor der HD $10,70 \pm 10,33 \mu\text{g/ml}$, welcher nach der Durchführung der Hämodialyse auf $4,01 \pm 7,14 \mu\text{g/ml}$ zurückgeht. Nach der Infusion steigt er auf $133,10 \pm 99,53 \mu\text{g/ml}$ an. Dann sind die Werte relativ konstant. Auffällig sind die HD 6 und HD 7 Werte nach der Infusion, die $114,01 \pm 100,29 \mu\text{g/ml}$ bzw. $89,56 \mu\text{g/ml}$ betragen. Für HD 7 ist leider nur ein Wert verfügbar, sodass dieser wenig aussagekräftig ist. (siehe Abbildung 22, Tabelle 12)

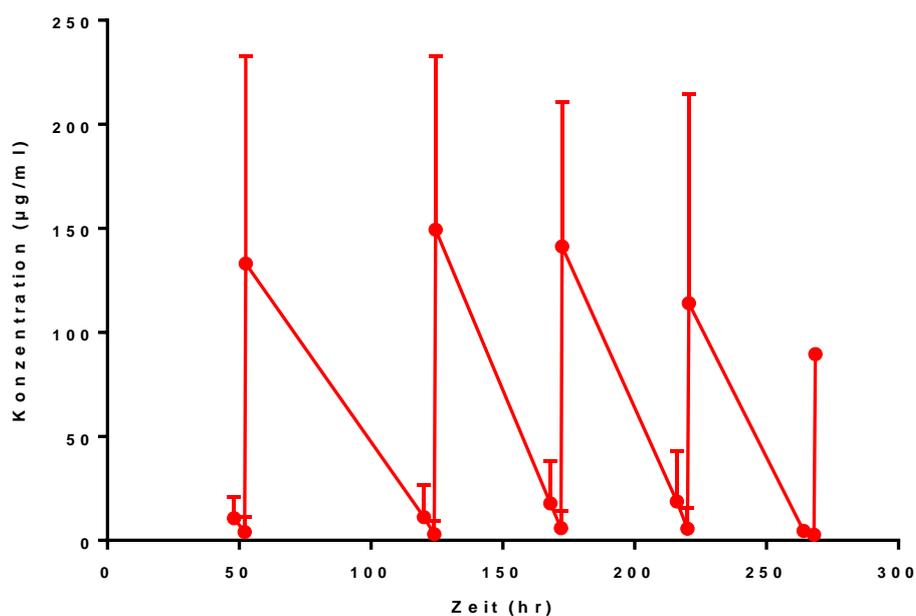


Abbildung 22: Mittelwert der Ampicillin-Konzentration in Plasma nach mehreren aufeinanderfolgenden Hämodialyse-Behandlungen

Werden sodann die einzelnen Patienten bei den darauffolgenden HD-Terminen miteinander verglichen, so hat Patient 16 mit 31,62 µg/ml den höchsten bzw. Patient 1 den niedrigsten Wert mit 2,05 µg/ml. Patient Nummer 13 hat den nächst höheren Wert mit 16,39 µg/ml. Die restlichen Patienten beginnen die HD 3 von 3,58 bis 8,86 µg/ml.

Tabelle 12: Mittlere Ampicillin-Konzentration(µg/ml) in Plasma nach mehreren aufeinanderfolgenden Hämodialyse-Behandlungen (HD = Hämodialyse, post INF = nach einer Infusion)

	Zeit (hr)	Plasma		
		Mean	SD	N
HD3 prä HD	48.00	10.70	10.33	7
HD3 post HD	52.00	4.01	7.14	7
HD3post INF	52.50	133.10	99.53	7
HD4 prä HD	120.00	11.15	15.70	7
HD4post HD	124.00	2.94	6.50	7
HD4 post INF	124.50	149.40	83.40	7
HD5 prä HD	168.00	17.82	20.44	6
HD5 post HD	172.00	5.86	8.19	6
HD5 post INF	172.50	141.30	69.51	6
HD6 prä HD	216.00	18.70	24.27	6
HD6 post HD	220.00	5.66	10.27	6
HD6 post INF	220.50	114.01	100.29	5
HD7 prä HD	264.00	4.63	0.00	1
HD7 post HD	268.00	2.67	0.00	1
HD7 post INF	268.50	89.56	0.00	1

Nach der HD haben nur drei Patienten eine beachtenswerte Konzentration. Das betrifft Patient 3, 9 und 16. Die restlichen haben 0 bzw. annähernd 0. Nach der Infusion weist Patient 16 mit 350 µg/ml Ampicillin einen erheblichen Unterschied zu den anderen Patienten auf. Patient Nummer 3 bringt es nur auf 142,24 µg/ml. Bei Patient 1 steigt der Wert jedes Mal nach einer Infusion an. Nach der Infusion hat er bei HD 3 97,38 µg/ml bzw. 210,42 µg/ml nach HD 5. Bei Patient 3 nehmen diese Werte stets ab, sodass die Werte nach der Infusion für HD 3 142,24 µg/ml und HD 6 schon 60,70 µg/ml betragen. Dass der Wert am Ende viel niedriger ist, kann man auch bei den Patienten Nummer 5 und 16 feststellen. Bei Patient 9 und 15 sind die

Werte nah beieinander. Für Patient 13 sind leider zu wenig Werte messbar, um eine Schlussfolgerung daraus ziehen zu können. (siehe Abbildung 23, Tabelle 13)

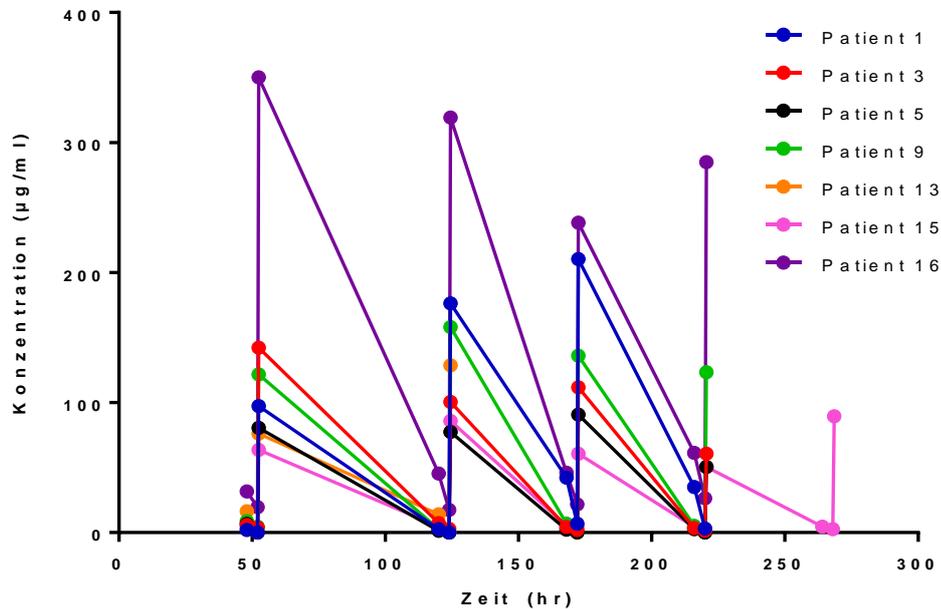


Abbildung 23: Zeitlicher Verlauf der Ampicillin-Konzentration im Plasma nach mehreren aufeinanderfolgenden Hämodialyse-Behandlungen

Tabelle 13: Ampicillin-Konzentrationen (µg/ml) im Plasma nach mehreren aufeinanderfolgenden Hämodialyse-Behandlungen (HD = Hämodialyse, post INF = nach einer Infusion)

	Zeit (hr)	Patient 1	Patient 3	Patient 5	Patient 9	Patient 13	Patient 15	Patient 16
HD3 prä HD	48.00	2.05	5.76	6.66	8.86	16.39	3.58	31.62
HD3 post HD	52.00	0.12	3.85	0.00	4.51	0.00	0.00	19.56
HD3post INF	52.50	97.38	142.24	80.67	121.65	76.08	63.56	350.15
HD4 prä HD	120.00	2.63	7.31	1.40	2.70	14.08	4.52	45.39
HD4post HD	124.00	0.12	2.96	0.00	0.00	0.00	0.00	17.48
HD4 post INF	124.50	176.31	100.48	77.35	157.97	128.56	85.80	319.32
HD5 prä HD	168.00	42.16	4.34	2.31	6.78		5.30	46.02
HD5 post HD	172.00	6.88	1.92	0.00	0.00		4.72	21.64
HD5 post INF	172.50	210.42	111.65	90.82	136.00		60.61	238.32
HD6 prä HD	216.00	35.09	3.49	2.70	5.28		4.43	61.20
HD6 post HD	220.00	3.08	1.44	0.00	0.00		2.99	26.43
HD6 post INF	220.50		60.70	50.46	123.28		50.58	285.01
HD7 prä HD	264.00						4.63	
HD7 post HD	268.00						2.67	
HD7 post INF	268.50						89.56	

Werden die mittleren Sulbactam-Konzentrationen von der dritten bis zur siebten Dialyse miteinander verglichen, so ist auffällig, dass nach der Hämodialyse bei allen Patienten kein Sulbactam mehr vorzufinden ist. Ansonsten liegen die Werte relativ nah beieinander. Lediglich die HD 7-Werte unterscheiden sich stark, was aber darauf zurückzuführen ist, dass lediglich von einem Patienten Daten vorliegen. (siehe Abbildung 24, Tabelle 14)

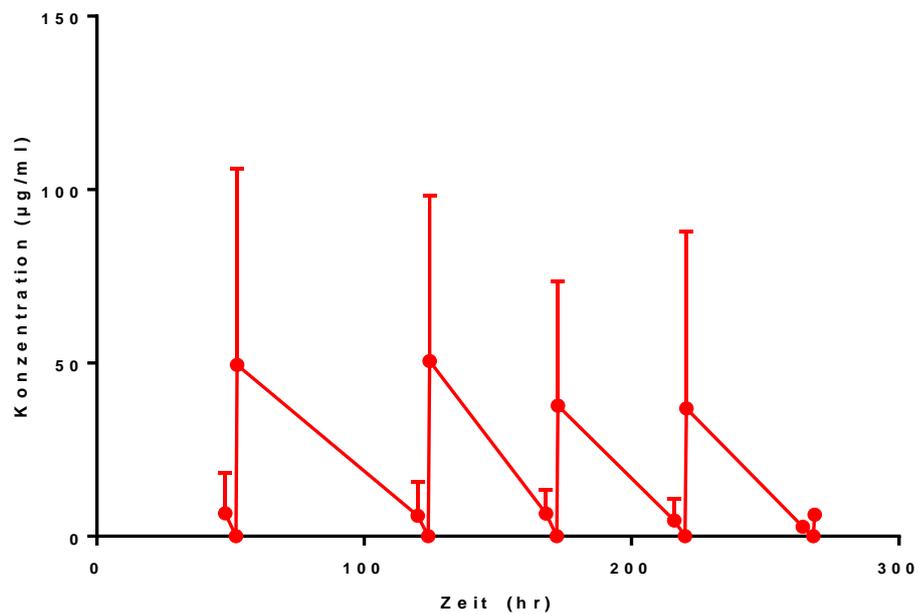


Abbildung 24: Mittelwert der Sulbactam-Konzentration in Plasma nach mehreren aufeinanderfolgenden Hämodialyse-Behandlungen

Tabelle 14: Mittlere Sulbactam-Konzentration($\mu\text{g}/\text{ml}$) in Plasma und Dialysat nach mehreren aufeinanderfolgenden Hämodialyse-Behandlungen (HD = Hämodialyse, post INF = nach einer Infusion)

	Zeit (hr)	MW		
		Mean	SD	N
HD3 prä HD	48.00	6.65	11.82	7
HD3 post HD	52.00	0.00	0.00	7
HD3post INF	52.50	49.42	56.78	7
HD4 prä HD	120.00	5.94	9.97	7
HD4post HD	124.00	0.00	0.00	7
HD4 post INF	124.50	50.58	47.68	7
HD5 prä HD	168.00	6.57	6.98	6
HD5 post HD	172.00	0.00	0.00	6
HD5 post INF	172.50	37.72	35.79	6
HD6 prä HD	216.00	4.58	6.43	6
HD6 post HD	220.00	0.00	0.00	6
HD6 post INF	220.50	36.92	51.20	5
HD7 prä HD	264.00	2.75	0.00	1
HD7 post HD	268.00	0.00	0.00	1
HD7 post INF	268.50	6.26	0.00	1

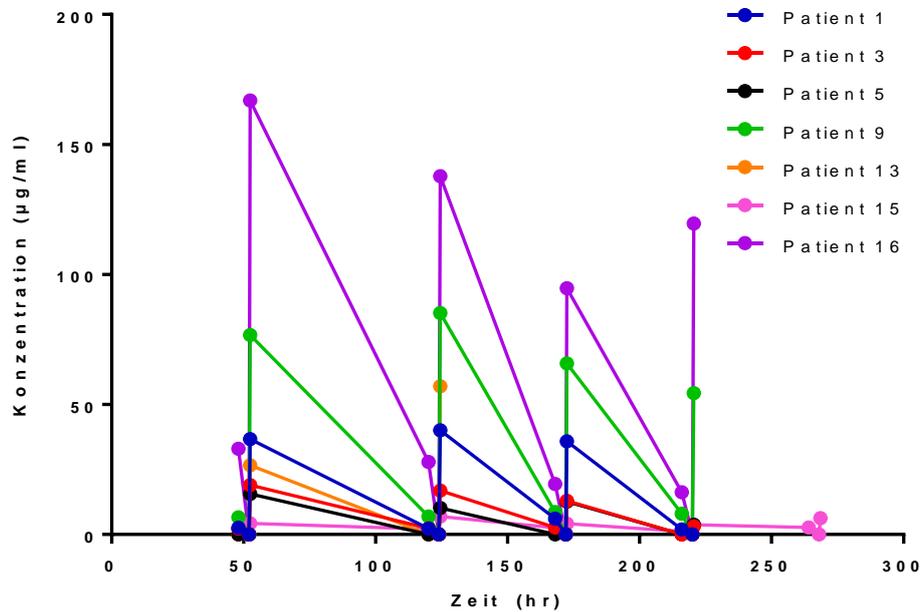


Abbildung 25: Zeitlicher Verlauf der Sulbactam-Konzentration im Plasma nach mehreren aufeinanderfolgenden Hämodialyse-Behandlungen

Tabelle 15: Sulbactam-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) im Plasma nach mehreren aufeinanderfolgenden Hämodialyse-Behandlungen

	Time (hrs)	Patient 1	Patient 3	Patient 5	Patient 9	Patient 13	Patient 15	Patient 16
HD3 prä HD	48.00	2.58	2.32	0.00	6.65	0.00	2.04	32.97
HD3 post HD	52.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
HD3post INF	52.50	36.65	19.03	15.62	76.72	26.61	4.32	166.95
HD4 prä HD	120.00	2.30	2.38	0.00	6.91	0.00	2.05	27.94
HD4post HD	124.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
HD4 post INF	124.50	40.10	16.85	10.17	85.15	57.06	6.89	137.83
HD5 prä HD	168.00	6.06	2.68	0.00	8.67		2.61	19.42
HD5 post HD	172.00	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00
HD5 post INF	172.50	35.82	13.02	12.67	65.85		4.22	94.73
HD6 prä HD	216.00	1.99	0.00	0.00	8.02		1.27	16.21
HD6 post HD	220.00	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00
HD6 post INF	220.50		3.15	3.72	54.32		3.76	119.62
HD7 prä HD	264.00						2.75	
HD7 post HD	268.00						0.00	
HD7 post INF	268.50						6.26	

Schlussendlich, wenn die Sulbactam-Konzentrationen der einzelnen Patienten bei allen aufgezeichneten Dialyseterminen miteinander verglichen werden, ist gleich zu erkennen, dass die Konzentrationen stark variieren. Patient 16 hat vor HD 3 die höchste Konzentration mit 32,97 $\mu\text{g/ml}$ und bei Patient 5 konnte am Beginn keine Konzentration gemessen werden. Nach der Dialyse konnte bei keinem der Patienten eine Konzentration gemessen werden und dies war nach jeder HD-Behandlung zu beobachten. Nach der ersten Infusion konnte bei Patient 16 der höchste Wert mit 166,95 $\mu\text{g/ml}$ gemessen werden. Im Vergleich zu diesem hatte Patient 15 den niedrigsten Wert mit 4,32 $\mu\text{g/ml}$. Bei Patient 15 konnte im Laufe der Untersuchung nur 6,89 $\mu\text{g/ml}$ als höchster Wert gemessen werden. (siehe Abbildung 25, Tabelle 15)

5 DISKUSSION

Infektionen stellen ein großes Problem bei Dialysepatienten dar. Begründet wäre dies so, dass Dialysepatienten durch die Urämietoxine ein geschwächtes Immunsystem haben. Zusätzlich wird die Diagnose durch Fehlen der typischen Symptome, wie Fieber erschwert. So gehen ein Drittel der Krankenhausaufenthalte bei Dialysepatienten auf Infektionen zurück. Die infektionsbedingte Mortalität ist mit 16 % die zweithäufigste Todesursache. (34, 35, 36)

Ungeachtet dieser Problematik fehlen für viele Pharmaka Dosierungsempfehlungen für die Nierenersatztherapie. Nur für ein Viertel aller zugelassenen Medikamente findet man verbindliche Dosierungsempfehlungen. Für 16 % der Pharmaka fehlen jegliche Daten für die Dialyse und für den größten Teil sind lediglich Hinweise für die Dosierung zu finden, was damit begründet werden kann, dass es nur eine kleine Patientengruppe betrifft und durch die Anzahl der verschiedenen Dialyseverfahren und Medikamente der Aufwand sehr groß ist. Unter idealen Umständen sollte es für alle Antibiotika eine Dosierungsempfehlung für sämtliche Dialyseverfahren mit unterschiedlichen Membrantypen geben. (37) In dieser Diplomarbeit sollte der Einfluss der HD auf die Antibiotikatherapie mit Unasyn® bei Infektionen überprüft werden.

Im Unterschied zu den konzentrationsabhängigen Antibiotika wirken Penicilline zeitabhängig. Das heißt, die Plasma-Konzentration muss für eine Zeit lang über der MHK liegen, damit diese wirken können. (38) So besteht eine direkte Korrelation zwischen $T > \text{MHK}$ bei der Antibiotikatherapie. Je länger dieser Wert über der MHK liegt, desto effektiver ist die Therapie mit β -Lactamen. Die maximale Wirkung wird bei Penicillinen mit 50 % der $T > \text{MHK}$ erreicht. (39,40)

Die Untersuchung der sieben Patienten hat ergeben, dass die Ampicillin-Konzentration schon nach einer halben Stunde während einer HD stark reduziert war. Werden bei einzelnen Patienten die Ampicillin-Konzentrationen mit den MHK-Werten verglichen, so sieht man, dass die MHK für Enterobacteriaceae, Enterococcus spp. und negative Anaerobier unterschritten ist. Bei Streptococcus pneumoniae wird die MHK ebenfalls von Patient 5 unterschritten.

Die Werte von Patient 5 und 9 sind kurzzeitig unter der MHK (minimale Hemmkonzentration), was nach der Dialyse rasch ausgebessert wird. Daher werden auch Antibiotika im Nachhinein verabreicht, um zu vermeiden, dass durch die Dialyse zu viel entfernt wird. (41) Die von der EUCAST angegebenen MHK gelten nur in Kombination mit 4 mg/l Sulbactam. Daraus resultiert, dass Patient 16, der vor der Dialyse 9,69 mg/l und nach der Dialyse 7,21 mg/l hat, als einziger die 4 mg/l Sulbactam überschreitet.

Alle anderen Patienten unterschreiten diesen Wert, sowohl vor als auch nach der Dialyse. Hier wäre die antibakterielle Wirkung von Ampicillin für β -Lactamase produzierende Keime wie z.B. für Enterobacteriaceae, Enterococcus spp., gram-negative Anaerobier und Streptococcus pneumoniae aufgehoben, wenn keine weitere Dosis nach der Dialyse verabreicht worden wäre. (42) Bei β -Lactamantibiotika ist wie gesagt, die $t > \text{MHK}$ für die Behandlung ausschlaggebend. Dieser muss zwischen 50-60 % des Dosierintervalls über der MHK liegen. (43) Z.B. soll Amoxicillin statt 2g alle 4-6 Stunden nur noch 1g/24 Stunden bei Dialysepatienten verabreicht werden. (44) D.h. die Dosierung wird den besonderen Umständen der Dialyse angepasst.

Durch diese Diplomarbeit konnte gezeigt werden, dass durch die Hämodialyse 89,21 % von Ampicillin und 95,06 % Sulbactam eliminiert worden ist. In diesem Fall wird Unasyn® ausgewaschen, was die Applikation nach der Dialyse sinnvoll macht.

(41) Weil auch viele Keime unterschiedliche minimale Hemmkonzentrationen aufweisen, sollte man bei der Applikation des Arzneistoffes die patientenspezifischen Faktoren berücksichtigen, um zu starke Schwankungen der Konzentrationen zu vermeiden. Hier konnte gezeigt werden, dass durch die einheitliche Dosierung die Konzentrationen bei den einzelnen Patienten stark variiert haben.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Die Hämodialyse hat einen erheblichen Einfluss auf die Arzneistoffkonzentration im Blut. Um den Verlust auszugleichen, werden Supplementärdosen empfohlen. Inwieweit die Konzentration von Ampicillin und Sulbactam, die bei Infektionen in Kombination zum Einsatz kommen, beeinflusst wird, wurde anhand dieser Diplomarbeit untersucht. Dazu wurden Proben von 7 Hämodialysepatienten entnommen und die Pharmakokinetik von Ampicillin und Sulbactam, die als Infusion verabreicht worden ist, untersucht. Durch die Analyse von Plasma- und Dialysatproben, die während 7 aufeinanderfolgenden Dialysesitzungen gesammelt wurden, wurde mittels einer HPLC die Auswirkungen der Hämodialyse auf die Blutspiegel des Antibiotika Ampicillin und des Laktamasehemmers Sulbactam bestimmt.

Im Zuge dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Konzentration bei Ampicillin nach der Dialyse für Enterobacteriaceae, Enterococcus spp., negative Anaerobier und Streptococcus pneumoniae unter der MHK lag. Dies konnte auch für Sulbactam nachgewiesen werden. Hier wäre die antibakterielle Wirkung von Ampicillin gegen β -Lactamase produzierende Keime aufgehoben. Durch die Applikation der Dosen nach der Dialyse stellt dies einen temporären Effekt dar, was für die Antibiotika aus der Gruppe der Penicilline wenig ausmacht, denn diese müssen lediglich 50-60 % während eines Dosisintervalls über der MHK liegen. Patienten bei denen die Arzneistoffkonzentration kurzzeitig unter MHK lag, sind nur für einen Bruchteil des Dosierungsintervalls unter der MHK, was die 50-60 % weit übertrifft.

7 ABSTRACT

The spectrum for Unasyn® (Ampicillin with Sulbactam) encompasses gram-positive, gram-negative and anaerobes and is therefore used for many bacterial infections, e.g. for infections of the upper and lower respiratory tract, including infections of the sinuses and the middle ear.

Ampicillin is a β -lactam antibiotic which irreversibly blocks the transpeptidase which is essential for the synthesis of the murein layer. In order to work against β -lactamase producing germs Ampicillin is given in combination with Sulbactam which is a β -lactamase inhibitor.

The goal of this diploma thesis is evaluating the pharmacokinetic for Ampicillin and Sulbactam for dialysis patients. In order to achieve this, samples of 7 haemodialysis patients were taken on 7 successive dialysis treatments. A HPLC-device was used to measure the concentrations in the blood-samples and the dialysate.

Unasyn® (6 g) was dissolved in 250 ml NaCl 0,9% directly before application. It was then infused over a 30 minute time period.

After the first dialysis Unasyn® was applied without taking a blood-sample. Sampling started before the second haemodialysis treatment and after the infusion of Unasyn®. As soon as the haemodialysis started samples were taken at the following times: 0,5, 1, 2, 2,5 and 4 hours. Before application of the next Unasyn® dose another sample was taken. On the following dialysis treatment samples were only taken before dialysis, after dialysis and after the infusion.

Analyzing the samples showed that haemodialysis resulted in a high drug elimination. Through correct application after the dialysis the drug concentration

remained over the 50-60 % of $t > MIC$ which is the crucial border for β -lactam antibiotics and allows the antibacterial effect to be maintained.

8 LITERATURVERZEICHNIS

- 1 Nephro.at. (2016). OEDTR, Austrian Dialysis and Transplant Registry. [online] Available at: http://www.nephro.at/JB_all.htm [Accessed 21 Sep. 2016].
- 2 Mutschler, E., Thews, G., Schaible, H. and Vaupel, P. (2007). *Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen*. 1st ed. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges., pp.489-492.
- 3 Webster, A., Nagler, E., Morton, R. and Masson, P. (2016). Chronic Kidney Disease. *The Lancet*, November 22, 2016
- 4 Geberth, S. and Nowack, R. (n.d.). *Praxis der Dialyse*. 1st ed. pp.9-15.
- 5 R. Rosenkranz, A., Krisper, D. and Eller, D. (2016). *aerztezeitung*. [online] Available at: http://www.aerztezeitung.at/fileadmin/PDF/2015_Verlinkungen/21_State_Chronische_Niereninsuffizienz.pdf [Accessed 20 Sep. 2016].
- 6 AG, B. (2016). Schutz im Doppelpack-research-Das Bayer-Forschungsmagazin. [online] [Research.bayer.de](http://www.research.bayer.de). Available at: <http://www.research.bayer.de/de/medizin-der-zukunft-teil-2.aspx> [Accessed 22 Sep. 2016].
- 7 Altmeyer, P. and Hörl, W. (2004). *Dialyseverfahren in Klinik und Praxis*. 1st ed. Stuttgart [u.a.]: Thieme, pp.29-31.
- 8 Ji, E. and Kim, Y. (2016). Prevalence of chronic kidney disease defined by using CKD-EPI equation and albumin-to-creatinine ratio in the Korean adult population. *The Korean Journal of Internal Medicine*, 31(6), pp.1120-1130.
- 9 KDOQI Clinical Practice Guideline for Hemodialysis Adequacy: 2015 Update. (2015). *American Journal of Kidney Diseases*, 66(5), p.896.
- 10 Hunnius, C. and Ammon, H. (2004). *Hunnius Pharmazeutisches Wörterbuch*. 1st ed. Berlin [u.a.]: de Gruyter, p.1143.
- 11 Mizuno, M., Ito, Y., Tanaka, A., Suzuki, Y., Hiramatsu, H., Watanabe, M., Tsuruta, Y., Matsuoka, T., Ito, I., Tamai, H., Kasuga, H., Shimizu, H., Kurata, H., Inaguma, D., Hiramatsu, T., Horie, M., Naruse, T., Maruyama, S., Imai, E., Yuzawa, Y. and Matsuo, S. (2011). Peritonitis is still an important factor for withdrawal from peritoneal dialysis therapy in the Tokai area of Japan. *Clinical and Experimental Nephrology*, 15(5), pp.727-737.
- 12 Hirslanden-bibliothek.ch. (2016). Dialyse – Wissenswertes zum Wann und Wie - Hirslanden Bibliothek. [online] Available at: <http://www.hirslanden-bibliothek.ch/themen/artikel/article/dialyse-wissenswertes-zum-wann-und-wie/> [Accessed 22 Sep. 2016].
- 13 Franz, H. (1985). *Blutreinigungsverfahren, Technik und Klinik*. Stuttgart: Thieme, p.1-12.

- 14 Nakamura-Taira, N., Muranaka, Y., Miwa, M., Kin, S. and Hirai, K. (2012). Views of Japanese patients on the advantages and disadvantages of hemodialysis and peritoneal dialysis. *International Urology and Nephrology*, 45(4), pp.1145-1158.
- 15 De.wikipedia.org. (2016). Dialyse. [online] Available at: <https://de.wikipedia.org/wiki/Dialyse> [Accessed 31 Jul. 2016].
- 16 Altmeyer, P. and Hörl, W. (2004). *Dialyseverfahren in Klinik und Praxis*. 1st ed. Stuttgart [u.a.]: Thieme, pp.37-49.
- 17 Botella, J., Ghezzi, P. and Sanz-Moreno, C. (2000). Adsorption in hemodialysis. *Kidney International*, 58, pp.S60-S65..
- 18 Feichter, M. (2016). Dialyseverfahren - Hämodialyse - NetDoktor.de. [online] Netdoktor.de. Available at: <http://www.netdoktor.de/therapien/dialyse/haemodialyse/> [Accessed 22 Sep. 2016].
- 19 Hepp, W., Koch, M., Könner, K., Milchsack, M., Silomon, J. and Keller, F. (2009). *Dialyses hunts*. 1st ed. [Heidelberg]: Steinkopff, pp.25-42.
- 20 Khodayar Oshvandi, Mahmoud Gholyaf (2014): „High-Flux and Low-Flux Membranes: Efficacy in Hemodialysis“. In: *Nursing and Midwifery Studies*. 3 (3).
- 21 Geberth, S. and Nowack, R. (n.d.). *Praxis der Dialyse*. 1st ed. pp.37-39.
- 22 Rafailidis, P., Ioannidou, E. and Falagas, M. (2007). Ampicillin/Sulbactam. *Drugs*, 67(13), pp.1829-1849
- 23 Kanra, G. (2002). Experience with Ampicillin/Sulbactam in Severe Infections. *Journal of International Medical Research*, 30(1 Suppl), pp.20A-30A.
- 24 Sader, H. and Jones, R. (2005). Comprehensive in vitro evaluation of cefepime combined with aztreonam or ampicillin/sulbactam against multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 25(5), pp.380-384.
- 25 Freissmuth, M., Offermanns, S. and Böhm, S. (2010). *Pharmakologie und Toxikologie*. 1st ed. Berlin: Springer Berlin, pp.641-648.
- 26 Akova, M. (2008). Sulbactam-containing β -lactamase inhibitor combinations. *Clinical Microbiology and Infection*, 14, pp.185-188.
- 27 Bush, K. and Jacoby, G. (2009). Updated Functional Classification of β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(3), pp.969-976.
- 28 Theuretzbacher, U. (1998). Beta-Lactamasen und Beta-Lactamase- Inhibitoren, *Chemotherapie Journal*, 7 (4), pp. 136-142
- 29 <http://www.pharmazie.com/graphic/A/08/1-31708.pdf> (2016)
- 30 <http://www.pharmazie.com/graphic/A/23/1-31423.pdf> (2016)
- 31 Corbella, X., Ariza, J., Ardanuy, C., Vuelta, M., Tubau, F., Sora, M., Pujol, M. and Gudiol, F. (1998). Efficacy of sulbactam alone and in combination with ampicillin in nosocomial infections caused by multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 42(6), pp.793-802

- 32 Higgins, P., Wisplinghoff, H., Stefanik, D. and Seifert, H. (2004). In Vitro Activities of the β -Lactamase Inhibitors Clavulanic Acid, Sulbactam, and Tazobactam Alone or in Combination with β -Lactams against Epidemiologically Characterized Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Strains. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(5), pp.1586-1592
- 33 Chamberlain, A., White, S., Bawdon, R., Thomas, S. and Larsen, B. (1993). Pharmacokinetics of ampicillin and sulbactam in pregnancy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 168(2), pp.667-673.
- 34 Keller, C. and Burkarth, C. (2002). *Praxis der Nephrologie*. 1st ed. Berlin [u.a.]: Springer, p.465.
- 35 Kraus, M., Kansal, S., Copland, M., Komenda, P., Weinhandl, E., Bakris, G., Chan, C., Fluck, R. and Burkart, J. (2016). Intensive Hemodialysis and Potential Risks With Increasing Treatment. *American Journal of Kidney Diseases*, 68(5), pp.S51-S58.
- 36 Hepp, W., Koch, M., Könner, K., Milchsack, M., Silomon, J. and Keller, F. (2009). *Dialyseseshunts*. 1st ed. [Heidelberg]: Steinkopff, p.46.
- 37 a. o. Univ.-Prof. Dr. Thalhammer, F. (2016). *ANTIBIOTIKA MONITOR - 6/99 - Antibiotika bei Nierenersatzverfahren*. [online] Antibiotikamonitor.at. Available at: http://www.antibiotikamonitor.at/6_99/6_99_2.htm [Accessed 21 Nov. 2016].
- 38 Sörgel, F., Höhl, R., Glaser, R., Stelzer, C., Munz, M., Vormittag, M., Kinzig, M., Bulitta, J., Landersdorfer, C., Junger, A., Christ, M., Wilhelm, M. and Holzgrabe, U. (2016). Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Antibiotika in der Intensivmedizin. *Medizinische Klinik - Intensivmedizin und Notfallmedizin*, 24.10.2016, pp. 1-12.
- 39 Abdul-Aziz, M., Lipman, J., Akova, M., Bassetti, M., De Waele, J., Dimopoulos, G., Dulhunty, J., Kaukonen, K., Koulenti, D., Martin, C., Montravers, P., Rello, J., Rhodes, A., Starr, T., Wallis, S. and Roberts, J. (2015). Is prolonged infusion of piperacillin/tazobactam and meropenem in critically ill patients associated with improved pharmacokinetic/pharmacodynamic and patient outcomes? An observation from the Defining Antibiotic Levels in Intensive care unit patients (DALI) cohort. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(1), pp.196-207..
- 40 Cho, J., Fiorenza, M. and Estrada, S. (2015). Ceftolozane/Tazobactam: A Novel Cephalosporin/ β -Lactamase Inhibitor Combination. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 35(7), pp.701-715.
- 41 Davies, B., Boon, R., Horton, R., Reubi, F. and Descoedres, C. (1988). Pharmacokinetics of amoxicillin and clavulanic acid in haemodialysis patients following intravenous administration of Augmentin. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 26(4), pp.385-390
- 42 Lehner, S., Grabein, B., Pfaller, P. and Kopp, R. (2009). Bedeutung ESBL-produzierender Keime für die klinische Chirurgie. *Der Chirurg*, 80(6), pp.527-536.
- 43 En.wikipedia.org. (2016). *Ampicillin/sulbactam*. [online] Available at: <https://en.wikipedia.org/wiki/Ampicillin/sulbactam> [Accessed 9 Nov. 2016].

-
- 44 Weisser, M., Haschke, M. and et al., (2012). [online] Available at: http://www.uhbs-international.ch/fileadmin/unispitalbaselch/Bereiche/Medizin/Infektiologie_Spitalhygiene/Pocket_Guides_und_Richtlinien/AntiInfektiva_bei_schweren_Infektionen_auf_der_Intensivstation_Guidelines_zur_Dosierung_bei_NI_H%C3%A4modialyse_H%C3%A4mofiltration_-_7_5_12.pdf [Accessed 11 Nov. 2016].