

**Aus der Abteilung Pneumologie I
- Infektiologie und Immunologie -
HELIOS Klinikum Emil von Behring
Akademisches Lehrkrankenhaus der Charité Universitätsmedizin Berlin**

DISSERTATION

**Ertapenem: Einzeldosis- und Steady-State-Pharmakokinetik sowie Einfluss auf
die Stuhlflora nach multipler Gabe bei 10 gesunden Probanden - ein Vergleich zu
Ceftriaxon**

Zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

Vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Mareike Rau
aus Berlin

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. H. Lode
2. Prof. Dr. med. A. C. Rodloff
3. Priv.-Doz. Dr. med. H.-D. Orzechowski

Datum der Promotion: 30. Januar 2009

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen	I
1 Einleitung	1
1.1 Historisches	1
1.1.1 Wirkmechanismus von β -Laktam-Antibiotika	2
1.2 Prüfsubstanzen	2
1.2.1 ERTAPENEM	2
1.2.1.1 <i>Chemische Struktur</i>	2
1.2.1.2 <i>Wirkmechanismus</i>	3
1.2.1.3 <i>Antimikrobielle Aktivität</i>	3
1.2.1.4 <i>Klinische Anwendung</i>	4
1.2.2 CEFTRIAXON	4
1.2.2.1 <i>Chemische Struktur</i>	4
1.2.2.2 <i>Wirkmechanismus</i>	5
1.2.2.3 <i>Antimikrobielle Aktivität</i>	5
1.2.2.4 <i>Klinische Anwendung</i>	6
1.3 Problem und Fragestellung	6
2 Probanden, Material und Methoden	8
2.1 Studiendesign	8
2.1.1 Pharmazeutische Zubereitung und Darreichungsformen	8
2.2 Probanden	9
2.2.1 Labordiagnostische Untersuchungen	9
2.2.2 Einschlusskriterien	10
2.2.3 Ausschlusskriterien	11
2.3 Gewinnung des Untersuchungsmaterials	11
2.3.1 Blutproben	11
2.3.2 Urinproben.....	13
2.3.3 Stuhlproben	14
2.4 Methodik	14
2.4.1 Agardiffusionsverfahren	14
2.4.1.1 <i>Prinzip der Methode</i>	14
2.4.1.2 <i>Material</i>	15
2.4.1.3 <i>Reagenzien und Lösungen</i>	15
2.4.2. Praktische Durchführung.....	16
2.4.2.1 <i>Herstellen der Agarplatten</i>	16
2.4.2.2 <i>Einbringung der Proben und Inkubation</i>	17
2.4.2.3 <i>Auswertung</i>	19
2.4.2.4 <i>Standardlösungen</i>	20
2.4.2.5 <i>Vorversuche</i>	21
2.4.2.6 <i>Hauptversuche</i>	23
2.4.2.7 <i>Überprüfung der Messgenauigkeit</i>	24
2.4.3 Massenspektrometrie	25
2.4.3.1 <i>Prinzip der Methode</i>	25
2.4.3.2 <i>Materialien</i>	28
2.4.3.3 <i>Praktische Durchführung</i>	28
2.4.3.4 <i>Analytische Zuverlässigkeit der Methode</i>	29
2.4.4 Stuhlprobenanalyse	30
2.4.4.1 <i>Auswertung der Stuhlprobenanalysen</i>	31

3 Pharmakokinetik	33
3.1 Pharmakokinetische Grundbegriffe.....	33
3.2 Nicht-kompartimentelle Analyse.....	34
4 Statistische Berechnungen	35
4.1 Geschlechtsspezifische Unterschiede	36
4.2 Berechnung der Stuhlflora	37
5 Ergebnisse	38
5.1 Methodenvergleich.....	38
5.2 Pharmakokinetik	40
5.2.1 Ertapenem.....	40
5.2.2 Ceftriaxon	43
5.2.3 Geschlechtsspezifische Unterschiede	44
5.3 Mikrobiologische Ergebnisse.....	45
5.3.1 Einfluss von Ertapenem auf die intestinale Mikroflora	46
5.3.2 Einfluss von Ceftriaxon auf die intestinale Mikroflora	48
5.4 Verträglichkeit	48
6 Diskussion	50
6.1 Diskussion der Methoden.....	50
6.1.1 Bioassay.....	50
6.1.2 Massenspektrometrie.....	50
6.1.3 Methodenvergleich Bioassay/Massenspektrometrie.....	51
6.2 Pharmakokinetik	52
6.2.1 Pharmakokinetik von Ertapenem	53
6.2.2 Pharmakokinetik von Ceftriaxon	55
6.2.3 Vergleich von Ertapenem und Ceftriaxon	56
6.3 Mikrobiologische Veränderungen.....	58
6.3.1 Ertapenem.....	58
6.3.2 Ceftriaxon	59
6.4 Verträglichkeit	59
7 Zusammenfassung	62
8 Literaturverzeichnis	65
9 Tabellenanhang	72
Danksagung	88
Erklärung	89

Abkürzungen

Abb.	Abbildungen
ALAT	Alaninaminotransferase
AmpC	Typ-I Cephalosporinase
AP	Alkalische Phosphatase
Art.-Nr.	Artikelnummer
ASAT	Aspartataminotransferase
BMI	Body mass index
BSG	Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
C	Konzentration
ca.	cirka
Ch.Nr.	Chargennummer
cm	Zentimeter
CRP	C reaktives Protein
d.h.	das heißt
ED	Einzeldosis
EKG	Elektrokardiogramm
ESBL	Extended-Spectrum Beta-Lactamase
Fa.	Firma
g	Gramm
GB	Groß Britanien
ggf.	gegebenenfalls
GGT	Gammaglutamyltransferase (γ-GT)
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
h	Stunde
Hb	Hämoglobin
HIV	Humanes Immunodefizienz Virus
HPLC	Hochleistungs-Flüssigchromatographie
I.E.	Internationale Einheiten

i.v.	intravenös
k	konstante
kg	Kilogramm
KOF	Körperoberfläche
l	Liter
LC-MS/MS	Flüssigkeitschromatigraphie-Tandem-Massenspektrometrie
M	Masse
µg	Mikrogramm
mg	Milligramm
MIC	Minimale Hemmkonzentration
min	Minute
µL	Mikroliter
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mM	Millimol
MRSA	Methicillin-resistenter Staphylokokkus aureus
MRT	mittlere Verweildauer (Mean Residence Time)
NaCl	Natrium Chlorid
Nr.	Nummer
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PBP	Penecillinbindene Proteine
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
PPN	Polypropylen
p.o.	per os, peroral
Prob.	Probanden
PTT	Partielle Thromboplastinzeit
S	Sekunde
s.	siehe
SD	Standardabweichung
SS	Steady-State
spp.	Species
t	Zeit
Tab.	Tabelle

TPZ (PTZ)

VK

ZNS

Tromboplastinzeit

Variationskoeffizient

Zentralnervensystem

1 Einleitung

1.1 Historisches

Die Möglichkeit der antibiotischen Behandlung von Infektionen ist eine der bedeutendsten Errungenschaften der Medizin im 20. Jahrhundert. Den von Paul Ehrlich (1822 – 1915) 1906 geprägten Begriff der Chemotherapie leitete dieser im Wesentlichen aus den von Louis Pasteur (1822-1895) und Robert Koch (1843-1910) Ende des 19. Jahrhunderts neu entdeckten Krankheitsursachen und den Prinzipien einer antiinfektiösen Arzneimitteltherapie ab (28). 1913 veröffentlichte Ehrlich diese als monokausale, spezifisch gegen den Erreger gerichtete Therapie und definierte sie als Chemotherapie. Er wies jedoch bereits zum damaligen Zeitpunkt auf mögliche Probleme der Selektion und Resistenzentwicklung dieser Therapieform hin (28).

Hatte Ehrlich 1909 das gegen Syphilis wirksame Medikament Salvarsan® (1) entdeckt, wurde der endgültige Durchbruch bei der wirksamen Bekämpfung von Infektionskrankheiten mit der Entdeckung der Sulfonamide 1935 durch Domagk erreicht (26).

Nach der Entdeckung des Penicillins 1929 durch Alexander Fleming (30) und der durch H.W.Florey (31) und E. Chain 1940 entwickelten Möglichkeit, größere Mengen davon aus Kulturfiltraten des Schimmelpilzes *Penicillium notatum* herzustellen (15), kam der Chemotherapie eine immer größere Bedeutung zu. Doch erst die Weiterentwicklung der antibiotischen Therapie und deren Nutzung im 2. Weltkrieg führten zu einer unaufhaltsamen Entwicklung und Erforschung neuer Antibiotika.

1945 folgte die Entdeckung und Isolierung von Streptomycin und etwas später die Entdeckung der Cephalosporine, 1952 der Makrolide, 1953 der Tetracycline und 1962 der Chinolone. 1976 schließlich wurden Carbapeneme erstmals beschrieben und 1985 in Form von Imipenem in den USA zugelassen (12, 21).

1.1.1 Wirkmechanismus von β -Laktam-Antibiotika

Die Gruppe der β -Laktam-Antibiotika gehört mit zu den wichtigsten der antibakteriellen Antinfektiva. Sie alle weisen als Grundstruktur einen viergliedrigen β -Lactam-Ring auf (Abb. 1-1). Ihr Wirkungsmechanismus ist prinzipiell gleich und sie hemmen die Peptidoglykansynthese in der Bakterienzellwand. Unterschiede in der Wirksamkeit begründen sich vor allem durch differente Affinität und Penetrationsfähigkeit durch die Bakterienzellmembran sowie die β -Lactamase-Festigkeit (69).

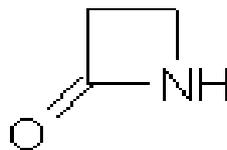


Abb. 1-1 β -Lactam-Ring

1.2 Prüfsubstanzen

1.2.1 ERTAPENEM

Ertapenem gehört zur Gruppe der Carbapeneme, die in den 70er Jahren erstmals beschrieben und 1985 in Form von Imipenem zugelassen wurden. Da Imipenem eine hohe Empfindlichkeit gegenüber der renalen Dehydropeptidase-I des Menschen aufweist, muss es mit Cilastatin, einem Dehydropeptidase-I-Hemmer, kombiniert werden. Es folgte die Entwicklung von Meropenem, welches 1996 in den USA zugelassen wurde und gegen die Dehydropeptidase-I resistent ist. Das 2001 in den USA und 2002 in Europa zugelassene Ertapenem war zu diesem Zeitpunkt die neueste Entwicklungsstufe der Carbapeneme (21).

1.2.1.1 Chemische Struktur

Ertapenem ist ein parenterales 1 β Methyl-Carbapenem, das strukturell dem Vorgänger Meropenem ähnelt (siehe Abb. 1-2 und Abb. 1-3), beide sind durch die 1 β -Methylgruppe resistent gegen die renale Dehydropeptidase-I des Menschen (69). Die anionische Benzoat-Seitenkette verändert beim Ertapenem die gesamte molekulare Ladung der Verbindung, woraus sich die hohe Proteinbindung und somit auch die ver-

längere Halbwertszeit von vier bis fünf Stunden erklärt. Daher muss es nur einmal täglich intravenös verabreicht werden (21).

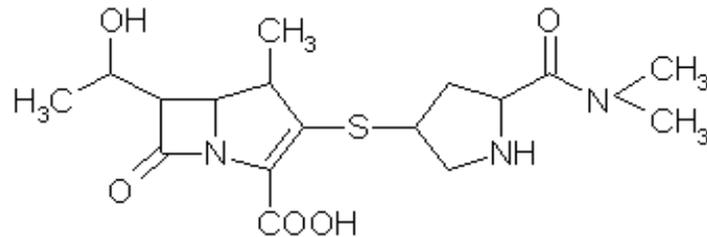


Abb. 1-2 Strukturformel von Meropenem

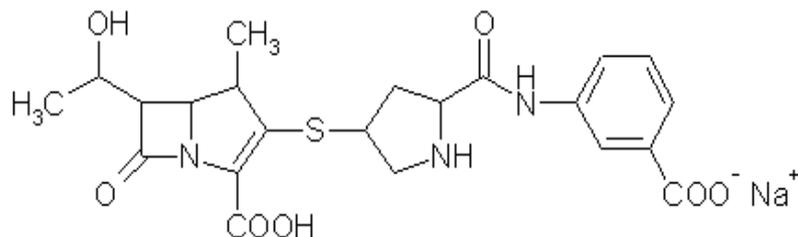


Abb. 1-3 Strukturformel von Ertapenem

1.2.1.2 Wirkmechanismus

Ertapenem wirkt bakterizid auf proliferierende Keime durch Blockade der Zellwandsynthese der Bakterien. Dies erfolgt durch Bindung an Penicillin-bindende Proteine (PBP). Besonders ausgeprägt ist diese Bindung an die PBP 1a, 1b, 2, 3, 4 und 5 von *E. coli*. Die höchste Affinität besteht dabei zu PBP 2 und PBP 3 (21). Hinsichtlich des PBP 2 besteht eine ähnliche Potenz wie bei Imipenem und eine 30-fache Potenz im Vergleich zu Ceftriaxon. Bezüglich PBP 3 ist die Potenz ähnlich der von Ceftriaxon, jedoch 60-fach so hoch wie die von Imipenem (12).

1.2.1.3 Antimikrobielle Aktivität

Ertapenem ist ein Breitspektrumantibiotikum, welches *in vitro* sowohl gegen grampositive und gramnegative Bakterien, sowie anaerobe Keime einschließlich *Bacteriodes fragiles* aktiv ist (68, 75). Schwächer wirksam ist Ertapenem gegen Streptokokken, Staphylokokken und Non-Fermenter sowie *Pseudomonas* und *Acinetobacter* Spezies

oder MRSA. Es ist nicht geeignet für den Einsatz gegen atypische Bakterien wie Legionellen, Mykoplasmen oder Chlamydien (12, 68, 75). Ertapenem zeigt hohe Stabilität gegen fast alle β -Laktamasen einschließlich ESBLs und/oder AmpC-Typen mit Ausnahme von Metallo- β -Laktamasen (12, 22, 68).

1.2.1.4 Klinische Anwendung

Ertapenem (Invanz®) findet in der Klinik Verwendung bei erwachsenen Patienten mit milden bis schweren Infektionen wie komplizierten intraabdominellen Infektionen, komplizierten Haut- und Weichteilinfektionen, komplizierten Fußinfektionen bei diabetischen Patienten ohne Osteomyelitis, ambulant erworbenen Pneumonien, komplizierten urologischen Infektionen einschließlich Pyelonephritis, akuten Beckeninfektionen wie postpartaler Endomyometritis, septischem Abort oder postoperativen Infektionen in der Gynäkologie (12, 21, 68). Des Weiteren wurde Ertapenem 2006 als prophylaktisches Mittel zur Vermeidung von Wundinfektionen bei elektiven chirurgischen Eingriffen im kolorektalen Bereich zugelassen (12). Aufgrund seines antimikrobiellen Spektrums ist Ertapenem eher für ambulant als nosokomial erworbene Infektionen anwendbar (68).

1.2.2 CEFTRIAXON

Ceftriaxon (Rocephin©) gehört zu den Breitspektrumcephalosporinen oder auch Cephalosporinen der 3. Generation (3a) und wurde 1983 in Deutschland zugelassen. Als Teil der Cefotaxim-Gruppe zeigt es ein erweitertes Spektrum und eine stärkere antibakterielle Aktivität als die Cephalosporine der 1. und 2. Generation.

1.2.2.1 Chemische Struktur

Als ein Cephalosporin gehört Ceftriaxon (Abb. 1-5) zu den bicyklischen β -Lactam-Antibiotika mit naher Verwandtschaft zu den Penicillinen und besteht aus einem Dihydrodiazinring und einem β -Laktamring (Abb. 1-4). Durch Substitution an R1 (siehe Abb. 1-4) entsteht ein Teil der Muttersubstanz (Cefotaxim) der Breitspektrumcephalosporine. Durch Substitution an R2 (siehe Abb. 1-4) wird die Pharmakokinetik des jeweiligen Cephalosporins dieser Gruppe verändert, die Aktivität bleibt jedoch erhalten (69).

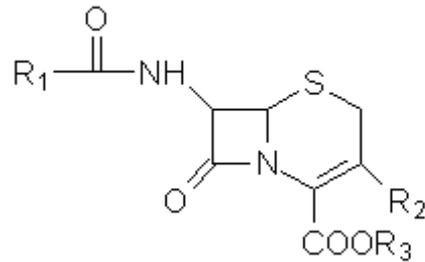


Abb. 1-4 Grundgerüst der Cephalosporine

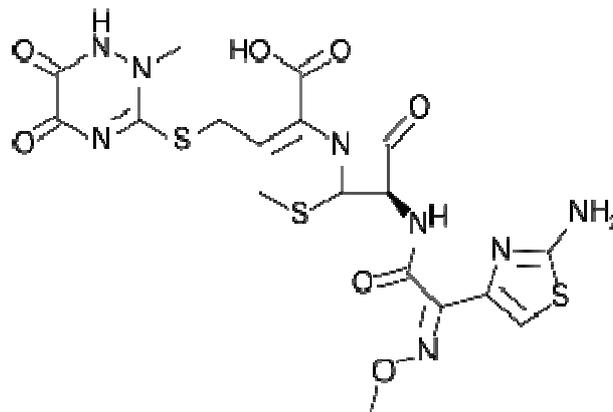


Abb. 1-5 chemische Struktur von Ceftriaxon

1.2.2.2 Wirkmechanismus

Ceftriaxon wirkt wie auch Ertapenem bakterizid auf proliferierende Keime durch Hemmung der Zellwandsynthese der Bakterien. Dies erfolgt durch Bindung an Penicillin-bindende Proteine (PBP).

1.2.2.3 Antimikrobielle Aktivität

Ceftriaxon hat ein sehr breites Wirkungsspektrum mit einer ausgeprägten antibakteriellen Aktivität gegenüber gramnegativen Bakterien. Gute Wirksamkeit zeigt es gegen *Hämophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, Streptokokken, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, Gonokokken, Meningokokken sowie Salmonellen, Shigellen, Anaerobier (außer *B. fragilis*) und zusätzlich *Morganella* und *Serratia*(16). Im Vergleich zu den Cephalosporinen der 1. und 2. Generation ist seine Aktivität gegenüber Staphylokokken vergleichsweise schwächer und es zeigt keine zusätzliche *Pseudomonas*-Wirksamkeit (78). Klinisch muss jedoch beachtet werden, dass die Wirksamkeit gegen Enterokokken

(*Str. faecalis*) und *Pseudomonas* spp. unzureichend ist und bis zu 30% der Enterobacter- und *Serratia* Stämme resistent sind (44).

1.2.2.4 Klinische Anwendung

Zur klinischen Anwendung kommt Ceftriaxon bei vielen schweren bakteriellen Erkrankungen. Dazu gehören neben Atemwegs-, Urogenital-, Haut-, Weichteilgewebe-, Knochen-, Gelenk-, ZNS- und Bauchrauminfektionen auch Sepsis, perioperative Prophylaxe sowie Infektionsprophylaxe bei Abwehrschwäche (63, 78).

1.3 Problem und Fragestellung

Die Entwicklung neuer Medikamente erfordert umfangreiche wissenschaftliche Untersuchungen, um die Wirksamkeit, Verträglichkeit und optimale Dosierung herauszufinden. In der heutigen Zeit gehört die Pharmakokinetik zu den Grundpfeilern der Arzneimittellwissenschaften. Sie ist notwendig, um das optimale Dosierungsschema eines Arzneimittels zu ermitteln. Eine zu geringe Dosierung kann unwirksam, eine zu hohe dagegen toxisch sein (24). Daher ist es wichtig und notwendig, die genauen pharmakokinetischen Daten eines Medikamentes zu kennen, um optimierte Behandlungsschemata zu erzielen.

Zu den häufigen unerwünschten Wirkungen von Antibiotika gehören Störungen des gastrointestinalen Systems, zum Beispiel in Form von Diarrhoe. Die normale Mikroflora des Darmes dient als Barriere gegen die Kolonisation von potentiell pathogenen Keimen und gegen das übermäßige Wachstum von bereits vorhandenen opportunistischen Keimen. Das Wachstum dieser opportunistischen Keime zu kontrollieren nennt man Kolonisationsresistenz. Durch die Gabe von Antibiotika im therapeutischen oder auch prophylaktischen Bereich kommt es zur Störung und Verschiebungen der ökologischen Balance zwischen dem Wirt und der normalen Mikroflora (71).

Dies wiederum kann zu Resistenzentwicklungen in der normalen Mikroflora des Darmes führen, und es kommt unter Umständen zur Überwucherung durch Mikroorganismen wie Pilze, die eine systemische Infektion bei immunabwegeschwächten Patienten hervorrufen können oder durch *Clostridium difficile*, welches Diarrhoe und toxische Colitis bewirkt. Es wird davon ausgegangen, dass diese induzierten Resistenzen sich

bei Breitspektrumantibiotika mit langer Halbwertszeit und bei Substanzen mit hoher intestinaler Exkretion häufiger bilden, da sie nach Ende der Therapie meist noch länger subinhibitorisch wirken.

Ziel dieser Studie war es, die pharmakologischen Eigenschaften des neuen Breitspektrumantibiotikums Ertapenem zu untersuchen, da die Datenlage hierzu noch gering war (21, 32, 45, 55). Außerdem wurde sein Einfluss auf die intestinale Mikroflora untersucht und das Ergebnis mit Ceftriaxon verglichen.

Ceftriaxon wurde als Vergleichsmedikament gewählt, da es aufgrund seiner antimikrobiellen Eigenschaften und seiner Halbwertszeit sowie der klinischen Anwendung Ertapenem sehr ähnlich ist. Die pharmakokinetischen Eigenschaften (8, 10, 18, 52, 66, 67, 86) sowie der Einfluss auf die Mikroflora (4, 5, 13, 36, 46, 52, 83) wurden bereits mehrfach untersucht.

Es bestanden folgende Fragestellungen:

1. Wie verhält sich das pharmakokinetische Profil von Ertapenem in der Einzeldosis und im Steady-State, gemessen mit zwei validierten Methoden, der LC-MS/MS und dem Bioassay, im Vergleich zu Ceftriaxon? Sind die Methoden gleichwertig?
2. Welchen Einfluss hat Ertapenem auf die intestinale Mikroflora des Darmes im Vergleich zu Ceftriaxon?

Das Studienprotokoll mit diesen Fragestellungen wurde von der Ethikkommission der Freien Universität Berlin am 24.10.2002 genehmigt und vom Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) zur klinischen Prüfung zugelassen.

2 Probanden, Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Bei der vorliegenden Studie handelte es sich um eine offene, randomisierte, Crossover-Studie, welche die Pharmakokinetik von Ertapenem (INVANZ[®]), Ch.-B. 0615740 und Ceftriaxon (ROCEPHIN[®]), Ch.-B. B123803/05 nach einmaliger und multipler intravenöser Applikation untersuchte. Des Weiteren wurde der Einfluss der beiden Antibiotika auf die intestinale Mikroflora bei 10 gesunden Probanden untersucht.

2.1.1 Pharmazeutische Zubereitung und Darreichungsformen

Behandlung A: Ertapenem 1 g in 40 ml 0,9% NaCL
Tag 1-7: eine Lösung i.v. morgens

Behandlung B: Ceftriaxon 2 g in 50 ml 0,9% NaCL
Tag 1-7: eine Lösung i.v. morgens

Die Infusion erfolgte über einen Zeitraum von 30 min und wurde gemäß der Aufstellung in Tab. 2-1 randomisiert durchgeführt.

	1. Periode	2. Periode
01 TH	A	B
02 ON	A	B
03 DU	B	A
04 BJ	A	B
05 CC	B	A
06 CP	B	A
07 SH	A	B
08 KB	A	B
09 KL	B	A
10 AJ	B	A

Tab. 2-1 Randomisierung der Probanden

Zur Infusion wurden folgende Materialien verwendet:

- NaCL 0,9 % Infusionslösung (Delta-Pharma GmbH, 72793 Pfullingen)
- Infusomat (Fa. Braun, Melsungen, Art.Nr. 8700036)

Die Auswaschphase nach erfolgter Arzneimittelgabe betrug vier Wochen. Der genaue Zeitplan ist aus Tab. 9-1 im Anhang ersichtlich.

2.2 Probanden

An der Studie nahmen 10 gesunde, kaukasische Probanden (5 Männer und 5 Frauen) zwischen 25 und 40 Jahren teil. Die Einzeldaten sowie Durchschnitts- und Medianwerte für Alter, Körpergewicht, Größe, Körperoberfläche und Kreatinin-Clearance sind in Tab. 9-2 im Anhang dargestellt. Während der gesamten Studie änderte sich das Probandenkollektiv nicht.

Alle Probanden wurden vor der Studie in einem ausführlichen Aufklärungsgespräch über Grund, Art und Umfang der Untersuchungen, die erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen und möglichen Risiken aufgeklärt. Eine schriftliche Einverständniserklärung wurde unterzeichnet. Vor den Versuchen wurden alle Probanden einer ärztlichen Untersuchung (Aufnahmeprotokoll Tab. 9-3 im Anhang), einem ausführlichen Laborprogramm sowie einer EKG-Kontrolle unterzogen.

Die Ergebnisse der Voruntersuchungen waren bei keinem der Probanden pathologisch (Tab. 9-4 im Anhang). Einen Hinweis auf Arzneimittelallergien, insbesondere auf die Studienmedikationen, gab es anamnestisch nicht.

2.2.1 Labordiagnostische Untersuchungen

Untersuchung von Serum und Vollblut:

Natrium, Kalium, Glucose, Kreatinin, Billirubin, Eisen, CRP, AP, Amylase, ALAT (GPT), ASAT (GOT), Gamma GT, Gesamtprotein, Quick (TPZ), PTT (PTZ), Blutbild mit Differentialblutbild, Hepatitis B, C- und HIV-Serologie.

Der Urin wurde wie folgt untersucht:

Urinstatus und Sediment, Drogenanalytik (Fa. von Minden GmbH, Moers, Deutschland) Schwangerschaftstest (Fa. VIVA Diagnostika, Köln, Deutschland) bei den weiblichen Probanden, 24 Stunden Sammelurin zur Bestimmung des Kreatinins im Urin und zur nachfolgenden Bestimmung der Kreatinin-Clearance.

2.2.2 Einschlusskriterien

- Alter zwischen 18 und 40 Jahren
- Gute Gesundheit bezogen auf Krankheitsgeschichte, Anamnese und Vitalparameter (Herzfrequenz, Blutdruck, Körpertemperatur)
- Das Körpergewicht musste innerhalb von 25 % um den idealen BMI (Body mass index) liegen
- Frauen im gebärfähigen Alter wurden mit einem Gonadotropin- Schwangerschaftstest untersucht und mussten während sowie 72 Stunden nach Medikamentengabe adäquate Verhütungsmittel neben oralen Antikontrazeptiva benutzen
- Probanden mussten die Instruktionen verstehen, ihnen folgen können und in der Lage sein, für den gesamten Zeitraum der Studie zur Verfügung zu stehen
- Die Einverständniserklärung musste am Tag des Studienbeginns unterschrieben worden sein
- Des Weiteren wurden eine Blut- und Urinanalyse für das Sicherheitslabor vorgenommen

2.2.3 Ausschlusskriterien

- Bekannte Überempfindlichkeiten, starke Allergien oder Medikamentenunverträglichkeiten
- Bekannte Überempfindlichkeiten oder Allergien gegen eine der Studienmedikationen
- Mehr als 15 Zigaretten und/oder 60 g Alkohol pro Tag
- Positiver Drogen und/oder Schwangerschaftstest
- Durchfall oder konsistenzverminderter Stuhlgang beim Studieneintritt
- Kurz zurückliegende Krankenhausaufenthalte (Elimination von Probanden mit resistenten Erregern)
- Nachweis von: Hepatitis B, C oder HIV
- Antibiotikaeinnahme innerhalb eines Monats vor Studieneintritt
- Medikamenteneinnahme innerhalb einer Woche vor Studieneintritt
- Eine zerebrale, kardiovaskuläre, respiratorische, immunologische, hämatologische, gastrointestinale, hepatische, renale oder andere Erkrankung in der Anamnese, die eine ärztliche Behandlung erforderte

2.3 Gewinnung des Untersuchungsmaterials

2.3.1 Blutproben

Material

- Hautdesinfektionsmittel, Neo-Kodan (Fa. Schülke & Mayr, Nordeerstedt)
- Venenverweilkanüle, 18 G (Fa. Braun, Melsungen)
- Mandrin, 18 G (Fa. Braun, Melsungen)
- Einmalkanüle, 2 ml und 10 ml (Fa. Braun, Melsungen)
- Butterfly (Fa. Braun, Melsungen)
- Lithium-Heparin-Monovetten 9ml (Fa. Sarstedt Nümbrecht, No 02.1065)
- PPN-Röhrchen, 15 ml steril (Fa. Greiner, Nürtingen)
- PPN-Röhrchen, 5 ml steril (Fa. Greiner, Nürtingen)
- Zentrifuge, Minifuge RF (Fa. Heraeus Sepatech, Osterode)
- MES, $C_6H_{13}NO_4S$, pH 6,0, (Fa. Roth, Karlsruhe, Art. 4256.2)
- Aceton, Krankenhaus Heckeshorn/Zehlendorf, Apotheke
- Ethylenglycol, $M = 62,07g/mol$ (Fa. Merck, Ch.Nr. K30050521)

- Sörensenpuffer: Mischung aus Lösung 1 und Lösung 2 im Verhältnis 88 ml zu 12 ml und Einstellung auf pH 6,0 mit 1 N NaOH und 1 N HCL (Fa. Merck)

-Lösung 1:

KH ₂ PO ₄ (Fa. Merck, Darmstadt)	9,078	g
Aqua destillata (Fa. Braun, Melsungen)	1000,0	ml

-Lösung 2:

Na ₂ HPO ₄ + 2H ₂ O (Fa. Merck)	11,876	g
Aqua destillata (Fa. Braun)	1000,0	ml

Probenentnahme und Probenverarbeitung

An den Versuchstagen wurde jedem Probanden eine Verweilkanüle gelegt und so die Blutproben gewonnen. Dabei wurden für Ceftriaxon das Serum per Serummonovette und für Ertapenem das Plasma per Lithium-Heparinmonovette entnommen.

Blutentnahme in der Zeit vor und nach Infusionsende:

Zeit in Stunden	-0,5	0	0,5	1	1,5	2	3	4	6	8	12	24
-----------------	------	---	-----	---	-----	---	---	---	---	---	----	----

Tab. 2-2

Die Blutproben wurden dann bei 4°C zentrifugiert und in ein steriles Röhrchen mit folgender Verdünnung eingefüllt:

Ceftriaxon: Das Serum wurde 1:20 mit Sörensenpuffer pH 6,0 verdünnt und auf einen pH von 5,9 eingestellt, anschließend wurden Aliquots erstellt.

Ertapenem: 500 µl Plasma und 500 µl Gemisch aus 250 µl MES (1Molar) und 250 µl Ethylenglycol wurden in einem Röhrchen aliquotiert.

Alle Proben wurden sofort mit einem Gemisch aus Aceton und Trockeneis tiefgefroren und bei -80°C gelagert. Die weitere Verarbeitung erfolgte jeweils lichtgeschützt.

2.3.2 Urinproben

Material

- Braune Kunststoffsammlbehälter, 2000 ml (Fa. Sarstedt, Nümbrecht)
- Messzylinder 500 ml, 1000 ml und 2000 ml (Fa. Brandt, Wertheim)
- Urinmonovette mit abnehmbarer Spritze, 10 ml (Fa. Sarstedt, Nümbrecht)
- PPN-Röhrchen, 5 ml steril (Fa. Greiner, Nürtingen)
- MOPS, $C_7H_{15}NO_4S$, pH 7,1 (Fa. Roth, Karlsruhe, Art. 6979.2)
- Ethylenglycol, $M = 62,07 \text{ g/mol}$ (Fa. Merck, Ch.Nr. K30050521)
- Drug Screen Card Multi 3,5,5M, 6 und 10 (Fa. von Minden GmbH, Moers)
- HITADO Schwangerschaftstest (Fa. HITADO, Endingen)
- Multistix 10 SG Urinsticks (Fa. Bayer, München)
- Lichtmikroskop BH-2 Olympus, Berlin
- Eisessig, Krankenhaus Heckeshorn/Zehlendorf, Apotheke

Probenentnahme und Probengewinnung

Zu Beginn jeden Versuchstages entleerte jeder Teilnehmer seine Blase. Eine Probe dieses Urins wurde zur Bestimmung des Leerwertes entnommen, ein Urinstatus erstellt sowie ggf. ein Schwangerschaftstest durchgeführt. Danach wurde der Urin in folgenden Zeitintervallen gesammelt:

0-6 Stunden, 6-12 Stunden und 12-24 Stunden nach Infusionsende des jeweiligen Medikamentes.

Der Sammelurin wurde gut durchmischt und das Volumen sowie der pH-Wert bestimmt. Wenn der pH nicht zwischen pH 5 und 6,5 lag, wurde er mit Eisessig auf pH 5,5 eingestellt. Anschließend erfolgte für die Ertapenemproben eine 1:1 Verdünnung mit einem Gemisch aus 250 μl MOPS (1Molar) + 250 μl Ethylenglycol. Die Ceftriaxonproben blieben unverdünnt. Alle Proben wurden tiefgefroren und bei -80°C aufbewahrt. Die Bearbeitung der Proben erfolgte lichtgeschützt und gekühlt.

2.3.3 Stuhlproben

Material

Stuhlröhrchen 76 x 20 mm (Fa. Sarstedt, Nürmbrecht, No. I REF 80.734)

Probenentnahme und Probengewinnung

Stuhlproben wurden zu den vorgegebenen Zeiten (wie in Tab. 9-1 im Anhang aufgeführt) abgegeben und anschließend bei -80°C eingefroren und gelagert.

2.4 Methodik

2.4.1 Agardiffusionsverfahren

Um die Konzentration von Ertapenem und Ceftriaxon in Urin, Plasma und Serum zu bestimmen wurde das Agardiffusionsverfahren (Synonym Bioassay) nach der Beschreibung von *J.M. Andrews* (3) angewendet.

2.4.1.1 Prinzip der Methode

Beim Bioassay beruht die Konzentrationsbestimmung der antibakteriellen Substanzen auf einer konzentrationsabhängigen Wachstumshemmung geeigneter Indikatororganismen. Hierbei werden Proben unbekannter Konzentration gemeinsam mit der geometrischen Verdünnungsreihe eines Standards und einer Kontrolle in eine bakterien- oder sporenhaltige Agarschicht eingebracht. Während einer festgesetzten Bebrütungszeit und bei konstanter Temperatur bilden sich Hemmhöfe aus. Die Hemmhofdurchmesser der Proben- und Standardlösung werden verglichen und dadurch die Antibiotikakonzentrationen der Proben ermittelt. Dies erfolgt durch Erstellen der graphischen Darstellung einer Eichkurve aus den Standardlösungen, welche dann mit den Messwerten verglichen wurden.

2.4.1.2. Material

- Agarplatten, Rahmen aus rostfreiem Stahl, Glasscheibe als Boden, Höhe 2 cm, Länge 25 cm x 25 cm (Fa. Mast Diagnostika, Hamburg)
- Mikropipetten, 10-100 µl (Fa. Eppendorf, Hamburg)
- Impfösen (Fa. Nerbe Plus, 21423 Winsen/Luhe)
- Präzisionswaage A200S (Fa. Sartorius, Göttingen)
- Nivelliertisch mit Marmorplatte (Fa. Hübscher, Hamburg)
- UV-Lampe, 220 Volt, 30 Watt, 50 Hertz, (Fa. Heraeus Christ, Hanau)
- Korkbohrer, 8 mm Durchmesser
- Mikrowellengerät (Fa. Toshiba ER-7720 DC/DWC, 150-650 W)
- Wasserbad (Fa. Köttermann)
- Brutschrank (Fa. Heraeus, Brutschrank Typ B 5060 E)
- Heißluftsterilisator (Fa. Melag)
- Hemmhofablesegerät (Microbiological Zone Reader, Fa. Leebrook, Winchester, GB)
- pH-Meter, digital, Nr. 646 (Fa. Knick, Berlin)
- Sterilisationsfilter (Nalgene, Disposable Filterware, 115 ml, 0,45 µm Porengröße, Fa. Nalge Company, GB)
- Personalcomputer, Modell-Nr. 86 (Fa. Hewlett-Packard, USA)

2.4.1.3. Reagenzien und Lösungen

- Poolserum gesunder Blutspender (Deutsches Rotes Kreuz, Berlin)
- Poolplasma gesunder Krankenhausmitarbeiter (Lungenklinik Heckeshorn)
- N-Agar:

Ansatz Nr. 1:

- Na ₂ HPO ₄ (Fa. Merck, Darmstadt)	2,0	g
- NaCL (Fa. Merck)	3,0	g
- Neutral Pepton (Fa. Oxid, Basinstroke, Hants GB, Nr. L34)	10,0	g
- Lablemko (Fa. Oxoid Nr. L29)	10,0	g
- Agar (Fa. BBL, Heidelberg, Nr. 11849)	15,0	g
- Aqua dest (Fa. Braun, Melsungen)	900	ml

Ansatz Nr. 2:

- Dextrose (1 vol%, Fa. Merck, Nr. 8342)
- Aqua dest (Fa. Braun)

Ansatz 1 wird autoklaviert und mit 4 N NaOH auf einen pH von 7,4 eingestellt. Die Ansätze 1 und 2 werden zusammengegeben und in Portionen von 100 ml abgefüllt.

- Müller-Hinton-Bouillon, steril (Fa. Biotest, Berlin)
- Testkeime: - Escherichia coli (ATCC 25922, Mikrobiologisches Labor Krankenhaus Heckeshorn, Berlin)
- Bacillus subtilis (ATCC 6633, Fa. Difco, USA, Ch.Nr. 212190)

2.4.2. Praktische Durchführung

2.4.2.1 Herstellen der Agarplatten

Der verwendete N-Agar wurde im Mikrobiologischen Labor des Krankenhauses Heckeshorn nach bereits beschriebenem Rezept hergestellt. Der Agar wurde in einer Mikrowelle auf ca. 95°C erhitzt und anschließend in einem Wasserbad für ca. 60 min auf eine Temperatur von $47 \pm 1^\circ\text{C}$ (E. coli) oder $50 \pm 5^\circ\text{C}$ (B. subtilis) abgekühlt. Die Einstellung dieses Temperaturoptimums für den jeweiligen Testkeim ergab sich aus dem Bestreben nach geringer Viskosität des Agars einerseits, um diesen besser gießen zu können, und der Vitalitätsminderung vegetativer Keime bei zu hohen Temperaturen andererseits.

Die Beimpfung des Agars erfolgte für:

- **Ceftriaxon** mit 0,1 ml Escherichia coli in 47°C warmen N-Agar (100 ml). Dies entsprach einer Bakteriendichte von 1×10^8 pro Platte.

Die Kulturen für E. coli wurden am Tage vor Beimpfung der Agarplatten angesetzt. Dafür wurden mit einer sterilen Öse von einer festen Blutagarplatte (Mikrobiologisches Labor, Krankenhaus Zehlendorf/Heckeshorn) 5 Kolonien auf 5 ml Müller-Hinton-Bouillon in ein steriles Röhrchen überimpft und für 18 Stunden bei 30°C bebrütet.

- **Ertapenem** mit 0,2 ml Bacillus subtilis Sporensuspension in 100 ml N-Agar (50°C). Dies entsprach einer Bakteriendichte von 2×10^6 pro Platte. Zuvor wurde die Sporensuspension 1:3 mit 0,9 % Lösung NaCl verdünnt.

Zunächst wurden die Platten zur Sterilisation in einem Heißluftsterilisator bei 200°C für 90 min erhitzt. Es folgte das Gießen auf die zuvor abgeflamnten Platten auf einem Nivelliertisch aus Marmor in exakt waagerechter Lage, um ein gleichmäßiges Ausgießen des Agars zu gewährleisten. Dies ist wichtig, um eine Veränderung der Hemmhofdurchmesser durch unterschiedliche Schichtdicken zu verhindern.

Vor dem endgültigen Erstarren des Agars wurden durch eine Einmalkanüle eventuell entstandene Luftblasen entfernt. Anschließend erfolgte eine UV-Bestrahlung der Platten von 2 min im Abstand von ca. 56 cm, um ein Oberflächenwachstum zu vermeiden. Danach wurden die Platten für mindestens 30 min bei 6°C gekühlt.

Nach dem Abkühlen wurden die Löcher mit einem zuvor abgeflamnten scharfrandigen Korkbohrer von 8 mm Durchmesser gestanzt. Ein gleichmäßiger Abstand der 30 Löcher wurde durch eine untergelegte Schablone ermöglicht. Mit Hilfe eines spitzen, vorn gebogenen Fadenziehers wurden die entstandenen Agarscheiben anschließend entfernt. Ein genaues Arbeiten ohne Beschädigung des Lochrandes war wichtig, um ein Versickern der Probeflüssigkeiten zu verhindern.

2.4.2.2 Einbringung der Proben und Inkubation

Die Proben-, Standard- und Kontrolllösungen wurden in kodierter und randomisierter Form nach J.M. Andrews (3) einpipettiert. Die Randomisierung sollte einen systematischen Fehler durch evtl. auftretende Agarunregelmäßigkeiten vermeiden. Die Kodierung sollte die Beeinflussung des Untersuchers beim Ablesen der Hemmhofdurchmesser verhindern. Die Hemmhöfe wurden vom Untersucher der Reihe nach abgelesen und anschließend wieder in Proben-, Standard- und Kontrolllösung entschlüsselt. Auf einer Platte wurden jeweils in dreifachem Ansatz vier Proben-, eine Kontroll- und fünf Standardlösungen, letztere in geometrischer Verdünnungsreihe, untergebracht (Abb. 2-1)

K	S 2,5	P4	P2	P3
S 5	P1	S 1,25	S 0,625	S 0,3125
S 1,25	P3	K	S 2,5	P2
S 0,625	S 5	S 0,3125	P1	P4
P4	P2	P3	S 0,625	K
S 2,5	P1	S 5	S 0,3125	S 1,25

Abb. 2-1 Randomisierte Verteilung von Proben- (P), Kontroll- (K) und Standardlösungen (S) im dreifachen Ansatz auf der Agarplatte

Beim Einpipettieren mit 0,1 ml Mikropipetten wurde die Pipettenspitze auf dem Boden der ausgestanzten Agarstelle aufgesetzt und während des Einfüllens angehoben, bis der Flüssigkeitsspiegel mit der Agarschicht in einer Ebene lag oder eine leichte Konvexität aufwies (3). Dadurch ließen sich leichte Unregelmäßigkeiten in der Agarschicht bis zu einem gewissen Grade ausgleichen.

Die Agarplatten wurden anschließend geschlossen und 30 min zur Vordiffusion bei Raumtemperatur stehen gelassen. Die Vordiffusion diente der Vergrößerung der Hemmhöfe, was vor allem bei der Analyse von Proben mit niedrigen Konzentrationen von Bedeutung war. Es folgte eine Inkubation der Agarplatten von 18 Stunden bei 30°C im Brutschrank.

2.4.2.3 Auswertung

Die Auswertung der gewonnenen Daten wurden mit Hilfe eines Programms zur parabolischen Regressionsanalyse mit invertierten Vertrauensgrenzen auf einem Personalcomputer (Hewlett-Packard, Nr. 86) vorgenommen.

Durch Auftragen der Hemmhofdurchmesser (in mm) in linearer Form auf der Abszisse und der Konzentration (in mg/l) in logarithmischer Form auf der Ordinate konnte eine Eichkurve aus den Daten der Standardlösungen erstellt werden.

Die Hemmhofdurchmesser der Testlösungen (in mm) wurden dann vom Programm ebenfalls auf der Abszisse aufgetragen und der Untersucher konnte im Schnittpunkt mit der Eichkurve die Konzentration des Antibiotikums in der Testlösung (in mg/l) ablesen. Ein Beispiel zeigt die Abb. 2-2.

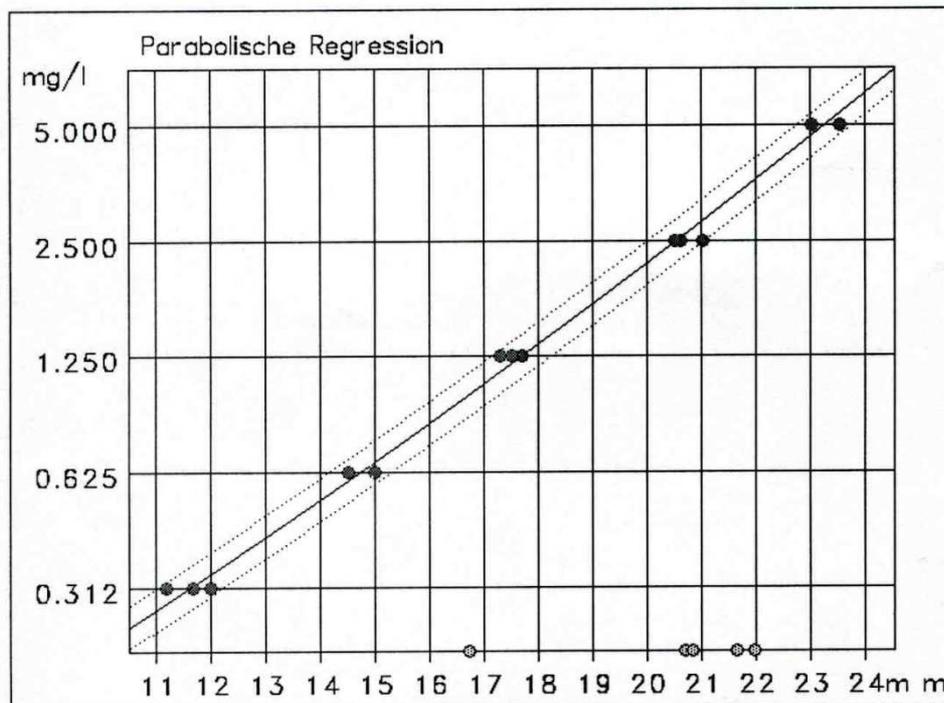


Abb. 2-2 Beispiel: Parabolische Regressionsanalyse von Ertapenem, Abszisse: Hemmhof-Durchmesser in mm, Ordinate: Konzentration in mg/l

Des Weiteren wurden die drei Hemmhofdurchmesser pro Standard- und Testlösung, der gemittelte Hemmhofdurchmesser, die Standardkonzentration und die relative Standardabweichung durch das Programm in tabellarischer Form erstellt.

Die in der graphischen Darstellung erstellte Standardkurve zeigt im Idealfall einen linear ansteigenden Verlauf.

2.4.2.4 Standardlösungen

Zum Vergleich zwischen den im Agardiffusionsverfahren verwendeten Standard- und Testlösungen ist es notwendig, diese zu standardisieren. Hierfür wurden für die jeweilige Testsubstanz folgende Standards erstellt:

Zunächst wurde unter Verwendung der Reinsubstanz des jeweiligen Medikamentes eine Lösung mit genau bekannter Konzentration hergestellt. Daraus konnte dann in geometrischer Verdünnungsreihe der Arbeitsstandard gewonnen werden.

Ceftriaxon:

Reinsubstanz: Ceftriaxon (Fa. Roche Diagnostics GmbH, Mannheim)
1 g Trockensubstanz
Lot. no. Si00110612
Aktivität: 90,79 %
Molekulargewicht: 598,55

Ziel war die Herstellung eines Wägestandards mit einer Konzentration von 1000 mg/l, das heißt es wurden 10 000 µg in 10 ml gelöst. Die hierzu erforderliche Menge an Reinsubstanz wurde nach folgender Gleichung berechnet:

$$\text{Substanzmenge} = \frac{\text{Volumen} \cdot \text{gewünschte Konzentration}}{\text{Aktivität}}$$

Daraus ergab sich für Ceftriaxon:

$$\text{Stoffmenge} = \frac{1000\mu\text{g} \cdot 100\%}{90,79\%}$$

Dies ergab eine Stoffmenge von 0,011014 g. Es wurden 0,011 g abgewogen. Diese Substanzmenge wurde nach Abwägen mit der Präzisionswaage in 10 ml Sörensenpuffer (pH 7,0) gelöst.

Ertapenem:

Reinsubstanz: Ertapenem (Fa. Merck & Co., Inc., NJ, USA)
Ertapenem sodium
CAS No.: 153832-38-3
Aktivität: 100 %
Molekulargewicht: 497,5

Die Reinsubstanz wurde fertig gelöst in Phosphatpuffer nach Sørensen (pH 7,0, 25 mM) mit einer Konzentration von 1000 mg/l von Dr. Kresken (Antiinfectives Intelligence GmbH, Bonn) zur Verfügung gestellt. Da die Aktivität 100% betrug, konnte die Stammlösung der Reinsubstanz direkt weiter verdünnt werden.

Aus beiden Stammlösungen wurde das jeweils erforderliche Volumen für die Zubereitung des Arbeitsstandards entnommen, in das jeweilige Lösungsmittel eingebracht und geometrische Verdünnungsreihen erstellt.

Ein Ansatz der Verdünnungsreihe im gleichen Medium mit gleichem pH-Wert wie die Testreihe wäre ideal, da die Agardiffusionsmethode auf einem Vergleich zwischen Standard- und Probenlösungen beruht. Dies ist jedoch aus ethischen Gründen nicht realisierbar. Daher wurde auf aktivitätsfreies Poolserum bzw. Poolplasma gesunder Spender zur Analyse der Serum- bzw. Plasmaproben und Sørensenpuffer mit einem pH von 7,0 für die Analyse der Urinproben zurückgegriffen. Das Poolserum bzw. Poolplasma wurde mit speziellen Filtern (Nalgene, Porengröße 0,45 µm) steril filtriert.

2.4.2.5 Vorversuche

Ziel der Vorversuche war es den passenden Testkeim zu finden und ihn auf Dichte, Einsaat und die erforderliche Art des Agars zu prüfen. Des Weiteren erfolgte die Abschätzung des zu erwartenden Serum-, Plasma- und Urinspiegels sowie der unteren Nachweisgrenzen.

Die Auswahl der Konzentrationsbereiche der Arbeitsstandards richtete sich nach folgenden Kriterien:

- den zu erwartenden Konzentrationen der Proben
- die Ausbildung eines scharf abgrenzbaren Hemmhofes auch bei niedrigster Konzentration
- kein Ineinanderfließen der Hemmhöfe bei der höchsten Konzentration

Untere Nachweisgrenzen:

Ceftriaxon: 0,15 mg/l im Serum und im Urin.

Daraus ergaben sich die Konzentrationsbereiche des Arbeitsstandards von 10 – 0,3125 mg/l in folgender geometrischer Verdünnungsreihe: 10/ 5/ 2,5/ 1,25/ 0,625/ 0,3125 mg/l.

Diese Verdünnungsreihe für Serum wurde mit einem Gemisch aus Poolserum und Sörensenpuffer pH 6,0 im Verhältnis 1:20 erstellt.

Für Urine wurde Sörensenpuffer mit einem pH von 7,0 verwendet.

Ertapenem: 0,12 mg/l im Plasma und im Urin.

Daraus ergaben sich die Konzentrationsbereiche des Arbeitsstandards von 5 – 0,3125 mg/l in folgender geometrischer Verdünnungsreihe: 5/ 2,5/ 1,25/ 0,625/ 0,3125 mg/l.

Diese Verdünnungsreihe für Plasma wurde mit einem Gemisch aus Poolplasma und MES pH 6,0 1M im Verhältnis 1:1 erstellt.

Urine wurden mit MOPS pH 7,1 1M weiter verdünnt.

Die Testkeime für biologische Nachweisverfahren sollten folgende Kriterien erfüllen:

- zuverlässige Wachstumseigenschaften
- einfache Konservierbarkeit
- Abdeckung des zu erwartenden Konzentrationsbereiches
- in regelhafter Abhängigkeit von den zu untersuchenden Substanzen sein
- gute Reproduzierbarkeit des Keimes

Diese Kriterien werden meist von keinem Mikroorganismus vollständig erreicht. Für die vorliegenden Versuche kam *Escherichia coli* ATCC 25922 für die Substanz Ceftriaxon und *Bacillus subtilis* ATCC 6633 für die Substanz Ertapenem den gestellten Anforderungen am nächsten. Beide Keime zeigten gute Wachstums- und Ableseeigenschaften, wobei *E. Coli* als vegetativer Keim generell etwas temperaturempfindlicher und anspruchsvoller in der Haltung und Konservierung ist, als die Bakteriensporen des *B. subtilis*.

2.4.2.6 Hauptversuche

Nach dem Auftauen der bei -80°C gelagerten Proben wurden diese unmittelbar auf die zuvor ausgestanzten und vorbereiteten Agarplatten, wie unter Punkt 2.4.2.2 beschrieben, aufgebracht.

Da die zu erwartenden Konzentrationen der meisten Plasmaproben und Serumproben oberhalb des Konzentrationsbereiches des Arbeitsstandards lagen, wurden die entsprechenden Proben vor der Analyse manuell verdünnt. Dadurch konnte eine korrekte Ablesung gewährleistet und Fehlerquellen vermieden werden, die in den sehr hohen bzw. sehr niedrigen Konzentrationsbereichen liegen könnten.

Für Ceftriaxon erfolgte die Verdünnung aller Seren zunächst mit Sörensenpuffer pH 7,0 (1:20), um dann, dem Arbeitsstandard entsprechend, mit einem Gemisch aus Sörensenpuffer pH 7,0 und Poolserum weiter verdünnt zu werden.

Für Ertapenem wurden die Plasmaproben mit MES 10mM, pH 6,0 verdünnt.

Da auch die meisten Urinproben oberhalb des Konzentrationsbereiches des höchsten Arbeitsstandards lagen und verdünnt werden mussten, konnte anhand der zu erwartenden Konzentrationen eine Überschlagsberechnung der für unsere Versuche zu erwartenden Urinkonzentration nach der folgenden Gleichung erfolgen:

$$\frac{\text{Erwartete Konzentration} \cdot 1000}{\text{Ausscheidung des Sammelurins}} = X \text{ in mg}$$

Die Verdünnung der Urine erfolgte für die Ceftriaxonproben mit Sörensenpuffer pH 7,0 und für die Ertapenemproben mit MOPS 10 mM, pH 7,1.

Um die Präzision der einzelnen Versuchsreihen sicherzustellen, wurde zu jedem Testansatz eine Kontrolle mitgeführt. Die Kontrolllösungen wurden aus separaten Stammlösungen erstellt und in mittlerer Konzentration des Standards angesetzt. Diese Kontrolllösungen wurden wie die Standards verdünnt und mit folgenden Konzentrationen mitgeführt:

Ceftriaxon: 1 mg/l für Urin und Serum

Ertapenem: 1 mg/l für Urin und Plasma

2.4.2.7 Überprüfung der Messgenauigkeit

Zur Überprüfung der analytischen Messgenauigkeit der Methode wurde der Variationskoeffizient (VK) bestimmt. Er dient zur Quantifizierung von Messfehlern einer Methode (82). Für jede verwendete Kombination aus Antibiotikum, Medium und Keim wurden jeweils zehn Dreifachansätze auf je zwei Platten mit drei bekannten Konzentrationen angesetzt. Es mussten jeweils eine hohe und eine niedrige Konzentration verwendet werden. Als Standard dienten die für Versuchsreihen verwendeten geometrischen Verdünnungsreihen. Als Medium wurden die normalen Standardlösungen sowie Kontrollen verwendet, die mit den entsprechenden Serum-, Urin- und Plasmaproben vergleichbar waren. Die Einzelangaben der Validierung über drei Tage sind im Anhang in den Tab. 9-5 und 9-6 dargestellt. Aus den ermittelten Konzentrationsangaben konnte der Variationskoeffizient berechnet werden.

$$\text{Variationskoeffizient: } VK = \frac{\text{Standardabweichung} \cdot 100}{\text{Mittelwert}}$$

Die mittlere VK war für Ceftriaxon im Serum 5,07% und im Puffer 6,39% bei Konzentrationen zwischen 0,5 und 4,0 µg/ml und für Ertapenem im Plasma 4,41% und im Puffer 4,06% bei Konzentrationen zwischen 0,8 und 4,0 µg/ml.

Die Ergebnisse sind in Tab. 2-3 und Tab. 2-4 aufgelistet.

Konzentration in mg/l	VK % Plasma	VK % Puffer
0,5	4,27	4,73
1,0	5,39	4,49
4,0	3,57	2,96
Mittelwert	4,41	4,06

Tab. 2-3 Präzision von Tag zu Tag (Variationskoeffizienten) für Plasma und Puffer bei Ertapenem

Konzentration in mg/l	VK % Serum	VK % Puffer
0,8	4,56	6,37
8,0	3,72	5,65
4,0	6,92	7,17
Mittelwert	5,07	6,39

Tab. 2-4 Präzision von Tag zu Tag (Variationskoeffizienten) für Serum und Puffer bei Ceftriaxon

2.4.3 Massenspektrometrie

Zur Bestimmung der Konzentration von Ertapenem in Urin und Plasma wurde zusätzlich zum Agardiffusionsverfahren noch das Massenspekttralverfahren - "liquid chromatography-tandem mass spectrometry" (LC-MS/MS) angewendet. Die Messungen wurden von PD Dr.Dr. M. Kurowski im AVK in Berlin durchgeführt. Die Chromatographie erfolgte wie beschrieben bei Musson et al. (50).

2.4.3.1 Prinzip der Methode

Bei der LC-MS/MS handelt es sich um die Kopplung zweier unterschiedlicher Techniken. Hierbei wird die analytische HPLC-Methode (High Performance Liquid Chromatography) mit einem Massenspektrometer (MS) gekoppelt. Das daraus resultierende Verfahren erlaubt es, durch Ionisation der Analyte, die Moleküle im Raum gezielt zu transportieren, zu filtern und schließlich zu detektieren.

Beim Massenspekttralverfahren wurden die zu messenden Proben über eine LC-Pumpe (Abb. 2-3) in eine Vakuumröhre gespritzt. Die dadurch erfolgte Ionisation der Probe erlaubte es dann, die zu messende Substanz mit Hilfe eines Quadrupol-Massenfilters zu selektieren (79).

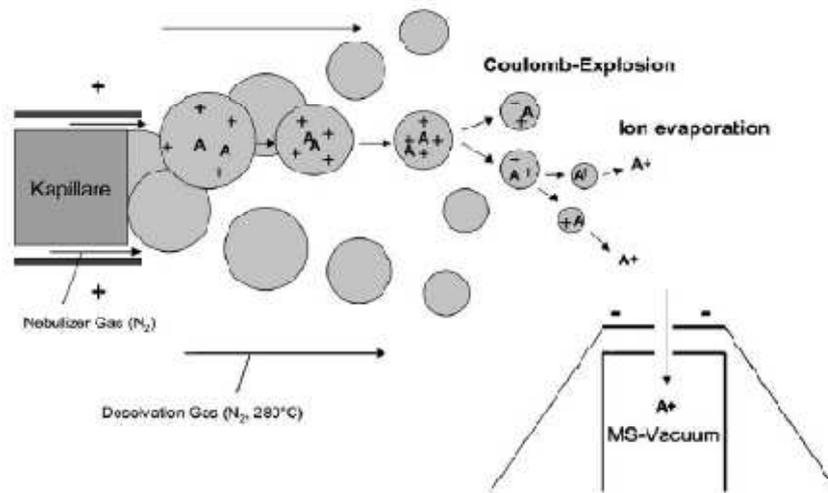


Abb. 2-3 Prinzip der Electro spray Ionisation (A für Analyt)

Dieser bestand aus vier parallel angeordneten Metallstäben, an denen Radiofrequenzen angelegt wurden. Je nach Radiofrequenz wurden Ionen einer einzigen Landungs-zu-Masse-Ratio durch das Quadrupol transportiert, während alle anderen Ionen auf eine Spiralbahn gerieten und seitlich aus dem Quadrupol emittiert wurden (Abb. 2-4) (79).

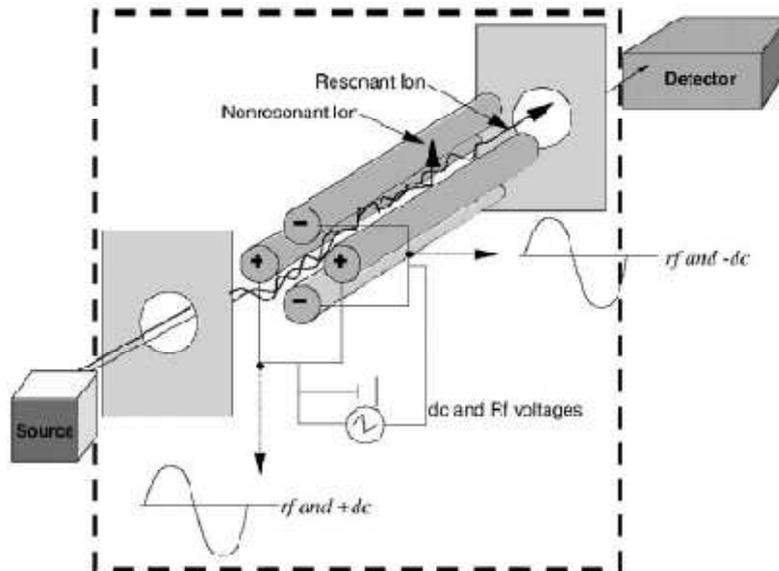


Abb. 2-4 Prinzipieller Aufbau eines Quadrupol-Massenfilters

Von hier aus gelangte das Zielanalyt („Mutterion“) dann in die Kollisionzelle, in die mit einem äußerst geringen Strom Argon strömte. Die beschleunigten Analytionen kollidierten mit den Argon-Atomen und wurden zu thermodynamisch begünstigten Fragmentationen („Tochterionen“) desintegriert. Dieser Fragmentationenstrom wurde nun in

das nächste Quadrupol geleitet, wo ein einzelnes, definiertes Fragmentation der gesuchten Substanz herausgefiltert wurde und dann auf den Ionendetektor traf, wo es in elektrische Impulse konvertiert werden konnte (Abb. 2-5) (79).

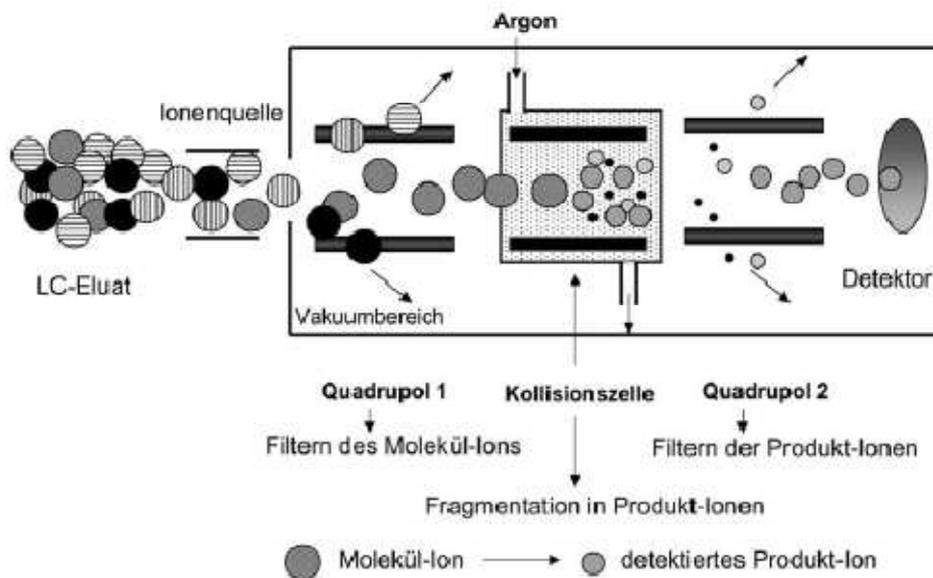


Abb. 2-5 Prinzip der Tandem-Massenspektrometrie

Ein Beispiel für die Umsetzung in eine graphische Darstellung ist in Abb. 2-6 dargestellt. Dabei stellt die X-Achse die Massenskala (m/z für Masse zur Ladungs-Ratio) und die Y-Achse die relative Signalintensität dar (counts).

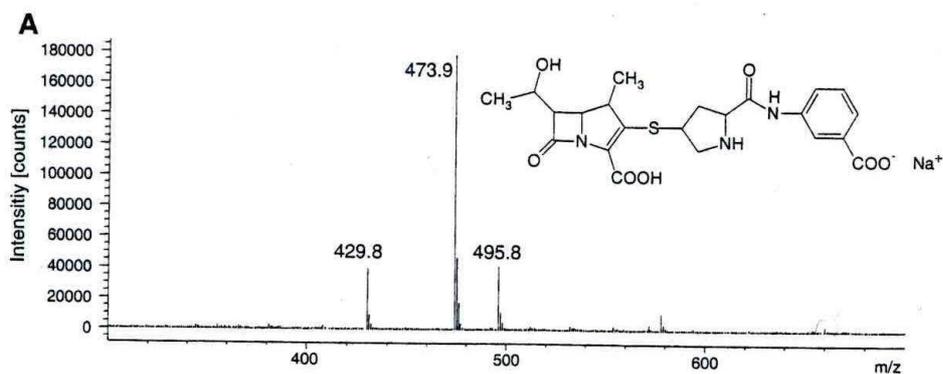


Abb. 2-6 Darstellung der Quantifizierung von Ertapenem (473.9)

2.4.3.2 Materialien

Ausrüstung des Massenspektrometers für Plasma und Urinmessung:

- API 365 Massenspektrometer (Fa. Applied Biosystems, 64293 Darmstadt)
- HPLC-Pumpe, Serie 200 (Fa. Perkin Elmer, Norwalk, CT 06859, USA)
- Liquid Handler 215 mit 814 micor injector using Gilson sampler software 735 version 4.04 (Fa. Gilson, Middleton; WI 53562, USA)
- Analytic column: Kauter vertex, europspher 100 C18 30 x 4,6 mm, 5 µm, B120Y535, Batch: B25737 (Fa. Knauer, Berlin)
- Pre-colum: Kauner vertex, europspher 100 C18 5x4 mm, 5 µm (Fa. Knauer)
- Analyst Software Version 1.2 (Fa. Applied Biosystems)

Material und Geräte zur Probenaufbereitung:

- Plasmaröhrchen 1,5 ml, No. 72.690 (Fa. Sarstedt, 51588, Nümbrecht)
- Pipette Tips, 100 µl, No. 70.760.002 (Fa. Sarstedt)
- Pipette, 10-100 µl (Fa. Eppendorf AG, 22331 Hamburg)
- Handy Step, multistep Pipette, 10 µl - 5 ml (Fa. Brand, 97861 Wertheim)
- Vortexer, Heidolph Reax R1 (Fa. Heidolph, 93309 Kelkheim)
- Duranmesskolben, 5 ml und 10 ml (Fa. Schott, 55122 Mainz)
- Centrifuge, Centra MP4, Serien-Nr. 3437S01119 (Fa. International Equipment Company, Needham, Ma. 02194, USA)
- Acetonitril (Fa. Merck, Darmstadt)

2.4.3.3 Praktische Durchführung

Messung der Plasmaproben:

Nach Überführung wurden die tiefgekühlten Plasmaproben aufgetaut, mit Hilfe eines Vortexers gemischt und 100 µl von jeder Probe in ein 1,5 ml Plasmaröhrchen gegeben. Anschließend wurden je 500 µl in Acetonitril gelöste interne Standards hinzupipettiert. Die Probe wurde gemischt und 15 min bei Raumtemperatur stehen gelassen. Danach wurden die Proben abermals mit Hilfe des Vortexers gemischt und anschließend für sechs Minuten zentrifugiert. Der abpipettierte Überstand wurde erneut in ein

Plasmaröhrchen gegeben und die oben genannte Prozedur wiederholt, bevor die Probe dann gemessen werden konnte.

Messung der Urinproben:

Die Urinproben wurden für die Messung wie unter 2.3.2 beschrieben verdünnt und der Verdünnung folgend ohne weitere Bearbeitung analysiert.

Ein Variationskoeffizient für diese Untersuchung konnte nicht bestimmt werden, da wiederholte Messungen mit der gleichen Probe aufgrund der Instabilität der Proben nicht möglich war. Die unteren Nachweisgrenzen für die Untersuchungen lagen für Plasma bei 0,2 mg/l und für Urin bei 1 mg/l.

Die Auswertung der gewonnenen Messdaten erfolgte dann mit Hilfe der Analyst Software Version 1.2 (Fa. Applied Biosystems).

2.4.3.4 Analytische Zuverlässigkeit der Methode

Zur Überprüfung der Messgenauigkeit wurden Qualitätskontrollmessungen mit der Reinsubstanz (siehe 2.4.2.4) durchgeführt. Die Ergebnisse der QC-Messung sind in Tab. 2-5 angegeben. Daraus ergaben sich ein Mittelwert von 97,02 und eine Standardabweichung von 14,88. Eine 3-Tage-Validierung fand nicht statt.

Nr.	QC-Werte
1	101,71
2	81,17
3	107,75
4	83,69
5	72,71
6	113,8
7	114,8
8	83,69
9	113,8
10	97,08
MW	97,02
±SD	14,88

Tab. 2-5 QC-Messwerte

Die Eichgerade der Plasmauntersuchung war linear über dem Konzentrationsbereich von 1 (untere Nachweisgrenze) -500 mg/l, mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0.9702$.

Die Eichgerade der Urinuntersuchung war linear über dem Konzentrationsbereich von 16 (untere Nachweisgrenze) -1020 mg/l, mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0.9702$.

2.4.4 Stuhlprobenanalyse

Die Stuhlprobenanalyse wurde von Professor Carl Erik Nord in der Abteilung für Mikrobiologie, Pathologie und Immunologie im Karolinska Institut in Stockholm vorgenommen.

Zur Untersuchung der Konzentration von Ertapenem und Ceftriaxon in den Stuhlproben kam das Agardiffusionsverfahren zur Anwendung. Verwendet wurden das Testmedium „Antibiotic Medium No. 1“ und der Testkeim „Escherichia coli ATTC 25922“. Die Proben wurden in doppelter Ausführung getestet und je eine Standardtestreihe zur Kontrolle auf jeder Agarplatte mit aufgetragen. Die Agarplatten wurden für 18h bei 37 °C bebrütet. Die untere Nachweisgrenze lag bei 0,5 mg/kg und der Variationskoeffizient bei weniger als 5%.

Für die mikrobielle Analyse der Stuhlproben wurde je 1 g der Probe entnommen und mit 9 g Pepton-Hefe-Medium vermischt. Nach einer Verdünnung von 10^{-7} wurden die Proben auf selektive und nicht-selektive Agarböden aufgetragen (39). Folgende Nährmedien kamen zur Anwendung:

Nicht selektive Nährmedien:

- Brucella-Blut-Agar (Fa. Kemila, LabM, Bury, UK) für Aerobier und Anaerobier
- CLED Agar (Fa. Merck, Darmstadt, Germany) für Enterobakterien

Selektive Nährmedien:

- Eteococcosel Agar (Fa. BBI, Cockeysville, MD, USA) für Enterokokken
- Sabouraud Agar (Fa. Difco, Detroit, MI, USA) für Candida
- Rogosa Agar (Fa. Difco) für Bifidobakterien
- BKV Agar (Kanamycin-Vancomycin-Blutagar) für Bacteroides und Prevotella
- BNV Agar (Neomycin-Vancomycin-Blutagar) für Fusobakterien
- Veillonella-Agar (Fa. Difco) für Kokken der Veillonellaaceae-Familie
- Eigelb-Agar (Fa. Oxoid, Basingstoke, UK) für Clostridien
- TCCFA Agar (Taurocholat-Cydloserin-Cefoxitin-Fructoseagar bestehend aus 40 mg/ml Pepton von Casein/Proteose-Peptide no. 3, 5 mg/ml Natriumhydrogenphosphat, 1 mg/ml Kalium-Dihydrogenphosphat, 2 mg/ml Natriumchlorid, 0,2 mg/ml Natriumsulfat, 20 mg/ml Bacto Agar/Agar-Agar, 1 mg/ml Taurochloridsäure, 0,003 mg/ml Neutral-Rot, 15% Fructose, C. difficile supplement D-Cycloserin, Cefoxitim) für C. difficile.

Die Bebrütung der aeroben Agarplatten erfolgte für 24h bei 37°C und die Bebrütung der anaeroben Agarplatten erfolgte in anaerobischen GasPak Gefäßen (BBL) für 48h bei 37°C (27).

Nach fünf bis sieben Tagen wurden die anaeroben Agarplatten untersucht und die verschiedenen Kolonien gezählt und isoliert. Mit Hilfe von Gramfärbung, biochemischen Untersuchungen sowie Zell- und Kolonie-Morphologie konnten die einzelnen Mikroorganismen identifiziert werden. Zum Nachweis von Enterobakterien wurde ein API-20E Testkit (BioMérieux, Marcy l'Éliot, Frankreich) verwendet.

Die aeroben Mikroorganismen wurden mit Hilfe der Gas-Liquid-Chromatography aus Metaboliten der Glucose nachgewiesen. Die untere Nachweisgrenze betrug hierbei 10^2 Mikroorganismen/g Stuhl.

2.4.4.1 Auswertung der Stuhlprobenanalysen

Die statistische Auswertung der quantitativen Kulturveränderungen der Mikroorganismen wurde mit Hilfe des Wilcoxon-Rang-Tests durchgeführt. Hierbei wurden Daten zwischen den Proben von Freiwilligen sowie denen der jeweiligen Studienmedikation verglichen. Des Weiteren wurde eine klinische Evaluation erhoben,

indem ein Vergleich der aufgetretenen Nebenwirkungen bezüglich des Gastrointestinaltraktes mit den Daten der veränderten Stuhlflora erfolgte. Dafür wurden die Konzentrationen des jeweiligen Studienmedikamentes und die klinischen Labordaten mit den Nebenwirkungen in Bezug gesetzt.

3 Pharmakokinetik

3.1 Pharmakokinetische Grundbegriffe

Die Pharmakokinetik dient der quantitativen Erfassung von Resorptions-, Verteilungs-, Metabolisierungs- und anderen Eliminationsprozessen von Arzneimitteln im Organismus. Mit Hilfe von mathematischen Modellen können hierbei die Konzentrationsveränderungen in Abhängigkeit von der Zeit beschrieben werden. Durch Simulationen auf Basis solcher Modelle können Dosierungsregime (z.B. Dosis, Dosierungsintervall und Administrationsweg) optimiert werden. Die verschiedenen Phasen nach Arzneimittelapplikation können wie folgt voneinander unterschieden werden:

- 1) Die Resorption beschreibt, wie der Wirkstoff in unverändertem Zustand vom Ort der Applikation zum Ort der Messung (z.B. Blut-Plasma oder Serum) gelangt.
- 2) Die Distribution oder Verteilung beschreibt den reversiblen Transfer des Pharmakons weg vom und hin zum Ort der Konzentrationsbestimmung.
- 3) Die Elimination bezeichnet das irreversible Ausscheiden des Wirkstoffes am Ort der Messung. Dies kann entweder durch Exkretion, den Verlust chemisch unveränderten Arzneimittels, oder durch Metabolismus, der chemischen Umwandlung eines Stoffes in einen anderen, geschehen.

Bei der intravenösen Applikation entfällt der Prozess der Resorption. Hier findet neben der Infusion nur die Verteilung und Elimination statt.

3.2 Nicht-kompartimentelle Analyse

Um die komplexen Abläufe der Wirkstoffbewegungen im Organismus zu beschreiben, werden ermittelte Daten mit Hilfe von pharmakokinetischen Modellen und Rechenverfahren analysiert. In der hier vorliegenden Studie wurden die pharmakokinetischen Parameter mittels der nicht-kompartimentellen Analyse berechnet. Die am häufigsten angewendete Standard-Analyse berechnet die pharmakokinetischen Parameter auf Basis der gemessenen Konzentrationen, ohne dass die gesamte Konzentrations-Zeit-Kurve durch eine mathematische Funktion beschrieben wird (11, 14, 80). Die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve („Area Under the Curve“ - AUC) beschreibt hierbei, in welchem Maße eine systemische Wirkstoffexposition vorlag. Die maximale Konzentration (C_{\max}) und deren Zeitpunkt (t_{\max}) wird durch die Art der Applikation des Wirkstoffes bzw. dessen Resorption bestimmt. Die nicht-kompartimentelle Analyse erlaubt die Berechnung von weiteren wichtigen pharmakokinetischen Parametern. Dazu zählen die Gesamtkörper-Clearance (Cl_{tot}), das Verteilungsvolumen (V_{ss}), die terminale Halbwertszeit ($t_{1/2}$) und die mittlere Verweildauer („Mean Residence Time“ - MRT) (11). Dabei wird angenommen, dass die Elimination des Wirkstoffes nur aus dem Proben-Pool erfolgt, z.B. Plasma oder Serum, bzw. dass die Eliminationsorgane mit dem Proben-Pool in einem sich schnell äquilibrierenden Gleichgewicht befinden (11, 19, 25, 81). Diese Voraussetzung ist gegeben, wenn man berücksichtigt, dass die Leber und die Nieren als Hauptorgane der Wirkstoffelimination sehr gut perfundiert sind und somit angenommen werden kann, dass schnell ein Gleichgewicht entsteht (11).

4 Statistische Berechnungen

Einzeldosis (ED) und Steady-State (SS) Pharmakokinetik sowie die geschlechtlichen Unterschiede wurden nach den standardisierten Formeln für die nicht-kompartimentelle Analyse von WinNonline™ Professional (Version 4.0.1, © 1998-2002, Pharsight, Palo Alto, USA) bestimmt.

In Tab. 4.1 sind die für die pharmakokinetischen Berechnungen verwendeten, bzw. die errechneten Parameter angegeben.

Parameter	Einheit	Beschreibung
C_{max}	mg/l	Errechnete Maximalkonzentration
t_{min}	h	Zeitpunkt der Maximalkonzentration
C_{last}	mg/l	letzte messbare Konzentration
$t_{1/2}$	h	Terminale Halbwertszeit
AUC_{0-last}	mg ·h/l	Fläche unter der Kurve vom Beginn der Infusion bis zur letzten nachweisbaren Konzentration
AUC_{0-inf}	mg ·h/l	Fläche unter der Kurve vom Beginn der Infusion bis zur Zeit Unendlich
AUC_{0-24}	mg ·h/l	Gesamtfläche unter der Kurve vom Beginn der Infusion bis 24 Stunden danach
V_z	l	Verteilungsvolumen in der terminalen Phase
V_{ss}	l	Verteilungsvolumen im Steady-State
L_z	1/h	Negative Steigung der halblogarithmischen terminalen Konzentrations-Zeit-Kurve
f_u	%	Fraktion der Dosis die unverändert im Urin ausgeschieden wird (Urin-Wiederfindung)
Cl_{ren}	ml/min	renale Clearance
Cl_{nren}	ml/min	nicht-renale Clearance
Cl_{tot}	ml/min	totale Clearance

Tab. 4-1 pharmakokinetische Parameter

Für die maximale Serumkonzentration von Plasma und Serum (C_{max}), die Zeit bis zur erreichten Höchstkonzentration (t_{max}) und die minimale Konzentration im Steady-State (C_{min}) wurden die Rohdaten ohne weitere Kalkulationen für die statistische Auswertung verwendet. Die terminale Halbwertszeit ($t_{1/2}$) wurde durch den linearen Rückgang auf

der halblogarithmischen Skala der Konzentration-Zeit-Kurve bestimmt, mittels der Formel $\ln(2)/Lz$.

Für die Berechnung der Fläche unter der Kurve (AUC) der Plasma- und Serumkonzentration vom Beginn der Infusion bis zur letzten nachweisbaren Plasma- oder Serumkonzentration (AUC_{0-last}) wurde die lineare Trapezregel verwendet. AUC_{0-inf} wurde abgeleitet durch Extrapolation der Fläche ins Unendliche und Hinzunahme von C_{last}/Lz zu AUC_{0-inf} . Die AUC_{0-24} wurde durch lineare Interpolation zwischen den Proben 12,5 und 24,5h nach Infusion berechnet. Durch den Bezug von Dosis zur AUC_{0-inf} für die Einzeldosis und Dosis zur AUC_{0-24} für den Steady-State wurde die totale Clearance (Cl_{tot}) errechnet. Die mittlere Verweildauer (MRT), das Verteilungsvolumen während der terminalen Phase (V_z) sowie das Verteilungsvolumen im Steady-State (V_{ss}) und die mittlere Verweildauer im Körper (MRT) wurden durch die standardisierten Formeln für die nicht-kompartimentelle Analyse, die von WinNonline angeboten werden, ermittelt.

Die Konzentration der Studienmedikation im Urin und die Daten der gesammelten Volumina wurden dazu verwendet, die Urinausscheidung zu berechnen. Dabei beschreibt die Urin-Wiederfindung (f_u) die Fraktion der kumulativen Ausscheidung im Urin. Die renale Clearance (Cl_{ren}) wurde bestimmt durch das Verhältnis der Menge an Ausscheidungs-dosis im Urin bis zur letzten nachweisbaren Urinprobe und der Fläche unter der Kurve (AUC), vom Zeitpunkt der jeweiligen Dosis bis zu diesem Punkt. Die nicht-renale Clearance (Cl_{nren}) ist definiert als die Differenz zwischen totaler und renaler Clearance.

4.1 Geschlechtsspezifische Unterschiede

Alle pharmakokinetischen Parameter (bis auf t_{max}) wurden auf mögliche geschlechtsspezifische Unterschiede getestet. Für jede Studienmedikation und jeden pharmakokinetischen Parameter wurden Äquivalenzstatistiken berechnet. Hierbei wurde ein paralleles Gruppendesign verwendet, das beide Geschlechter verglich. Die pharmakokinetischen Parameter wurden logarithmisch transformiert, da pharmakokinetische Parameter wie zum Beispiel die logarithmisch transformierten Werte von Clearance und Verteilungsvolumen oft gut durch eine Normalverteilung beschreiben werden könne. Da die Differenz zwischen der Einzeldosis (ED) und der

Steady-State-Dosis (SS) bei den pharmakokinetischen Parametern gering war, wurden diese gemeinsam analysiert. Um die geschlechtsspezifischen Unterschiede zu bestimmen, wurde das 90%-Konfidenzintervall des Frau/Mann-Verhältnisses und der Schätzwert für die einzelnen pharmakokinetischen Parameter ermittelt. Für die Signifikanzbestimmung und p-Wert-Berechnung wurde die Varianzanalyse (im Englischen: Analysis Of VAriance) ANOVA verwendet.

4.2 Berechnung der Stuhlflora

Die quantitativen Änderungen der Mikroflora-Kulturen wurden statistisch innerhalb zweier Gruppen verglichen. Zum Einen ermittelte Daten vor Behandlungsbeginn mit denen am Ende der Behandlungsphase, zum Anderen Daten vor Behandlungsbeginn und vier Wochen nach der Behandlung. Hierfür wurde der Wilcoxon-test mit Hilfe des Programms SPSS 11.0 verwendet.

5 Ergebnisse

5.1 Methodenvergleich

Das Studienmedikament Ertapenem wurde mit zwei unterschiedlichen Methoden gemessen. Zum Vergleich der beiden hier angewandten Methoden wurden zunächst die Ergebnisse des Bioassay mit den Ergebnissen der LC-MS mit Hilfe des Vorzeichentests der Paardifferenzen nach Dixon und Mood (65) angewendet. Die Ergebnisse sind in Tab. 5-1 aufgeführt.

Material	Bioassay <LC-MS	>	=	N _{Gesamt}	Linke Schranke	p
Plasma, Tag 1	32	78	0	110	42	<0,001
Plasma, Tag 7	23	87	0	110	42	<0,001
Urin, Tag 1	2	28	0	30	8	<0,01
Urin, Tag 7	2	27	0	29	8	<0,01

Tab. 5-1 Vergleich von Bioassay und LC-MS/MS Ergebnissen, zweiseitiger Test

Für den Methodenvergleich wurde dann im Weiteren eine einfache lineare Regressionsanalyse angewendet mit der standardisierten Hauptkomponentenanalyse (SPC) (6) unter Verwendung des Programmpaketes EVAPAK von Fa. Roche (vormals Boehringer Mannheim). Tab. 5-2 gibt die Ergebnisse der Regressionsanalyse mit $p < 0,05$ wieder. In den Abb. 5-1 und 5-2 ist eine Übersicht über die Verteilung der Ergebnisse in Abhängigkeit von der Konzentration für die Plasma-Kollektive dargestellt.

Probenkollektiv	N _{gesamt}	Steigung b	Achsenabschnitt a (mg/l)
Plasma Tag 1	110	1,082 (*)	3,2
Plasma Tag 2	110	1,034	4,8
Urin	29	1,416 (*)	25,8

Tab. 5-2 Regressionsanalyse von Bioassay vs. LC-MS/MS (*) $p < 0,05$

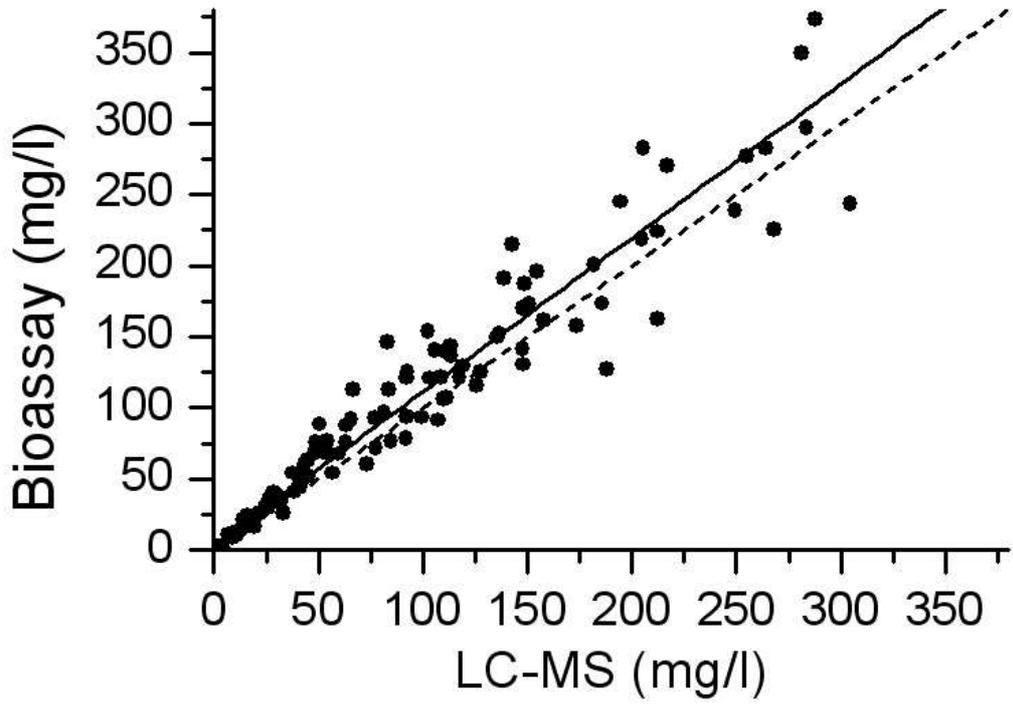


Abb. 5-1 Plasma Tag 1, Methodenvergleich

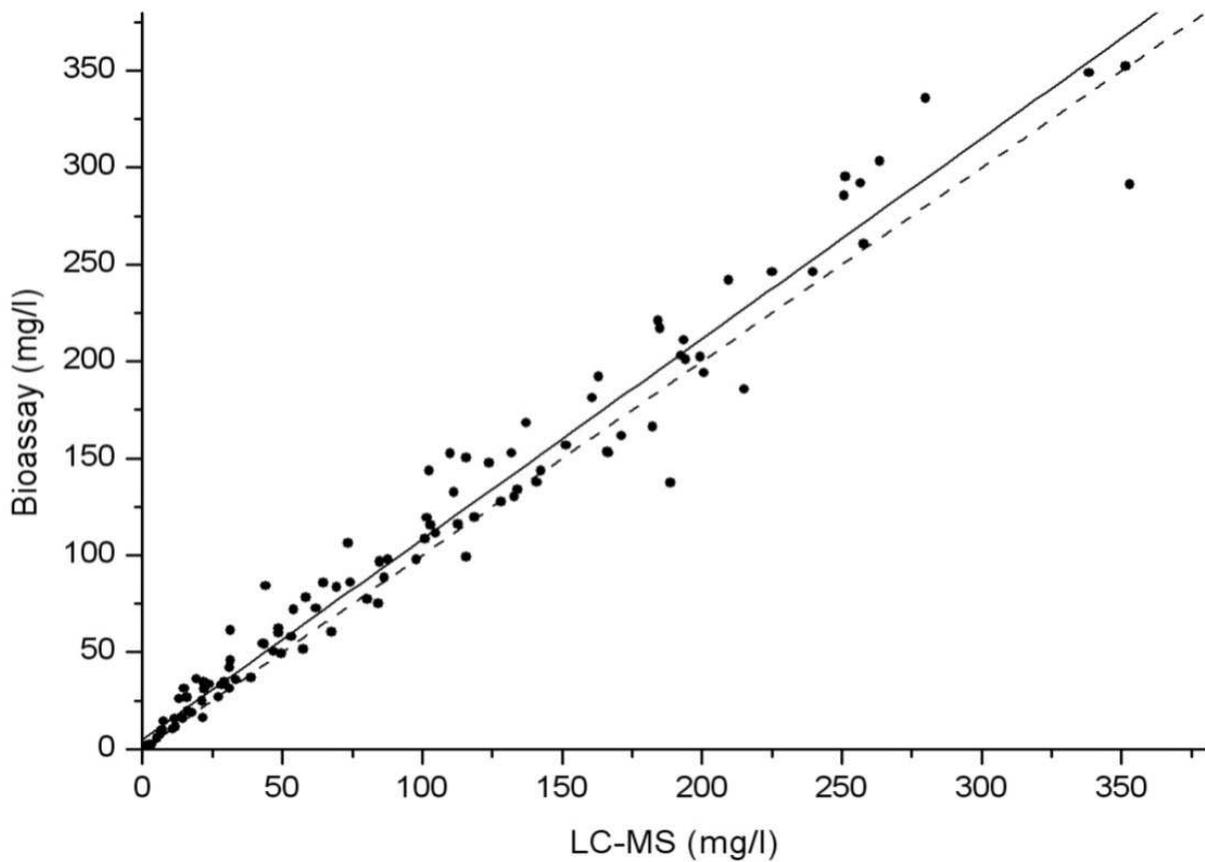


Abb. 5-2 Plasma Tag 2, Methodenvergleich

Zusammen mit der in Abb. 5-3 gezeigten Verteilung der Ergebnisse in Abhängigkeit von der Konzentration für das Urin-Kollektiv ist in allen drei Diagrammen eine lineare Beziehung zwischen beiden Ergebnissen erkennbar. Die Steigung der Regressionsgeraden >1 bestätigt die Aussage des Paardifferenzen-Tests: Die Ergebnisse der Bioassays sind bezogen auf die Plasmawerte etwa 9% höher und bezogen auf die Urinwerte etwa 50% höher als die Ergebnisse der LC-MS/MS.

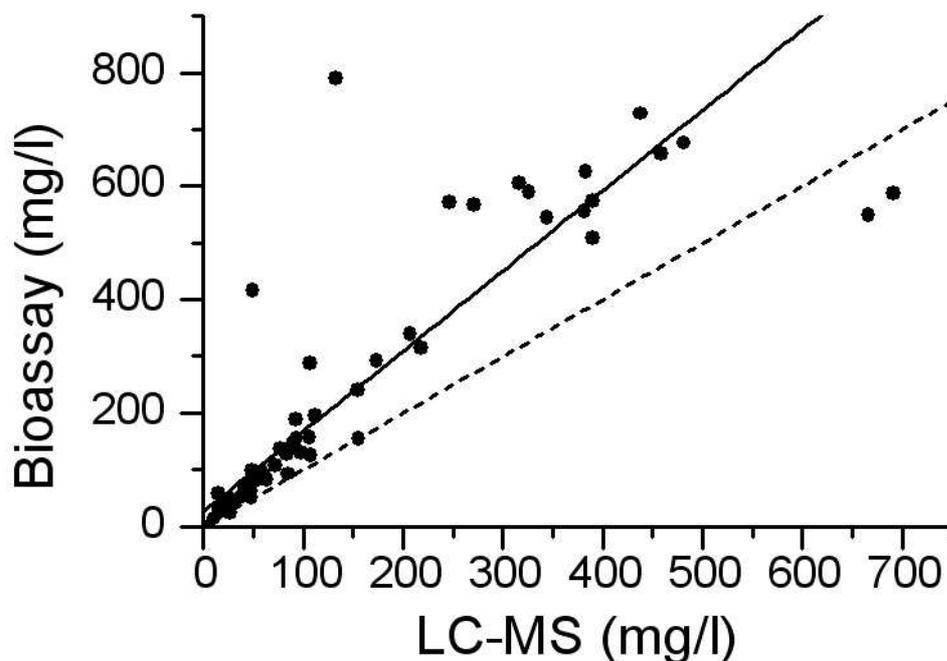


Abb. 5-3 Urin; Methodenvergleich

5.2 Pharmakokinetik

5.2.1 Ertapenem

Die mittels des Agardiffusionsverfahrens bestimmten Einzeldaten für die Plasmakonzentration bei Einzeldosis und Steady-State von Ertapenem sind in Tab. 9-7 und 9-8 im Anhang zu entnehmen, die mittels Massenspektrometrie erfassten Daten der Plasmakonzentrationen in den Tabellen 9-9 und 9-10.

In der Abb. 5-4 sind die arithmetischen Mittel (\pm SD) der gemessenen Plasmakonzentrationen bei Einzeldosis und im Steady-State dargestellt. Anhand der angegebenen Daten ist erkennbar, dass es zu keiner Akkumulation nach siebentägiger intravenöser Gabe von 2 g Ertapenem kam.

Die pharmakokinetischen Parameter für Ertapenem wurden mit den durch die Massenspektrometrie erfassten Daten berechnet und sind für die jeweiligen Probanden aus den Tab. 9-19 und 9-20 ersichtlich. Tab. 9-23 gibt eine Übersicht der Daten bei Einzeldosis (ED) und im Steady-State (SS) an. Als Schätzwert für die zentrale Tendenz ist der geometrische Mittelwert angegeben und die in Klammern gesetzten Zahlen entsprechen dem Variationskoeffizienten in Prozent. Die maximale Serumkonzentration (C_{max}) betrug für die Einzeldosis 253 (15) mg/l und für den Steady-State 275 (19) mg/l. Die Fläche unter der Kurve (AUC_{dose}) wurde für die Einzeldosis mit Null gegen Unendlich und für den Steady-State mit Null gegen 24 Stunden definiert. Daraus ergab sich für die Einzeldosis 817 (20) mg·h/l und für den Steady-State 823 (19) mg·h/l. Die maximale Serumspitzenkonzentration (t_{max}) wurde in beiden Fällen nach 0,5 h erreicht. Die terminale Halbwertszeit ($t_{1/2}$) wurde mit 4,5 (23) h für die Einzeldosis und 4,3 (11) h für den Steady-State bestimmt. Die mittlere Verweildauer (MRT) lag bei 4,7 (13) h für die Einzeldosis und bei 4,1 (18) h für den Steady-State. Für das Verteilungsvolumen in der terminalen Phase (V_z) ergab sich ein Wert von 8,0 (25) l bei Einzeldosis und 7,5 (20) l am siebten Tag. Das Verteilungsvolumen im Steady-State (V_{ss}) lag nach einmaliger Dosierung bei 5,7 (18) l und nach mehrfacher Dosierung bei 5,0 (18) l.

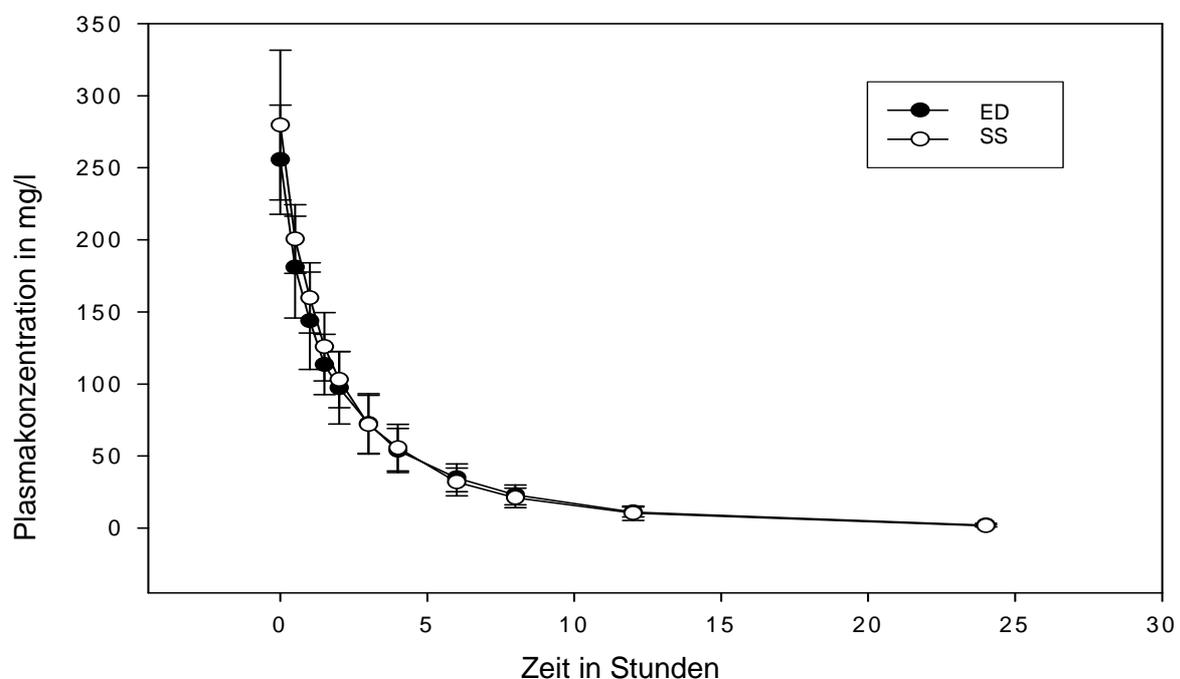


Abb. 5-4 Arithmetisches Mittel (\pm SD) der gemessenen Plasmakonzentrationen bei Einzeldosis und im Steady-State nach Gabe von 1 g Ertapenem i.v.

Die Tabellen 9-11 bis 9-14 zeigen die erfassten Einzeldaten für die Urinkonzentrationen von Ertapenem mittels Agardiffusionsverfahren und Massenspektrometrie. Die aus den Konzentrationen der mittels Massenspektrometrie erfassten Daten berechneten pharmakokinetischen Parameter sind in Tab. 9-23 dargestellt.

Hier zeigte sich eine Urin-Wiederfindung (f_u) von 45,1 (36) % bei Einzeldosis und 41,2 (42) % im Steady-State. Für die aus der Berechnung mittels Agardiffusionsverfahren gewonnenen Konzentrationen ergab sich eine Urin-Wiederfindung (f_u) für die Einzeldosis von 77,7 % und im Steady-State 70,2%. In Abb. 5-5 ist dieser Unterschied nochmals graphisch dargestellt. Zum Vergleich der Methoden siehe auch unter 5.1. Die Berechnung der totalen Clearance (Cl_{tot}) ergab bei Einzeldosis 20,4 (18) ml/min und im Steady-State 20,2 (16) ml/min. Dabei betrug die renale Clearance (Cl_{ren}) bei Einzeldosis 9,38 (37) ml/min und 8,62 (46) ml/min im Steady-State. Daraus ergaben sich für die non-renale Clearance (Cl_{nren}) 9,63 (38) ml/min bei Einzeldosis und 11,0 (33) ml/min im Steady-State.

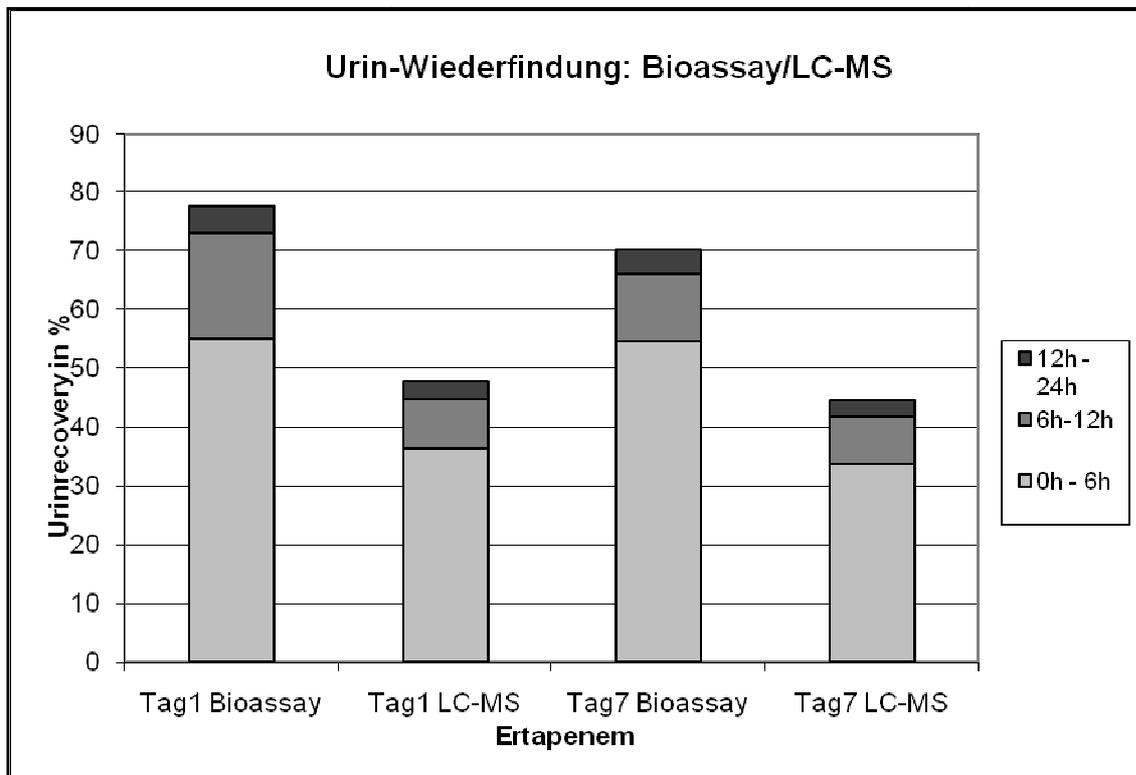


Abb. 5-5 Urin-Wiederfindung von Ertapenem mittels Bioassay und LC-MS bei Einzeldosis und im Steady-State in den einzelnen Urin-Sammelperioden.

5.2.2 Ceftriaxon

In der Abb. 5-6 sind die arithmetischen Mittel (\pm SD) der gemessenen Serumkonzentrationen bei Einzeldosis und im Steady-State dargestellt. Anhand der genannten Daten ist erkennbar, dass es zu keiner Akkumulation nach siebentägiger intravenöser Gabe von 2 g Ceftriaxon kam.

Die mittels Agardiffusionsverfahren bestimmten Einzeldaten für die Serumkonzentration bei Einzeldosis und Steady-State von Ceftriaxon sind in Tab. 9-15 und 9-16 im Anhang zu entnehmen.

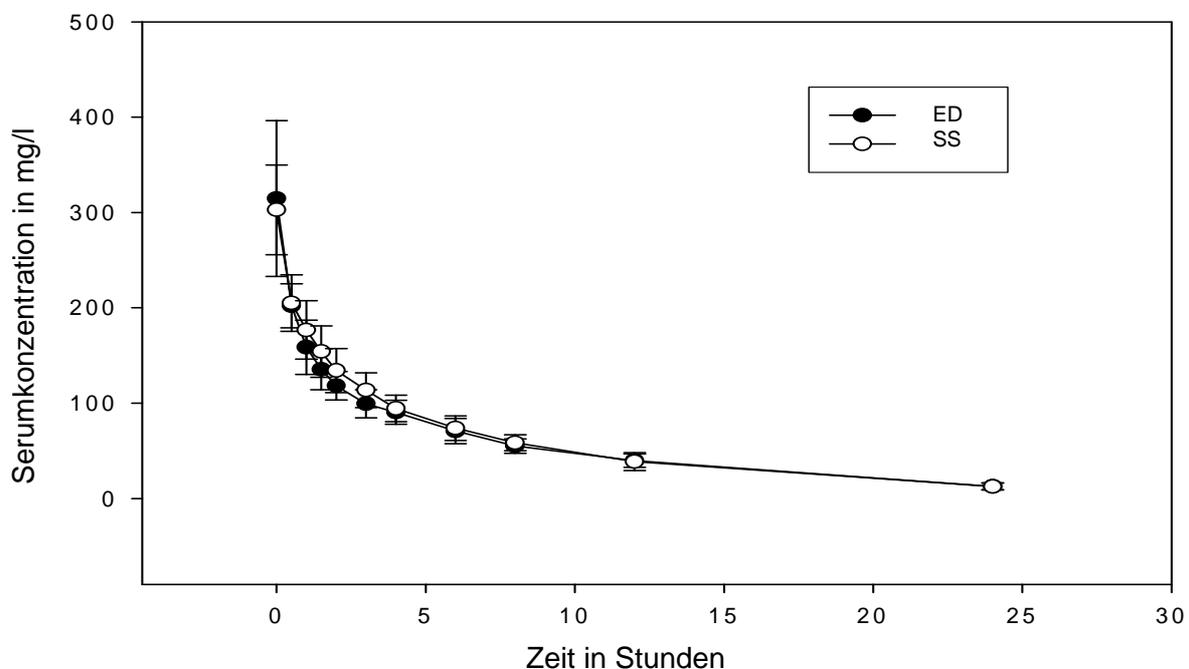


Abb. 5-6 Arithmetisches Mittel (\pm SD) der gemessenen Serumkonzentrationen bei Einzeldosis und im Steady-State nach Gabe von 2 g Ceftriaxon i.v.

In den Tab. 9-21 und 9-22 sind die berechneten pharmakokinetischen Daten der einzelnen Probanden aufgeführt. Tab. 9-23 enthält die pharmakokinetischen Daten im geometrischen Mittel als Schätzwert für die zentrale Tendenz. Die maximale Serumkonzentration (C_{max}) betrug 306 (26) mg/l nach einmaliger Gabe und 300 (16) mg/l im Steady-State. Die berechnete Fläche unter der Kurve (AUC_{dose}) ergab für die

Einzeldosis 1557 (15) mg·h/l und 1463 (15) mg·h/l im Steady-State. Die Fläche unter der Kurve wurde wie bei Ertapenem mit Null gegen Unendlich für die Einzeldosis und mit Null bis 24 für den Steady-State definiert. Die maximale Serumspitzenkonzentration (C_{max}) war in beiden Fällen nach 0,5 h (t_{max}) erreicht. Die mittlere Verweildauer (MRT) lag für die Einzeldosis bei 9,1 (16) h und für den Steady-State bei 8,5 (14) h. Die terminale Halbwertszeit ($t_{1/2}$) wurde mit 7,5 (17) h nach einmaliger Gabe und 7,1 (12) h im Steady-State bestimmt. Für das Verteilungsvolumen in der terminalen Phase (V_z) ergab sich ein Wert von 13,9 (15) l bei Einzeldosis und 14,0 (15) l am siebten Tag. Das Verteilungsvolumen im Steady-State (V_{ss}) lag nach einmaliger Dosierung bei 11,7 (16) l und nach mehrfacher Dosierung bei 11,6 (16) l.

Die Einzeldaten der Urinkonzentrationen für die Zeiten 0-6h, 6-12h und 12-24h sind aus den Tabellen 9-17 und 9-18 im Anhang zu entnehmen. Tab. 9-19 zeigt die daraus errechneten pharmakokinetischen Daten. Dabei ergab sich für die Urin-Wiederfindung (f_u) ein Wert von 36,7 (18) % bei Einzeldosis und 42,3 (15) % im Steady-State. Die totale Clearance (Cl_{tot}) wurde mit 21,4 (18) ml/min bei Einzeldosis und 22,8 (18) ml/min im Steady-State berechnet. Dabei betrug die renale Clearance (Cl_{ren}) bei Einzeldosis 8,63 (9) ml/min und im Steady-State 9,60 (11) ml/min. Daraus ergab sich für die non-renale Clearance ein Wert von 12,5 (31) ml/min bei Einzeldosis und 13,0 (31) ml/min im Steady-State.

5.2.3 Geschlechtsspezifische Unterschiede

Neben der Frage nach Akkumulation der Studienmedikamente wurden die Daten noch auf mögliche geschlechtsspezifische Unterschiede geprüft. Diese wurden für die pharmakokinetischen Parameter von Ertapenem festgestellt und sind in Tab. 5-3 aufgeführt. Hierbei zeigte sich ein signifikanter Unterschied der Fläche unter der Kurve (AUC_{dose} in mg · h/l) für Ertapenem mit einem P-Wert von: $p < 0,004$, bei einer AUC nach Einzeldosis von 711 ± 45 für Frauen und 950 ± 151 für Männer sowie einer AUC im Steady-State von 770 ± 88 für Frauen und 901 ± 192 für Männer. Die totale Clearance (Cl_{tot}) von Ertapenem war etwa 24% höher bei den weiblichen Probanden, wobei diese auch eine höhere renale Clearance (Cl_{ren}) von 51% aufwiesen. Für die pharmakokinetischen Daten von Ceftriaxon ergaben sich keine signifikanten geschlechtsspezifischen Unterschiede.

	geometrischer Mittelwert der Frauen	geometrischer Mittelwert der Männer	Geometrischer Mittelwert der Frauen dividiert durch geometrischen Mittelwert der Männern (90% Konfidenzintervall in %)	p-Werte für Geschlechtsunterschiede
C _{max} (mg/l)	259	269	97 (84-111)	0,66
AUC _{dose} (mg·h/l)	737	912	81 (72-90)	0,004
Cl _{tot} (ml/min)	22,6	18,3	124 (111-138)	0,004
Cl _{ren} (ml/min)	11,0	7,25	151 (112-205)	0,03
Cl _{nren} (ml/min)	10,6	9,84	108 (73-160)	0,736
t _{1/2} (h)	4,14	4,70	88 (78-100)	0,095
MRT (h)	3,97	4,85	82 (74-91)	0,003
V _{ss} (l)	5,39	5,32	101 (87-118)	0,884
V _z (l)	8,10	7,44	109 (89-133)	0,461
C _{min} (mg/l)	1,11	2,04	54 (37-79)	0,017
fu (%)	48,2	38,2	126 (93-170)	0,195

Tab. 5-3 Geschlechtsspezifische Unterschiede der pharmakokinetischen Parameter

5.3 Mikrobiologische Ergebnisse

Die Analyse der Stuhlproben erfolgte im Karolinska-Institut in Stockholm durch Professor Nord, der diese untersuchte und statistisch auswertete. Tab. 5-4 zeigt die mittlere Konzentration von Ceftriaxon und Ertapenem im Stuhl am vierten und am achten Tag. An den Tagen -2, -1, 14, 21 und 35 wurde keine antimikrobielle Aktivität nachgewiesen.

Medikament	Konzentration in mg/kg							
	Tag 4				Tag 8			
	MW	SD	MEDIAN	Grenzbereich	MW	SD	MEDIAN	Grenzbereich
Ertapenem	37,2	110	0,3	0-330	32,7	97,3	0	0-292
Ceftriaxon	152	253	2,4	0-657	258	296	161	0-806

Tab. 5-4 Konzentration von Ertapenem und Ceftriaxon im Stuhl an Tag 4 und 8

5.3.1 Einfluss von Ertapenem auf die intestinale Mikroflora

Zur Untersuchung des Einflusses der Studienmedikamente auf die intestinale Mikroflora wurden aerobe Keime (*Escherichia coli*, Enterokokken) sowie Hefen und anaerobe Keime (Clostridien, *Bacteroides*, Bifido- und Lactobacilli) gewählt. Die Abb. 5-7 (links) zeigt, dass sich während der Gabe von Ertapenem die Anzahl der Enterokokken-Kolonien signifikant erhöhte ($p < 0,05$), wogegen die Anzahl der *E. coli*-Kolonien abnahm. Am achten Tag zeigte sich im Vergleich zu den vor Medikamentenapplikation abgenommenen Proben ein vermehrtes Wachstum von Hefe-Kolonien. Insgesamt normalisierte sich die aerobische Mikroflora am Tag 35 wieder.

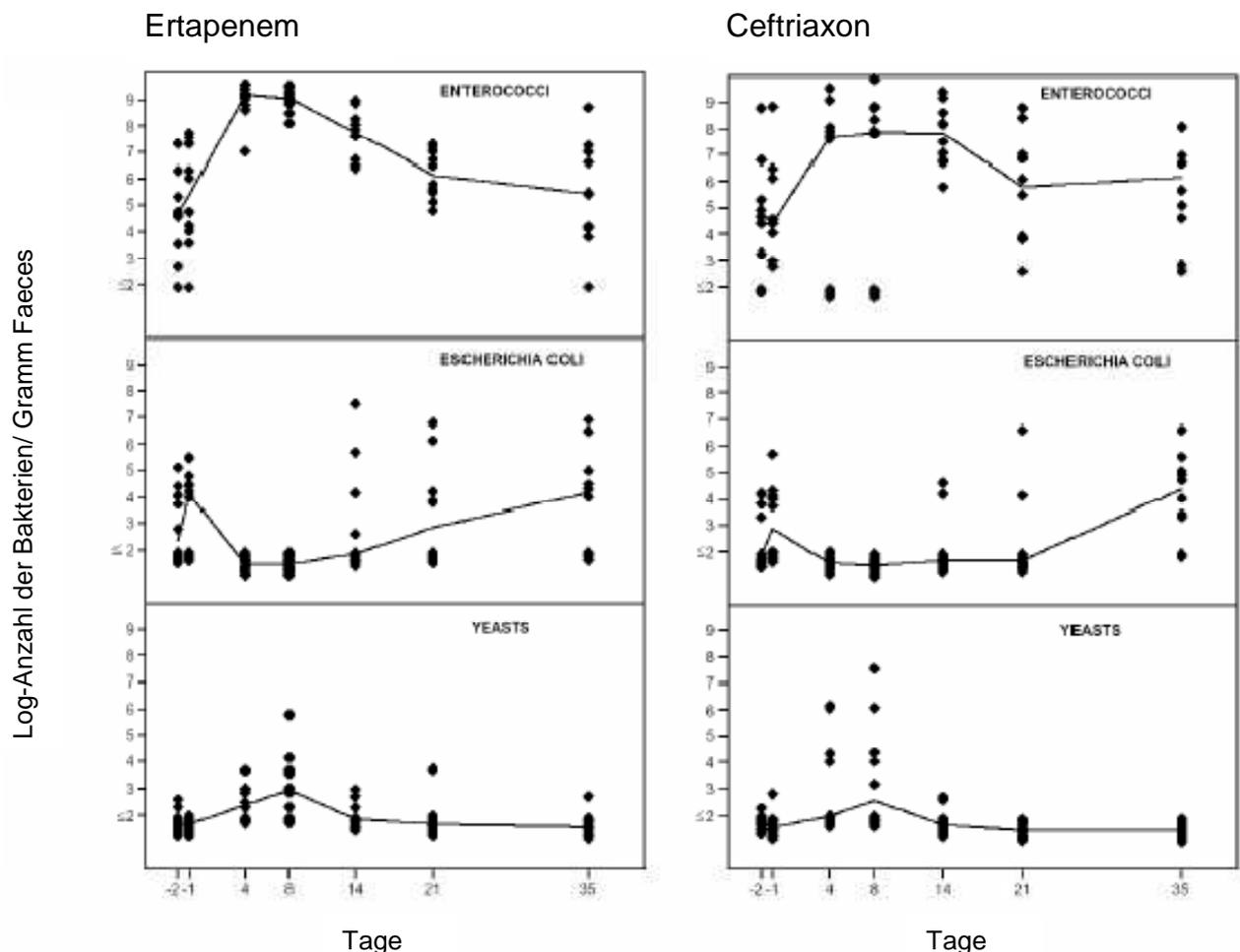


Abb. 5-7 Einfluss von Ertapenem (links) und Ceftriaxon (rechts) auf die aerobe intestinale Mikroflora.

Abb. 5-8 (links) zeigt, dass sich die Anzahl der anaeroben Mikroflora insgesamt während der Medikamentengabe verminderte, wobei die Anzahl der Bifidobakterien und Bacteroides fragilis Gruppe signifikant vermindert wurde ($p < 0,05$). Die Anzahl der Lactobacilli und Clostridien dagegen wurde nur geringfügig beeinflusst. Der Verlauf in der Abbildung zeigt die Mittelwerte der Anzahl an Mikroorganismen pro Gramm Stuhl.

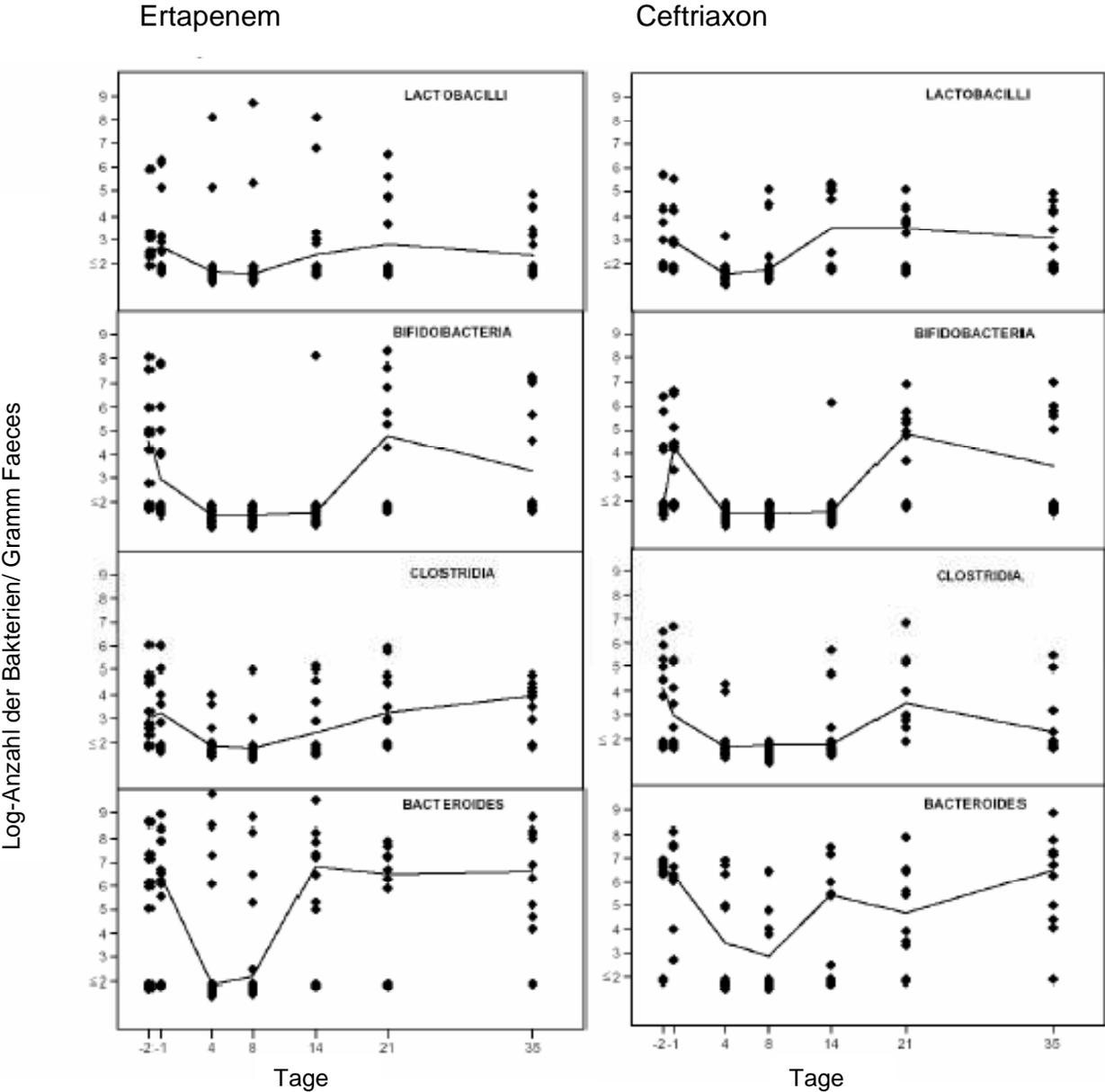


Abb. 5-8 Einfluss von Ertapenem (links) und Ceftriaxon (rechts) auf die anaerobe intestinale Mikroflora.

5.3.2 Einfluss von Ceftriaxon auf die intestinale Mikroflora

Der in Abb. 5-6 (rechts) abgebildete Einfluss von Ceftriaxon auf die aerobe Mikroflora zeigt, dass sich die Anzahl von Enterokokken-Kolonien deutlich vermehrte, während die Anzahl von E. coli-Kolonien signifikant abnahm ($p < 0,05$). Am achten Tag der Ceftriaxongabe zeigte sich keine signifikante Überwucherung von Hefe-Kolonien und die aerobe Mikroflora normalisierte sich an Tag 35 auf die Konzentration vor Medikation.

Obwohl sich die anaerobe Mikroflora an Tag 35 wieder normalisiert hatte, zeigte sich während der Ceftriaxongabe eine signifikante Reduktion der anaeroben Stämme. Dies betraf sowohl Lactobacillen, Bifidobakterien, Clostridien wie auch B. fragilis.

5.4 Verträglichkeit

Während der sieben Tage der Medikamentenapplikation wurde von den Probanden eine Liste über subjektive Beschwerden geführt. In Tab. 5-5 und Tab. 5-6 sind die Beschwerden nach Art, Dauer und Anzahl der Probanden in Zusammenhang mit dem jeweiligen Studienmedikament aufgeführt.

Art der Beschwerden	Anzahl der Probanden	Dauer der Beschwerden
Durchfall	6	1-5 d
konsistenzverminderter Stuhl	3	1-5 d
Kopfschmerzen	4	1-4 d
metallischer Geschmack im Mund	4	1-7 d
Kältegefühl	1	2 d
lokale Reizung der Punktionsstelle	1	1 d
Durchfall und Erbrechen (nach Ananas)	1	2 d
Übelkeit und Schwindel	1	1 h

Tab. 5-5 Subjektive Beschwerden während siebentägiger Ertapenemgabe

Art der Beschwerden	Anzahl der Probanden	Dauer der Beschwerden
Durchfall	6	1-10 d
konsistenzverminderter Stuhl	3	2-7 d
Kopfschmerzen	7	1-2 d
metallischer Geschmack im Mund	1	7 d
Sodbrennen	1	1 d
lokale Reizung der Punktionsstelle	1	1 d
Übelkeit	1	1 d
leichtes Schwindelgefühl	1	2 h

Tab. 5-6 Subjektive Beschwerden während siebentägiger Ceftriaxongabe

Die Studie wurde von allen Probanden planmäßig beendet und es traten keine schwerwiegenden Komplikationen auf. Über Diarrhoe und verminderte Stuhlkonsistenz wurde in beiden Studiengruppen am häufigsten berichtet (n=9). Über Kopfschmerzen wurde nach Applikation von Ceftriaxon häufiger geklagt (n=7), doch auch bei Ertapenem traten sie noch bei fast der Hälfte der Probanden auf (n=4). Ein metallischer Geschmack im Mund trat häufiger nach Gabe von Ertapenem auf (n=4), bei Ceftriaxon wurde nur von einem Probanden darüber berichtet. Jeweils ein Proband pro Studiengruppe hatte Irritationen an der Infusionsstelle.

6 Diskussion

6.1 Diskussion der Methoden

6.1.1 Bioassay

Bei dem hier angewendeten Verfahren der Agardiffusion handelt es sich um eine auf biologischer Basis aufgebauten Methode. Die Wachstumshemmung geeigneter lebender Testkeime durch die antibakteriellen Substanzen wurde quantitativ erfasst und ausgewertet. Die hier vorliegenden Ergebnisse der Serum-, Plasma- und Urinkonzentrationen wurden nach der von J.M. Andrews (3) beschriebenen Methode bestimmt. Vorteile dieser Methode sind die Messung der gesamten biologischen Aktivität der Muttersubstanz sowie die Messung gegebenenfalls vorliegender aktiver Metaboliten. Dies kann jedoch unter Umständen zu erhöhten Messwerten der Konzentration führen, da eine Trennung der Konzentration von Muttersubstanz und aktiven Metaboliten nicht möglich ist. Nachteile können durch die starke Abhängigkeit von menschlichen labortechnischen Fähigkeiten und Fertigkeiten (absolute Menge der eingebrachten Testlösungen, Ablesetechnik) sowie von biologisch bedingten individuellen Schwankungen der Hemmhofgröße (Keimsaat, Testkeim, Agarschichtdicke) entstehen. Der Variationskoeffizient des hier zugrundeliegenden Agardiffusionsverfahrens lag für Ertapenem im Plasma zwischen 3,6% und 5,4% und im Urin zwischen 3,0% und 4,7% sowie für Ceftriaxon im Serum zwischen 3,7% und 6,9% und im Urin zwischen 5,7% und 7,2%. Dies zeigte die Zuverlässigkeit der Methode zur Bestimmung von Ertapenem und Ceftriaxon.

6.1.2 Massenspektrometrie

Bei der LC-MS/MS handelt es sich um ein Verfahren, bei dem durch die Ionisation des Analyts die Moleküle im Raum gezielt transportiert, gefiltert und schließlich detektiert werden können. Diese rein physikalische Methode eignet sich vor allem zur akkuraten Quantifizierung endogener und exogener niedermolekularer Analyte in biologischen Proben (79). Die Messungen weisen im Allgemeinen eine hohe Spezifität und Richtigkeit bei guter Empfindlichkeit und Reproduzierbarkeit auf. Jedoch sollte die Spezifität der Methode nicht überschätzt werden, da es bei der Ionisation und Aufspaltung in Mutter- und Tochterionen zu sogenannten „In-source transformationen“ kommen kann.

Dies bedeutet, es könnten Konjugat-Metaboliten eines Analyts entstehen. Dies führt dann unter Umständen zu einer falschen Messung der Analyte, da konjugierte und nicht konjugierte Analyte zu gleichen Teilen gemessen werden und die Methode verfälschen können (79).

Die hier durchgeführten Messungen zur Quantifizierung mit einem Mittelwert der QC-Werte von 97,02 und einer guten Spezifität zeigten jedoch, dass sich die Methode gut eignet, um Ertapenem in Plasma und Urin nachzuweisen.

6.1.3 Methodenvergleich Bioassay/Massenspektrometrie

Beim Vergleich der Methoden mittels Vorzeichentest der Paardifferenzen nach Dixon und Mood (65) zeigte sich, dass in allen vier Untergruppen die Ergebnisse des Bioassay signifikant höher waren als die Ergebnisse der LC-MS/MS mit $p_{\text{Plasma}} < 0,001$ und $p_{\text{Urin}} < 0,01$.

Die Vergleichsberechnung mittels Regressionsanalyse ergab eine überwiegende Signifikanz für den Vergleich der Ergebnisse von Plasma zwischen Bioassay und LC-MS/MS. Dies ist jedoch für die weitere pharmakokinetische Auswertung der Plasmaproben nicht erheblich. Die Unterschiede der Ergebnisse in den Urinproben erscheinen jedoch relevant.

Vergleicht man die hier gewonnenen Ergebnisse mit anderen Studien, so berichtet Majumdar et al. (45) über eine 44%-ige Urin-Wiederfindung für die unveränderte Substanz. Dies würde den in dieser Studie per LC-MS/MS gemessenen Daten entsprechen.

Die Bestimmung der Urinkonzentration per Bioassay ergab eine 77%-ige Urin-Wiederfindung. Die 2001 veröffentlichten Ergebnisse von Wong et al. (84), bei der die Konzentrationen von radioaktiv markiertem Ertapenem im Urin per „liquid scintillation spectrometry“ gemessenen wurden, zeigten eine 80%-ige Urin-Wiederfindung. Dies wäre also mit den hier per Bioassay gewonnenen Daten vergleichbar. Der Hauptmetabolit von Ertapenem wird in Form eines offenen Ring-Metaboliten ausgeschieden (22, 85) und soll laut Hersteller inaktiv sein. Daher sollte dieser durch den Bioassay eigentlich nicht messbar sein. Da jedoch die Plasmadaten bei beiden Methoden

vergleichbar gemessen wurden könnte eine gewisse Aktivität der Metabolite gegen den im Bioassay verwendeten Keim vorgelegen haben.

Eine mögliche Erklärung der unterschiedlichen Ergebnisse, vor allem bei den Daten der Urinkonzentration, könnte auf die Instabilität des Pharmakons nach dem Auftauen zurückzuführen sein. Die im Labor von Kurowski in Berlin vorgenommenen Messungen der Plasma- und Urinproben konnten laut diesem nur einmal gemessen werden, da von einer gewissen Instabilität des Pharmakons ausgegangen wurde. Musson et al. (49) beschreiben in ihrer 1998 erschienenen Arbeit eine Stabilität von etwa acht Stunden bei Raumtemperatur für Ertapenem in Urinproben. Für Plasmaproben betrug diese sogar nur zwei bis vier Stunden. In einer von Koal et al. 2006 (42) veröffentlichten Arbeit wurde die Stabilität von Ertapenem ebenfalls untersucht. Ertapenemkonzentrationen wurden hier per LC-MS gemessen. Nach der Messung wurden die untersuchten Proben 24 Stunden bei 4°C aufbewahrt und nochmals gemessen. Die Ergebnisse waren mit $99,4 \pm 1,8$ % reproduzierbar. Voraussetzung der Stabilität war in beiden Studien die sofortige Pufferung mit MES (pH 6,5) und die Aufbewahrung bei -80°C. Beides wurde in der hier vorliegenden Studie befolgt. Da die in der hier vorliegenden Studie gewonnenen Proben nach dem Auftauen sofort gemessen wurden, erscheint die Methode der LC-MS valide für die Messung der Konzentration von Ertapenem.

6.2 Pharmakokinetik

Der Möglichkeit, die pharmakokinetischen Daten von verschiedenen Medikamenten zu vergleichen, sind Grenzen gesetzt. Zum Einen können die Prozesse der Verteilung, Metabolisierung und Elimination im menschlichen Organismus erheblichen Schwankungen unterliegen, zum Anderen kann es zu Unterschieden bei den jeweiligen Individuen durch Alter, Nahrung, Krankheit, Begleitmedikation und Galenik des Pharmakons kommen.

Unterschiedliche Studiendesigns (Dosis, Applikationsart, Größe des Probanden- bzw. Patientenkollektivs), unterschiedliche Methoden sowie verschiedene pharmakokinetische und statistische Auswertverfahren (Art des Kompartimentmodells, Normali-

sierung des Körpergewichtes) wirken sich ebenfalls begrenzend auf die Vergleichbarkeit der pharmakokinetischen Daten aus (61).

Durch Anpassung der Dosis und des Dosierungsintervalles sowie Festlegung von Sicherheitsbereichen, können interindividuelle Unterschiede ausgeglichen werden.

6.2.1 Pharmakokinetik von Ertapenem

Im Folgenden sollen die hier gewonnenen Ergebnisse mit den Ergebnissen anderer Studien verglichen werden. Dazu werden die wichtigsten Ergebnisse nochmals aufgeführt.

Nach einer einmaligen intravenösen Applikation von 1 g Ertapenem über 30 min bestimmten wir eine maximale Serumkonzentration (C_{max}) von 253 mg/l bei Einzeldosis und 275 mg/l im Steady-State. Die Fläche unter der Kurve (AUC_{dose}) betrug 817 mg·h/l bei Einzeldosis und 823 mg·h/l im Steady-State.

Bei der Frage nach einer eventuellen Akkumulation von Ertapenem nach siebentägiger intravenöser Gabe zeigten die berechneten pharmakokinetischen Daten, dass es zu keiner Akkumulation gekommen ist. Dies spiegelt sich auch in den Daten der von Majumdar et al. 2002 veröffentlichten Studie wider (45). Hier wurden bei 6 männlichen Probanden bei Einzeldosis eine AUC_{0-24} von 480,7 mg·h/l und für Steady-State (nach 8 Tagen i.v. Gabe von 1 g Ertapenem) eine AUC_{0-24} von 501,4 mg·h/l ermittelt.

Insgesamt zeigten die in der hier vorliegenden Studie errechneten pharmakokinetischen Parameter höhere Werte, als in der Studie von Majumdar et al. (45) 2002 publiziert. So lagen die dort errechneten Parameter von C_{max} (mg/l) mit $154,9 \pm 22,0$ und $AUC_{0-\infty}$ (mg·h/l) mit $572,1 \pm 68,6$, unter den hier errechneten Parametern. Da die Daten durch die HPLC-Methode (High-Performance-Liquid-Chromatographie) gewonnen wurden, ist ein direkter Vergleich sicherlich nicht sinnvoll, weil in der hier aufgeführten Studie zwei unabhängige Methoden verwendet wurden. Diese erwiesen sich als vergleichbar, was die gewonnenen Plasmadaten betraf. Hierzu siehe auch 6.2. Eine mögliche Erklärung für die in dieser Studie höheren Werte könnte sich dadurch ergeben, dass das mittlere Körpergewicht nur bei 70 ± 13 kg lag. Genauere Angaben zum Probandenkollektiv wurden in der Studie von Majumdar et al. (45) nicht gemacht.

In der von Chen et al. (17) 2006 veröffentlichten Studie wurde der Einfluss des Körpergewichtes auf die pharmakokinetischen Daten untersucht. Hier wurde für die $AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$) bei Normalgewichtigen ($\text{BMI } 22,5\pm 1,9 \text{ kg}/\text{m}^2$) ein Wert von $586 \pm 50,4$ errechnet. Der mittlere BMI in der hier vorliegenden Studie lag bei $24,9\pm 5,7$ und wäre somit mit den Normalgewichtigen in der Studie von Chen et al. vergleichbar. Das mittlere Körpergewicht in dieser Gruppe lag bei $66,7\pm 9,6 \text{ kg}$. Da die errechneten Werte in der AUC in dieser Studie ebenfalls niedriger waren als in unserer, liegt der Unterschied möglicherweise in den verschiedenen Methoden begründet. Auch in der Studie von Chen et al. wurde zur Konzentrationsmessung die Methode der HPLC verwendet. Die Etablierung der LC-MS/MS-Methode für den Nachweis von Ertapenem findet sich in der Veröffentlichung von Koal et al. (42). Dort sind jedoch keine pharmakokinetischen Daten beschrieben. Daher gestaltet sich ein abschließender Vergleich der in dieser Studie gewonnenen Daten mit denen anderer Studien (17, 21, 45) schwierig. Es kann nur vermutet werden, dass die Unterschiede sich in den angewendeten analytischen Methoden oder der Durchführung der Studien begründen.

Aus den in dieser Studie gewonnenen Daten ergab sich zusätzlich ein signifikanter geschlechtsspezifischer Unterschied. Die AUC ($\text{mg}\cdot\text{h}/\text{l}$) für die Daten von Ertapenem unterschied sich mit $p < 0,004$ signifikant zwischen den weiblichen und männlichen Probanden. Dabei lagen die Werte am ersten Tag bei $711\pm 45 \text{ mg}\cdot\text{h}/\text{l}$ für die weiblichen und $950\pm 151 \text{ mg}\cdot\text{h}/\text{l}$ für die männlichen Probanden sowie bei Werten vom siebten Tag mit $770\pm 88 \text{ mg}\cdot\text{h}/\text{l}$ für die weiblichen und $901\pm 192 \text{ mg}\cdot\text{h}/\text{l}$ für die männlichen Probanden. Damit war die Plasmaclearance für Ertapenem etwa 24% höher bei den weiblichen Probanden. Dieser Unterschied lässt sich vermutlich auf die 51% höhere renale Clearance bei den weiblichen Probanden zurückführen. Dieser geschlechtsspezifische Unterschied scheint klinisch nicht relevant zu sein und wurde auch schon bei anderen Medikamenten (Argatroban) beobachtet (72).

6.2.2 Pharmakokinetik von Ceftriaxon

Das Breitspektrumantibiotikum Ceftriaxon ist ein seit Jahren gut etabliertes und mehrfach untersuchtes Antibiotikum. Es gibt bereits eine Vielzahl an Studien, die sich mit den pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Parametern befassen (10, 18, 40, 57-59, 62, 86, 87). Die in dieser Studie durch Bioassay gemessenen Konzentrationen aus Serum und die daraus berechneten pharmakokinetischen Parameter zeigten, dass es bei Ceftriaxon zu keiner Akkumulation im Steady-State kam. Im Folgenden werden die wichtigsten Daten nochmals aufgeführt.

Nach einer einmaligen intravenösen Applikation von 2 g Ceftriaxon über 30 min, bestimmten wir eine maximale Serumkonzentration (C_{max}) von 306 mg/l bei Einzeldosis und 300 mg/l im Steady-State. Der Zeitpunkt der Serumspitzenkonzentration (t_{max}) war bei Einzeldosis und Steady-State jeweils nach 0,5 h erreicht. Die terminale Halbwertszeit ($t_{1/2}$) wurde mit 7,5 h bei der Einzeldosis und 7,1 h im Steady-State errechnet. Diese Daten bestätigen die pharmakokinetische Voraussetzung für die mögliche einmalige Dosierung von Ceftriaxon.

Die Fläche unter der Kurve (AUC_{dose}) betrug 1557 mg·h/l bei Einzeldosis und 1463 mg·h/l im Steady-State. Die renale Clearance (Cl_{ren}) lag bei der Einzeldosis bei 8,63 ml/min und im Steady-State bei 9,60 ml/min. Die Urin-Wiederfindung (f_u) ergab für die Einzeldosis 37,7 % und für den Steady-State 42,3 %.

Im Vergleich mit anderen pharmakokinetischen Studien ergaben sich nur geringe Abweichungen. Die Studie von Chiu et al. (18) zeigte beim Vergleich von Einzeldosis (ED) und Steady-State (SS) mit einer Fläche unter der Kurve (AUC) von 973,12 mg·h/l (ED) und 1075,40 mg·h/l (SS) sowie einer maximalen Plasmakonzentration (C_{max}) von 128,7 mg/l (ED) und 136,4 mg/l (SS), dass es auch hier zu keiner Akkumulation nach einer zehntägigen Gabe von Ceftriaxon kam. Die niedrigeren Werte im Vergleich zu der hier durchgeführten Studie sind durch die geringere Dosierung von 1 g pro Tag zu erklären.

Pollock et al. (62) beschreiben nach einer einmaligen Gabe von 2 g Ceftriaxon i.v. eine maximale Plasmakonzentration (C_{max}) von 239 ± 26 mg/l am ersten Tag und 260 ± 24 mg/l am vierten Tag sowie eine renale Clearance (Cl_{ren}) von 523 ± 94 ml/h am ersten Tag und 509 ± 112 ml/h am vierten Tag. Die terminale Halbwertszeit ($t_{1/2}$) lag jeweils bei 6,2 h am

ersten Tag und am vierten Tag. Dies zeigt eine recht gute Vergleichbarkeit zu den in dieser gewonnenen Studie erzielten Ergebnissen und spricht für die Möglichkeit der Einmaldosierung.

Borner K. (10) beschreibt eine maximale Serumkonzentration (zum Zeitpunkt 0min nach Infusion) von 258 ± 40 mg/l und eine Urin-Wiederfindung von $51,2 \pm 8,9\%$ über einen Zeitraum von 24 Stunden, was die anteilige Elimination über die Niere bestätigt.

In der Studie von Patel et al. (58) wurde die Fläche unter der Kurve (AUC) mit 1703 ± 203 mg · h/l berechnet, ein etwas höherer Wert, als die in dieser Studie berechneten AUC. Allerdings wurde hier ein Zwei-Kompartimentmodell zur Berechnung der pharmakokinetischen Parameter zugrundegelegt.

Die hier zum Vergleich beschriebenen Studien nutzten zur Konzentrationsbestimmung von Ceftriaxon in der Hauptsache die Methode der HPLC. In der Studie von Granich und Krogstad (35) wurde eine direkte Vergleichsmessung zwischen dem Bioassay und der HPLC vorgenommen. Hier zeigte sich eine gute Vergleichbarkeit der beiden Methoden bei einer Regressionsgleichung von $y=0,995x + 1,904$. Dies würde für die gute Vergleichbarkeit der hier gewonnenen Ergebnisse mit den in anderen Studien gewonnenen Ergebnissen sprechen. Dennoch ist nicht auszuschließen, dass sich die in einigen Studien doch leicht abweichenden Ergebnisse (62) auf die unterschiedlichen Methoden zurückzuführen lassen. Des Weiteren wurden bei einigen Studien Plasma- statt Serumproben untersucht (10, 18, 40, 58, 62), was unter Umständen ebenfalls zu leichten Unterschieden führen könnte. Insgesamt zeigten die hier vorgelegten Ergebnisse jedoch eine recht gute Vergleichbarkeit mit anderen pharmakokinetischen Studien.

6.2.3 Vergleich von Ertapenem und Ceftriaxon

Im Folgenden soll auf die pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Eigenheiten der beiden Studienmedikamente eingegangen werden, um diese vergleichen zu können.

Bei Carbapenemen, welche eine zeitabhängige Wirkung haben, ist der wichtigste pharmakokinetische und pharmakodynamische Parameter (PK/PD) das Zeitintervall, in dem die Plasmakonzentration die mittlere Hemmkonzentration übersteigt ($T > \text{MHK}$) (20). Für Carbapeneme wurde bisher ein $T > \text{MHK}$ von 30-40% des Dosierungsintervalles als

ausreichend bewertet, wegen ihrer schnellen bakteriziden Aktivität (48). Bei Cephalosporinen wurde hingegen eine maximale bakterizide Aktivität erst ab einer Konzentration über 50-60% MHK des Dosisintervalles gesehen (2). Beide hier verwendeten Antibiotika zeigen eine hohe Proteinbindung. Einige Forscher glauben, dass nur das ungebundene Antibiotikum Aktivität zeigt, andere wiederum meinen, dass die plasmagebundenen Teile als Reservoir dienen, da eine Herstellung des Gleichgewichtes zwischen gebundenen und ungebundenen Fraktionen schnell stattfindet (60).

Berücksichtigt man nun, dass eine $T > \text{MHK}$ von 30-40% für Ertapenem und eine $T > \text{MHK}$ von 50-60% für Ceftriaxon benötigt wird, und dass beide Antibiotika eine 5-10%-ige freie Fraktion in der therapeutischen Konzentration aufweisen (45, 60), können die direkt gemessenen 12-Stundenwerte von Ertapenem (11,8 mg/l) mit den 24-Stundenwerten von Ceftriaxon (10,3 mg/l) verglichen werden.

Interpretiert man diese Daten im Zusammenhang mit der minimalen Hemmkonzentration (MHK_{90}) von Ceftriaxon und Ertapenem, welche in einer großen Multicenter-Überwachungsstudie (43) gewonnen wurden, zeigt sich, dass beide Antibiotika eine vergleichbare PK/PD für *Moraxella* ssp., Pneumokokken und *Haemophilus influenzae* haben, welche häufig ambulant erworbene Pneumonien hervorrufen. Besonders günstig waren die PK/PD Parameter von Ertapenem für *S. aureus*, welcher häufig Pneumonien bei älteren Patienten mit Komorbidität hervorruft. Dies könnte erklären, warum Ertapenem in dieser Patientengruppe eine gute Wirkung zeigte (77).

Im Vergleich zu Ceftriaxon ergab sich bei Ertapenem eine leicht erhöhte Konzentration im Urin kurz nach der intravenösen Gabe, die dann aber schnell wieder abnahm, was auf die kürzere Halbwertszeit und die überwiegend renale Elimination von Ertapenem zurückzuführen ist. Ertapenem zeigte sich bislang als erfolgreich in der Behandlung von urologischen Infektionen (74), was sich in den hier gemessenen Konzentrationen im Urin widerspiegelte. Des Weiteren scheint es gut vergleichbar mit Ceftriaxon für die Behandlung von komplizierten urologischen Infekten (38) zu sein.

6.3 Mikrobiologische Veränderungen

Die Verabreichung von Antibiotika führt häufig zu einer Veränderung in der natürlichen mikrobiellen Flora im Darm, die im Verlauf der Behandlung dann zu Diarrhoe oder Pilzinfektionen führen kann (71). Die individuelle Zusammensetzung der natürlichen Mikroflora im Darm ist durch die Ernährungs- und Lebensgewohnheiten des Einzelnen bestimmt (54) und dient als Schutz vor der Kolonisation von potentiell pathogenen Keimen oder Überwucherung von körpereigenen Mikroorganismen, wie Pilzen oder *Clostridium difficile*. Die Möglichkeit des Körpers, sich gegen diese Ansiedlung und das Wachstum von opportunistischen Mikroorganismen zu wehren, nennt man Kolonisationsresistenz (7, 53). Für diese ist der Erhalt der Anaerobierbesiedlung im Darm entscheidend. Des Weiteren wird die Kolonisationsresistenz noch durch physiologischen Faktoren wie Darmperistaltik, Speichel – und Schweißsekretion sowie den pH-Wert der Magensaftes beeinflusst (76).

6.3.1 Ertapenem

Die hier aufgeführte Studie war die erste, die sich mit der Veränderung der mikrobiellen Darmflora nach der Verabreichung von Ertapenem befasste. In den Studien von Wong et al. (84, 85) wurden 10 % des radioaktiv markiertem Ertapenem im Stuhl nachgewiesen. Normalerweise haben Carbapeneme eine recht geringe Elimination über den Faeces mit entsprechend geringen Auswirkungen auf die intestinale Mikroflora (71). So wurde in der Studie von Bergan et al. (9) der Einfluss von Meropenem auf die intestinale Mikroflora untersucht. Dabei kam es ähnlich wie hier zu einer Abnahme der *Bacteroides*-Kolonien und einer Zunahme der Enterokokken-Kolonien. Bei der Untersuchung des Einflusses von Imipenem auf die mikrobielle Mikroflora durch Kager et al. (41) kam es zu einer Abnahme von Enterokokken-Kolonien, Bifidobakterien-Kolonien und *Bacteroides*-Kolonien. Die Konzentration im Stuhl lag bei einem Gramm Imipenem-cilastatin alle 6 Stunden für vier Tage zwischen 0,7 und 11,3 mg/kg. In beiden vorbenannten Studien normalisierte sich die mikrobielle Darmflora nach Ablauf von zwei Wochen nach Medikamentengabe. In der hier vorliegenden Studie wurden höhere Konzentrationen während der Medikamentengabe an Tag vier und an Tag acht (im Mittel 37,2 mg/kg) im Stuhl gefunden, die sich im Rückgang der *E. coli*-Kolonien, *Bacteroides*-Kolonien und der Bifidobakterien-Kolonien sowie einer Zunahme von Hefen

und Enterokokken-Kolonien widerspiegelte. Weitere Studien zur Veränderung der Darmflora durch Ertapenem liegen bislang nicht vor.

6.3.2 Ceftriaxon

Während der Gabe von Ceftriaxon zeigten sich an Tag vier eine mittlere Konzentration von 152 mg/kg und an Tag acht 258 mg/kg im Faeces. Die höheren Konzentrationen im Vergleich zu Ertapenem waren zu erwarten, da Ceftriaxon etwa zur Hälfte über die Galle ausgeschieden wird. Dies zeigte sich auch durch die Veränderung in der mikrobiellen Darmflora. Zum Einen nahm bei den aeroben Keimen die Anzahl an E. coli-Kolonien ab, zum Anderen kam es zur Zunahme an Enterokokken-Kolonien und einem vermehrtem Wachstum von Hefe-Kolonien. Auch bei den anaeroben Keimen kam es zu einer Abnahme von Lactobacillen, Bifidobakterien-Kolonien, Clostridien-Kolonien sowie B. fragilis-Kolonien. Zu vergleichbaren Ergebnissen kam es auch bei anderen Untersuchungen. So zeigte sich in der Studie von Hoepelmann et al. (36) ebenfalls eine Verminderung der E. coli-Kolonien und ein vermehrtes Wachstum von Hefe-Kolonien. Die Studie von Nilsson-Ehle, Nord und Ursing (52) ergab ebenfalls eine Zunahme an Enterokokken-Kolonien und Hefe-Kolonien und dem gegenüber eine Abnahme an Staphylokokken, Streptokokken und Enterobakterien als Vertreter der anaeroben Stämme.

Zu einer Abnahme von E. coli-Kolonien und Bacteroides-Kolonien kam es auch in der Studie von Arvidsson et al. (5). Die Enterokokken-Kolonien und Lactobacillen nahmen in dieser Studie zu.

Insgesamt erscheinen die in der hier vorgelegten Studie dargestellten Ergebnisse gut vergleichbar mit bereits vormals getesteten Veränderungen der mikrobiellen intestinalen Flora. Neuere Untersuchungen hierzu liegen derzeit nicht vor.

6.4 *Verträglichkeit*

Die beiden eingesetzten Studienmedikamente zeigten eine gute Verträglichkeit. Die häufigsten unerwünschten Ereignisse waren Diarrhoe und verminderte Stuhlkonsistenz (n=9) und traten in beiden Studienverläufen gleich häufig auf. Dies zeigte sich auch in den Ähnlichkeiten des Einflusses von Ceftriaxon und Ertapenem auf die intestinale

Mikroflora. In diesem Falle konnte eine Beziehung zwischen den Ereignissen und den Studienmedikamenten hergestellt werden.

Bei den anderen aufgetretenen Ereignissen, wie Kopfschmerzen oder Übelkeit, war die Beziehung zur Studienmedikation möglich, aber nicht sicher. Insgesamt waren die meisten unerwünschten Ereignisse von geringer Intensität. Es wurde kein Abbruch beobachtet.

Der Vergleich von unerwünschten Ereignissen zwischen Ceftriaxon und Ertapenem wurde in mehreren klinischen Studien mit untersucht (38, 51, 56, 74). Dort wurden als häufigste unerwartete Ereignisse Diarrhoe und Übelkeit angegeben, wobei der prozentuale Anteil in den Ertapenemgruppen bei den Studien von Jimenez-Cruz (38) und Navarro (51) etwas höher lag als in der Ceftriaxongruppe. Erbrechen und Kopfschmerzen wurden ebenfalls als häufigere unerwünschte Ereignisse in beiden Medikamentengruppen angegeben.

Weitere Studien, in denen die Verträglichkeit von Ertapenem unter anderem mit getestet wurde (21, 34, 37, 64, 73), beschreiben ähnliche unerwartete Ereignisse.

In der Studie von Teppler et al. (73) wurde Diarrhoe als häufigste Nebenwirkung bei der Verabreichung von Ertapenem beschrieben, dicht gefolgt von Irritationen an der Infusionsstelle. Übelkeit und Kopfschmerzen traten ebenfalls häufiger auf. In der Veröffentlichung von Cunha (21) wird Diarrhoe mit 5,5 % als häufigstes unerwünschtes Ereignis angegeben. Des Weiteren wurden lokale Reizungen an der Punktionsstelle (3,7 %), Übelkeit (3,1 %), Kopfschmerzen (2,2 %) und Erbrechen (1,1 %) registriert. Eine ähnliche Verteilung der Häufigkeit der unerwarteten Ereignisse zeigt sich auch in den anderen Studien. Einzig in der Studie von Graham et al. (34) waren die Irritationen an der Infusionsstelle mit 6,3 % häufiger als die aufgetretenen Diarrhoen (5,5 %).

Insgesamt bestätigt sich der in der hier vorliegenden Studie gewonnene Eindruck, dass die häufigsten unerwünschten Ereignisse gastrointestinaler Natur sind.

Vergleicht man die hier aufgetretenen unerwünschten Ereignisse während der Ceftriaxongabe mit anderen Studien (23, 29, 33, 47, 62, 70), so gab es auch dort ähnliche Beobachtungen. So traten auch dort gehäuft Diarrhoe, Übelkeit und Erbrechen auf. Von Irritationen an der Infusionsstelle wurde nicht in allen Studien berichtet, dafür wurde aber bei einigen Patienten über das Auftreten von Urtikaria berichtet. Diese trat

unter Anderem in der Studie von Mendonça et al. (47), Dattwyler et al. (23) und Stiver et al. (70) auf. Ähnliche Ereignisse wurden in der hier vorliegenden Studie nicht beobachtet. Insgesamt erscheinen die unerwünschten Ereignisse jedoch vergleichbar mit in anderen Studien gemachten Beobachtungen und auch die Ereignisse in den beiden Medikamentengruppen scheinen gut vergleichbar.

7 Zusammenfassung

Ertapenem ist ein modernes und gegenüber seinen Vorgängern Imipenem und Meropenem pharmakokinetisch verbessertes Carbapenem, das nicht in Kombination mit anderen Mitteln gegeben und aufgrund seiner längeren Halbwertszeit nur einmal täglich intravenös verabreicht werden muss. Die Untersuchung seiner pharmakokinetischen Eigenschaften mit zwei unabhängigen Methoden sowie deren Vergleich war ein Ziel dieser Studie. Zum Vergleich wurde das bereits gut untersuchte und in seiner klinischen Anwendung und seinen pharmakokinetischen und mikrobiellen Eigenschaften ähnliche Antibiotikum Ceftriaxon herangezogen. Des Weiteren wurde der Einfluss der beiden Medikamente auf die mikrobielle intestinale Flora untersucht, da Veränderungen in der bakteriellen Zusammensetzung in diesem Bereich vermehrt mit Selektions- und Resistenzentwicklungen zu sehen sind.

Die Untersuchung wurde an 10 freiwilligen, gesunden Probanden in einer offenen, randomisierten, Crossover-Studie vorgenommen. Die Studie fand in zwei siebentägigen Versuchseinheiten statt, zwischen denen eine Auswaschphase von vier Wochen lag. Je fünf Probanden erhielten entweder 1 g Ertapenem oder 2 g Ceftriaxon über eine Dauer von 30 Minuten intravenös verabreicht. Es folgte die Abnahme von Plasma-, Serum- und Urinproben über einen Zeitraum von 24 Stunden. Des Weiteren wurden Stuhlproben zwei und einen Tag vor, sowie an Tag vier, acht, 14 und 35 nach Erstinfusion gesammelt.

Die Konzentrationen von Ertapenem in Plasma und Urin wurden mit zwei unterschiedlichen validierten Methoden (Agardiffusionsverfahren und Massenspektrometrie) gemessen, ausgewertet und verglichen. Die Konzentration von Ceftriaxon wurde nur mittels Agardiffusionsverfahren gemessen. Es zeigten sich signifikant höhere Messergebnisse bei den durch Agardiffusionsverfahren gewonnenen Daten für Ertapenem im Vergleich zu den durch Massenspektrometrie gewonnenen Daten. Für die Plasmadaten waren diese Unterschiede jedoch für weitere pharmakokinetische Auswertungen nicht relevant. Die Unterschiede der gemessenen Urinkonzentrationen waren jedoch mit fast 50% höheren Werten beim Bioassay relevant und ließen sich eventuell durch eine mögliche Empfindlichkeit durch den im Bioassay verwendeten Keim gegenüber den

Metaboliten von Ertapenem erklären, welche etwa die Hälfte der Gesamtausscheidung ausmachen.

Beim Auswerten der pharmakokinetischen Daten konnte in beiden Medikamentengruppen keine Akkumulation nach siebentägiger Gabe festgestellt werden. Bei Ertapenem ergaben sich für die maximale Serumkonzentration (C_{max}) bei Einzeldosis 253 (15) mg/l und im Steady-State 275 (19) mg/l. Die Fläche unter der Kurve (AUC_{dose}) bei Einzeldosis mit 817 (20) mg·h/l und für den Steady-State 823 (19) mg·h/l berechnet. Bei Ceftriaxon wurde eine maximale Serumkonzentration (C_{max}) von 306 (26) mg/l nach einmaliger Gabe und 300 (16) mg/l im Steady-State errechnet. Für die Fläche unter der Kurve (AUC_{dose}) ergaben sich für die Einzeldosis 1557 (15) mg·h/l und 1463 (15) mg·h/l im Steady-State. Die in Klammern gesetzten Zahlen entsprechen dem Variationskoeffizienten in Prozent. Außerdem waren trotz unterschiedlicher pharmakodynamischer Parameter für Carbapeneme und Cephalosporine die PK/PD Parameter von Ertapenem vergleichbar denen von Ceftriaxon. Dies spiegelt sich auch in ähnlicher klinischer Effektivität in klinischen Studien wider.

Bei den Ergebnissen der im Stuhl gemessenen Konzentrationen der Studienmedikamente zeigte sich, dass Ertapenem mit ca. 10% eine etwas höhere Ausscheidungsrate, im Mittel 37,2 mg/kg am vierten und achten Tag nach Erstinfusion über den Stuhl, hat als andere Carbapeneme. Dies spiegelte sich auch hinsichtlich des Einflusses auf die untersuchte mikrobielle Flora im Darm wider. So gab es einen Rückgang der E. coli-Kolonien, Bacteroides-Kolonien und der Bifidobakterien-Kolonien sowie eine Zunahme von Hefen und Enterokokken-Kolonien. Die Konzentration im Stuhl lag bei Ceftriaxon am Tag vier bei einer mittleren Konzentration von 152 mg/kg und an Tag acht von 258 mg/kg. Hier wurde eine Abnahme bei den E. coli-Kolonien, sowie eine Zunahme an Enterokokken-Kolonien und einem vermehrtem Wachstum von Hefe-Kolonien beobachtet. Bei den anaeroben Keimen kam es zu einer Abnahme von Lactobacillen, Bifidobakterien-Kolonien, Clostridien-Kolonien sowie B. fragilis-Kolonien. Es zeigte sich also eine gute Vergleichbarkeit zwischen beiden Medikamenten in Bezug auf die Veränderung der intestinalen Mikroflora. Dies war zunächst nicht zu erwarten, sieht man sich ältere Studien mit Imipenem und Meropenem an, bei denen kaum ein Einfluss auf die Mikroflora beobachtet wurde. Daher erwies sich die Vergleichbarkeit der beiden Medikamente als ein durchaus überraschendes Ergebnis dieser Studie.

Bemerkenswert ist weiterhin, dass es bislang keine weiteren veröffentlichten Untersuchungen zum Einfluss von Ertapenem auf die Stuhlflora gab.

Die vergleichbaren Ergebnisse beim Einfluss auf die intestinale Mikroflora spiegelten sich auch in den unerwünschten Ereignissen wider, die eine gleiche Anzahl an gastrointestinalen Ereignissen in beiden Medikamentengruppen aufwiesen. Insgesamt stellten sich beide Medikamente in dieser Studie als gut verträglich dar.

8 Literaturverzeichnis

1. Ackerknecht EH. Geschichte der Medizin. Vol. 4.: Stuttgart Enke Verlag, 1979.
2. Andes D, Craig WA. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of outpatient intravenous antimicrobial therapy. *Infect Dis Clin North Am* 12 (4): 849-60, vi, 1998.
3. Andrews JM. Microbiological assays. In: B.S. Reeves RW, J. M. Andrews, and L.O. White (ed), ed. *Clinical antimicrobial assays*. New York: Oxford University Press, pp. 35-44, 1999.
4. Arvidsson A, Alvan G, Angelin B, Borga O, Nord CE. Ceftriaxone: renal and biliary excretion and effect on the colon microflora. *J Antimicrob Chemother* 10 (3): 207-15, 1982.
5. Arvidsson A, Leijd B, Nord CE, Angelin B. Interindividual variability in biliary excretion of ceftriaxone: effects on biliary lipid metabolism and on intestinal microflora. *Eur J Clin Invest* 18 (3): 261-6, 1988.
6. Averdunk R, Borner, K. Korrelation der Thromboplastinzeiten unter Verwendung verschiedener Thrombokinasepräparate. *Z. Klin. Chem. Klein. Biochem.* 8(3): 263-268, 1970.
7. Barza M, Giuliano M, Jacobus NV, Gorbach SL. Effect of broad-spectrum parenteral antibiotics on "colonization resistance" of intestinal microflora of humans. *Antimicrob Agents Chemother* 31 (5): 723-7, 1987.
8. Baumgartner JD, Glauser MP. Pharmacokinetic and microbial susceptibility studies of ceftriaxone. *Eur J Clin Microbiol* 2 (5): 501-4, 1983.
9. Bergan T, Nord CE, Thorsteinsson SB. Effect of meropenem on the intestinal microflora. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 10 (6): 524-7, 1991.
10. Borner K, Lode H, Hampel B, Pfeuffer M, Koeppe P. Comparative pharmacokinetics of ceftriaxone after subcutaneous and intravenous administration. *Chemotherapy* 31 (4): 237-45, 1985.
11. Bulitta J, Holford NHG. An Introductory Guide to Non-compartmental Analysis. *Encyclopedia of Clinical Trials*. New York: Wiley, 2008 (in press).
12. Burkhardt O, Derendorf H, Welte T. Ertapenem: the new carbapenem 5 years after first FDA licensing for clinical practice. *Expert Opin Pharmacother* 8 (2): 237-56, 2007.
13. Cavallaro V, Catania V, Bonaccorso R, Mazzone S, Speciale A, Di Marco R, Blandino G, Caccamo F. Effect of a broad-spectrum cephalosporin on the oral and intestinal microflora in patients undergoing colorectal surgery. *J Chemother* 4 (2): 82-7, 1992.

14. Cawello W. Parameters for Compartment-free Pharmacokinetics - Standardisation of Study Design, Data Analysis and Reporting. Aachen: Shaker Verlag GmbH, 2003.
15. Chain EB. The development of bacterial chemotherapy. *Antibiot. Chemother.* (4): 215-241, 1954.
16. Chemotherapie ÖGf. Antiinfektiva, Ceftriaxon. 2007.
17. Chen M, Nafziger AN, Drusano GL, Ma L, Bertino JS, Jr. Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamic target attainment of ertapenem in normal-weight, obese, and extremely obese adults. *Antimicrob Agents Chemother* 50 (4): 1222-7, 2006.
18. Chiu LM, Menhinick AM, Johnson PW, Amsden GW. Pharmacokinetics of intravenous azithromycin and ceftriaxone when administered alone and concurrently to healthy volunteers. *J Antimicrob Chemother* 50 (6): 1075-9, 2002.
19. Cobelli C, Toffolo G. Compartmental vs. noncompartmental modeling for two accessible pools. *Am J Physiol* 247 (3 Pt 2): R488-96, 1984.
20. Craig WA. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clin Infect Dis* 26 (1): 1-10; quiz 11-2, 1998.
21. Cunha BA. Ertapenem. A review of its microbiologic, pharmacokinetic and clinical aspects. *Drugs Today (Barc)* 38 (3): 195-213, 2002.
22. Curran M, Simpson D, Perry C. Ertapenem: a review of its use in the management of bacterial infections. *Drugs* 63 (17): 1855-78, 2003.
23. Dattwyler RJ, Luft BJ, Kunkel MJ, Finkel MF, Wormser GP, Rush TJ, Grunwaldt E, Agger WA, Franklin M, Oswald D, Cockey L, Maladorno D. Ceftriaxone compared with doxycycline for the treatment of acute disseminated Lyme disease. *N Engl J Med* 337 (5): 289-94, 1997.
24. Derendorf H, Gramatté, T., Schäfer, H. G. *Pharmakokinetik: Einführung in die Theorie und Relevanz für Arzneimitteltherapie. Vol. 2.* Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, 2002.
25. DiStefano JJ, 3rd. Noncompartmental vs. compartmental analysis: some bases for choice. *Am J Physiol* 243 (1): R1-6, 1982.
26. Domagk G. Eine neue Klasse von Desinfektionsmitteln. *DMW* (61): 829-832, 1935.
27. Edlund C, Beyer G, Hiemer-Bau M, Ziege S, Lode H, Nord CE. Comparative effects of moxifloxacin and clarithromycin on the normal intestinal microflora. *Scand J Infect Dis* 32 (1): 81-5, 2000.
28. Ehrlich P. Chemotherapeutics: scientific principles, methods and results. *Lancet* (2): 445-447, 1913.

29. File TM, Jr., Segreti J, Dunbar L, Player R, Kohler R, Williams RR, Kojak C, Rubin A. A multicenter, randomized study comparing the efficacy and safety of intravenous and/or oral levofloxacin versus ceftriaxone and/or cefuroxime axetil in treatment of adults with community-acquired pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother* 41 (9): 1965-72, 1997.
30. Fleming A. On the bacterial action of cultures of penicillium with special references to their use in the isolation of H. influenzae. *Brit. J. Exp. Pathol* 10: 226-236, 1929.
31. Florey HW. The use of microorganism for therapeutic purpose. *Yale J. Biol. Med.* (19): 101-118, 1946.
32. Friedland I, Mixson LA, Majumdar A, Motyl M, Woods GL. In vitro activity of ertapenem against common clinical isolates in relation to human pharmacokinetics. *J Chemother* 14 (5): 483-91, 2002.
33. Gehanno P, Nguyen L, Barry B, Derriennic M, Pichon F, Goehrs JM, Berche P. Eradication by ceftriaxone of *Streptococcus pneumoniae* isolates with increased resistance to penicillin in cases of acute otitis media. *Antimicrob Agents Chemother* 43 (1): 16-20, 1999.
34. Graham DR, Lucasti C, Malafaia O, Nichols RL, Holtom P, Perez NQ, McAdams A, Woods GL, Ceesay TP, Gesser R. Ertapenem once daily versus piperacillin-tazobactam 4 times per day for treatment of complicated skin and skin-structure infections in adults: results of a prospective, randomized, double-blind multicenter study. *Clin Infect Dis* 34 (11): 1460-8, 2002.
35. Granich GG, Krogstad DJ. Ion pair high-performance liquid chromatographic assay for ceftriaxone. *Antimicrob Agents Chemother* 31 (3): 385-8, 1987.
36. Hoepelman IM, Rozenberg-Arska M, Verhoef J. Comparative study of ceftriaxone monotherapy versus a combination regimen of cefuroxime plus gentamicin for treatment of serious bacterial infections: the efficacy, safety and effect on fecal flora. *Chemotherapy* 34 Suppl 1: 21-9, 1988.
37. Itani KM, Wilson SE, Awad SS, Jensen EH, Finn TS, Abramson MA. Ertapenem versus cefotetan prophylaxis in elective colorectal surgery. *N Engl J Med* 355 (25): 2640-51, 2006.
38. Jimenez-Cruz F, Jasovich A, Cajigas J, Jiang Q, Imbeault D, Woods GL, Gesser RM. A prospective, multicenter, randomized, double-blind study comparing ertapenem and ceftriaxone followed by appropriate oral therapy for complicated urinary tract infections in adults. *Urology* 60 (1): 16-22, 2002.
39. Jousime-Sommers HR, P. Sumanen, D.M. Ditron, E.J. Baron, H.M. Wexler, and S.M. Finegold. *Wadsworth-KTL anaerobic bacteriology manual*. 6th ed. Belmont, Calif. : Star Publishing Co. , 2002.
40. Joynt GM, Lipman J, Gomersall CD, Young RJ, Wong EL, Gin T. The pharmacokinetics of once-daily dosing of ceftriaxone in critically ill patients. *J Antimicrob Chemother* 47 (4): 421-9, 2001.

41. Kager L, Brismar B, Malmborg AS, Nord CE. Effect of imipenem treatment versus imipenem surgical prophylaxis on the intestinal microflora. *Int J Clin Pharmacol Res* 8 (6): 441-7, 1988.
42. Koal T, Deters M, Resch K, Kaefer V. Quantification of the carbapenem antibiotic ertapenem in human plasma by a validated liquid chromatography-mass spectrometry method. *Clin Chim Acta* 364 (1-2): 239-45, 2006.
43. Livermore DM, Carter MW, Bagel S, Wiedemann B, Baquero F, Loza E, Endtz HP, van Den Braak N, Fernandes CJ, Fernandes L, Frimodt-Moller N, Rasmussen LS, Giamarellou H, Giamarellos-Bourboulis E, Jarlier V, Nguyen J, Nord CE, Struelens MJ, Nonhoff C, Turnidge J, Bell J, Zbinden R, Pfister S, Mixson L, Shungu DL. In vitro activities of ertapenem (MK-0826) against recent clinical bacteria collected in Europe and Australia. *Antimicrob Agents Chemother* 45 (6): 1860-7, 2001.
44. Lode H. Ceftizoxim und Ceftriaxon: Zwei weitere parenterale Cephalosporine in der Bundesrepublik erhältlich. Vol. 5: ZCT, 2000/1983.
<http://www.zct-berlin.de/neueinfuehrungen/ceftriaxon.html>
45. Majumdar AK, Musson DG, Birk KL, Kitchen CJ, Holland S, McCrea J, Mistry G, Hesney M, Xi L, Li SX, Haesen R, Blum RA, Lins RL, Greenberg H, Waldman S, Deutsch P, Rogers JD. Pharmacokinetics of ertapenem in healthy young volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 46 (11): 3506-11, 2002.
46. Meijer BC, Kootstra GJ, Geertsma DG, Wilkinson MH. Effects of ceftriaxone on faecal flora: analysis by micromorphometry. *Epidemiol Infect* 106 (3): 513-21, 1991.
47. Mendonca JS, Yamaguti A, Correa JC, Badaro R. Gatifloxacin in the treatment of community-acquired pneumonias: a comparative trial of ceftriaxone, with or without macrolides, in hospitalized adult patients with mild to moderately severe pneumonia. *Braz J Infect Dis* 8 (1): 90-100, 2004.
48. Mouton JW, Touzw DJ, Horrevorts AM, Vinks AA. Comparative pharmacokinetics of the carbapenems: clinical implications. *Clin Pharmacokinet* 39 (3): 185-201, 2000.
49. Musson DG, Birk KL, Cairns AM, Majumdar AK, Rogers JD. High-performance liquid chromatographic methods for the determination of a new carbapenem antibiotic, L-749,345, in human plasma and urine. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 720 (1-2): 99-106, 1998.
50. Musson DG, Kitchen CJ, Hsieh JY, Birk KL. Modified high-performance liquid chromatographic method for the determination of ertapenem in human urine: enhanced selectivity and automation. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 779 (2): 341-6, 2002.
51. Navarro NS, Jr., Campos MI, Alvarado R, Quintero N, Branicki FJ, Wei J, Shivaprakash M, Vrijens F, Giezek H, Chan CY, DiNubile MJ, Oasis IIST. Ertapenem versus ceftriaxone and metronidazole as treatment for complicated intra-abdominal infections. *Int J Surg* 3 (1): 25-34, 2005.

52. Nilsson-Ehle I, Nord CE, Ursing B. Ceftriaxone: pharmacokinetics and effect on the intestinal microflora in patients with acute bacterial infections. *Scand J Infect Dis* 17 (1): 77-82, 1985.
53. Nord CE. Effect of new quinolones on the human gastrointestinal microflora. *Rev Infect Dis* 10 Suppl 1: S193-6, 1988.
54. Nord CE, Rasmanis G, Wahlund E. Effect of dalbavancin on the normal intestinal microflora. *J Antimicrob Chemother* 58 (3): 627-31, 2006.
55. Odenholdt I. Erapenem: a new carbapenem. *Expert Opin. Investig. Drugs* 10 (06): 1157-1166, 2001.
56. Ortiz-Ruiz G, Caballero-Lopez J, Friedland IR, Woods GL, Carides A. A study evaluating the efficacy, safety, and tolerability of ertapenem versus ceftriaxone for the treatment of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis* 34 (8): 1076-83, 2002.
57. Paradis D, Vallee F, Allard S, Bisson C, Daviau N, Drapeau C, Auger F, LeBel M. Comparative study of pharmacokinetics and serum bactericidal activities of cefpirome, ceftazidime, ceftriaxone, imipenem, and ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 36 (10): 2085-92, 1992.
58. Patel IH, Chen S, Parsonnet M, Hackman MR, Brooks MA, Konikoff J, Kaplan SA. Pharmacokinetics of ceftriaxone in humans. *Antimicrob Agents Chemother* 20 (5): 634-41, 1981.
59. Patel IH, Miller K, Weinfeld R, Spicehandler J. Multiple intravenous dose pharmacokinetics of ceftriaxone in man. *Chemotherapy* 27 Suppl 1: 47-56, 1981.
60. Perry TR, Schentag JJ. Clinical use of ceftriaxone: a pharmacokinetic-pharmacodynamic perspective on the impact of minimum inhibitory concentration and serum protein binding. *Clin Pharmacokinet* 40 (9): 685-94, 2001.
61. Pösch G, H. Juan. *Wirkungen von Pharmaka*. Vol. 2. Stuttgart: Georg Thime Verlag, 1990.
62. Pollock AA, Tee PE, Patel IH, Spicehandler J, Simberkoff MS, Rahal JJ, Jr. Pharmacokinetic characteristics of intravenous ceftriaxone in normal adults. *Antimicrob Agents Chemother* 22 (5): 816-23, 1982.
63. Roche. *Rocephin-Fachinformation*. Deutschland, 1999.
64. Roy S, Higareda I, Angel-Muller E, Ismail M, Hague C, Adeyi B, Woods GL, Teppler H. Ertapenem once a day versus piperacillin-tazobactam every 6 hours for treatment of acute pelvic infections: a prospective, multicenter, randomized, double-blind study. *Infect Dis Obstet Gynecol* 11 (1): 27-37, 2003.
65. Sachs L. *Angewandte Statistik*. Vol. 8. Berlin, 1996.
66. Saionji K, Miyake N, Miyake K, Igari J, Kobayashi I, Satoh Y. [Free concentration and protein binding of ceftriaxone]. *Jpn J Antibiot* 45 (2): 136-42, 1992.

67. Scaglione F, Raichi M, Frascini F. Serum protein binding and extravascular diffusion of methoxyimino cephalosporins. Time courses of free and total concentrations of cefotaxime and ceftriaxone in serum and pleural exudate. *J Antimicrob Chemother* 26 Suppl A: 1-10, 1990.
68. Shah PM, Isaacs RD. Ertapenem, the first of a new group of carbapenems. *J Antimicrob Chemother* 52 (4): 538-42, 2003.
69. Simon C. SW. *Antibiotika-Therapie in Klinik und Praxis*. 10 ed. Stuttgart, New York: Schattauer, 2000.
70. Stiver HG, Binns BO, Brunham RC, Cheng N, Dean DM, Goldring AM, Walker JB, Tan E, McLeod J. Randomized, double-blind comparison of the efficacies, costs, and vaginal flora alterations with single-dose ceftriaxone and multidose cefazolin prophylaxis in vaginal hysterectomy. *Antimicrob Agents Chemother* 34 (6): 1194-7, 1990.
71. Sullivan A, Edlund C, Nord CE. Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora. *Lancet Infect Dis* 1 (2): 101-14, 2001.
72. Swan SK, Hursting MJ. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of argatroban: effects of age, gender, and hepatic or renal dysfunction. *Pharmacotherapy* 20 (3): 318-29, 2000.
73. Teppler H, Gesser RM, Friedland IR, Woods GL, Meibohm A, Herman G, Mistry G, Isaacs R. Safety and tolerability of ertapenem. *J Antimicrob Chemother* 53 Suppl 2: ii75-81, 2004.
74. Tomera KM, Burdmann EA, Reyna OG, Jiang Q, Wimmer WM, Woods GL, Gesser RM. Ertapenem versus ceftriaxone followed by appropriate oral therapy for treatment of complicated urinary tract infections in adults: results of a prospective, randomized, double-blind multicenter study. *Antimicrob Agents Chemother* 46 (9): 2895-900, 2002.
75. Ullmann US, Pramod M. Vergleich der In-vitro-Aktivität von Ertapenem mit fünf anderen Beta-Lactam-Antibiotika. *Chemotherapie Journal* (14): 79-83, 2005.
76. van der Waaij D, Nord CE. Development and persistence of multi-resistance to antibiotics in bacteria; an analysis and a new approach to this urgent problem. *Int J Antimicrob Agents* 16 (3): 191-7, 2000.
77. Vetter N, Cambronero-Hernandez E, Rohlf J, Simon S, Carides A, Oliveria T, Isaacs R. A prospective, randomized, double-blind multicenter comparison of parenteral ertapenem and ceftriaxone for the treatment of hospitalized adults with community-acquired pneumonia. *Clin Ther* 24 (11): 1770-85, 2002.
78. Vogel FB, K.-F. und die Expertenkommission der Paul-Ehrlich-Gesellschaft. Empfehlungen zur klakulierten parenteralen Initaltherapie bakterieller Erkrankungen bei Erwachsenen. *Chemother J* 2 (13): 46-105, 2004.
79. Vogeser M. Anwendung der HPLC-Tandem-Massenspektrometrie in der klinischen Chemie. *Journal of Laboratory Medicin* 28 (3): 195-204, 2004.

80. Weiss M. The relevance of residence time theory to pharmacokinetics. *Eur J Clin Pharmacol* 43 (6): 571-9, 1992.
81. Weiss M. *Theoretische Pharmakokinetik*. 1. ed. Berlin: Verlag Gesundheit GmbH, 1990.
82. Weiß S. *Basiswissen Medizinische Statistik*. Heidelberg: Springer Verlag, 1999.
83. Welling GW, Meijer-Severs GJ, Helmus G, van Santen E, Tonk RH, de Vries-Hospers HG, van der Waaij D. The effect of ceftriaxone on the anaerobic bacterial flora and the bacterial enzymatic activity in the intestinal tract. *Infection* 19 (5): 313-6, 1991.
84. Wong B, D. Musson, K. Birk. abstr. 938. Abst. 41th Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother., 2001.
85. Wong BK, Sahly Y, Mistry G, Waldman S, Musson D, Majumdar A, Xu X, Yu S, Lin JH, Singh R, Holland S. Comparative disposition of [¹⁴C]ertapenem, a novel carbapenem antibiotic, in rat, monkey and man. *Xenobiotica* 34 (4): 379-89, 2004.
86. Yuk JH, Nightingale CH, Quintiliani R. Clinical pharmacokinetics of ceftriaxone. *Clin Pharmacokinet* 17 (4): 223-35, 1989.
87. Zhou HH, Chan YP, Arnold K, Sun M. Single-dose pharmacokinetics of ceftriaxone in healthy Chinese adults. *Antimicrob Agents Chemother* 27 (2): 192-6, 1985.

9 Tabellenanhang

Tab. 9-1 Zeitlicher Ablauf der Studie

Tag	Termine		Zeit	Untersuchungen	Besond.
	Mo.07.10.2002	Voruntersuchung	7:00 - 10:00		nüchtern
	Di 08.10.2002	Voruntersuchung	7:00 - 10:00		nüchtern
Tag -2	Mo 28.10.2002		8:00 - 10:00	Stuhl	
Tag -1	Di 29.10.2002	8:30 Aufklärung!	8:00 - 10:00	Stuhl	
Tag 1	Mi 30.10.2002	Studientag / Infusion	7:00 - 21:00		nüchtern
Tag 2	Do 31.10.2002	Infusion	7:00 - 10:00	Temp./RR/Puls	nüchtern
Tag 3	Fr 01.11.2002	Infusion	7:00 - 10:00	Temp./RR/Puls	nüchtern
Tag 4	Sa 02.11.2002	Infusion	7:00 - 10:00	Temp./RR/Puls/klin.Chem./ Stuhl	nüchtern
Tag 5	So 03.11.2002	Infusion	7:00 - 10:00	Temp./RR/Puls	nüchtern
Tag 6	Mo 04.11.2002	Infusion	7:00 - 10:00	Temp./RR/Puls	nüchtern
Tag 7	Di 05.11.2002	Studientag / Infusion	7:00 - 21:00		nüchtern
Tag 8	Mi 06.11.2002		7:00 - 10:00	Temp./RR/Puls/klin.Chem./ Stuhl	nüchtern
Tag 9	Do 07.11.2002			Temp./Puls	<i>anrufen</i>
Tag 10	Fr 08.11.2002			Temp./Puls	<i>anrufen</i>
Tag 11	Sa 09.11.2002			Temp./Puls	<i>anrufen</i>
Tag 14	Di 12.11.2002		7:00 - 10:00	Temp./RR/Puls/klin.Chem./ Stuhl	nüchtern
Tag 21	Di 19.11.2002		8:00 - 10:00	Temp./RR/Puls./Stuhl	
Tag 35/Tag1	Di 03.12.2002	Studientag / Infusion	7:00 - 21:00	Temp./RR/Puls/klin.Chem./ Stuhl	nüchtern
Tag 2	Mi 04.12.2002	Infusion	7:00 - 10:00	Temp./RR/Puls	nüchtern
Tag 3	Do 05.12.2002	Infusion	7:00 - 10:00	Temp./RR/Puls	nüchtern
Tag 4	Fr 06.12.2002	Infusion	7:00 - 10:00	Temp./RR/Puls/klin.Chem./ Stuhl	nüchtern
Tag 5	Sa 07.12.2002	Infusion	7:00 - 10:00	Temp./RR/Puls	nüchtern
Tag 6	So 08.12.2002	Infusion	7:00 - 10:00	Temp./RR/Puls	nüchtern
Tag 7	Mo 09.12.2002	Studientag / Infusion	7:00 - 21:00		nüchtern
Tag 8	Di 10,12.2002		7:00 - 10:00	Temp./RR/Puls/klin.Chem./ Stuhl	nüchtern
Tag 9	Mi 11.12.2002			Temp./Puls	<i>anrufen</i>
Tag 10	Do 12.12.2002			Temp./Puls	<i>anrufen</i>
Tag 11	Fr 13.12.2002			Temp./Puls	<i>anrufen</i>
Tag 14	Mo 16.12.2002		7:00 - 10:00	Temp./RR/Puls/klin.Chem./ Stuhl	nüchtern
Tag 21	Mo 23.12.2002		8:00 - 10:00	Temp./RR/Puls./Stuhl	
Tag 35	Mo 06.01.2003		7:00 - 10:00	Temp./RR/Puls/klin.Chem./ Stuhl	nüchtern

Tab. 9-2 Probandenkollektiv: Einzeldaten, Mittelwert, Median

Probanden-Nr.	Geschlecht	Alter	Gewicht in kg	Größe in cm	Körperoberfläche (qm)	Crea-Clearance (ml/min/1,73m ²)
01 TH	m	39	102	186	2,26	118,01
02 ON	m	30	79	190	2,08	111,50
03 DU	m	37	65	169	1,75	91,99
04 BJ	m	36	73	174	1,88	123,40
05 CC	m	25	63	177	1,78	100,49
06 CP	w	38	69,2	160	1,72	104,07
07 SH	w	40	68	172	1,80	110,31
08 KB	w	30	54,5	165	1,59	101,55
09 KL	w	37	61	174	1,72	92,77
10 AJ	w	32	68	167	1,77	99,85
N	10	10	10	10	10	10,00
Mittelwert		34,4	70,27	173,4	1,835	105,39
+/- SD		4,88	12,98	9,19	0,20	9,77
Min		25	54,5	160	1,59	91,99
Max		40	102	190	2,26	123,40
Median		36,5	68	173	1,775	102,81

Tab. 9-4 Laborwerte Voruntersuchungen der 10 Probanden

Parameter	Einheit	Probanden -Nr.									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
im Blut											
Natrium	mmol/l	139	142	142	140	141	138	140	139	139	138
Kalium	mmol/l	4,4	4,4	4,5	4,1	4,4	4	4,2	4,3	4,1	4,4
Glucose	mg/dl	84	88	96	87	94	96	93	87	89	1,3
Kreatinin	mg/dl	1,1	1,02	0,91	0,87	1,04	0,82	0,77	0,71	0,74	0,78
Harnstoff	mg/dl	36	25	31	22	29	16	31	22	31	28
Bilirubin	mg/dl	0,45	1	1,08	0,54	0,63	0,57	0,55	0,52	0,83	0,76
Triglyceride	mg/dl	113	92	148	88	119	300	75	46	45	138
Cholesterin	mg/dl	232	182	227	199	236	232	221	135	176	194
CRP	mg/l	<1	<1	<1	<1	1	<1	<1	<1	<1	<1
AP	U/l	111	137	148	127	102	83	66	94	94	118
ALAT	U/l	28	6	28	7	15	8	6	7	23	6
ASAT	U/l	13	8	11	7	10	9	7	7	13	7
GGT	U/l	17	8	10	10	17	7	8	9	19	7
HBDH	U/l	110	95	108	105	93	113	102	93	94	97
LDH	U/l	174	147	148	152	150	169	157	140	143	148
Eiweiß	U/l	78	75	77	73	78	78	72	69	78	75
HIV		neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Hepatitis B		neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Hepatitis C		neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Ferritin	ng/ml	112	68	176	61	73	29	5	19	10	19
Quick	%	>100	>100	>100	98	94	>100	>100	>100	>100	>100
PTT	sec	27	28	26	26	30	25	32	26	28	27
INR		0,95	0,96	0,95	0,99	1,01	0,95	0,98	0,93	0,95	0,93
Ery	N/pl	5,12	5,92	5,62	5,25	5,87	4,51	4,02	4,59	4,28	4,56
HB	g/dl	16,1	17,3	16,2	15,6	16,5	14,1	11,7	14,2	13,6	14,2
HK	%	46,8	51,6	48,1	46,2	50,1	40,9	34,4	40,3	39	40,9
MCH	pg	91,5	87,1	85,5	29,8	28,1	31,2	29,2	31	31,8	31,1
Thrombo	N/nl	218	302	221	201	204	291	321	167	201	190
Leuko	N/nl	5,5	5,3	6,2	4,3	5,7	6,4	5,1	7,1	5,3	6,4
Stab	%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Segm	%	46	50	62	67	45	44	44	61	43	62
Lymph	%	37	34	29	25	39	45	43	24	43	30
Atyp Lymph	%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eos	%	6	6	3	1	6	3	3	5	3	1
Baso	%	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0
Mono	%	11	10	6	6	9	7	9	10	10	7
im Urin											
Nitrit		Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
Eiweiß	mg/24h	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
Ph-Wert		5	5	5	6	5	6	8	6	5	5
Ery	N/µl	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
Keton	mmol/24h	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
Glucose	mg/dl	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
Bakterien		Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	(+)	(+)	0	(+)
Urobilirogen	µg/d	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
Bilirubin		Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
Leukos		Ø	1	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	(+)	Ø	(+)
Kristalle		Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
Zylinder		Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
Drogen-screning		neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg

Tab. 9-5 Validierung über 3 Tage für Ceftriaxon

Ceftriaxon - in SERUM in mg/l				Ceftriaxon - in PUFFER in mg/l			
Angenommene Konzentration:	1. Tag	2. Tag	3. Tag	Angenommene Konzentration:	1. Tag	2. Tag	3. Tag
0,8 mg/l	0,87	0,84	0,73	0,8 mg/l	0,83	0,84	0,70
	0,85	0,71	0,82		0,85	0,90	0,83
	0,83	0,82	0,81		0,78	0,77	0,75
	0,85	0,77	0,81		0,85	0,80	0,79
	0,87	0,81	0,82		0,85	0,87	0,90
	0,77	0,79	0,77		0,72	0,76	0,87
	0,79	0,81	0,80		0,78	0,86	0,84
	0,79	0,78	0,77		0,80	0,88	0,79
	0,79	0,82	0,79		0,74	0,84	0,81
	0,80	0,79	0,85		0,79	0,80	0,76
Mittelwert:	0,82	0,79	0,80	Mittelwert:	0,80	0,83	0,80
STABW	0,04	0,04	0,03	STABW	0,05	0,05	0,06
rel. STABW:	4,54%	4,57%	4,23%	rel. STABW:	5,79%	5,72%	7,37%
ges. Mittelwert:	0,80			ges. Mittelwert:	0,81		
ges. STABW:	0,04			ges. STABW:	0,05		
rel. STABW:	4,56%			rel. STABW:	6,37%		
Wiederfindung	100,50%			Wiederfindung	101,49%		
Angenommene Konzentration:	1. Tag	2. Tag	3. Tag	Angenommene Konzentration:	1. Tag	2. Tag	3. Tag
8 mg/l	8,48	7,92	7,54	8 mg/l	8,11	7,42	7,98
	7,95	7,66	7,41		8,18	7,87	8,08
	8,30	7,66	7,92		7,97	8,60	7,88
	8,04	8,18	7,54		7,97	8,22	8,47
	7,72	7,79	7,92		7,83	8,72	8,17
	7,70	8,03	7,57		7,67	8,27	7,41
	8,10	7,52	7,96		7,10	8,70	7,95
	7,75	8,03	7,57		7,10	8,70	7,88
	7,83	7,90	7,57		7,50	7,76	7,54
	8,38	8,43	8,23		8,00	8,70	7,67
Mittelwert:	8,03	7,91	7,72	Mittelwert:	7,74	8,30	7,90
STABW	0,29	0,27	0,26	STABW	0,39	0,47	0,31
rel. STABW:	3,56%	3,43%	3,43%	rel. STABW:	5,08%	5,70%	3,92%
ges. Mittelwert:	7,89			ges. Mittelwert:	7,98		
ges. STABW:	0,29			ges. STABW:	0,45		
rel. STABW:	3,73%			rel. STABW:	5,65%		
Wiederfindung	98,58%			Wiederfindung	99,75%		
Angenommene Konzentration:	1. Tag	2. Tag	3. Tag	Angenommene Konzentration:	1. Tag	2. Tag	3. Tag
4 mg/l	4,00	3,63	3,87	4 mg/l	4,10	4,01	3,71
	4,12	3,91	3,76		3,57	3,83	3,76
	4,10	3,84	4,04		3,76	3,92	3,70
	4,24	4,28	3,65		3,63	4,00	3,60
	4,57	4,60	3,70		4,10	4,13	4,01
	4,00	4,00	4,12		4,10	4,43	3,60
	4,10	3,57	3,66		4,45	3,78	4,20
	3,93	4,00	3,73		4,10	3,93	4,01
	4,10	3,52	3,73		3,78	4,00	4,50
	4,10	3,60	3,73		4,50	4,29	4,50
Mittelwert:	4,13	3,90	3,80	Mittelwert:	4,01	4,03	3,96
STABW	0,18	0,35	0,16	STABW	0,32	0,20	0,35
rel. STABW:	4,30%	8,87%	4,24%	rel. STABW:	7,97%	4,99%	8,73%
ges. Mittelwert:	3,94			ges. Mittelwert:	4,00		
ges. STABW:	0,27			ges. STABW:	0,29		
rel. STABW:	6,92%			rel. STABW:	7,17%		
Wiederfindung	98,50%			Wiederfindung	100,00%		

Tab. 9-6 Validierung über 3 Tage für Ertapenem

Ertapenem - in PLASMA in mg/l				Ertapenem - in PUFFER in mg/l			
Angenommene Konzentration:	1. Tag	2. Tag	3. Tag	Angenommene Konzentration:	1. Tag	2. Tag	3. Tag
0,5 mg/l	0,50	0,50	0,51	0,5 mg/l	0,54	0,53	0,49
	0,49	0,47	0,45		0,51	0,51	0,47
	0,52	0,47	0,46		0,52	0,50	0,53
	0,51	0,46	0,47		0,48	0,48	0,46
	0,49	0,49	0,52		0,54	0,50	0,47
	0,47	0,46	0,46		0,53	0,51	0,51
	0,44	0,48	0,47		0,48	0,51	0,52
	0,49	0,48	0,47		0,53	0,53	0,52
	0,47	0,47	0,47		0,46	0,53	0,49
	0,48	0,51	0,47		0,50	0,53	0,52
Mittelwert:	0,49	0,48	0,48	Mittelwert:	0,51	0,51	0,50
STABW	0,02	0,02	0,02	STABW	0,03	0,02	0,03
rel. STABW:	4,67%	3,47%	4,68%	rel. STABW:	5,51%	3,32%	5,08%
ges. Mittelwert:	0,48			ges. Mittelwert:	0,51		
ges. STABW:	0,02			ges. STABW:	0,02		
rel. STABW:	4,27%			rel. STABW:	4,73%		
Wiederfindung	96,00%			Wiederfindung	101,33%		
Angenommene Konzentration:	1. Tag	2. Tag	3. Tag	Angenommene Konzentration:	1. Tag	2. Tag	3. Tag
1 mg/l	1,11	1,05	0,98	1 mg/l	1,07	1,04	0,97
	1,03	1,05	1,03		1,03	0,97	0,96
	1,00	1,01	0,99		1,06	1,00	1,00
	1,08	1,16	1,00		1,09	1,08	0,99
	1,00	0,96	0,97		1,07	1,05	0,99
	1,08	1,06	0,97		1,06	0,98	1,00
	0,95	0,88	1,01		1,11	0,98	0,98
	1,05	1,01	1,05		1,01	0,96	0,96
	0,96	0,98	0,98		1,05	0,98	0,98
	1,01	0,98	0,97		1,04	0,96	0,96
Mittelwert:	1,03	1,01	1,00	Mittelwert:	1,06	1,00	0,98
STABW	0,05	0,07	0,03	STABW	0,03	0,04	0,02
rel. STABW:	5,12%	7,29%	2,77%	rel. STABW:	2,72%	4,19%	1,63%
ges. Mittelwert:	1,01			ges. Mittelwert:	1,01		
ges. STABW:	0,05			ges. STABW:	0,05		
rel. STABW:	5,39%			rel. STABW:	4,49%		
Wiederfindung	101,21%			Wiederfindung	101,27%		
Angenommene Konzentration:	1. Tag	2. Tag	3. Tag	Angenommene Konzentration:	1. Tag	2. Tag	3. Tag
4 mg/l	3,84	3,67	4,02	4 mg/l	3,77	4,07	3,90
	3,75	3,72	3,95		4,06	4,01	3,90
	3,81	4,05	4,02		4,09	3,98	3,80
	3,69	3,69	3,92		4,00	3,98	3,80
	3,66	3,93	3,89		3,98	3,95	4,01
	3,75	3,93	4,01		4,18	4,05	4,00
	3,69	3,89	3,77		3,96	4,00	4,06
	3,82	3,96	3,97		4,09	4,23	4,16
	3,82	3,96	3,81		4,06	4,08	3,97
	3,64	4,18	3,97		4,06	4,14	4,30
Mittelwert:	3,75	3,90	3,93	Mittelwert:	4,03	4,05	3,99
STABW	0,07	0,16	0,09	STABW	0,11	0,09	0,16
rel. STABW:	1,97%	4,18%	2,21%	rel. STABW:	2,72%	2,11%	3,91%
ges. Mittelwert:	3,86			ges. Mittelwert:	4,02		
ges. STABW:	0,14			ges. STABW:	0,12		
rel. STABW:	3,57%			rel. STABW:	2,96%		
Wiederfindung	96,48%			Wiederfindung	100,53%		

Tab. 9-7 Plasmakonzentration (mg/l), Bioassay bei 1g Ertapenem i.v., Einzeldosis

Prob.Nr	ZEIT in h										
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0	4,0	6,0	8,0	12,0	24,0
01 TH	225,00	157,80	130,50	115,90	107,40	93,60	60,90	44,10	26,10	12,40	2,00
02 ON	243,70	162,40	127,40	125,40	91,40	78,50	63,40	40,60	23,70	10,50	1,40
03 DU	373,29	277,20	223,80	161,58	141,54	106,40	76,60	54,34	37,71	16,50	2,86
04 BJ	238,86	173,64	140,45	125,35	91,70	75,49	60,92	38,45	25,75	14,33	1,80
05 CC	282,70	218,90	169,94	143,67	121,37	92,80	75,32	45,81	34,00	15,70	2,22
06 CP	270,48	214,90	152,28	113,00	112,78	76,58	52,21	35,87	23,06	10,14	0,87
07 SH	245,13	173,30	136,54	121,10	96,74	67,42	55,48	36,60	23,74	11,23	1,60
08 KB	296,91	200,46	191,03	153,84	146,54	88,65	67,99	38,45	24,32	11,23	0,82
09 KL	282,72	187,10	149,72	129,44	121,26	87,79	68,13	40,78	30,17	12,10	1,29
10 AJ	349,23	195,62	139,94	121,40	93,34	71,83	54,34	30,18	21,23	9,06	0,98
MW	280,80	196,13	156,16	131,07	112,41	83,91	63,53	40,52	26,98	12,32	1,58
±SD	48,46	35,24	30,58	16,42	20,21	11,96	8,45	6,53	5,31	2,45	0,65
Min	225,00	157,80	127,40	113,00	91,40	67,42	52,21	30,18	21,23	9,06	0,82
Max	373,29	277,20	223,80	161,58	146,54	106,40	76,60	54,34	37,71	16,50	2,86
Median	276,59	191,36	145,09	125,38	110,09	83,15	62,16	39,53	25,04	11,67	1,50

Tab. 9-8 Plasmakonzentration (mg/l), Bioassay, 1 g Ertapenem i. v., Steady-State

Prob.Nr	ZEIT in h										
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0	4,0	6,0	8,0	12,0	24,0
01 TH	211,02	153,50	143,68	119,66	97,76	78,16	59,96	45,66	31,07	15,75	2,37
02 ON	295,26	202,42	152,76	127,72	97,76	83,61	58,00	34,57	24,88	11,56	1,27
03 DU	352,23	246,24	221,12	166,40	137,70	99,09	88,46	54,31	33,12	15,85	2,17
04 BJ	303,30	194,06	152,64	143,54	106,26	85,76	62,31	41,89	31,35	14,39	1,60
05 CC	335,79	242,00	216,96	168,40	147,54	96,42	86,12	49,33	35,75	16,24	2,35
06 CP	348,87	246,24	181,32	130,32	116,08	84,18	61,41	36,25	25,93	9,29	0,91
07 SH	260,61	185,56	137,32	133,90	115,54	72,07	54,52	34,84	26,70	9,80	1,08
08 KB	291,90	201,10	161,62	152,60	108,52	75,17	51,44	33,48	19,46	5,68	0,68
09 KL	291,30	203,12	156,74	132,40	111,28	77,38	60,36	36,87	26,82	10,35	1,19
10 AJ	285,60	192,02	150,20	119,34	96,90	72,74	50,37	31,38	18,90	7,50	0,85
MV	297,59	206,63	167,44	139,43	113,53	82,46	63,30	39,86	27,40	11,64	1,45
±SD	42,41	29,98	29,59	17,80	17,02	9,35	13,30	7,63	5,54	3,75	0,64
Min	211,02	153,50	137,32	119,34	96,90	72,07	50,37	31,38	18,90	5,68	0,68
Max	352,23	246,24	221,12	168,40	147,54	99,09	88,46	54,31	35,75	16,24	2,37
Median	293,58	201,76	154,75	133,15	109,90	80,89	60,16	36,56	26,76	10,96	1,23

Tab. 9-9 Plasmakonzentration (mg/l), LC-MS/MS, 1g Ertapenem i.v., Einzeldosis

Prob.Nr	ZEIT in h										
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0	4,0	6,0	8,0	12,0	24,0
01 TH	267,9	173,6	148	125,9	111,4	92,4	73,5	41,3	33,2	9,3	3,5
02 ON	304,6	212,4	188,3	127,9	107,4	92,1	45	28,8	20,6	10,9	4,5
03 DU	288	254,9	212,4	158	147,9	109,8	84,8	57	30,2	19,4	1
04 BJ	249,5	185,8	105,6	92,6	65,8	48,6	43,5	29,8	22	13	2,8
05 CC	264,1	204,9	147,8	113,4	117,5	77,4	63	41	32,3	13,8	2,4
06 CP	217	142,7	136,6	84	66,7	54	45,1	26,9	17,3	8,4	1
07 SH	194,5	151,2	113,7	103,3	81,3	59,6	43,1	32,1	20,3	10,6	2,1
08 KB	283,6	182	139	102,5	83,1	50,5	48,2	27,5	16,2	6,8	1
09 KL	205,4	148,8	135,8	119	92,4	63,4	54,3	38,6	24,4	10,6	1,5
10 AJ	281,5	154,5	110,9	108,7	99,8	77,6	37,6	26,1	14,1	9	1,3
MV	255,61	181,08	143,81	113,53	97,33	72,54	53,81	34,91	23,06	11,18	2,11
±SD	37,87	35,26	33,84	20,89	25,13	20,73	15,28	9,70	6,80	3,55	1,20
Min	194,50	142,70	105,60	84,00	65,80	48,60	37,60	26,10	14,10	6,80	1,00
Max	304,60	254,90	212,40	158,00	147,90	109,80	84,80	57,00	33,20	19,40	4,50
Median	266,00	177,80	137,80	111,05	96,10	70,40	46,65	30,95	21,30	10,60	1,80

Tab. 9-10 Plasmakonzentration (mg/l), LC-MS/MS, 1 g Ertapenem i. v., Steady-State

Prob.Nr	ZEIT in h										
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0	4,0	6,0	8,0	12,0	24,0
01 TH	193,4	166,2	142,4	118,7	97,9	58,5	48,7	31,4	22,1	11,5	2,8
02 ON	251,4	199,4	131,9	128,1	87,8	69,4	53,3	29,4	21,3	11,9	1,5
03 DU	351,5	239,7	184,3	182,3	141	115,8	86,5	43,5	28,3	14,5	2,1
04 BJ	263,6	200,6	166,4	102,5	73,6	64,7	48,7	31,2	15	7,5	1,2
05 CC	280	209,5	184,9	137,2	123,9	84,8	74,3	49,7	33,4	21,6	3,3
06 CP	338,4	225,1	160,7	133	112,8	44,1	31,4	19,4	13,1	6,8	1
07 SH	257,8	215,1	188,7	134,1	102,9	54,1	42,9	21,8	15,9	7	0,9
08 KB	256,8	194,2	171,3	110	101	84,3	57,5	23,8	16,1	5,2	1,1
09 KL	352,9	192,5	151,4	111,3	104,7	80,4	67,6	38,9	27,2	10,8	1,3
10 AJ	250,8	163,1	115,8	101,7	84,8	62	46,9	31,1	17,7	6,3	1,3
MV	279,7	200,5	159,8	125,9	103,0	71,8	55,8	32,0	21,0	10,3	1,7
±SD	51,97	23,84	24,34	23,76	19,54	20,40	16,24	9,61	6,72	4,97	0,82
Min	193,40	163,10	115,80	101,70	73,60	44,10	31,40	19,40	13,10	5,20	0,90
Max	352,90	239,70	188,70	182,30	141,00	115,80	86,50	49,70	33,40	21,60	3,30
Median	260,70	200,00	163,55	123,40	101,95	67,05	51,00	31,15	19,50	9,15	1,30

Tab. 9-11 Urinkonzentrationen (mg/l), Bioassay, 1g Ertapenem i.v., Einzeldosis

Prob.-Nr	Zeit in h			UR _{24h}
	0h - 6h	6h - 12h	12h - 24h	%
01 TH	1.833,50	315,80	76,92	81,38
02 ON	1.600,50	333,20	41,42	69,74
03 DU	450,00	70,58	65,62	72,11
04 BJ	687,00	347,00	96,63	76,64
05 CC	968,75	79,45	30,85	43,62
06 CP	1.153,20	191,95	34,04	89,51
07 SH	1.038,20	179,83	98,60	90,06
08 KB	2.193,00	188,60	93,44	79,83
09 KL	516,10	159,70	50,34	97,54
10 AJ	550,10	82,85	22,65	76,58
MW	1099,04	194,90	61,05	77,70
± SD	600,32	105,27	29,09	14,77
MIN	450,00	70,58	22,65	43,62
MAX	2.193,00	347,00	98,60	97,54
MEDIAN	1.003,48	184,22	57,98	78,24

Tab. 9-12 Urinkonzentrationen (mg/l), Bioassay, 1g Ertapenem i.v., Steady-State

Prob.-Nr	Zeit in h			UR _{24h}
	0h - 6h	6h - 12h	12h - 24h	%
01 TH	1.229,00	227,60	49,89	75,96
02 ON	997,00	150,40	47,46	62,44
03 DU	731,20	86,10	74,34	84,57
04 BJ	767,50	105,40	44,79	42,85
05 CC	447,00	104,35	60,80	36,78
06 CP	4.270,70	219,60	36,34	99,76
07 SH	509,20	113,80	55,56	73,64
08 KB	1.988,00	196,00	39,00	69,58
09 KL	994,00	107,60	84,72	89,27
10 AJ	591,00	115,80	48,90	67,47
MW	1252,46	142,67	54,18	70,23
± SD	1151,28	52,58	15,32	19,50
MIN	447,00	86,10	36,34	36,78
MAX	4.270,70	227,60	84,72	99,76
MEDIAN	880,75	114,80	49,40	71,61

Tab. 9-13 Urinkonzentrationen (mg/l), LC-MS/MS, 1g Ertapenem i.v., Einzeldosis

Prob.-Nr	Zeit in h			UR _{24h}
	0h - 6h	6h - 12h	12h - 24h	%
01 TH	2.160,00	212,00	51,10	84,32
02 ON	1.012,00	226,00	26,30	44,6
03 DU	309,20	63,90	36,80	50,67
04 BJ	408,00	41,40	24,90	23,8
05 CC	592,00	60,90	22,50	28,11
06 CP	804,00	94,70	24,90	58,74
07 SH	448,00	66,60	64,10	38,02
08 KB	1.344,00	117,00	65,40	49,28
09 KL	310,40	91,60	38,00	58,93
10 AJ	287,60	46,50	25,50	42,01
MW	767,52	102,06	37,95	47,85
± SD	600,36	65,84	16,61	17,29
MIN	287,60	41,40	22,50	23,80
MAX	2.160,00	226,00	65,40	84,32
MEDIAN	520,00	79,10	31,55	46,94

Tab. 9-14 Urinkonzentrationen (mg/l), LC-MS/MS, 1g Ertapenem i.v., Steady-State

Prob.-Nr	Zeit in h			UR _{24h}
	0h - 6h	6h - 12h	12h - 24h	%
01 TH	680,00	172,00	30,30	44,87
02 ON	764,00	99,50	30,30	46,56
03 DU	xxx	56,90	50,80	xxx
04 BJ	532,00	66,20	22,90	28,5
05 CC	286,80	63,30	31,30	22,88
06 CP	720,00	131,00	33,60	27,39
07 SH	346,40	98,00	33,10	52,03
08 KB	952,00	97,10	22,50	33,78
09 KL	708,00	108,00	65,60	68,48
10 AJ	716,00	77,60	38,40	75,37
MW	633,91	96,96	35,88	44,43
± SD	210,18	34,93	13,15	18,44
MIN	286,80	56,90	22,50	22,88
MAX	952,00	172,00	65,60	75,37
MEDIAN	708,00	97,55	32,20	44,87

Tab. 9-15 Serumkonzentration (mg/l), Bioassay bei 2g Ceftriaxon i.v., Einzeldosis

Prob.Nr	ZEIT in h										
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0	4,0	6,0	8,0	12,0	24,0
01 TH	247,50	213,62	138,74	99,73	97,46	85,63	76,57	73,94	51,52	34,00	13,05
02 ON	262,20	185,17	142,60	135,76	119,56	91,94	78,67	66,69	58,12	37,08	12,07
03 DU	275,08	204,10	198,28	158,11	116,67	113,89	95,26	90,18	53,09	45,18	15,13
04 BJ	335,20	189,23	151,46	137,64	116,58	94,60	90,93	61,56	55,12	47,41	10,70
05 CC	300,06	199,45	182,55	145,04	124,79	103,76	100,58	69,84	58,78	49,11	14,95
06 CP	486,48	237,96	195,90	162,50	140,88	129,93	108,34	90,53	68,16	47,50	14,65
07 SH	210,98	159,06	107,24	98,33	91,13	76,81	68,11	45,17	37,67	29,89	6,07
08 KB	397,58	188,00	172,50	146,10	128,30	100,79	97,16	71,34	54,05	33,76	9,68
09 KL	275,08	217,75	150,85	134,43	130,56	95,64	89,24	71,14	57,92	40,68	19,35
10 AJ	356,30	227,60	146,87	136,57	116,76	100,58	99,66	67,37	56,10	32,68	11,80
MW	314,65	202,19	158,70	135,42	118,27	99,36	90,45	70,78	55,05	39,73	12,75
± SD	81,59	23,16	28,42	21,37	14,85	14,75	12,51	13,11	7,63	7,15	3,61
Min	210,98	159,06	107,24	98,33	91,13	76,81	68,11	45,17	37,67	29,89	6,07
Max	486,48	237,96	198,28	162,50	140,88	129,93	108,34	90,53	68,16	49,11	19,35
Median	287,57	201,78	151,16	137,11	118,16	98,11	93,10	70,49	55,61	38,88	12,56

Tab. 9-16 Serumkonzentration (mg/l), Bioassay bei 2g Ceftriaxon i.v., Steady-State

Prob.Nr	ZEIT in h										
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0	4,0	6,0	8,0	12,0	24,0
01 TH	246,50	161,80	143,90	153,70	106,50	103,20	84,45	76,16	62,32	45,80	16,00
02 ON	306,50	197,50	160,00	143,00	121,60	104,70	84,16	71,76	58,10	39,00	13,50
03 DU	316,00	240,13	222,31	219,59	172,54	147,79	108,71	95,63	73,26	51,81	17,88
04 BJ	303,20	214,90	191,30	144,90	137,20	106,30	102,49	73,77	57,30	43,00	12,00
05 CC	330,44	206,95	186,22	143,52	128,56	121,80	104,58	85,29	54,68	47,73	13,30
06 CP	265,20	198,06	162,36	150,01	137,92	127,03	97,27	67,45	54,68	29,82	10,23
07 SH	234,60	150,40	118,40	111,40	92,40	78,42	62,70	45,78	40,80	23,10	6,00
08 KB	399,20	239,40	199,00	157,00	147,80	117,33	93,15	72,76	64,60	30,50	7,50
09 KL	302,28	217,70	200,87	163,59	149,35	120,44	105,91	80,78	63,73	44,10	16,20
10 AJ	324,18	223,02	182,16	152,94	147,74	109,72	100,64	68,68	55,12	31,96	12,83
MW	302,81	204,99	176,65	153,97	134,16	113,67	94,41	73,81	58,46	38,68	12,54
± SD	47,07	29,73	30,65	26,97	23,08	18,17	14,00	12,99	8,51	9,35	3,79
Min	234,60	150,40	118,40	111,40	92,40	78,42	62,70	45,78	40,80	23,10	6,00
Max	399,20	240,13	222,31	219,59	172,54	147,79	108,71	95,63	73,26	51,81	17,88
Median	304,85	210,93	184,19	151,48	137,56	113,53	98,96	73,27	57,70	41,00	13,07

Tab. 9-17 Urinkonzentrationen (mg/l), Bioassay, bei 2g Ceftriaxon i.v., Einzeldosis

Prob.-Nr	Zeit in h			UR _{24h}
	0h - 6h	6h - 12h	12h - 24h	%
01 TH	943,20	158,80	92,50	37,78
02 ON	636,90	254,40	238,40	37,82
03 DU	310,80	97,80	103,90	33,51
04 BJ	636,90	147,20	130,40	34,71
05 CC	1.287,60	114,00	173,20	39,65
06 CP	2.393,00	193,20	187,90	51,83
07 SH	552,40	117,00	85,90	24,96
08 KB	1.135,20	85,50	151,70	37,11
09 KL	367,00	207,60	279,50	37,32
10 AJ	1.149,00	146,20	93,50	37,65
MW	941,20	152,17	153,69	37,23
± SD	612,10	53,13	66,28	6,59
MIN	310,80	85,50	85,90	24,96
MAX	2.393,00	254,40	279,50	51,83
MEDIAN	790,05	146,70	141,05	37,49

Tab. 9-18 Urinkonzentrationen (mg/l), Bioassay, bei 2g Ceftriaxon i.v., Steady-State

Prob.-Nr	Zeit in h			UR _{24h}
	0h - 6h	6h - 12h	12h - 24h	%
01 TH	1.012,20	300,60	102,20	43,4
02 ON	436,00	216,60	140,50	42,25
03 DU	541,60	115,00	149,30	46,69
04 BJ	845,40	163,90	113,30	54,76
05 CC	1.591,80	191,00	164,40	41,08
06 CP	2.100,00	181,60	106,60	43,38
07 SH	788,40	109,80	133,20	27,91
08 KB	1.970,40	156,00	149,40	42,09
09 KL	552,60	222,80	241,60	44,28
10 AJ	1.507,20	107,40	117,40	42,39
MW	1134,56	176,47	141,79	42,82
± SD	612,40	60,53	40,65	6,55
MIN	436,00	107,40	102,20	27,91
MAX	2.100,00	300,60	241,60	54,76
MEDIAN	928,80	172,75	136,85	42,89

Tab. 9-19 Pharmakokinetische Daten von Ertapenem per LC-MS bei Einzeldosis

Prob.-Nr.	C _{max}	AUC _{0->∞}	Cl _{tot}	Cl _{ren}	Cl _{Nren}	t _{1/2}	MRT	V _{ss}	V _z	C _{min}	fu
	(mg/l)	(mg-h/l)	(ml/min)	(ml/min)	(ml/min)	(h)	(h)	(l)	(l)	(mg/l)	(%)
1	268	947	17,60	15,30	2,35	5,07	5,09	5,38	7,72	3,50	84,3
2	305	936	17,80	8,35	9,46	6,98	5,63	6,01	10,8	4,50	44,6
3	288	1175	14,20	7,22	6,97	3,14	4,41	3,76	3,85	1,00	50,7
4	250	748	22,30	5,46	16,80	5,39	5,47	7,31	10,4	2,80	23,8
5	264	943	17,70	5,05	12,60	4,36	4,89	5,19	6,67	2,40	28,1
6	217	646	25,80	15,30	10,50	3,86	4,19	6,49	8,63	1,00	58,7
7	195	704	23,70	9,20	14,50	4,94	5,07	7,19	10,1	2,10	38,0
8	284	709	23,50	11,70	11,80	4,06	3,70	5,23	8,27	1,00	49,3
9	205	772	21,60	12,90	8,73	4,04	4,65	6,02	7,55	1,50	58,9
10	282	723	23,10	9,80	13,30	4,57	4,08	5,64	9,13	1,30	42,0
MW	255,6	830,1	20,73	10,03	10,70	4,64	4,72	5,82	8,31	2,11	47,8
± SD	37,87	164,22	3,67	3,71	4,11	1,05	0,62	1,05	2,05	1,20	17,29
Min	194,50	645,75	14,20	5,05	2,35	3,14	3,70	3,76	3,85	1,00	23,80
Max	304,60	1174,90	25,80	15,30	16,80	6,98	5,63	7,31	10,77	4,50	84,32
Median	266,00	759,85	21,95	9,50	11,15	4,47	4,77	5,83	8,45	1,80	46,94

Tab. 9-20 Pharmakokinetische Daten von Ertapenem per LC-MS im Steady-State

Prob.-Nr.	C _{max}	AUC _{0->24}	Cl _{tot}	Cl _{ren}	Cl _{Nren}	t _{1/2}	MRT	V _{ss}	V _z	C _{min}	fu
	(mg/l)	(mg-h/l)	(ml/min)	(ml/min)	(ml/min)	(h)	(h)	(l)	(l)	(mg/l)	(%)
1	193	754,3	22,10	9,90	12,20	5,48	5,27	6,99	10,5	2,80	44,9
2	251	797,0	20,90	9,73	11,19	4,18	4,44	5,57	7,57	1,50	46,6
3	352	1130,0	14,70	-	-	4,27	4,33	3,83	5,46	2,10	-
4	264	733,7	22,70	6,47	16,20	4,42	3,84	5,24	8,70	1,20	28,5
5	280	1086,2	15,30	3,50	11,80	4,66	5,47	5,03	6,19	3,30	22,9
6	338	742,6	22,40	6,10	16,30	4,32	3,26	4,39	8,39	1,00	27,4
7	258	745,9	22,30	11,62	10,70	3,90	3,48	4,66	7,54	0,900	52,0
8	257	756,2	22,00	7,40	14,60	4,12	3,51	4,64	7,85	1,10	33,8
9	353	919,1	18,10	12,40	5,73	3,67	4,13	4,50	5,76	1,30	68,5
10	251	684,8	24,30	18,32	6,00	4,07	3,98	5,82	8,58	1,30	75,4
MW	279,7	835,0	20,48	9,49	11,64	4,31	4,17	5,07	7,65	1,65	44,4
± SD	51,97	156,58	3,29	4,36	3,86	0,49	0,74	0,90	1,53	0,82	18,44
Min	193,40	684,77	14,70	3,50	5,73	3,67	3,26	3,83	5,46	0,90	22,88
Max	352,90	1130,05	24,30	18,32	16,30	5,48	5,47	6,99	10,48	3,30	75,37
Median	260,70	755,26	22,05	9,73	11,80	4,23	4,06	4,85	7,71	1,30	44,87

Tab. 9-21 Pharmakokinetische Daten von Ceftriaxon per Bioassay bei Einzeldosis

Prob.-Nr.	C _{max}	AUC _{0-∞}	Cl _{tot}	Cl _{ren}	Cl _{Nren}	t _{1/2}	MRT	V _{ss}	V _z	C _{min}	fu
	(mg/l)	(mg-h/l)	(ml/min)	(ml/min)	(ml/min)	(h)	(h)	(l)	(l)	(mg/l)	(%)
1	248	1431	23,30	9,90	13,43	8,21	9,94	13,9	16,6	13,1	37,8
2	262	1465	22,70	9,41	13,34	7,19	9,08	12,4	14,1	12,1	37,8
3	275	1740	19,20	7,2	11,97	8,52	10,01	11,5	14,1	15,1	33,5
4	335	1557	21,40	7,94	13,50	6,45	8,41	10,8	12,0	10,7	34,7
5	300	1734	19,20	8,47	10,80	8,06	9,86	11,4	13,4	15,0	39,6
6	486	1945	17,10	9,60	7,50	7,18	8,55	8,79	10,7	14,7	51,8
7	211	1068	31,20	8,20	23,00	6,13	7,64	14,3	16,6	6,07	25,0
8	398	1521	21,90	8,60	13,30	6,47	7,57	9,96	12,3	9,68	37,1
9	275	1763	18,90	8,40	10,47	10,35	12,40	14,1	16,9	19,4	37,3
10	356	1532	21,80	8,90	12,90	7,13	8,40	11,0	13,4	11,8	37,7
MW	314,6	1575,5	21,67	8,66	13,02	7,57	9,19	11,81	14,00	12,75	37,2
± SD	81,59	240,32	3,88	0,82	3,99	1,26	1,44	1,85	2,13	3,61	6,59
Min	210,98	1067,68	17,10	7,19	7,50	6,13	7,57	8,79	10,65	6,07	24,96
Max	486,48	1944,72	31,20	9,90	23,00	10,35	12,40	14,32	16,93	19,35	51,83
Median	287,57	1544,36	21,60	8,54	13,10	7,18	8,82	11,44	13,78	12,56	37,48

Tab. 9-22 Pharmakokinetische Daten von Ceftriaxon per Bioassay im Steady-State

Prob.-Nr.	C _{max}	AUC ₀₋₂₄	Cl _{tot}	Cl _{ren}	Cl _{Nren}	t _{1/2}	MRT	V _{ss}	V _z	C _{min}	fu
	(mg/l)	(mg-h/l)	(ml/min)	(ml/min)	(ml/min)	(h)	(h)	(l)	(l)	(mg/l)	(%)
1	247	1460,1	22,80	9,90	12,98	8,05	10,43	14,3	15,9	16,0	43,4
2	307	1432,8	23,30	9,78	13,48	7,65	9,21	12,9	15,4	13,5	42,3
3	316	1869,9	17,80	8,3	9,54	7,85	9,40	10,1	12,1	17,9	46,7
4	303	1522,2	21,90	11,94	10,00	6,94	8,45	11,1	13,2	12,0	54,8
5	330	1599,5	20,80	8,52	12,30	7,08	8,75	10,9	12,8	13,3	41,1
6	265	1360,3	24,50	10,60	13,90	6,65	7,81	11,5	14,1	10,2	43,4
7	235	982,9	33,90	9,43	24,50	6,03	7,24	14,7	17,7	6,00	27,9
8	399	1501,7	22,20	9,30	12,90	5,37	6,45	8,59	10,3	7,50	42,1
9	302	1631,9	20,40	9,00	11,43	8,14	9,57	11,7	14,4	16,2	44,3
10	324	1441,1	23,10	9,76	13,40	7,56	8,46	11,7	15,1	12,8	42,4
MW	302,8	1480,2	23,07	9,65	13,44	7,13	8,58	11,75	14,10	12,54	42,8
± SD	47,07	225,39	4,24	1,05	4,16	0,91	1,18	1,84	2,11	3,79	6,56
Min	234,60	982,90	17,80	8,28	9,54	5,37	6,45	8,59	10,32	6,00	27,91
Max	399,20	1869,91	33,90	11,94	24,50	8,14	10,43	14,74	17,71	17,88	54,76
Median	304,85	1480,89	22,50	9,60	12,94	7,32	8,61	11,61	14,25	13,07	42,88

Tab. 9-23 Pharmakokinetische Parameter, Einzeldosis (ED) und Steady-State (SS) von Ertapenem und Ceftriaxon für beide Geschlechter [geometrisches Mittel (% Variationskoeffizient)]

Parameter	Ertapenem		Ceftriaxon	
	ED	SS	ED	SS
C_{\max} (mg/l)	253 (15)	275 (19)	306 (26)	300 (16)
AUC_{dose} (mg·h/l)	817 (20)	823 (19)	1557 (15)	1463 (15)
T_{\max} (h)	0,5 (0)	0,5 (0)	0,5 (0)	0,5 (0)
Cl_{tot} (ml/min)	20,4 (18)	20,2 (16)	21,4 (18)	22,8 (18)
Cl_{ren} (ml/min)	9,38 (37)	8,62 (46)	8,63 (9)	9,60 (11)
Cl_{nren} (ml/min)	9,63 (38)	11,0 (33)	12,5 (31)	13,0 (31)
$t_{1/2}$ (h)	4,5 (23)	4,3 (11)	7,5 (17)	7,1 (12)
MRT (h)	4,7 (13)	4,1 (18)	9,1 (16)	8,5 (14)
V_{ss} (l)	5,7 (18)	5,0 (18)	11,7 (16)	11,6 (16)
V_z (l)	8,0 (25)	7,5 (20)	13,9 (15)	14,0 (15)
f_u (%)	45,1 (36)	41,2 (42)	36,7 (18)	42,3 (15)

Publikationen

- Mai 2004 M. Rau, M.W. Pletz, A. De Roux, G. Schreiber, C.E. Nord, M. Kurowski, G. Kruse, H. Lode
„Multiple dose and steady-state pharmacokinetics of Ertapenem compared to Ceftriaxon in healthy young male and female volunteers“
ECDMID, Prag, Tschechien, Abstract P1049
- Okt. 2004 Pletz M.W., Rau M., Bulitta J., De Roux A., Burkhardt O., Kruse G., Kurowski M., Nord C.E., Lode H.
“Ertapenem Pharmacokinetics and Impact on Intestinal Microflora, in Comparison to those of Ceftriaxone, after Multiple Dosing in male and female volunteers“
AAC, Oct. 2004, Vol. 48, No. 10, p. 3765-3777
- April 2005 M. Rau, M.W. Pletz, J. Bulitta, A. De Roux, O. Burkhardt, C.E. Nord, M. Kurowski, H. Lode
“Ertapenem: Einzeldosis- und Steady-State-Pharmkokinetik im Vergleich zu Ceftriaxon“
DGIM 2005, Wiesbaden, Deutschland, Poster Nr. 735

Danksagung

Herrn Professor Lode gilt mein besonderer Dank für die freundliche Überlassung des Themas und für die ausgezeichnete Betreuung und Zusammenarbeit, die mir bei der Durchführung dieser Arbeit zuteil wurde.

Frau Margot Rau, Frau Gabriele Schreiber, Frau Dr. Nicola Schmidt und Herrn Dr. Mathias Pletz danke ich für die Betreuung und Unterstützung während der Durchführung des praktischen Teils der Arbeit. Frau Margot Rau, Frau Dr. Nicola Schmidt und Herrn Dr. Mathias Pletz möchte ich darüber hinaus noch für die weiterführende Unterstützung in Bezug auf Fragen beim Erstellen des schriftlichen Teils der Arbeit danken.

Herrn Dr. Jürgen Bulitta möchte ich für die statistischen Berechnungen der pharmakokinetischen Daten und die weiterführende Unterstützung bei fachlichen Fragen danken.

Herrn Professor Borner danke ich herzlich für die statistische Berechnung des Methodenvergleiches und die Ratschläge und Unterstützung zum Erstellen der schriftlichen Arbeit.

Meinen Eltern möchte ich besonders danken für die seelische, moralische und finanzielle Unterstützung, die sie mir während der gesamten Zeit der Promotion und des Studiums zuteil werden ließen.

Erklärung

Ich Mareike Rau, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Ertapenem: Einzeldosis- und Steady-State-Pharmakokinetik sowie Einfluss auf die Stuhlflora nach multipler Gabe bei 10 gesunden Probanden - ein Vergleich zu Ceftriaxon“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Mareike Rau