



República Federativa do Brasil  
Ministério da Economia  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

**(11) BR 112015018360-3 B1**



**(22) Data do Depósito:** 06/02/2014

**(45) Data de Concessão:** 22/03/2022

**(54) Título:** COMBINAÇÃO DE CEFTAZIDIMA, OU UM SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DA MESMA, E AVIBACTAM, OU UM SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO PARA O TRATAMENTO DE PNEUMONIA NOSOCOMIAL

**(51) Int.Cl.:** A61K 31/546; A61K 31/4184; A61P 11/00.

**(30) Prioridade Unionista:** 06/02/2013 US 61/761,369.

**(73) Titular(es):** PFIZER ANTI-INFECTIVES AB.

**(72) Inventor(es):** SHAMPA DAS; JIANGUO LI; JOHAN WILLEM MOUTON; WRIGHT NICHOLS.

**(86) Pedido PCT:** PCT GB2014050354 de 06/02/2014

**(87) Publicação PCT:** WO 2014/122468 de 14/08/2014

**(85) Data do Início da Fase Nacional:** 31/07/2015

**(57) Resumo:** TERAPIA DE COMBINAÇÃO PARA O TRATAMENTO DE PNEUMONIA NOSOCOMIAL. A presente invenção refere-se a um método de tratamento de pneumonia nosocomial, usando uma combinação de ceftazidima (uma cefalosporina de terceira geração) e avibactam (um novo inibidor de Beta-lactamase), opcionalmente com um ou mais agentes terapêuticos adicionais.

**Relatório Descritivo da Patente de Invenção para " COMBINAÇÃO DE CEFTAZIDIMA, OU UM SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DA MESMA, E AVIBACTAM, OU UM SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO PARA O TRATAMENTO DE PNEUMONIA NOSOCOMIAL".**

Campo da Invenção

[001] A presente invenção refere-se a um método de tratamento de pneumonia nosocomial usando a combinação de ceftazidima (uma cefalosporina de terceira geração) e avibactam (um novo inibidor de  $\beta$ -lactamase), opcionalmente com um ou mais agentes terapêuticos adicionais.

Antecedentes da Invenção

[002] A comunidade microbiológica internacional e de doença infecciosa continua a expressar uma séria preocupação que a evolução contínua da resistência antibacteriana pode resultar em cepas bacterianas, em oposição aos agentes antibacterianos atualmente disponíveis, serão ineficazes. O resultado de tal ocorrência poderá ter considerável morbidade e mortalidade.

[003] Na luta em oposição a infecção bacteriana, antibióticos de beta-lactama são essenciais. Beta-lactamas são uma ampla classe de fármacos em que todos têm beta-lactama em sua estrutura molecular de núcleo, e tipicamente mostram eficácia em oposição a um largo espectro de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, inibindo a síntese da parede da célula da bactéria. Por causa do alvo do fármaco não ter análogo eucariótico, sua toxicidade é baixa e eles são geralmente bem tolerados. Antibióticos de beta-lactama incluem derivados de penicilina (penamas), cefalosporinas, monobactamas e carbapenemas. Eles permanecem entre os fármacos mais amplamente prescritos, seguros e eficazes, e disponíveis para combater infecção bacteriana. Entretanto, sua eficácia é limitada pelas cepas infecciosas altamente re-

sistentes tais como *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) e cepas resistentes à multifármacos (MDR) de *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, e outras Enterobacteriáceas. Tais bactérias resistentes são as principais causas de morbidade e mortalidade do paciente. Helfand, *β-lactamas Em oposição a 'Superbactérias' Emergentes: Progresso e Armadilhas*, Expert Rev. Clin. Pharmacol. 1(4):559-571 (2008).

[004] Para ajudar a melhorar a eficácia de antibióticos beta-lactama, alguns inibidores de beta-lactamase têm sido desenvolvidos. Entretanto, os inibidores de β-lactamase atualmente disponíveis, em muitos casos são insuficientes para impedir a diversidade de β-lactamases constantemente aumentando. Os três agentes de serina beta-lactamase mais comuns atualmente usados – ácido clavulânico, tazobactama e sulbactama - têm atividade somente em oposição a certas enzimas de Classe A, que gravemente limitam suas utilidades. Inibidores de beta-lactamase mais novos, atualmente em experiências clínicas, tais como Avibactama, trabalham em ambas as enzimas de Classe A e C, com alguma eficácia limitada em oposição a beta-lactamases de Class D. Bebrone, et al., *Current Challenges in Antimicrobial Chemoterapia: Focus on β-Lactamase Inhibition* (Desafios Atuais em Quimioterapia Antimicrobiana: Foco na Inibição de β-Lactamase), Fármacos, 70(6) : 651- Antibióticos de beta-lactama, sós e em combinação como inibidores de beta-lactamase, continuam a representar uma porção essencial de agentes antibacterianos usados para combater doença. A resistência de β-lactama às infecções por Gram-negativos é principalmente dirigida pela atividade de β-lactamase; e a significativa dependência em antibióticos de β-lactama tem levado à diversificação e predominância aumentada de β-lactamases. Essas β-lactamases estão dirigindo resistência para até

os mais novos antibióticos de  $\beta$ -lactama. Llarrull, et al., *The Future of Beta-Lactamas*, Current Opinion in Microbiologia (O Futuro de Beta-Lactamas, Opinião Atual em Microbiologia), 13 :551-557 (2010).  $\beta$ -lactanase de espectro prolongado (ESBL)-, AmpC-, KPC-, NDM- e OXA-48- produzindo Enterobacteriaceas como *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa*, estão entre os patógenos nosocomiais mais importantes e frequentemente isolados, e são muitas vezes resistentes a muitas classes de antibióticos. D.M. Livermore, et al. *Combinações de Atividades de NXL104 com Ceftazidima e Aztreonam em Oposição a Carbapenemase-Produzindo Enterobacteriaceos*, Quimioterapia de Agentes Antimicrobianos, 55 (2011), pp. 390-394; S. Mushtaq, et al., *Atividade In Vitro de Ceftazidima + NXL104 Em oposição a Pseudomonas aeruginosa e outros não Fermentadores*; J. Quimioterapia Antimicrobiana, 65(2010) 2376-381; A. Endimiani, et al., *Atividade In Vitro de NXL104 em Combinação com  $\beta$ -Lactamas Em oposição a pneumonia Klebsiella, Isolados Produzindo KPC Carbapenemases*; Quimioterapia de Agentes Antimicrobianos, 53 (2009) 3599-3601 .

[005] Pneumonia nosocomial refere-se a qualquer pneumonia contraída por um paciente em um hospital pelo menos 48-72 horas depois de ser internado, e inclui pneumonia adquirida no hospital (HAP) e pneumonia associada a ventilador (VAP). Dos pacientes com infecções por pneumonia nosocomial, HAP é responsável por cerca de 70% de pacientes com pneumonia nosocomial, e os restantes, aproximadamente 30%, têm VAP. Em pacientes com HAP, as taxas de mortalidade hospitalar varia de 12-35% (Freire et al 2010; Chung et al 2011), mas as taxas atuais são muitas vezes associadas com condições subjacentes dos pacientes. Pacientes com VAP são reconhecidos como sendo a população mais gravemente enferma, com taxas de mortalidade que podem ser atribuídas, citadas na faixa de 33-50% (Am

J Respir Crit Care Med, 2005, 171, pp388).

[006] Existe uma necessidade significativa, em pneumonia nosocomial, por opções de um primeiro tratamento (empírico) que são mais eficazes para tratar os patógenos mais comumente encontrados em pneumonia nosocomial. A confirmação de patógenos demora até 48 horas, e em algumas instalações clínicas, tais como HAP, as taxas de detecção são relativamente baixas (cerca de 60%>) significando que a escolha do tratamento é feita na suspeita de patógeno e/ou na possibilidade de resistência. Existe uma necessidade significativa por opções de terapia empírica, que são mais eficazes para tratar os patógenos mais comumente encontrados em pneumonia nosocomial, como opções de tratamento existentes para patógenos Gram negativos, tendo níveis de susceptibilidade para patógenos resistentes chaves de abaixo de 80%>. Existem poucos agentes empíricos eficazes para tratar infecções por Gram negativos sérios (*Pseudomonas aeruginosa*, e patógenos resistentes expressando Espectro Prolongado de  $\beta$ -Lactamases (ESBLs), ou *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemases (KPCs). A diminuição da eficácia de opções terapêuticas empíricas existentes (por exemplo, carbapenemas, cefalosporinas) cria uma necessidade significativa de agentes, como a combinação de ceftazidima-avibactam (CAZ-AVI), que comparada aos tratamentos estabelecidos é ativa versus um espectro mais expandido de patógenos difíceis de tratar e resistentes. Novos tratamentos tais como CAZ-AVI são necessários para uso empírico para aumentar as taxas de tratamento bem sucedidos nos pacientes em risco mais elevado de mortalidade e mobilidade, se a terapia empírica é inadequada.

[007] Foi surpreendentemente e inesperadamente descoberto que a combinação de CAZ-AVI provê uma excelente opção de tratamento para pacientes de pneumonia nosocomial. Enquanto o espectro in vitro desta combinação mostrou promessa para tratar as principais

cepas bacterianas responsáveis por causar pneumonia nosocomial, nossas descobertas mostram que a combinação pode penetrar nos tecidos alvos em quantidades suficientes para eficazmente tratar a infecção.

### Sumário da Invenção

[008] A presente invenção é dirigida para o uso de uma combinação de ceftazidima e Avibactam para tratar pneumonia nosocomial, including HAP e VAP, opcionalmente em combinação com um ou mais agentes terapêuticos adicionais. A presente invenção é também dirigida para um método de tratamento de uma infecção por pneumonia nosocomial em um paciente com necessidade do mesmo, compreendendo administrar para o paciente uma quantidade eficaz da combinação de ceftazidima ou um sal da mesma farmaceuticamente aceitável, e Avibactam, ou um sal do mesmo farmaceuticamente aceitável. Em uma modalidade, esta combinação ainda compreende administrar a combinação com um ou mais agentes terapêuticos adicionais.

### Breve Descrição dos Desenhos

[009] **Figura 1.** Perfil do tempo de concentração de soro simulado de ser humano para 2000-500 mg de ceftazidima-avibactam a cada 8 horas, como uma infusão por 2 horas em homem, quando comparado com exposições de soro observadas em camundongos fêmeas ICR infectados e não infectados. A linha preta é a exposição de ceftazidima humana, círculos pretos são concentrações de soro de ceftazidima de camundongos infectados, quadrados pretos são concentrações de soro de ceftazidima de camundongos não infectados, e a linha pontilhada é a exposição de avibactam de ser humano, círculos brancos são concentrações de soro de avibactam de camundongos infectados, e quadrados brancos são as concentrações de soro de avibactam de camundongos não infectados.

[0010] **Figura 2.** Perfil do tempo de concentração do fluido de re-

vestimento epitelial (ELF) depois de doses simuladas de soro humano, de ceftazidima-avibactam de 2000-500 mg cada 8 horas com uma infusão de 2 horas em homem, observada em camundongos infectados e não infectados. Em A), os círculos pretos são concentrações de ceftazidima ELF em camundongos ICR fêmeas infectadas; os quadrados pretos são concentrações de ceftazidima ELF em camundongos não infectados; em B), os triângulos pretos são as concentrações de avibactam ELF em camundongos infectados, e os diamantes pretos são concentrações de avibactam de ELF em camundongos não infectados.

[0011] **Figura 3.** O perfil do tempo de concentração de soro, depois de doses de soro simuladas humanas de ceftazidima-avibactam de 2000-500 mg, cada 8 horas como um infusão de 2 horas em homem, quando comparado com aquele observado em camundongos ICR, fêmeas, infectados. A linha preta é uma exposição de ceftazidima humana, os círculos pretos são concentrações de soro de ceftazidima em camundongos, a linha pontilhada é a exposição de avibactam humano, e os triângulos brancos são concentrações de soro de avibactam em camundongos.

[0012] **Figura 4.** Perfil do tempo de concentração de fluido de revestimento epitelial (ELF) depois de doses de soro de ser humano simulado de ceftazidima-avibactam de 2000-500 mg cada 8 horas como uma infusão de 2 horas em homem observadas em camundongos ICR fêmeas infectadas. Os círculos pretos são concentrações de ELF de ceftazidima em camundongos, e os quadrados pretos são as concentrações de ELF de avibactam.

[0013] **Figura 5.** A eficácia de doses de soro humano simulado de ceftazidima-avibactam de 2000-500 mg cada 8 horas como uma infusão de 2 horas, e associada a ELF  $fT > MIC$  em oposição a *P. aeruginosa* em modelos de infecção pulmonar neutropênica. (MICs de CAZ-AVI são mostrados entre parêntesis por cada nome de cepa). As bar-

ras representam média  $\pm$  SD

[0014] **Figura 6.** Perfil do tempo de concentração de soro, depois de doses de soro humano simuladas de 2000 mg de ceftazidima cada 8 horas, como uma infusão de 2 horas em homem, observada em camundongos ICR fêmeas, infectadas. Os círculos pretos são concentrações de soro de ceftazidima em camundongos, os quadrados pretos são as concentrações de ELF de ceftazidima em camundongos.

[0015] **Figura 7.** Eficácia de doses de soro humano simulado de 2000 mg de ceftazidima cada 8 horas, como uma infusão de 2 horas em oposição a *P. aeruginosa*, no modelo de infecção pulmonar neutropênica. (MICs de CAZ são mostrados entre parêntesis por cada nome de cepa). As barras representam a média  $\pm$  SD

[0016] **Figura 8.** O perfil do tempo de concentração de soro depois de um regime de ceftazidima para produzir ELF  $fT > MIC$  direto, observado em camundongos ICR fêmeas, infectados. Os círculos pretos são concentrações de ceftazidima de soro em camundongos, os quadrados pretos são as concentrações de ceftazidima ELF em camundongos.

[0017] **Figura 9.** A eficácia das doses de soro humano simuladas de ceftazidima ELF  $fT > MIC$  dirigido e ELF  $fT > MIC$  associado, em oposição a *P. aeruginosa* no modelo de infecção de pulmão neutropênica. (MICs de CAZ são mostrados entre parêntesis por cada nome de cepa). As barras representam a média  $\pm$  SD

[0018] **Figura 10.** Resposta da exposição de avibactam em camundongos infectados restritos, tratados com ceftazidima q2 horas: fracionamento de dose.

[0019] **Figura 11:** Resposta da exposição de avibactam em camundongos infectados restritos tratados com ceftazidima q2 horas para 6 cepas de *P. aeruginosa*.

[0020] **Figura 12:** Tratamento de camundongos de pulmão infec-



tado, com dosagem de ceftazidima cada 2 horas e avibactam cada 2 ou 8 horas

[0021] **Figura 13:** Resposta da exposição de avibactam em camundongos de pulmão infectado, tratados com ceftazidima q2 horas: fracionamento de dose.

[0022] **Figura 14:** Resposta da exposição de avibactam em camundongos de pulmão infectado tratados com ceftazidima q2 horas por 4 cepas *P. aeruginosa*.

#### Descrição Detalhada da Invenção

[0023] A combinação de CAZ-AVI demonstra atividade significativa em oposição a patógenos Gram negativos clinicamente importantes (por exemplo, *P. aeruginosa* e *Enterobacteriaceae*, incluindo as espécies *K. pneumoniae*, e *Enterobacter*), incluindo aqueles resistentes à espectro de cefalosporinas, piperacilina/tazobactam e carbapenemas prolongadas, através da produção de  $\beta$ -lactamase de ESBL, KPCs, AmpC ou OXA-48. CAZ-AVI também demonstra taxas mais altas de susceptibilidade versus padrão de antibióticos de cuidado em oposição a patógenos Gram negativos locais chaves (por exemplo, *P. aeruginosa*, e *Enterobacteriaceae*, incluindo *K. pneumoniae*) incluindo cepas resistentes aos antibióticos comumente usados, incluindo cepas resistentes a multifármacos.

[0024] Este espectro potente poderá prover cobertura eficaz potencial para a vasta maioria de pacientes com infecções por pneumonia nosocomial, mas somente se os fármacos podem realmente penetrar no sítio da infecção a níveis clinicamente eficazes. Numerosos agentes com potencialmente relevante eficácia em patógenos não são capazes de eficazmente tratar infecções por pneumonia nosocomial, com base em suas incapacidades de chegar até o sítio da infecção (penetrar no fluido de revestimento epitelial (ELF)) em quantidades eficazes. Muitas vezes, a carga do fármaco deve ser significativamente

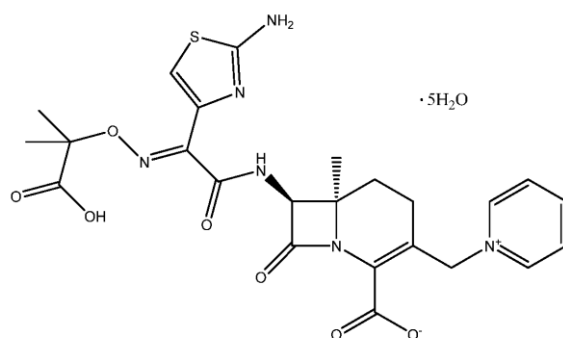
aumentada para prover uma quantidade eficaz de fármaco para o sítio da infecção, que aumenta o potencial de efeitos colaterais sofridos pelo paciente, que por sua vez pode levar a uma não aceitação do plano de administração ou descontinuação do tratamento. Não só um tratamento potencial para pneumonia nosocomial requer penetração eficaz de ELF, mas um agente eficaz é também necessário para reter sua atividade antibacteriana na presença de um tensoativo de pulmão, e não sofrer interações fármaco-fármaco prejudiciais, com agentes terapêuticos adicionais que podem ser coadministrados ao paciente, em um regime de tratamento total. Qualquer um desses empecilhos consideráveis pode tornar um agente antibacteriano potencialmente atraente não disponível para o tratamento de infecções por pneumonia nosocomial tais como HAP e VAP.

[0025] Surpreendentemente e inesperadamente nós descobrimos que a combinação de CAZ-AVI tem o perfil requerido para tratar com sucesso infecções nosocomiais – não só ela provê um perfil atraente em oposição aos principais patógenos, que causam infecções por pneumonia nosocomial, mas ela pode eficazmente penetrar na ELF para alcançar o sítio da infecção, não perde a eficácia na presença de tensoativos do pulmão, e pode ser administrada com sucesso com muitos agentes comuns por um plano de tratamento total para esta população de pacientes extremamente doentes. O nível de penetração de avibactam para ELF de ser humano (aproximadamente 30%) e o fato de que o tensoativo do pulmão não impacta a eficácia de avibactam, para restaurar a atividade de ceftazidima no sítio de uma infecção de pneumonia nosocomial, ainda nos mesmos níveis de dose usados para tratar infecções em outros sítios no corpo, é surpreendente e representa um imenso avanço em opções de tratamento possíveis para pacientes de PN.

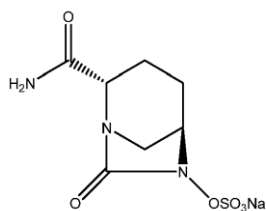
[0026] Em um aspecto da invenção está um método de tratar

pneumonia nosocomial, em um paciente com necessidade do mesmo, compreendendo administrar para o paciente uma quantidade eficaz de ceftazidima, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, e avibactam, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

[0027] Ceftazidima é penta-hidrato (6R,7R)-7-[[[(2Z)-2-(2-amino-1,3-tiazol-4-il)-2-(1-hidróxi-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi-iminoacetil]amino]-8-oxo-3-(piridin-1-ium-1-ilmetil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxilato. A estrutura química é ilustrada abaixo:



[0028] Avibactam é sulfato de [(2S,5R)-2-carbamoil-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-il] hidrogênio. A estrutura química é ilustrada abaixo:



[0029] De acordo com algumas modalidades, a presente invenção provê métodos para tratar infecções por pneumonia nosocomial, em pacientes com necessidade dos mesmos, provendo uma forma de dosagem compreendendo cerca de 2000 mg de ceftazidima e cerca de 500 mg de avibactam. Nesta modalidade, a administração de uma forma de dosagem constitui administrar uma dose da combinação. Em um aspecto desta modalidade, o paciente recebe uma dose da combinação cada 8 horas. Em um aspecto desta modalidade, o paciente recebe cada dose da combinação através de uma infusão intravenosa.

Em um aspecto desta modalidade, o paciente recebe cada dose da combinação através de infusão intravenosa, que é administrada durante o curso de aproximadamente duas horas. Em um aspecto desta modalidade, o paciente recebe cada dose da combinação através de uma infusão intravenosa, que é administrada durante o curso de aproximadamente uma hora. Em um aspecto desta modalidade, o paciente recebe a combinação em uma única infusão. Em um aspecto desta modalidade, o paciente recebe a combinação em uma série de infusões.

[0030] Em algumas modalidades, a presente invenção provê composições consistindo essencialmente da combinação de ceftazidima e avibactam, ou um sal farmaceuticamente aceitável de um ou ambos os componentes da mesma. Em tais composições, ceftazidima e avibactam são os únicos ingredientes ativos. Um ingrediente ativo, como definido aqui, é um que é eficaz para o tratamento de infecções de pneumonia nosocomial. Tais composições podem ter outros ingredientes que são agentes antibacterianos, agentes antimicrobianos inativos e/ou não. Exemplos de tais ingredientes incluem, mas não são limitados a, um ou mais veículos, excipientes, aditivos farmaceuticamente aceitáveis, ou outros ingredientes úteis na formulação das composições.

[0031] Uma modalidade da invenção é a combinação de ceftazidima, ou um sal farmaceuticamente aceitável da mesma, e avibactam, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, para uso como um medicamento.

[0032] Uma modalidade da invenção é a combinação de ceftazidima, ou um sal farmaceuticamente aceitável da mesma, e avibactam, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, para uso no tratamento de uma infecção de pneumonia nosocomial. Em um aspecto desta modalidade, a combinação é para uso no tratamento de uma

infecção de pneumonia nosocomial, que é causada por um ou mais patógenos que expressam uma ou mais beta-lactamase. Em um aspecto desta modalidade, a combinação é usada para o tratamento de uma infecção de pneumonia nosocomial, que não é susceptível à ceftazidima como uma monoterapia. Em um aspecto desta invenção, a combinação é usada para o tratamento de uma infecção de pneumonia nosocomial, que é pneumonia adquirida no hospital (HAP). Em um aspecto desta invenção, a combinação é usada para o tratamento de uma infecção de pneumonia nosocomial, que é pneumonia adquirida por ventilador (VAP).

[0033] Em uma modalidade da invenção, a combinação de ceftazidima, ou um sal farmaceuticamente aceitável da mesma, e avibactam, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, ainda compreende um ou mais agentes terapêuticos adicionais. Em um aspecto desta modalidade, a combinação ainda compreende um agente terapêutico adicional, que é selecionado do grupo consistindo em agentes antibacterianos, inibidores de beta-lactamase e agentes antifúngicos. Em um aspecto desta modalidade, a combinação ainda compreende um agente antibacteriano selecionado do grupo consistindo em tobramicina, levofloxacina, vancomicina, linezolida, tigeciclina e colistina.

[0034] Em uma modalidade da invenção, a combinação de ceftazidima, ou um sal farmaceuticamente aceitável da mesma, e avibactam, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, são administrados simultaneamente. Em outra modalidade da invenção, a combinação de ceftazidima, ou um sal farmaceuticamente aceitável da mesma, e avibactam, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, são independentemente formulados e coadministrados. Em outra modalidade da invenção, a combinação de ceftazidima, ou um sal farmaceuticamente aceitável da mesma, e avibactam, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, são independentemente formula-

dos e administrados sequencialmente. Em qualquer uma das modalidades acima da invenção, a combinação compreende cerca de 2000 mg de ceftazidima, ou um sal farmaceuticamente aceitável da mesma, e cerca de 500 mg de avibactam, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, por dose. Em um aspecto destas modalidades, a combinação é administrada aproximadamente a cada oito horas. Em um aspecto de qualquer uma destas modalidades, a combinação é administrada aproximadamente a cada doze horas.

[0035] Em uma modalidade da invenção, a combinação de ceftazidima, ou um sal farmaceuticamente aceitável da mesma, e avibactam, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, é administrada intravenosamente. Em um aspecto desta modalidade, a combinação é administrada intravenosamente durante o curso de aproximadamente 1 a 2 horas. Em um aspecto desta modalidade, a combinação é administrada intravenosamente durante o curso de aproximadamente 1 hora. Em um aspecto diferente desta modalidade, a combinação é administrada intravenosamente durante o curso de 2 horas.

[0036] Qualquer uma das modalidades acima e aspectos das modalidades podem ser combinadas com qualquer outra para formar modalidades pretendidas adicionais da invenção.

[0037] Numerosas referências padrão estão disponíveis, que descrevem procedimentos para preparar várias composições apropriadas para administrar os compostos de acordo com a invenção. Exemplos de composições e preparações potenciais estão contidos, por exemplo, no Manual de Excipientes Farmacêuticos, Associação Farmacêutica Americana (edição atual); Formas de Dosagem Farmacêutica: Comprimidos (Lieberman, Lachman e Schwartz, editores) edição atual, publicada por Marcel Dekker, Inc., como também Ciências Farmacêuticas de Remington (Arthur Osol, editor), 1553-1593 (edição atual).

[0038] As composições podem ser sólidas ou líquidas e ser apre-

sentadas nas formas farmacêuticas, tais como por exemplo, comprimidos simples ou revestidos de açúcar, cápsulas de gelatina, grânulos, supositórios, preparações injetáveis, unguentos, cremes, géis, e preparadas de acordo com os métodos usuais. O ingrediente ou ingredientes ativos podem ser incorporados com excipientes normalmente empregados nessas composições farmacêuticas, tais como talco, goma arábica, lactose, amido, estearato de magnésia, manteiga de cacau, veículos aquosos ou não aquosos, substâncias gordurosas de origem animal ou vegetal, derivados de parafina, glicóis, vários umidificantes, agentes dispersantes ou emulsificantes e conservantes. Em uma modalidade da invenção, a dose da combinação de ceftazidima e avibactam é administrada intravenosamente.

[0039] As composições podem ser apresentadas na forma de um liofilisato destinado a ser dissolvido extemporaneamente em um veículo apropriado, por exemplo, água estéril apirogênica. Por exemplo, a composição pode ser formulada como uma forma de dosagem sólida, tal como um pó seco, para ser constituída com um diluente antes da administração. Em modalidades exemplares, a composição pode ser formulada como um pó seco compreendendo uma combinação de ceftazidima e avibactam. O pó seco pode ser constituído com um diluente estéril, tal como água, para formar uma solução constituída antes da administração. O pH da solução constituída pode ser entre cerca de 4 e cerca de 10. Em outras modalidades, o pH da solução constituída pode ser entre cerca de 5,6 e cerca de 7. A solução constituída pode ainda ser diluída antes da administração usando uma solução apropriada, tal como uma solução de infusão. Exemplos de tais soluções de infusão são 0,9% de cloreto de sódio (soro normal), 5% de dextrose, 2,5% de dextrose e 0,45% de cloreto de sódio, e solução de Ringer lactada.

[0040] As composições podem ser formuladas em várias formas

de dosagem oral líquida, incluindo soluções aquosas e não aquosas, emulsões, suspensões, xaropes, e elixires. Tais formas de dosagem podem também conter diluentes inertes apropriados conhecidos na técnica, tais como água e excipientes apropriados conhecidos na técnica tais como conservantes, agentes umidificantes, adoçantes, flavorizantes, como também agentes para emulsificar e/ou suspender os compostos da invenção. As composições da presente invenção podem ser injetadas, por exemplo, intravenosamente, na forma de uma solução estéril isotônica. Outras preparações são também possíveis.

[0041] Em algumas modalidades, os métodos podem incluir administrar a combinação de ceftazidima e avibactam cada 4 horas, 6 horas, 8 horas, 12 horas, 18 horas ou cada 24 horas. Por exemplo, a combinação de ceftazidima e avibactam pode ser administrada cada 8 horas, intravenosamente, por infusão durante aproximadamente uma hora. Por exemplo, a combinação de ceftazidima e avibactam pode ser administrada cada 8 horas intravenosamente por infusão, durante aproximadamente duas horas. Em outras modalidades, os métodos podem incluir administrar a combinação de ceftazidima e avibactam através de infusão contínua ou prolongada. Por exemplo, a combinação de ceftazidima e avibactam pode ser administrada por infusão durante 3 horas, 4 horas, 5 horas, 6 horas, 7 horas, 8 horas, 9 horas, 10 horas, 11 horas ou 12 horas. Em outras modalidades, a duração da infusão pode ser mais de 12 horas, por exemplo, 13 horas, 14 horas, 15 horas, 16 horas, 17 horas, 18 horas, 19 horas, 20 horas, 21 horas ou 22 horas, 23 horas ou 24 horas.

[0042] A duração do tratamento pode depender da gravidade da infecção e do progresso clínico e biológico do paciente, como também quaisquer co-morbilidades que o paciente possa ter. Em algumas modalidades, o tratamento pode durar entre cerca de 5 a 14 dias. Em outras modalidades, o tratamento pode durar entre cerca de 5 a 7 dias.



Por exemplo, cerca da combinação de cerca de 2000 mg de ceftazidima e cerca de 500 mg de avibactam podem ser administradas cada 8 horas por cerca de cinco a quatorze dias. Em modalidades adicionais, cerca de 2000 mg de ceftazidima e cerca de 500 mg de avibactam podem ser administradas cada 8 horas por cerca de cinco a dez dias. Em outras modalidades, cerca de 2000 mg de ceftazidima e cerca de 500 mg de avibactam podem ser administradas cada 8 horas por cerca de cinco a sete dias.

[0043] O termo "cerca de" ou "aproximadamente" significa dentro de uma aceitável faixa de erro para o valor particular, como determinado por uma pessoa de conhecimento comum na técnica, que dependerá em parte de como o valor é medido ou determinado, isto é, as limitações do sistema de medição. Por exemplo, "cerca de" pode significar dentro de 1 ou mais do que 1 desvio padrão, por prática na técnica. Alternativamente, "cerca de" em relação às composições pode significar mais ou menos uma faixa de até 20%, preferivelmente até 10%, mais preferivelmente até 5%. Alternativamente, particularmente em relação aos sistemas ou processos biológicos, o termo pode significar dentro de uma ordem de magnitude, preferivelmente dentro de 5 vezes, e mais preferivelmente dentro de 2 vezes, um valor. Quando valores particulares são descritos nos pedidos e reivindicações, a menos que de outra maneira estabelecido, o termo "cerca de" significa dentro de uma faixa de erro aceitável para o valor particular. Por exemplo, quando se referindo a um período de tempo, por exemplo, horas, os presentes valores ( $\pm 20\%$ ) são mais aplicáveis. Desse modo, 6 horas pode ser, por exemplo, 4,8 horas, 5,5 horas, 6,5 horas, 7,2 horas, como também às 6 horas usuais.

[0044] O termos "trata," "tratamento," e "tratar" referem-se a um ou mais dos a seguir: mitigar ou aliviar pelo menos um sintoma de uma infecção bacteriana em um sujeito; mitigar ou aliviar a intensidade e/ou

duração de uma manifestação da infecção bacteriana experimentada por um sujeito; e interromper, atrasar o começo (isto é, o período antes da manifestação clínica da infecção) e/ou reduzir o risco de desenvolver ou piorar uma infecção bacteriana.

[0045] O termo "terapeuticamente eficaz" aplicado para dose ou quantidade se refere àquela quantidade de um composto ou composição farmacêutica que é suficiente para resultar em uma atividade desejada mediante administração para um mamífero com necessidade do mesmo. Uma "quantidade eficaz" significa a quantidade de um composto de acordo com a invenção que, quando administrada para um paciente para tratar uma infecção ou doença é suficiente para efetuar tal tratamento. A "quantidade eficaz" vai variar dependendo do ingrediente ativo, o estado da infecção, doença ou condição a ser tratada e sua gravidade, e a idade, peso, condição física e reação do mamífero a ser tratado.

## EXEMPLOS

### EXEMPLO 1 – Potência *in vitro* de CAZ-AVI em tensoativo pulmonar Cepas Bacterianas

[0046] As cepas bacterianas usadas neste teste faziam parte da coleção de cultura microbiológica alojada em AstraZeneca R&D Boston (Coleção de Pesquisa AstraZeneca, designada ARC). O painel de isolados bacterianos usado para esse teste foi compreendido de cinco cepas de referência CLSI QC e o restante foi isolados clínicos recentes expressando  $\beta$ -lactamases, ou isolados dos painéis de varredura bacteriana primária.

### Design do estudo

[0047] Valores de MIC foram determinados usando a metodologia de microdiluição de caldo CLSI com ligeira variação. Placas mães de composto de estoque foram preparadas e usadas para marcar 2  $\mu$ L de alíquotas de diluições de fármaco, de 2-vezes em série, para colunas

1-11 de placas filhas de 96- cavidades, usando um distribuidor Perkin-Elmer MiniTrak™ MultiPosition. A Coluna 12 não continha fármaco e serviu como um controle de crescimento. Um volume de inocular de 100 (5 x 10E5 CFU/mL) em CAMHB contendo 0, 1, 2,5, 5, ou 10% de tensoativo pulmonar, foi adicionado usando um multicanal Finnpipette® para cada poço da placa de 96 cavidades. Avibactam foi testado em uma concentração fixa de 4 µg/mL, quando testado em combinação com ceftazidima.

#### Procedimentos experimentais

[0048] Os valores da concentração inibidora mínima (MIC), em oposição a cada combinação organismo/fármaco, foram determinados usando metodologia de microdiluição de caldo, de acordo com orientações de CLSI. As cepas bacterianas de referência recomendadas para cada grupo de teste e compostos de referência, foram incorporados em cada teste. Para Gram-negativas, as cepas bacterianas de referência foram *Escherichia coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 35218, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 foi a cepa bacteriana de referência para as Gram-positivas.

#### Análise de dados

[0049] Valores de MIC para isolados individuais foram visualmente lidos. Os MICs para cada composto ou combinação, em tensoativo pulmonar, foram comparados ao composto ou combinação testada em CAMHB só.

#### Resultados

[0050] A atividade antibacteriana de ceftazidima, avibactam, ceftazidima-avibactam, e daptomicina testada em concentrações variadas de CAMHB está listada na Tabela 1. Em vez de uma variação transitente de 2 vezes (+/-) ocasional em MIC, aumentos no MIC foram observados para ceftazidima, avibactam, ou ceftazidima-avibactam em

oposição a quaisquer cepas bacterianas Gram-positivas ou Gram-negativas testadas em até ----- de tensoativo pulmonar. Ao contrário, MICs de daptomicina aumentaram substancialmente (32 - a > 128-vezes) versus as cepas de *S. aureus* testadas. Tão pequeno quanto 1% de tensoativo pulmonar, resultou em um aumento de 32- vezes em MICs *S. aureus* de daptomicina.

[0051] Dados de MIC para ceftazidima, ceftazidima-avibactam e daptomicina versus cepas bacterianas de referência CLSI QC estão listados em **Erro! Fonte de referência não encontrada**. Valores de MIC para ceftazidima, ceftazidima-avibactam, e daptomicina estavam dentro das faixas de CLSI QC para cada cepa.

### Conclusões

[0052] Nenhum aumento de MIC relacionado ao tensoativo foi observado para ceftazidima, avibactam, ou ceftazidima-avibactam, na presença de até 10% de tensoativo pulmonar, em oposição a quaisquer cepas bacterianas testadas. A atividade antibacteriana consistente de ceftazidima, avibactam, ceftazidima-avibactam, na presença de concentrações de tensoativo pulmonar variados, é notável especialmente para fármacos que podem ser considerados para tratar infecções respiratórias. Como esperado, MICs para o controle positivo de daptomicina aumentou significativamente em oposição a *S. aureus*, como a concentração de tensoativo pulmonar foi aumentada.

Tabela 1: Atividade antibacteriana de ceftazidima, avibactam, e ceftazidima-avibactam na presença de concentrações variadas de tensoativo pulmonar

Espécies de Gênero	Código da cepa	Descrição (teor de $\beta$ -lactamase)	Concentração de Tensoativo (%)	MIC $\mu\text{g/mL}$			
				ceftazidima	avibactam	CAZ-AVla	daptomicina
<i>S. aureus</i>	ARC12	cepa CLSI QC, ATCC 29213	0	8	>64	8	0.5
<i>S. aureus</i>	ARC12	Cepa CLSI QC, ATCC 29213	1	16	>64	8	16
<i>S. aureus</i>	ARC12	Cepa CLSI QC, ATCC 29213	2,5	16	>64	16	64
<i>S. aureus</i>	ARC12	Cepa CLSI QC, ATCC 29213	5	8	>64	8	>64
<i>S. aureus</i>	ARC12	Cepa CLSI QC, ATCC 29213	10	8	>64	8	64
<i>S. aureus</i>	ARC516	MRSA, resistente à quinolona	0	>64	>64	>64	0.5
<i>S. aureus</i>	ARC516	MRSA, resistente à quinolona	1	>64	>64	>64	16
<i>S. aureus</i>	ARC516	MRSA, resistente à quinolona	2,5	>64	>64	>64	64
<i>S. aureus</i>	ARC516	MRSA, resistente à quinolona	5	>64	>64	>64	>64
<i>S. aureus</i>	ARC516	MRSA, resistente à quinolona	10	>64	>64	>64	>64
<i>E. coli</i>	ARC4	Cepa CLSI QC, ATCC 25922	0	0,25	32	0.25	--
<i>E. coli</i>	ARC4	Cepa CLSI QC, ATCC 25922	1	0,25	32	0.12	--
<i>E. coli</i>	ARC4	Cepa CLSI QC, ATCC 25922	2,5	0,25	32	0.12	--
<i>E. coli</i>	ARC4	Cepa CLSI QC, ATCC 25922	5	0,25	16	0.12	--
<i>E. coli</i>	ARC4	Cepa CLSI QC, ATCC 25922	10	0,25	16	0.12	--
<i>E. coli</i>	ARC016	Cepa CLSI QC, ATCC 35218 (TEM-1)	0	0,12	16	0.12	--
<i>E. coli</i>	ARC016	Cepa CLSI QC, ATCC 35218 (TEM-1)	1	0,12	16	0.12	--
<i>E. coli</i>	ARC016	Cepa CLSI QC, ATCC 35218(TEM-1)	2,5	0,12	16	0.12	--
<i>E. coli</i>	ARC016	Cepa CLSI QC, ATCC 35218(TEM-1)	5	0,12	16	0.12	--

Espécies de Gênero	Código da cepa	Descrição (teor de $\beta$ -lactamase)	Concentração de Tensoativo (%)	MIC $\mu\text{g/mL}$			
				ceftazidima	avibactam	CAZ-AVla	daptomicina
<i>E. coli</i>	ARC016	Cepa CLSI QC, ATCC 35218 (TEM-1)	10	0,12	16	0.12	--
<i>E. coli</i>	ARC523	W3110	0	0,5	>64	0.25	--
<i>E. coli</i>	ARC523	W3110	1	0,5	>64	0.25	--
<i>E. coli</i>	ARC523	W3110	2,5	0,25	>64	0.25	--
<i>E. coli</i>	ARC523	W3110	5	0,5	>64	0.25	--
<i>E. coli</i>	ARC523	W3110	10	0,5	>64	0.25	--
<i>E. coli</i>	ARC3690	(CTX-M-15, SHV-12)	0	64	16	0.12	--
<i>E. coli</i>	ARC3690	(CTX-M-15, SHV-12)	1	64	16	0.12	--
<i>E. coli</i>	ARC3690	(CTX-M-15, SHV-12)	2,5	64	16	0.12	--
<i>E. coli</i>	ARC3690	(CTX-M-15, SHV-12)	5	64	16	0.12	--
<i>E. coli</i>	ARC3690	(CTX-M-15, SHV-12)	10	64	16	0.12	--
<i>E. coli</i>	ARC3666	(CTX-M-15, OXA-1/30, SHV-31, TEM-1)	0	32	8	0.12	--
<i>E. coli</i>	ARC3666	(CTX-M-15, OXA-1/30, SHV-31, TEM-1)	1	32	8	0.12	--
<i>E. coli</i>	ARC3666	(CTX-M-15, OXA-1/30, SHV-31, TEM-1)	2,5	32	8	0.12	--
<i>E. coli</i>	ARC3666	(CTX-M-15, OXA-1/30, SHV-31, TEM-1)	5	32	8	0.12	--
<i>E. coli</i>	ARC3666	(CTX-M-15, OXA-1/30, SHV-31, TEM-1)	10	32	8	0.12	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC561	Cepa CLSI QC, ATCC 700603 (SHV-18, OXA-2, OKP-6)	0	32	>64	0.5	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC561	Cepa CLSI QC, ATCC 700603 (SHV-18, OXA-2, OKP-6)	1	32	>64	0.5	--

Espécies de Gênero	Código da cepa	Descrição (teor de $\beta$ -lactamase)	Concentração de Tensoativo (%)	MIC $\mu\text{g/mL}$			
				ceftazidima	avibactam	CAZ-AVla	daptomicina
<i>K. pneumoniae</i>	ARC561	Cepa CLSI QC, ATCC 700603 (SHV-18, OXA-2, OKP-6)	2,5	32	>64	0.5	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC561	Cepa CLSI QC, ATCC 700603 (SHV-18, OXA-2, OKP-6)	5	32	64	0.5	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC561	Cepa CLSI QC, ATCC 700603 (SHV-18, OXA-2, OKP-6)	10	32	64	0.5	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC1865	Painel de Varredura Primária (Não Sequenciada)		0,5	>64	0.25	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC1865	Painel de Varredura Primária (Não Sequenciada)	1	0,25	>64	0.25	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC1865	Painel de Varredura Primária (Não Sequenciada)	2,5	0,5	64	0.25	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC1865	Painel de Varredura Primária (Não Sequenciada)	5	0,5	>64	0.25	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC1865	Painel de Varredura Primária (Não Sequenciada)	10	0,5	>64	0.25	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC2528	Isolado Clínico (Não Sequenciada)	0	1	64	1	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC2528	Isolado Clínico (Não Sequenciada)	1	2	64	1	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC2528	Isolado Clínico (Não Sequenciada)	2,5	1	64	1	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC2528	Isolado Clínico (Não Sequenciada)	5	1	64	1	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC2528	Isolado Clínico (Não Sequenciada)	10	1	32	1	--

Espécies de Gênero	Código da cepa	Descrição (teor de $\beta$ -lactamase)	Concentração de Tensoativo (%)	MIC $\mu\text{g/mL}$			
				ceftazidima	avibactam	CAZ-AVla	daptomicina
<i>K. pneumoniae</i>	ARC2929	(KPC-3)	0	>64	8	0.5	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC2929	(KPC-3)	1	>64	8	0.5	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC2929	(KPC-3)	2,5	>64	8	0.5	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC2929	(KPC-3)	5	>64	8	0.5	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC2929	(KPC-3)	10	>64	8	0.5	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC2945	(KPC-2, SHV-11, TEM-1, OXA-9)	0	64	8	0.12	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC2945	(KPC-2, SHV-11, TEM-1, OXA-9)	1	64	8	0.12	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC2945	(KPC-2, SHV-11, TEM-1, OXA-9)	2,5	64	8	0.12	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC2945	(KPC-2, SHV-11, TEM-1, OXA-9)	5	64	8	0.12	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC2945	(KPC-2, SHV-11, TEM-1, OXA-9)	10	64	8	0.12	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC3713	(CTX-M-15, OXA-1/30, SHV-5, TEM-1)	0	>64	16	0.25	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC3713	(CTX-M-15, OXA-1/30, SHV-5, TEM-1)	1	>64	16	0.25	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC3713	(CTX-M-15, OXA-1/30, SHV-5, TEM-1)	2,5	>64	16	0.25	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC3713	(CTX-M-15, OXA-1/30, SHV-5, TEM-1)	5	>64	16	0.25	--
<i>K. pneumoniae</i>	ARC3713	(CTX-M-15, OXA-1/30, SHV-5, TEM-1)	10	>64	16	0.25	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC3	Cepa CLSI QC, ATCC 27853	0	1	>64	1	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC3	Cepa CLSI QC, ATCC 27853	1	1	>64	1	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC3	Cepa CLSI QC, ATCC 27853	2,5	2	>64	1	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC3	Cepa CLSI QC, ATCC 27853	5	1	>64	1	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC3	Cepa CLSI QC, ATCC 27853	10	2	>64	1	--



Espécies de Gênero	Código da cepa	Descrição (teor de $\beta$ -lactamase)	Concentração de Tensoativo (%)	MIC $\mu\text{g/mL}$			
				ceftazidima	avibactam	CAZ-AVla	daptomicina
<i>P. aeruginosa</i>	ARC545	PAO1	0	1	>64	1	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC545	PAO1	1	1	>64	1	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC545	PAO1	2,5	1	>64	1	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC545	PAO1	5	1	>64	1	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC545	PAO1	10	1	>64	1	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC2761	Isolado Clínico	0	2	>64	1	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC2761	Isolado Clínico	1	2	>64	1	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC2761	Isolado Clínico	2,5	1	>64	1	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC2761	Isolado Clínico	5	2	>64	1	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC2761	Isolado Clínico	10	2	>64	1	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC2532	Isolado Clínico	0	2	>64	2	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC2532	Isolado Clínico	1	2	>64	1	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC2532	Isolado Clínico	2,5	2	>64	1	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC2532	Isolado Clínico	5	2	>64	1	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC2532	Isolado Clínico	10	2	>64	1	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC3508	(AmpC deprimido)	0	32	>64	2	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC3508	(AmpC deprimido)	1	32	>64	2	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC3508	(AmpC deprimido)	2,5	32	>64	2	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC3508	(AmpC deprimido)	5	32	>64	2	--
<i>P. aeruginosa</i>	ARC3508	(AmpC deprimido)	10	32	>64	2	--

EXEMPLO 2 – Interação de fármaco potencial com outros agentes comumente coadministrados

[0053] Um ensaio de tabuleiro quadriculado "*checkerboard*" foi usado para determinar qual, se houve alguma, interação entre ceftazidima e a combinação ceftazidima-avibactam tinha com seis agentes antibacterianos estabelecidos: tobramicina, levofloxacina, vancomicina, linezolida, tigeciclina e colistina. O MIC de ceftazidima e ceftazidima-avibactam, com e sem a presença desses agentes antibacterianos, em várias concentrações, foi comparado para dar uma série de valores de índice de concentração inibidora fracional (FICI). Uma media de FICI foi tirada de cada combinação tabuleiro quadriculado e interpretada de acordo com critérios aceitos. Quando agentes antibacterianos não tiveram efeito (vancomicina e linezolida em oposição a isolados Gram negativos; colistina em oposição a isolados Gram positivos) o MIC sozinho de ceftazidima e ceftazidima-avibactam foi comparado com o MIC em combinação com os  $C_{max}$  e  $0,5 \times C_{max}$  desses agentes antibacterianos. Quatro AmpC altamente expressos, oito beta-lactamase (ESBL) prolongados, incluindo dois CTX-M-15 e cinco KPC, produzindo *Enterobacteriaceae* e *P. aeruginosa*, foram incluídos como também representantes de cada espécie, com MICs basal. Três *S. aureus* e três *E. faecalis* foram também incluídos. Nenhuma interação, sinérgica ou antagônica, entre ceftazidima ou ceftazidima-avibactam e qualquer outro agente antibacteriano foi observada. A partir deste experimento, foi concluído que ceftazidima e ceftazidima-avibactam não vão interagir adversamente microbiologicamente com qualquer um dos fármacos testados, quando usadas em combinação.

Tabela 2:

Número do Isolado	Organismo	Fenótipo	Número de Referência (se aplicável)
CAZ-AVI-02-075 - 01	<i>E. cloacae</i>	MICS basais	
CAZ-AVI-02-075 - 02	<i>E. cloacae</i>	AmpC desreprimida	
CAZ-AVI-02-075 - 03	<i>E. cloacae</i>	AmpC desreprimida	
CAZ-AVI-02-075 - 04	<i>E. coli</i>	MICS basais	ATCC 25922
CAZ-AVI-02-075 - 05	<i>E. coli</i>	CTX-M-15	
CAZ-AVI-02-075 - 06	<i>E. coli</i>	TEM-4	
CAZ-AVI-02-075 - 07	<i>E. coli</i>	SHV-12	
CAZ-AVI-02-075 - 08	<i>E. coli</i>	SHV-2	
CAZ-AVI-02-075 - 09	<i>K. pneumoniae</i>	MICS basais	
CAZ-AVI-02-075 - 10	<i>K. pneumoniae</i>	TEM-4	
CAZ-AVI-02-075 - 11	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-15	
CAZ-AVI-02-075 - 12	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12	
CAZ-AVI-02-075 - 13	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-3	
CAZ-AVI-02-075 - 14	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-3	
CAZ-AVI-02-075 - 15	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-2	
CAZ-AVI-02-075 - 16	<i>P. aeruginosa</i>	Basal MICs	ATCC 27853
CAZ-AVI-02-075 - 17	<i>P. aeruginosa</i>	AmpC desreprimida	
CAZ-AVI-02-075 - 18	<i>P. aeruginosa</i>	AmpC desreprimida	
CAZ-AVI-02-075 - 19	<i>P. aeruginosa</i>	PER	
CAZ-AVI-02-075 - 20	<i>P. aeruginosa</i>	KPC-2	
CAZ-AVI-02-075 - 21	<i>P. aeruginosa</i>	KPC-2	
CAZ-AVI-02-075 - 22	<i>S. aureus</i>	Basal MICs	ATCC 29213
CAZ-AVI-02-075 - 23	<i>S. aureus</i>	Penicilinase Positiva	
CAZ-AVI-02-075 - 24	<i>S. aureus</i>	Penicilinase Positiva	
CAZ-AVI-02-075 - 25	<i>E. faecalis</i>	MICS basais	
CAZ-AVI-02-075 - 26	<i>E. faecalis</i>	MICS basais	
CAZ-AVI-02-075 - 27	<i>E. faecalis</i>	MICS basais	

Suprimento de produtos de fármaco:

[0054] Tobramicina, Levofloxacina, Vancomicina e Colistina foram supridos por Sigma-Aldrich (Dorset, Reino Unido). Linezolida e Tigeciclina foram supridos por Molekula (Dorset, Reino Unido).

Métodos de teste de susceptibilidade *in vitro*:

[0055] Todas as determinações de MIC, incluindo aquelas realizadas no ensaio de tabuleiro quadriculado feito com caldo de Mueller-

Hinton de cátion ajustado (comprado de Becton Dickinson, Oxford UK).

[0056] Dados de MIC iniciais foram determinados por métodos de diluição de microcaldo, como recomendado por CLSI (2012b). Tabuleiros quadriculados foram feitos de acordo com o método dado por Pillai *et.al.*, (*Combinações Antimicrobianas em Antibióticos*, LABORATÓRIO DE MEDICINA (Lorian Ed., --- Ed. (2003)) p. 365-440 as per testes de diluição de microcaldo padrão, mas com agentes em combinação.

[0057] Soluções de estoque foram feitas e diluídas em série no caldo Mueller-Hinton de cátion ajustado com concentrações em quatro vezes como requerido, exceto ceftazidima-avibactam caracterizado pelo fato de que ambos os agentes foram feitos em oito vezes na concentração requerida, por conta das diluições antibacterianas a serem feitas. Uma concentração final de avibactam de 4 mg/L foi usada por todo o estudo. Agentes antibacterianos foram combinados em placas de microtitulação usando o sistema de manuseio líquido Evolution III.

[0058] No caso de isolados Gram-negativos, em oposição a vancomicina e linezolida, o MIC sozinho de ceftazidima e ceftazidima-avibactam foi comparado com o MIC na presença de  $C_{max}$  e  $0,5 \times C_{max}$  de vancomicina (Baxter Healthcare Corp., 2008) e linezolida (MacGowan, Perfil de Farmacocinéticos e Farmacodinâmicos de Linezolida em Voluntários Saudáveis e Pacientes com Infecções Gram-Positivas, JAC, 51 (Sup S2):iii7-1125 (2003)).

[0059] No caso de isolados Gram-positivos, em oposição a colistina, o MIC sozinho de ceftazidima e ceftazidima-avibactam foi comparado com o MIC na presença de  $C_{max}$  e  $0,5 \times C_{max}$  de colistina, como referido em Couet *et.al*, *Microbiologia Clínica e Infecção, Farmacocinéticos de Colistina: o Nevoeiro está Subindo*, CMI 18:30-39 (2011).

[0060] Placas de tabuleiro quadriculado foram inoculadas e incubadas de acordo com com orientações de CLSI (2012b) a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  no ar ambiente por 16-20 horas. MICs foram registrados no dia seguinte

com a concentração mais baixa ou combinação de concentrações requeridas para inibir todo crescimento visível.

[0061] A partir dos dados de MIC, FICIs foram calculados para cada tabuleiro quadriculado, de acordo com o método de Meletiadis et.al, Definindo Suspensões do Índice de Concentração Inibidora Fracional para Interações de Aditivos Baseadas nas Combinações Aditivas de Auto-Fármaco, Análise de Simulação de Monte Carlo e Dados de Correlação *in vitro* - *in vivo* para Combinações de Fármacos Antifúngicos em oposição a *Aspergillus fumigatus*, AAC 54:602-09 (2010). Cada poço correspondente a um MIC tinha um FICI calculado pela fórmula a seguir:

$$FICI = FIC_A + FIC_B = (C_A/MIC_A) + (C_B/MIC_B)$$

[0062] Quando  $MIC_A$  é o MIC do agente de combinação antimicrobial sozinho, e  $MIC_B$  é o MIC de ceftazidima ou ceftazidima-avibactam só.  $C_A$  é a concentração do fármaco de combinação em combinação, e  $C_B$  é a concentração de ceftazidima ou ceftazidima-avibactam em combinação. Como cada tabuleiro quadriculado dá um número de valores de FICI, uma média aritmética é calculada de todos os valores para dar a média FICI para dois agentes combinados, em oposição a um isolado. As médias de FICIs foram interpretadas pelos critérios a seguir dados por Odds (2003), que são agora os critérios aceitos pela maioria dos diários:

$\leq 0,5$	Sinergia
0,51 - 4	Indiferença
$> 4$	Antagonismo

[0063] A ampla variação de FICI para interpretar interações indiferentes é devida à variabilidade inerente de resultados de MIC em esquemas de diluição em duplicação (Pillai et al. 2005). Meletiadis et al. (2010) sugere que um FICI de mais do que 2 deverá ser interpretado como antagonístico, mas tais interpretações devem ser tratadas com

cuidado devido a essa variabilidade.

### Resultados

[0064] O sumário de dados de MIC é mostrado na Tabela 3. Sumário da média de dados de FICI é mostrado na Tabela 4. Proporções de MIC de ceftazidima/ceftazidima-avibactam sozinhos e em combinação foram cálculos de FICI e não são possíveis, como mostrado na Tabela 5.

### Ceftazidima

[0065] A média de variação de FICI para ceftazidima combinada com um segundo agente, para todos os agentes antibacterianos, em que ele foi calculado, foi 0,64 a 1,99.

[0066] Não houve casos de uma média de FICI de mais do que 2, em todas as combinações com ceftazidima.

[0067] Quando  $C_{\max}$  e  $0,5 \times C_{\max}$  de vancomicina e linezolida foram combinados com ceftazidima, em oposição a isolados Gram-negativos, o MIC de ceftazidima só e em combinação permaneceu dentro de uma diluição dupla em todos os casos. Similarmente, quando  $C_{\max}$  e  $0,5 \times C_{\max}$  de colistina foram combinados com ceftazidima, em oposição aos isolados Gram-positivos, o MIC de ceftazidima, só e em combinação, permaneceu dentro de uma diluição dupla em todos os casos.

### Ceftazidima-avibactam

[0068] A média da faixa de FICI para ceftazidima-avibactam combinados com todos os agentes antibacterianos foi 0,72 a 2,13.

[0069] Ceftazidima-avibactam em combinação com colistina em oposição a *K. pneumoniae* 012, deu um FICI médio de 2,13. Esse foi o único exemplo de uma média de FICI de mais do que 2 para todas as combinações com ceftazidima-avibactam.

[0070] Quando os  $C_{\max}$  e  $0,5 \times C_{\max}$  de vancomicina e linezolida foram combinados com ceftazidima-avibactam, em oposição a isolados Gram-negativos, o MIC de ceftazidima-avibactam só e em combi-

nação permaneceu dentro de uma diluição dupla em todos os casos, exceto um. Neste caso (E. coli 08) o MIC de ceftazidima-avibactam reduziu de 0,12mg/L para 0,03mg/L quando em combinação com o  $C_{max}$  de vancomicina. Quando o  $C_{max}$  e  $0,5 \times C_{max}$  de colistina foram combinados com ceftazidima-avibactam, em oposição a isolados Gram-positivos, o MIC de ceftazidima-avibactam só e em combinação permaneceram dentro uma diluição dupla em todos os casos.

Tabela 3: Sumário de dados de MIC para todos os agentes antibacterianos em oposição a todos os isolados.

Combinações de isolados antibacterianos sem atividade não estão incluídos.

Número do Isolado	Espécies	Fenótipo	MIC (mg/L)							
			Ceftazidima	Ceftazidima-avibactam	Tobramicina	Levofloxacina	Vancomicina	Linezolide	Tigeciclina	Colistina
1	<i>E. cloacae</i>	MICs basais	0,12	0.06	0.25	0.03			0.5	0.25
2	<i>E. cloacae</i>	AmpC desreprimida	256	2	0.25	0.5			1	0.25
3	<i>E. cloacae</i>	AmpC desreprimida	128	1	0.25	0.06			0.5	0.25
4	<i>E. coli</i>	MICs basais	0,25	0.12	0.5	0.015			0.12	0.25
5	<i>E. coli</i>	CTX-M-15	64	0.12	64	16			0.25	0.5
6	<i>E. coli</i>	TEM-4	8	0.06	1	0.015			0.5	0.25
7	<i>E. coli</i>	SHV-12	16	0.06	1	0.015			0.5	0.5
8	<i>E. coli</i>	SHV-2	1	0.06	64	16			0.25	0.25
9	<i>K. pneumoniae</i>	MICs basais	0,12	0.12	0.25	0.03			0.25	0.25
10	<i>K. pneumoniae</i>	TEM-4	32	0.25	4	0.03			0.25	0.5
11	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-15	32	0.25	0.25	16			1	0.25
12	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12	64	0.12	0.25	0.03			0.5	0.25
13	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-3	128	1	0.25	0.06			1	0.25
14	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-3	16	0.25	8	16			0.25	0.25
15	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-2	64	2	0.12	0.06			0.5	0.25
16	<i>P. aeruginosa</i>	MICs basais	1	1	0.25	1			16	1



Número do Isolado	Espécies	Fenótipo	MIC (mg/L)							
			Ceftazidima	Ceftazidima-avibactam	Tobramicina	Levofloxacin	Vancomicina	Linezolid	Tigeciclina	Colistina
17	<i>P. aeruginosa</i>	AmpC desreprimida	8	8	0.5	8			32	0.5
18	<i>P. aeruginosa</i>	AmpC desreprimida	64	4	0.5	0.12			32	1
19	<i>P. aeruginosa</i>	PER	128	16	1	16			32	1
20	<i>P. aeruginosa</i>	KPC-2	128	8	256	16			16	1
21	<i>P. aeruginosa</i>	KPC-2	64	2	8	32			2	2
22	<i>S. aureus</i>	MICs basais	8	8	0.25	0.25	1	2	0.12	
23	<i>S. aureus</i>	MICs basais , Penicilinase +	16	16	0.5	0.12	1	2	0.12	
24	<i>S. aureus</i>	MICs basais , Penicilinase +	8	8	0.25	0.12	1	2	0.12	
25	<i>E. faecalis</i>	MICs basais	>512	>512	16	0.5	1	1	0.06	
26	<i>E. faecalis</i>	MICs basais	256	256	16	1	2	2	0.06	
27	<i>E. faecalis</i>	MICs basais	256	256	8	1	2	2	0.06	

Tabela 4: Sumário da média de FICI para todas as combinações (se for o caso)

Valores de FICI não foram calculados para ensaios envolvendo combinações antibacterianas-isolados sem atividade

Número do Isolado	Espécies	Fenótipo	Ceftazidima						Ceftazidima-avibactam					
			Tob	Lev	Van	Lzd	Tig	Col	Tob	Lev	Van	Lzd	Tig	Col
1	<i>E. cloacae</i>	MICs basais	1,28	1,33			1.24	1.25	1.03	1.17			1.24	1.48
2	<i>E. cloacae</i>	AmpC desreprimida	1,17	0,99			0.93	1.54	1.28	1.24			1.67	1.17
3	<i>E. cloacae</i>	AmpC desreprimida	0,73	0,81			1.05	1.12	0.98	1.23			0.99	1.21
4	<i>E. coli</i>	MICs basais	1,17	1,17			1.41	1.35	1.14	1.39			1.25	1.25
5	<i>E. coli</i>	CTX-M-15	1,05	1,05			1.12	1.23	1.14	1.12			1.77	1.58
6	<i>E. coli</i>	TEM-4	0,99	1,05			1.27	1.26	1.34	1.06			1.82	1.45
7	<i>E. coli</i>	SHV-12	1,19	1,18			0.95	1.66	1.74	1.16			1.96	1.24
8	<i>E. coli</i>	SHV-2	0,91	1,11			1.10	1.54	0.76	1.72			1.89	1.78
9	<i>K. pneumoniae</i>	MICs basais	1,55	0,96			1.16	1.25	1.13	1.65			1.12	1.17
10	<i>K. pneumoniae</i>	TEM-4	0,64	1,13			1.32	0.85	1.35	1.26			1.60	1.60
11	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-15	1,05	1,21			0.94	1.54	1.04	1.21			1.60	1.48
12	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12	1,04	1,16			0.97	1.40	1.31	1.66			1.14	2.13
13	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-3	1,12	1,24			1.99	1.26	1.05	1.21			1.79	1.23
14	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-3	0,91	1,26			0.74	1.05	1.23	1.23			1.87	1.42
15	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-2	1,05	1,26			1.23	1.25	1.18	1.14			1.24	1.24
16	<i>P. aeruginosa</i>	MICs basais	1,11	1,19			1.05	1.24	1.23	1.19			1.24	1.24
17	<i>P. aeruginosa</i>	AmpC desreprimida	1,05	1,10			1.23	1.21	0.98	1.12			1.23	1.05
18	<i>P. aeruginosa</i>	AmpC desreprimida	0,89	1,21			1.15	1.23	0.81	1.41			0.96	1.21

Número do Isolado	Espécies	Fenótipo	Ceftazidima						Ceftazidima-avibactam					
			Tob	Lev	Van	Lzd	Tig	Col	Tob	Lev	Van	Lzd	Tig	Col
19	<i>P. aeruginosa</i>	PER	0,70	0,99			1.13	1.43	0.73	0.94			1.10	1.09
20	<i>P. aeruginosa</i>	KPC-2	0,97	1,13			1.40	1.21	0.91	1.13			1.26	1.21
21	<i>P. aeruginosa</i>	KPC-2	0,97	1,12			1.23	1.34	0.72	1.60			1.57	1.82
22	<i>S. aureus</i>	MICs basais	1,60	0,98	1.23	1.43	1.13		1.23	1.21	0.85	1.21	1.12	
23	<i>S. aureus</i>	MICs basais, Penicilinase +	0,86	1,46	0.99	1.10	1.27		0.99	1.32	0.99	1.10	1.48	
24	<i>S. aureus</i>	MICs basais, Penicilinase +	0,84	1,21	1.24	1.32	1.11		1.12	1.21	0.78	1.21	1.35	
25	<i>E. faecalis</i>	MICs basais	0,84	1,15	1.63	1.72	1.19		0.84	0.99	1.52	1.81	1.14	
26	<i>E. faecalis</i>	MICs basais	0,74	1,20	1.18	0.99	0.73		0.80	1.19	0.89	1.24	1.05	
27	<i>E. faecalis</i>	MICs basais	0,99	0,78	1.38	1.64	1.16		0.99	1.11	0.94	0.87	1.08	
		faixa da média de FICI inferior:	0,64	0,78	0.99	0.99	0.73	0.85	0.72	0.94	0.78	0.87	0.96	1.05
		faixa da média de FICI superior:	1,60	1,33	1.63	1.64	1.99	1.66	1.74	1.72	1.52	1.81	1.96	2.13

Tabela 5: Proporção de MIC de ceftazidima/ceftazidima-avibactam com e sem a presença de 0,5 x C<sub>max</sub>max e C<sub>max</sub> de vancomicina e linezolide em oposição a isolados Gram-negativos e colistina em oposição a isolados Gram-positivos

Número de isolado	Espécies	Fenótipo	Ceftazidima						Ceftazidima-avibactam					
			Van		Lzd		Col		Van		Lzd		Col	
			0,5 x Cmax	Cmax	0,5 x Cmax	Cmax	0,5 x Cmax	Cmax	0,5 x Cmax	Cmax	0,5 x Cmax	Cmax	0,5 x Cmax	Cmax
1	<i>E. cloacae</i>	MICs basais	1	1	2	1			1	0.5	1	1		
2	<i>E. cloacae</i>	AmpC desreprimida	2	2	1	1			1	1	1	1		
3	<i>E. cloacae</i>	AmpC desreprimida	1	2	1	1			0.5	0.5	1	1		
4	<i>E. coli</i>	MICs basais	1	1	1	1			1	0.5	1	0.5		
5	<i>E. coli</i>	CTX-M-15	1	1	1	1			1	1	1	1		
6	<i>E. coli</i>	TEM-4	1	1	1	1			1	0.5	2	2		
7	<i>E. coli</i>	SHV-12	1	1	1	0,5			2	1	2	2		
8	<i>E. coli</i>	SHV-2	1	2	1	1			0.5	0.25	2	1		
9	<i>K. pneumoniae</i>	MICs basais	2	1	1	1			1	0.5	1	1		
10	<i>K. pneumoniae</i>	TEM-4	1	2	1	1			1	1	1	1		
11	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-15	2	2	1	0,5			1	1	1	1		
12	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12	1	1	1	1			1	1	1	1		
13	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-3	2	1	2	1			1	1	1	1		
14	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-3	2	1	1	1			2	2	1	2		
15	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-2	2	2	1	1			1	1	1	1		
16	<i>P. aeruginosa</i>	MICs basais	1	0,5	1	1			1	1	1	1		

Número de isolado	Espécies	Fenótipo	Ceftazidima						Ceftazidima-avibactam					
			Van		Lzd		Col		Van		Lzd		Col	
			0,5 x Cmax	Cmax	0,5 x Cmax	Cmax	0,5 x Cmax	Cmax	0,5 x Cmax	Cmax	0,5 x Cmax	Cmax	0,5 x Cmax	Cmax
17	<i>P. aeruginosa</i>	AmpC desreprimida	1	1	1	1			1	1	1	1		
18	<i>P. aeruginosa</i>	AmpC desreprimida	1	1	1	1			1	1	1	1		
19	<i>P. aeruginosa</i>	PER	1	1	1	1			2	1	2	1		
20	<i>P. aeruginosa</i>	KPC-2	1	1	1	1			0.5	1	1	1		
21	<i>P. aeruginosa</i>	KPC-2	2	2	2	2			1	1	1	1		
22	<i>S. aureus</i>	Basal MICs					1	1					1	1
23	<i>S. aureus</i>	MICs basais, Penicilinase +					2	2					1	1
24	<i>S. aureus</i>	MICs basais, Penicilinase +					1	1					1	1
25	<i>E. faecalis</i>	MICs basais					1	1					1	1
26	<i>E. faecalis</i>	MICs basais					2	2					2	2
27	<i>E. faecalis</i>	MICs basais					2	1					2	1

Proporção calculada dividindo MIC de caz/caz-avi em combinação com MIC de caz/caz-avi só

### EXEMPLO 3: Penetração de CAZ-AVI em ELF

[001] Estudos farmacocinéticos foram realizados para descrever a disposição pulmonar de ceftazidima-avibactam, dentro de camundongos infectados e não infectados. Depois, estudos da eficácia de ceftazidima e ceftazidima-avibactam, em oposição a isolados de *Pseudomonas aeruginosa*, foram empreendidos usando o modelo de infecção neutropênica do pulmão. Entre camundongos infectados e não infectados, não houve diferenças farmacocinéticas observadas no soro ou ELF. Usando doses de soro humano simuladas de 2000 mg de ceftazidima e 500 mg de avibactam, como uma infusão de 2 horas, atividade máxima foi observada em oposição a aqueles isolados com MICs de 32 µg/mL, caracterizado pelo fato de que ELF  $fT > MIC > 19\%$  para 95% de intervalo de confiança superior. Em vista do MIC<sub>90</sub> para ceftazidima-avibactam ser 8 µg/mL, existem poucos isolados com MICs mais altos e ainda menos do que são capazes de crescer dentro do modelo de infecção de pulmão de murino. Como tal, estudos de ELF  $fT > MIC$  dirigidos para ceftazidima foram conduzidos e mostraram atividade em oposição a MICs de 32 µg/mL, em que ELF  $fT > MIC$  foi 12%.

### Modelo de Infecção de Pulmão Neutropênica

[002] Camundongos ICR fêmeas sem patógenos, pesando aproximadamente 25 g, foram adquiridos de Harlan Sprague Dawley, Inc. (Indianapolis, IN) e utilizados em todos esses experimentos. Os animais foram mantidos e usados de acordo com as recomendações do Conselho Nacional de Pesquisas, e provido alimento e água ad libitum. Os camundongos foram tornados neutropênicos com 100 e 250 mg/kg de injeções intraperitoneais de ciclofosfamida (Cytosan®; Bristol-Myers Squibb, Princeton, NJ) dadas um e quatro dias antes da inoculação, respectivamente. Três dias antes da inoculação, os camundongos receberam também uma única injeção intraperitoneal de 5 mg/kg de ni-

trato de uranil. Isto produz um grau previsível de comprometimento renal para diminuir a depuração do fármaco. Duas horas antes do início da terapia antimicrobiana, os camundongos foram ligeiramente anestesiados usando isoflurano (2,5% em v/v a 100%) veículo de oxigênio) até a taxa respiratória ter diminuído mediante inspeção visual. A pneumonia foi induzida pela instilação de 0,05 mL de um inoculante 10<sup>7</sup> CFU do isolado de teste suspenso em 3% > murino em salino normal. Enquanto o camundongo é anestesiado, a inoculação é distribuída na cavidade oral dos animais, bloqueando as narinas e mantendo o camundongo em uma posição vertical. A aspiração de bactérias nos pulmões ocorreu quando os animais começaram a respirar espontaneamente. Depois de esperar total recuperação da anestesia em uma câmara enriquecida de oxigênio, os camundongos inoculados foram randomizados em grupos de controle (0 hora e 24 horas) e grupos de tratamento (CAZ e CAZ-AVI).

*Caracterização de Concentrações de Fluido de Revestimento Epitelial (ELF) para Ceftazidima-Avibactam*

[003]       Nesses estudos, nós utilizamos o regime de dosagem anteriormente determinado descrito acima.

[004]       Estudos farmacocinéticos de soro confirmadores foram empreendidos em camundongos infectados. Para esses estudos, camundongos neutropênicos infectados foram dosados com o regime calculado acima, e grupos de seis camundongos foram submetidos à eutanásia em múltiplos pontos de tempo, em todo um período de 24 horas para confirmar exposições alvos. O sangue foi coletado através de pulsão cardíaca e as amostras de sangue foram armazenadas a -80 C° até análise. Os estudos farmacocinéticos foram empreendidos para descrever as concentrações de fluidos do revestimento epitelial nos camundongos infectados. Para esses estudos, camundongos neutropênicos infectados foram dosados com o regime calculado acima, e

grupos de seis camundongos foram submetidos à eutanásia em múltiplos pontos ao longo de todo o terceiro período de dosagem (isto é, 16-24 horas). Uma vez submetidos à eutanásia, soro e amostras de BAL foram coletados como descrito acima. Soro e amostras de BAL foram armazenados a -80 C° até análise. Utilizando o perfil do tempo de concentração de BAL, o ELF  $fT > MIC$  foi calculado incluindo o intervalo de confiança 95% superior.

*Caracterização de Concentrações de Fluido de Revestimento Epitelial (ELF) para Ceftazidima*

[005] Foi utilizado um regime de dosagem anteriormente determinado, em camundongos, que simulou o soro  $fT > MIC$  observado em homem em vista de 2000 mg de ceftazidima cada 8 horas como uma infusão de 2 horas (8). Estudos farmacocinéticos confirmadores foram empreendidos em camundongos infectados e análises farmacodinâmicas e uma avaliação de ELF  $fT > MIC$  foi feita a partir do perfil do tempo de concentração resultante. Para estes estudos, camundongos neutropênicos infectados foram dosados com o regime calculado acima e grupos de seis camundongos foram submetidos à eutanásia em múltiplos pontos de tempo por todo o intervalo de dosagem (isto é, 16-24 horas) para confirmar exposições alvos.

[006] Estudos farmacocinéticos foram empreendidos para descrever as concentrações de fluidos do revestimento epitelial em camundongos infectados. Para esses estudos, camundongos neutropênicos infectados foram dosados com o regime calculado acima e grupos de seis camundongos foram submetidos à eutanásia em múltiplos pontos de tempo, em todo o terceiro período de dosagem (isto é, 16-24 horas). Uma vez submetidos à eutanásia, soro e amostras de BAL foram coletados como descrito acima. Soro e amostras de BAL foram armazenados a -80 C° até análise. Utilizando o perfil de tempo de concentração de BAL, o ELF  $fT > MIC$  foi calculado incluindo o intervalo de



confiança 95% superior.

Determinação de regime de dosagem de ceftazidima para estudos de ELF  $fT > MIC$  dirigidos

[007] Foi observado nos estudos de supervisão que o  $MIC_{90}$  para ceftazidima-avibactam em oposição a *P. aeruginosa* é 8 µg/mL (10-12). Em vista disto, existem poucos isolados com MICs mais altos e o número que cresceria dentro do modelo de infecção de pulmão de murino é ainda menos. A literatura anterior também descobriu alvos de eficácia de  $fT > MIC$  de sangue derivado para ceftazidima-avibactam em oposição a *P. aeruginosa*, bem correlacionados com aqueles obtidos para monoterapia de ceftazidima, como também outras cefalosporinas. Em vista de MICs relativos para ceftazidima estarem prontamente  $>32$  µg/mL, foi planejado usar o regime de ceftazidima humanizada descrito acima para prover ainda percepção da ruptura farmacodinâmica, entre eficácia e crescimento bacteriano. Foi observado durante os experimentos, que o ELF  $fT > MIC$  era significativamente mais do que esperado e produziu ELF  $fT > MIC$ , que não nos permitiu diferenciar um  $fT > MIC$  necessário para eficácia. Como tal, esses estudos foram conduzidos para projetar um regime em camundongos que resultou em ELF  $fT > MIC$  suficientemente baixo de maneira que fomos capazes de observar uma perda de eficiência dentro do modelo de infecção do pulmão. Doses do regime antecipadamente humanizado, descrito acima, foram diminuídas em todo o período de dosagem, e estudos farmacocinéticos adicionais foram realizados. Nesses estudos, os camundongos foram dosados em um regime de ceftazidima durante um período de 24 horas, e a amostragem teve lugar durante o último dos três intervalos (isto é, 16-24 horas). Os camundongos foram submetidos à eutanásia e soro e amostras de BAL foram coletados, como descrito acima, em tempos pré-determinados.

Eficácia in vivo: regime de ceftazidima-avibactam

[008] Para cada um dos 28 isolados de *P. aeruginosa*, grupos de camundongos foram administrados regimes de ceftazidima-avibactam, começando duas horas depois do início da infecção. Todas as doses foram administradas como injeções subcutâneas de 0,2 mL, e consistiram de três intervalos de 8 horas (isto é, 24 horas). Para servir como animais de controle, foram administrados para um grupo adicional de camundongos salina normal no mesmo volume, via, e frequência como o regime de tratamento. Os pulmões de todos os animais foram colhidos 24 horas depois do início da terapia; camundongos que não conseguiram sobreviver por 24 horas, foram coletados na hora da expiração. O procedimento de coleta de todos os camundongos para estudo começou com submissão à eutanásia, por exposição a CO<sub>2</sub> seguida de deslocamento cervical. Depois do sacrifício, os pulmões foram removidos e individualmente homogeneizados em salina normal. Diluições em série do pulmão homogeneizado foram plaqueados em ágar de soja tríptico com 5% de sangue de carneiro para determinação de CFU. Além do que foi mencionado acima, grupos de tratamento e controle, outro grupo de 6 camundongos infectados, não tratados foram colhidos no início da dosagem e servidos como controles de 0 hora. Eficácia, designada como a troca em densidade bacteriana, foi calculada como a troca em CFU bacteriana de log<sub>10</sub> obtida para camundongos tratados depois de 24 horas a partir daquela das densidades de partida observada em animais de controle de 0 hora. O desenvolvimento da resistência foi também testado plaqueando um inoculador direto do homogenato nas placas contendo 32-4 µg/mL de ceftazidima-avibactam.

Eficácia in vivo: regime de ceftazidima

[009] Nove isolados de *P. aeruginosa* foram testados em oposição a esse regime de ceftazidima antes descrito (8). Grupos de camundongos receberam administração do regime de ceftazidima come-

çando duas horas depois do início da infecção. Todas as doses foram administradas como 0,2 mL de injeções subcutâneas e consistiram de três intervalos de dosagem de 8 horas (isto é, 24 horas). Para servir como animais de controle, um grupo adicional de camundongos recebeu a administração de salina normal no mesmo volume, via, e frequência como o regime de tratamento. Colheita e processamento de pulmões de cada animal foram feitos com anteriormente descrito, e a eficácia foi definida como a troca em densidade bacteriana, calculada como a troca em CFU bacteriana  $\log_{10}$  obtida para tratar camundongos depois de 24 horas daquela das densidades de partida observada em animais de controle à 0 hora.

Eficácia in vivo: Estudos de ELF  $fT > MIC$  dirigidos para Ceftazidima

[0010] Para estes estudos, 9 isolados de *P. aeruginosa* foram avaliados, em oposição ao regime de CAZ, em camundongos que renderam ELF  $fT > MIC$  específico. As doses foram iniciadas 2 horas depois da inoculação dos organismos de teste e todas as doses foram administradas como injeções subcutâneas de 0,2mL e consistiram de três intervalos de dosagem de 8 horas (isto é, 24 horas). Para servir como animais de controle, foi administrada para um grupo adicional de camundongos uma salina normal no mesmo volume, via, e frequência como o regime de tratamento. O procedimento de colheita para todos os camundongos do estudo começou coma submissão à eutanásia por exposição a CO<sub>2</sub> seguida pelo deslocamento cervical. Depois dosacrifício, os pulmões foram removidos e individualmente homogeneizados em salina normal. As diluições em série do homogenate do pulmão foram plaqueadas em ágar de soja tríptico com 5% de sangue de carneiro para determinação de CFU. Em adição aos grupos de tratamento e controle mencionados acima, outro grupo de 6 camundongos infectados, não tratados foi colhido no início da dosagem e servido como controles de 0 hora. A eficácia, designada como a mudança na densi-

dade bacteriana, foi calculada como a mudança em CFU bacteriana  $\log_{10}$  obtida para camundongos tratados, depois de 24 horas a partir daquela das densidades de partida observada em animais de controle de 0 hora.

#### Antibacterianos:

[0011] Ceftazidima comercialmente disponível (Fortaz®, Lote: L716, GlaxoSmithKline Research Triangle Park, NC, USA) foi obtida do Departamento de Farmácia do Hospital Hartford e utilizada para todos os estudos *in vivo*, avibactam de grau analítico foi feito por AstraZeneca Pharmaceuticals (Waltham, MA, USA). Frascos clínicos de ceftazidima foram reconstituídos como descrito na informação de prescrição, e diluído como apropriado para realizar as concentrações desejadas; pós de avibactam analítico foram pesados em uma quantidade suficiente para realizar as concentrações requeridas e reconstituídos imediatamente antes de usar.

#### Resultados

##### Isolados bacterianos

[0012] Os MICs de ceftazidima e ceftazidima-avibactam para os 28 isolados incluídos nos estudos de eficácia são mostrados na **Tabela 6**.

Tabela 6: Dados de fenótipos para os 29 isolados Gram-negativos utilizados durante estudos da eficácia *in vivo*.

<i>P. aeruginosa</i> CAIRD #	MIC, µg/mL		Estudo		
	CAZ-AVI	CAZ	CAZ	CAZ fT>MIC	CAZ-AVI
PSA 22	4	64	x		x
PSA 971	4	16			x
PSA 1383	4	64		x	x
PSA 1384	4	64		x	x
PSA 37-8	4	64	x		x
PSA 856	8	8			x
PSA 1382	8	128		x	x
PSA 1386	8	128		x	x
PSA 1387	8	32		x	x
PSA 1388	8	128		x	x

<i>P. aeruginosa</i>	MIC, µg/mL		Estudo		
CAIRD #	CAZ-AVI	CAZ	CAZ	CAZ $fT>MIC$	CAZ-AVI
PSA 1389	8	64		x	x
PSA 4-32	8	32	x		x
PSA 4-39	8	32			x
PSA 2-69	8	64			x
PSA 8-16	8	64	x		X
PSA 24-2	8	32			X
PSA 28-19	8	128	x		X
PSA 968	16	32		x	X
PSA 1391	16	128			X
PSA 1394	16	64		x	X
PSA 4-36	16	64	x		x
PSA 4-84	16	64	x		x
PSA 1-25	16	128	x		x
PSA 1-29	16	32			x
PSA 3-9	16	>128	x		x
PSA 11-54	32	32			x
PSA 7-6	32	128			x
PSA 14-28	64	128			x

CAZ: ceftazidima; CAZ-AVI: ceftazidima-avibactam;  $fT>MIC$ : estudos de ELF  $fT>MIC$  dirigidos

Determinação do Status de Infecção do Hospedeiro em Perfis Farmacocinéticos

[0013] Os perfis de soro de fármaco livre e tempo de concentração de ELF, determinados in vivo para ceftazidima-avibactam em camundongos infectados e não infectados, são mostrados na Figura 1 e Figura 2. As proporções de penetração para camundongos infectados e não infectados foram similares uma a outra, como descrito na Tabela 7. Ainda, o princípio farmacodinâmico calculado,  $fT>MIC$  foi comparável entre camundongos infectados e não infectados (Tabela 8).

Tabela 7. Proporções de penetração do ponto de fluido de revestimento epitelial (ELF) para ceftazidima e avibactam sobre o terceiro intervalo de dosagem (isto é, 16-24 horas) comparado com concentrações de soro em camundongos infectados e não infectados.

Proporções de Penetração do Ponto de ELF para Ceftazidima e Avibactam

<b>Tempo (h)</b>	Proporção de Penetração infectada com ceftazidima	Proporção de Penetração infectada com avibactam
16	2,13	1,02
18,5	0,8	0,8
22	0,3	0,51
24	0,95	0,64
<b>Tempo (h)</b>	Proporção de Penetração desinfectado com avibactam	Proporção de Penetração desinfectado com avibactam
16	0,59	0,86
18,5	0,66	0,74
22	0,69	0,93
24	0,8	0,95

Tabela 8: Estimativa de farmacodinâmica de soro e fluido de revestimento epitelial (ELF) para ceftazidima e avibactam, depois de doses de soro simuladas por ser humano de 2000-500 mg de ceftazidima-avibactam cada 8 horas como uma infusão de 2 horas em homem, quando comparado com aquela observada em camundongos infectados e não infectados.

Estimativas Farmacodinâmicas para Ceftazidima e Avibactam				
<i>fT</i> > MIC	Infectado com ceftazidima		desinfectado com ceftazidima	
	ELF	Serum	ELF	Soro
4	100%	100%	100%	100%
8	88%	88%	97%	100%
16	63%	75%	63%	78%
32	0%	50%	34%	62%
64	0%	0%	0%	0%

<i>fT</i> > MIC	Infectada com avibactam		desinfectado com avibactam	
	ELF	Serum	ELF	Soro
1	84%	88%	88%	88%
2	50%	56%	75%	75%
4	3%	34%	19%	19%
8	0%	0%	0%	0%

Caracterização de Concentrações de Fluido de Revestimento Epitelial (ELF) para Ceftazidima-Avibactam

[0014] Os perfis farmacocinéticos de soro de fármaco livre determinados *in vivo* para ceftazidima-avibactam são mostrados na **Figura 3**. Está claro a partir destas figuras que os perfis de exposição ao soro de murino são similares àqueles observados em seres humanos, de modo importante, todo o *fT*>MIC no soro alcançado por esses regimes testados ao longo da faixa de MICs foram comparáveis. As concentrações de ELF, durante o terceiro intervalo de dosagem são mostrados na Figura 4. A partir desses dados, os valores de *fT*>MIC foram determinados em oposição a uma faixa de MICs. O intervalo de confiança 95% médio e superior são descritos na Figura 5.

Caracterização de Concentrações de Fluido de Revestimento Epitelial (ELF) para Ceftazidima

[0015] Os perfis farmacocinéticos ELF e soro de fármaco livre determinados *in vivo* para ceftazidima são mostrados na Figura 6. Durante a condução dos estudos, foi determinado que este regime não produziria faixa suficiente de  $fT > MIC$  dentro de ELF para observar a ruptura em eficácia. Como tal, os dados da eficácia descritos e ilustrados na Tabela 9 e Figura 7 não foram usados para quaisquer determinações farmacodinâmicas.

Tabela 9: Resultados dos estudos *in vivo* da eficácia utilizando o regime de ceftazidima no modelo de infecção de pulmão neutropênica.

\*Dados de Controle de 0 hora representativos da densidade bacteriana no início da dosagem.

No. de isolado	Grupo	Ponto de tempo (h)	<u>mudança do log CFU*</u>		Nº de Pulmões
			Média	SD	
PSA 22	Controle	0	5,99*	0,11	4
	Controle	24	9,15	0,02	4
	CAZ	24	4,83	0,46	4
PSA 37-8	Controle	0	6,02*	0,28	10
	Controle	24	8,26	0,15	9
	CAZ	24	3,8	0,54	9
PSA 4-32	Controle	0	5,56*	0,16	4
	Controle	24	9,34	0,14	4
	CAZ	24	3,57	0,24	4
PSA 8-16	Controle	0	5,93*	0,15	4
	Controle	24	9,94	0,18	5
	CAZ	24	5,38	0,64	4
PSA 28-19	Controle	0	6,46*	0,2	4
	Controle	24	9,8	0,16	5
	CAZ	24	5,07	0,24	4



No. de iso-lado	Grupo	Ponto de tempo (h)	<u>mudança do log CFU*</u>		Nº de Pulmões
			Média	SD	
PSA 4-36	Controle	0	6,53*	0,2	4
	Controle	24	9,72	0,08	4
	CAZ	24	5,01	0,79	4
PSA 4-84	Controle	0	6,16*	0,21	4
	Controle	24	9,66	0,14	5
	CAZ	24	4,88	0,31	5
PSA 1-25	Controle	0	6,21*	0,42	4
	Controle	24	10,01	0,13	5
	CAZ	24	6,42	0,54	4
PSA 3-9	Controle	0	6,45*	0,09	4
	Controle	24	7,77	0,93	4
	CAZ	24	6,48	0,1	3

Determinação do regime de dosagem por estudos dirigidos de ELF  
fT>MIC para Ceftazidima

[0016] O perfil farmacocinético de fármaco livre determinado *in vivo* para ceftazidima só, é mostrado na Figura 8. Ainda as concentrações de ELF, durante o terceiro intervalo de dosagem para o regime acima, são também mostrados na Figura 8. A partir desses dados, os valores de fT>MIC foram determinados em oposição a uma faixa de MICs. A média e o intervalo de confiança 95% superior são descritos na Figura 9.

Eficácia in vivo: estudos simulados de soro de Ceftazidima-avibactam de ser humano

[0017] Os estudos foram conduzidos em animais neutropênicos. As respectivas densidades bacterianas em camundongos de controle, no início da dosagem foram  $5,98 \pm ,44$  de CFU log<sub>10</sub>, aumentando para  $9,13 \pm 0,80$  de CFU log<sub>10</sub> depois de 24 horas. Resultados dos estudos

neutropênicos são mostrados na Tabela 10 e Figura 5. Em oposição a coleção de *P. aeruginosa*, foi observada a atividade para ceftazidima-avibactam em oposição a isolatos com MICs de 32 µg/mL e menos, com exceção de um isolado de um MIC de 64 µg/mL. A atividade não foi observada em oposição ao isolado só com um an MIC de 64 µg/mL. Depois de plaquear o homogenato direto no fármaco contendo placas, nenhum crescimento foi observado significando nanhum desenvolvimento da presente resistência.

Tabela 10. Resultados dos estudos de eficácia *in vivo* utilizando o regime de ceftazidima-avibactam no modelo de infecção pulmonar neutropênica. \*Dados de controle de 0 h representativos da densidade bacteriana no início da dosagem.

No. de isolado	Grupo	Ponto de tempo (h)	<u>mudança do log CFU*</u>		Nº de Pulmões
			Média	SD	
PSA 22	Controle	0	5,99*	0,11	4
	Controle	24	9,15	0,02	4
	CAZ-AVI	24	2,42	0,63	5
PSA 971	Controle	0	6,27*	0,09	4
	Controle	24	9,13	0,31	5
	CAZ-AVI	24	5,12	1,18	4
PSA 1383	Controle	0	6,04*	0,1	4
	Controle	24	8,13	0,08	4
	CAZ-AVI	24	2	0	5
PSA 1384	Controle	0	5,9*	0,11	4
	Controle	24	8,15	0,04	4
	CAZ-AVI	24	3,95	0,61	5
PSA 37-8	Controle	0	6,02*	0,28	10
	Controle	24	8,26	0,15	9
	CAZ-AVI	24	4,38	0,68	9

No. de iso- lado	Grupo	Ponto de tempo (h)	<u>mudança do log CFU*</u>		Nº de Pulmões
			Média	SD	
PSA 856	Controle	0	6,11*	0,44	5
	Controle	24	9,9	0,17	5
	CAZ-AVI	24	4,93	0,45	4
PSA 1382	Controle	0	6,06*	0,22	5
	Controle	24	9,42	0,08	5
	CAZ-AVI	24	4,7	0,71	4
PSA 1386	Controle	0	5,91*	0,18	3
	Controle	24	9,93	0,11	5
	CAZ-AVI	24	3,82	0,51	4
PSA 1387	Controle	0	6,34*	0,32	5
	Controle	24	9,84	0,15	4
	CAZ-AVI	24	3,89	0,39	4
PSA 1388	Controle	0	6,13*	0,14	4
	Controle	24	9,3	0,25	5
	CAZ-AVI	24	3,61	0,56	5
PSA 1389	Controle	0	5,82*	0,2	5
	Controle	24	10,09	0,13	5
	CAZ-AVI	24	3,75	0,27	3
PSA 4-32	Controle	0	5,56*	0,16	4
	Controle	24	9,34	0,14	4
	CAZ-AVI	24	3,31	0,2	5
PSA 4-39	Controle	0	5,82*	0,12	5
	Controle	24	7,96	0,24	4
	CAZ-AVI	24	3,78	0,24	4
PSA 2-69	Controle	0	5,38*	0,23	4
	Controle	24	8,31	0,05	5
	CAZ-AVI	24	3,61	0,35	4

No. de iso- lado	Grupo	Ponto de tempo (h)	<u>mudança do log CFU*</u>		Nº de Pulmões
			Média	SD	
PSA 8-16	Controle	0	5,93*	0,15	4
	Controle	24	9,94	0,18	5
	CAZ-AVI	24	3,8	0,47	3
PSA 24-2	Controle	0	6,13*	0,03	4
	Controle	24	8,34	1,07	5
	CAZ-AVI	24	2,84	0,37	5
PSA 28-19	Controle	0	6,46*	0,2	4
	Controle	24	9,8	0,16	5
	CAZ-AVI	24	4,6	0,35	4
PSA 968	Controle	0	5,73*	1,19	5
	Controle	24	9,79	0,05	3
	CAZ-AVI	24	4,79	0,47	4
PSA 1391	Controle	0	5,86*	0,09	5
	Controle	24	9,28	0,06	3
	CAZ-AVI	24	4,3	1,4	4
PSA 1394	Controle	0	5,49*	0,41	5
	Controle	24	8,57	0,19	3
	CAZ-AVI	24	3,55	0,44	4
PSA 4-36	Controle	0	6,53*	0,2	4
	Controle	24	9,72	0,08	4
	CAZ-AVI	24	3,56	0,86	5
PSA 4-84	Controle	0	6,16*	0,21	4
	Controle	24	9,66	0,14	5
	CAZ-AVI	24	4,72	0,38	5
PSA 1-25	Controle	0	6,21*	0,42	4
	Controle	24	10,01	0,13	5
	CAZ-AVI	24	5,51	0,94	5

No. de iso- lado	Grupo	Ponto de tempo (h)	<u>mudança do log CFU*</u>		Nº de Pulmões
			Média	SD	
PSA 1-29	Controle	0	6,28*	0,52	5
	Controle	24	9,4	0,09	4
	CAZ-AVI	24	4,89	0,85	4
PSA 3-9	Controle	0	6,45*	0,09	4
	Controle	24	7,77	0,93	4
	CAZ-AVI	24	7,26	0,91	4
PSA 11-54	Controle	0	6,02*	0,1	4
	Controle	24	9,88	0,08	5
	CAZ-AVI	24	4,46	0,43	3
PSA 7-6	Controle	0	5,34*	0,65	4
	Controle	24	8,78	0,41	5
	CAZ-AVI	24	3,19	0,26	4
PSA 14-28	Controle	0	5,55*	0,31	5
	Controle	24	7,9	0,01	4
	CAZ-AVI	24	6,52	0,31	5

Eficácia *in vivo*: Estudos de ELF  $fT > MIC$  dirigidos para ceftazidima

[0018] Os resultados dos estudos dirigidos da eficácia de ELF  $fT > MIC$  são mostrados na Tabela 11 e Figura 9. Os estudos foram conduzidos em animais neutropênicos. Respectivas densidades bacterianas nos camundongos de controle, no início da dosagem, foram  $5,89 \pm 0,30$  e CFU  $\log_{10}$ , aumentando para  $8,75 \pm 0,93$  e CFU  $\log_{10}$  depois de 24 horas. Os isolados foram escolhidos com base no MIC de ceftazidima, entre a faixa de 32 e 128  $\mu\text{g/mL}$ . A atividade foi observada em oposição àqueles isolados com MICs de 32  $\mu\text{g/mL}$ . A eficácia foi variável oposição a isolados com MICs de 64  $\mu\text{g/mL}$ ; isolados com MICs de 128  $\mu\text{g/mL}$  viram pouca a nenhuma atividade, usando o regime de monoterapia de ceftazidima.

Tabela 11: Resultados dos estudos da eficácia *in vivo* utilizando o re-

gime direto de ceftazidima de  $ELF\ fT > MIC$  no modelo de infecção pulmonar neutropênica. \*Dados de controle de 0 hora representativos da densidade bacteriana no início da dosagem.

No. de iso-lado	Grupo	Ponto de tempo (h)	mudança do log CFU*		Nº de Pulmões
			Média	SD	
PSA 1384	Controle	0	5,86*	0,14	5
	Controle	24	7,61	0,16	4
	CAZ	24	4,4	0,48	4
PSA 1383	Controle	0	5,77*	0,09	4
	Controle	24	7,29	0,48	4
	CAZ	24	3,73	0,42	5
PSA 1386	Controle	0	5,79*	0,4	5
	Controle	24	9,67	0,12	5
	CAZ	24	5,98	0,44	6
PSA 1388	Controle	0	5,86*	0,05	4
	Controle	24	8,39	0,17	5
	CAZ	24	5,54	0,8	3
PSA 968	Controle	0	5,98*	0,29	5
	Controle	24	9,76	0,07	5
	CAZ	24	4,45	0,22	5
PSA 1387	Controle	0	6,39*	0,19	5
	Controle	24	9,45	0,3	5
	CAZ	24	4,23	0,17	3
PSA 1389	Controle	0	5,68*	0,21	4
	Controle	24	9,67	0,06	5
	CAZ	24	6,3	0,34	4
PSA 1382	Controle	0	5,91*	0,23	4
	Controle	24	8,64	0,31	5
	CAZ	24	6,42	1,37	5
PSA 1394	Controle	0	5,58*	0,09	3
	Controle	24	7,73	0,28	5
	CAZ	24	5,96	1,4	5

### Conclusão

[0019] Dentro do modelo de infecção pulmonar de murino, a combinação de ceftazidima-avibactam produz concentrações consideráveis, dentro do pulmão irrespectivo do estado imune do hospedeiro. Utilizando um regime de ceftazidima-avibactam anteriormente determinado, foi observada a eficácia em oposição àqueles isolados com  $< 32 \mu\text{g/mL}$  de MICs, caracterizado pelo fato de que  $\text{ELF } fT > \text{MIC} > 19\%$ . Em vista dessas observações, a necessidade de  $fT > \text{MIC}$  dentro do pulmão, pode ser menos do que anteriormente pensado para cefalosporinas, aproximadamente 60%. Certamente onde não há  $\text{ELF } fT > \text{MIC}$  notados, em MICs de  $64 \mu\text{g/mL}$  para a combinação, ceftazidima-avibactam não produz eficácia. Os resultados de  $\text{ELF } fT > \text{MIC}$  direto de ceftazidima, também demonstraram que isto pode ser verdade com a atividade observada em oposição a MICs de  $32 \mu\text{g/mL}$ , caracterizado pelo fato de que  $\text{ELF } fT > \text{MIC}$  é 12% e variável para nenhuma atividade em MICs de 64 e  $128 \mu\text{g/mL}$ .

### EXEMPLO 4: Modelo restrito neutropênico

[0020] Camundongos neutropênicos de CD-1 foram infectados com aproximadamente  $10^6$  cfu  $\beta$ -lactamase produzindo cepas de *P. aeruginosa* no fêmur. O tratamento foi iniciado 2 horas depois com ceftazidima só (q2 horas com várias doses) por 24 horas e cfu determinado no fêmur para estabelecer sua relação de reação à exposição. Estudos de fracionamento de dose completa de avibactam foram realizados por 2 cepas (MICS de ceftazidima e  $64 \text{ mg/L}$ ). A reação à exposição de avibactam q2 horas foi determinada por outras 6 cepas de *P. aeruginosa* ( $64\text{-}128 \text{ mg/mL}$  de MICs de ceftazidima). O modelo de  $E_{\text{max}}$  foi ajustado para as respostas à dose e ao índice de PK/PD (PDI) para determinar os valores de PDI de ceftazidima só ou em combinação com avibactam resultando em um efeito estático, matar 1- e  $2\text{-log}_{10}$ . Para avibactam o % de tempo do intervalo de dosagem acima de um

MIC virtual *in vivo* (concentrações de limiar,  $C_T$ ) % de  $fT > CT$  foram calculadas ( $CT$  de 0,25, 1 e 4 mg/L).

[0021] O % estático de  $fT > MIC$  de ceftazidima para monoterapia foi entre 0 e 38%, com algumas cepas requerendo o mais baixo % de  $fT > MIC$ s. Avibactam reduziu o % de  $fT > MIC$  da estática de ceftazidima para todas as cepas. Nos estudos de fracionamento da dose, a melhor correlação de PDI para avibactam foi observada para %  $fT > C_T$  de 1mg/L. Em um  $C_T$  de 1 mg/L, um % de  $fT > CT$  de 30.2-74.1 foi requerido. Para outras 6 cepas a média do %  $fT > CT$  1 mg/L foi 36,3% (14,1-62,5). As estimativas requeridas para um efeito estático foram parcialmente dependentes da dose de ceftazidima (um valor mais baixo requerido, se a dose de ceftazidima foi mais alta). O efeito de avibactam foi principalmente dependente do % de  $fT > CT$  1 mg/L do limiar de tempo acima, com um valor médio de 36,3%, quando em vista de concomitantemente com ceftazidima. Exposições relativamente mais altas foram requeridas em doses mais baixas de ceftazidima.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Antibacterianos:

- [0022] Ceftazidima (CAZ)
- [0023] Providos por AstraZeneca (ex GSK)
- [0024] Lote no. : G263770,
- [0025] Data de expedição: 05 de dezembro de 2012
- [0026] Date de Fabricação: 6 de dezembro de 2010
- [0027] CAS no: 78439-06-2
- [0028] Potência: 77,2%
- [0029] Avibactam
- [0030] AstraZeneca (ex Dr Reddy)
- [0031] Lote no.: AFCH005151 (07113P028), Número analítico: A1002CQ055
- [0032] Data de expedição: março de 2013



[0033] Potência: 91,7%

Cepas bacterianas e teste de susceptibilidade:

[0034] Sete cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a cef-tazidima bem caracterizadas, obtidas de uma variedade de fontes clinicamente relevantes, foram usadas nos experimentos como mostrado na Tabela 1. MICs foram tirados de um estudo adiantado de tabuleiro quadriculado *in vitro* (Berkhout & Mouton 2013 CAZ-AVI-M 1-061) e foram determinados por microdiluição, de acordo com as orientações de ISO- (ISO 2006). Este método é compatível com o CLSI.

Animais:

[0035] Camundongos CD-1 fêmeas desenvolvidas (*outbred*) (Charles River, Netherlands), 4 a 5 semanas de idade, pesando 20 a 25 g, foram usadas nos experimentos. Granulocitopenia foi induzida por duas doses de ciclofosfamida s.c : uma em quatro dias (150 mg/kg) e a outra em um dia (100 mg/kg) antes do experimento de infecção.

[0036] Os animais foram abrigados sob condições padrão com suprimento de bebida e alimentação ad libitum, e foram examinados uma vez por dia e, depois da imunossupressão, 2-3 vezes por dia. Os estudos dos animais foram conduzidos de acordo com as recomendações da European Community (Comunidade Européia) (Diretriz 86/609/EEC, 24 de novembro de 1986), e todos os procedimentos nos animais foram aprovados pelo Comitê de Bem-estar dos Animais da Universidade de Radboud (RU-DEC 2012-003).

Infecção:

[0037] Os camundongos neutropênicos foram infectados com duas cepas de *P. aeruginosa* por animal, uma na coxa esquerda e outra na direita. 0,05 mL de suspensão bacteriana, consistindo em aproximadamente  $10^5$  -  $10^6$  de bactérias, foi inoculada intramuscularmente. O tratamento com doses aumentadas de ceftazidima ou salina (controle), cada dose sendo 0,1 mL administrada subcutaneamente, foi iniciado a

t=0 hora, 2 horas depois do início da infecção, com um regime de dosagem de q2 horas, que continuou por um período de 24 horas. Todos os regimes de dosagem foram realizados em, pelo menos, dois animais. A t=0 hora, 2 camundongos foram humanamente sacrificados para determinar o início da inoculação logo antes do tratamento. Todos os outros animais foram sacrificados a t=24 horas, a menos que o bem-estar dos animais tenha indicado que a terminação mais cedo era necessária, segundo os regulamentos de bem estar do animal. As coxas foram tiradas e movidas para um tubo de plástico de 10-mL pré-refrigerado (Tubo de transporte, Omnilabo, NL) contendo 2 mL (?) de fosfato salino tamponado (PBS; NaCl 8,00 g/L,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  2 ---- 1,44 g/L,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,26 g/L 7,2 – 7,4). Subsequentemente as coxas foram trituradas usando um Ultra-Turrax (IKA Labortechnik, Alemanha). Uma série de diluições de dez vezes foi preparada e 3x10 µL plaqueadas (Chromagar, Biomerieux, NL) por diluição. No dia seguinte, as colônias foram contadas e o número de cfu por coxa foi calculado. O efeito do fármaco foi depois determinado como a diferença entre os valores de  $\log_{10}[\text{cfu/coxa}]$  em t=24 horas e t=0 hora (valor médio de 2 camundongos) expressos como "dcfu".

#### Medições de concentrações de antibióticos

[0038] Sangue foi separado do plasma usando uma centrifuga refrigerada. Amostras foram divididas e armazenadas a -80°C. Concentrações de ceftazidima e avibactam foram determinadas pelo Metabolismo de Fármaco e grupo de Farmacocinéticos em AstraZeneca (Waltham, MA) com um limite mais baixo de quantificação de 1,5 ng/mL para ceftazidima e 1,8 ng/mL para avibactam. A ligação de proteínas foi 10% para ceftazidima e 8% para avibactam, como determinado na câmara de diálise de equilíbrio e analisada através de LC-MS/MS.

#### Avaliação e validações de esquemas de dosagem combinados

[0039] A relação exposição-resposta de avibactam em camundon-

gos neutropênicos, com infecção experimental da coxa, foi determinada sob tratamento com um regime de dosagem fixa de ceftazidima, resultando em um aumento de cfu de 1 a 2  $\log_{10}$  quando comparado à inoculação inicial inoculum da cepa particular, depois de 24 horas de tratamento com ceftazidima. Este regime foi escolhido por causa da sensibilidade a mudanças em efeitos de avibactam. A quantidade de avibactam administrada variou em frequência e dose. Exposições de ceftazidima e avibactam foram determinadas usando MicLab 2,36 (Medimatics, Maastricht, The Netherlands) usando estimativas de parâmetro farmacocinético obtidos de estudos farmacocinéticos. Nas simulações uma ligação de proteínas foi usada de 10% para ceftazidima e 8% para avibactam. O efeito de fármaco foi determinado como a diferença entre os valores de  $\log_{10}$  [cfu/coxa] em  $t=24$  horas e  $t=0$  hora (valor médio de 2 camundongos) expressos como dcfu. Concentrações de fármacos livres foram usadas em todos os cálculos. O modelo  $E_{\max}$  (ou regressão linear) foi adaptado para as respostas de doses e índice de PK/PD (PDI)<sub>m</sub> para determinar os valores de PDI de ceftazidima só em combinação com avibactam, resultando em um efeito estático, ou particular de log-matar especificado. Para avibactam % de  $fT > CT$ , o % de tempo do intervalo de dosagem acima, limite de concentração de CT, foram calculados para CT de 0,25, 1 e 4 mg/L. Os valores de CT foram escolhidos baseados na atividade de avibactam *in vitro*, 4 mg/L sendo usadas em teste de susceptibilidade, mas concentrações mais baixas também sendo ativas como determinado nos estudos de tabuleiro quadriculado *in vitro*, e em um modelo de fibra oca com Enterobacteriaceae (Nichols W, Levasseur P, Li J, Das S. 2012). Uma concentração de limite de avibactam (AVI) durante a fase de declínio farmacocinético, abaixo da qual a inibição de  $\beta$ -lactamase em Enterobacteriaceae se tornar ineficaz. Apresentação oral na 52ª Conferência de Interciência sobre Agentes e Quimioterapia Antimicro-

biana, São Francisco, CA. Abstrato #A-1760).

Tabela 12: Cepas de *P. aeruginosa* usadas para estudos farmacodinâmicos de ceftazidima e avibactam

Isolado no.	sumário da resistência (se conhecido)	MIC CAZ mg/L	MIC CAZ-AVI* mg/L	% de estática $fT > MIC$ (CAZ)
1	atividade de nitrocefina-se '++'; transcrição de AmpC superexpressa ; genótipo de $\beta$ -lactamase: b/a <sub>AmpC</sub> , bla <sub>PoxB</sub> ; classe A-, classe B-	128	8	sem efeito
3	atividade de baselina; transcrição de AmpC basal; genótipo de $\beta$ -lactamase: b/a <sub>AmpC</sub> , bla <sub>PoxB</sub> , bla <sub>TEM-24</sub> (CAZ-6), classe B-	64	2	0
5	atividade de nitrocefina-se '++++'; transcrição de AmpC superexpressa; genótipo de $\beta$ -lactamase: bla <sub>ampC</sub> , bla <sub>poxB</sub> ; Classe A-, Classe B-	128	8	3
7	atividade de nitrocefina-se '+++'; transcrição de AmpC superexpressa; genótipo de $\beta$ -lactamase: bla <sub>ampC</sub> , bla <sub>poxB</sub> ; Classe A-, Classe B-	64	4	7,2
11	OprD-, AmpCcon, Classe A-, Classe B-	128	16	sem efeito
18	OprD-, Ampcind?, Classe A-, Classe B-	32	2	9
19	OprD-, AmpCcon, Classe A-, Classe B-	64	4	38

As cepas de *Pseudomonas aeruginosa* usadas nos experimentos foram selecionadas com base nos MICs *in vitro*, e os resultados dos tabuleiros quadriculados *in vitro*. CAZ = ceftazidima, CAZ-AVI = combinação de ceftazidima e avibactam, \*MIC CAZ-AVI determinado em avibactam de 4 mg/L.

Tabela 13: Design de experimentos de fracionamento de doses.

[0040] Exemplo de um design de fracionamentos de dose para tratamento de camundongos fêmeas CD-1 neutropênicos, com regimes combinados de ceftazidima e avibactam. Cada grupo consistiu de 2 camundongos e recebeu uma dose fixa de ceftazidima cada 2 horas, com base em um aumento de 2 log<sub>10</sub> comparado à inoculação inicial e avibactam, como exibido no planejamento.

Grupo em tempo real	12uur	14uur	16uur	18uur	20uur	22uur	24uur	2uur	4uur	6uur	8uur	10uur
Gr 1	64	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gr 2	64	0	0	0	0	0	64	0	0	0	0	0
Gr 3	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64
Gr 4	32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gr 5	32	0	0	0	0	0	32	0	0	0	0	0
Gr 6	32	0	0	32	0	0	32	0	0	32	0	0
Gr 7	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gr 8	16	0	0	0	0	0	16	0	0	0	0	0
Gr 9	16	0	0	16	0	0	16	0	0	16	0	0
Gr 10	16	0	16	0	16	0	16	0	16	0	16	0
Gr 11	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gr 12	8	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0
Gr 13	8	0	0	8	0	0	8	0	0	8	0	0
Gr 14	8	8	0	8	8	0	8	8	0	8	8	0
Gr 15	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gr 16	4	0	0	4	0	0	4	0	0	4	0	0
Gr 17	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0
Gr 18	4	4	0	4	4	0	4	4	0	4	4	0
Gr 19	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Gr 20	C2horas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gr 21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gr 22	FZ	FZ	FZ	FZ	FZ	FZ	FZ	FZ	FZ	FZ	FZ	FZ

Gr, Grupo; FZ, solução salina fisiológica; uur, hora; C, controle. Doses em mg/kg

Tabela 14: Exposições de avibactam associadas a uma resposta de 24 horas de estase para 6 cepas de *P. aeruginosa* no tratamento de coxas de camundongos infectadas, quando combinadas com uma dose constante predeterminada de ceftazidima.

Cepa	MIC mg/L	Dose CAZ mg/kg	TDD AVI mg/kg	log TDD AVI	%fT>C <sub>T1</sub>
7	64	64	267,47	2,43	50,4
18	32	64	58,91	1,77	24,2
5	128	64	33,59	1,53	14,1
11	128	64	77,88	1,89	29,1
1	128	32	123,70	2,09	37,2
19	64	32	541,34	2,73	62,5
média					36,3
sd					17,8

C<sub>T1</sub>= concentração limite de 1 mg/L , TDD = dose diária total, CAZ = ceftazidima, AVI = avibactam

Tabela 15: Resultados de regressão não linear (modelo E<sub>max</sub>) do tratamento de camundongos com ceftazidima q2 h e avibactam q2 h

Cepa	1	5	7	11	18	19
Máxima	1,26 (1,44)	≈0,70	1,81 (0,29)	1,40 (0,50)	0,83 (0,36)	2,46 (0,22)
Mínima	≈'-727,5 (≈605114)	-3,25 (0,95)	-2,83 (1,41)	-2,95 (0,41)	-2,36 (0,23)	-1,42 (0,46)
EC50	≈8,14e9	123,00	417,90	113,50	88,34	491,00
Inclinação da proe- minência	≈'-0,35)	-1,185 (0,86)	-1,01 (0,41)	-1,98 (0,86)	-2,60 (1,16)	-5,75 (3,57)

SE entre parênteses

## RESULTADOS

[0041] Como exibido na Tabela 12, o % de fT>MIC estático de ceftazidima durante a monoterapia foi entre 0 e 38%. Para as cepas mais resistentes, nenhum efeito pode ser observado, requerido o % mais baixo de fT>MICs. Isto indica que menos % de fT>MIC é necessário para algumas cepas altamente resistentes. Avibactam reduziu o % es-

tático de  $fT > MIC$  de ceftazidima para todas as cepas.

[0042] O design dos estudos de fracionamento da dose toda é mostrado na Tabela 13. A **Figura 10** mostra os resultados de duas cepas submetidas a um estudo de fracionamento da dose toda de avibactam. Embora cada um dos índices  $C_{max}$ , AUC/MIC e dose mostraram alguma correlação, a inspeção visual das figuras leva à conclusão de que % de  $fT > CT$  é um preditor um tanto melhor, mas parece ser variação significativa. Isto indica que o % de  $fT > CT$  não é o único fator que determina o início desta composição.

[0043] A figura mostra o % de  $fT > CT$  para três concentrações de CT. O % de  $fT > CT$  1 mg/L parece ser um preditor um tanto melhor do que 0,25 mg/L e 4 mg/L. Em uma concentração de 1 mg/L, um % de  $fT > CT$  de 30,2 (7 cepas) ou 74,1 (18 cepas) foi requerida para suportar o efeito bacterioestático.

[0044] As doses requeridas para conseguir o efeito estático, com várias doses de avibactam com um regime de dosagem fixo de ceftazidima, foram determinadas para 6 cepas (Figura 11). A partir desses resultados, % de  $fT > C_T$  1 mg/L foram determinados para cada cepa. A média de % de  $fT > C_T$  foi 36,3% ((14.1-02.3) (Tabela 14). As estimativas requeridas para o efeito estático foram parcialmente dependentes da dose de ceftazidima (um valor mais baixo era requerido, se a dose de ceftazidima fosse relativamente mais alta em relação ao MIC da cepa).

[0045] A Tabela 15 mostra os resultados da análise linear de não-regressão para as cepas de *P. aeruginosa*. As estimativas mostram um erro padrão significativo, em alguns casos.

#### EXEMPLO 5: Farmacodinâmica de Ceftazidima e Avibactam em camundongos CD-1 fêmeas neutropênicas com pneumonia experimental

[0046] Camundongos CD-1 neutropênicos foram infectados com aproximadamente 106 cfu no pulmão, por instilação através das nari-



nas sob anestesia leve. O tratamento foi iniciado depois de 2 horas com ceftazidima só (q2 horas com várias doses) por 24 horas e cfu determinado no pulmão para estabelecer sua relação de resposta de exposição. Avibactam foi dado q2 horas ou q8 horas para duas cepas com MICs para ceftazidima de 32 e 128 mg/L, respectivamente, em doses aumentando duas vezes nas exposições de ceftazidima, que em experimentos de monoterapia de ceftazidima tinham sido as exposições máximas que tinham provido crescimento de 2 log<sub>10</sub>. Estudos de fracionamento da dose toda de avibactam foram realizados para 2 cepas em dois níveis de dose diferentes de ceftazidima; em adição a eficácia de avibactam q2 horas foi determinada por outras 2 cepas. O modelo de E<sub>max</sub> foi ajustado para respostas da dose e índice de PK/PD (PDI), para determinar os valores de PDI de ceftazidima só e em combinação com avibactam resultando em um efeito estático, um 1- e um 2-log letais. Para avibactam o % de tempo do intervalo de dosagem acima de uma virtual concentração de limiar *in vivo*, C<sub>T</sub>, % de fT>CT, foram calculados (CT de 0,25, 1 e 4 mg/L).

[0047] Relações de resposta de exposição para avibactam (R2 0,54-0,86) indicaram que q2 horas foram mais eficazes do que q8 horas, reduzindo a dose diária por fatores de 2,7 e 10,1 para as 2 cepas para obter um efeito estático da combinação. Isto corresponde a uma média de % de fT> CT 1 mg/L de 20,1 (faixa 16,1-23,5). No estudo de fracionamento de dose, a melhor correlação de PDI para avibactam foi observada para % de fT>CT 1 mg/L. A estimativa da exposição de avibactam exigiu para um efeito estático que fosse parcialmente dependente da dose de ceftazidima (um valor mais baixo requerido se da dose de ceftazidima fosse mais alta). Para duas cepas de controle as estimativas do % de fT> C<sub>T</sub> 1 mg/L foram 22,4 e 21,6%.

[0048] Conclusão, o efeito de avibactam foi dependente da frequência da dose; uma diminuição do efeito foi observada com a dimi-

nuição da frequência. O principal índice de PK/PD correlacionado ao efeito foi o tempo acima do CT liminar. Para a maioria das cepas, o % de  $fT > CT$  de 1 mg/L para um efeito estático foi entre 16 e 25%. Para definir o efeito mínimo da concentração de avibactam, um novo índice farmacodinâmico é introduzido baseado em uma concentração do limite de CT. Este parâmetro representa uma concentração limite de avibactam para resultar em significativo efeito *in vivo*. Consequentemente, a exposição de avibactam, que é requerida para efeitos farmacodinâmicos, pode ser expressa usando este parâmetro. Desse modo, a exposição de avibactam é espessa como o índice farmacodinâmico % de  $fT > CT$ , análogo a  $fT > MIC$  de  $\beta$ -lactam, neste estudo de ceftazidima. Similar a ceftazidima, a estimativa do % de  $fT > Cx$  depende do próprio Cx. Mas enquanto que o MIC de  $\beta$ -lactama é normalmente conhecido a partir de dados *in vitro*, o CT não é. Nos experimentos apresentados aqui, os valores de teste de CT foram usados: 0.25, 1 e 4 mg/L, a fim de empiricamente selecionar um valor ideal. Um valor teórico atualmente não é conhecido.

[0049] Neste estudo, o modelo de camundongo neutropênico, com uma infecção no pulmão, foi usado para determinar a relação de exposição-resposta de avibactam com uma frequência de dosagem fixa de ceftazidima cada 2 horas para *P. aeruginosa* bij comparando regimes de dosagem diferentes de avibactam.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Antibacterianos:

- [0050] Ceftazidima (CAZ)
- [0051] Providos por AstraZeneca (ex GSK)
- [0052] Lote no.: G263770,
- [0053] Data da Expiração: 05 de dezembro de 2012
- [0054] Data de fabricação: 6 de dezembro de 2010
- [0055] CAS no: 78439-06-2

- [0056] Potência: 77,2%
- [0057] Avibactam
- [0058] AstraZeneca (ex Dr Reddy)
- [0059] Lote no.: AFCH005151 (07113P028), Número analítico: A1002CQ055
- [0060] Data da expiração: março-2013
- [0061] Potência: 91,7%

Cepas bacterianas e teste de susceptibilidade:

[0062] Sete cepas de *Pseudomonas aeruginosa* bem caracterizadas resistentes à ceftazidima, obtidas de uma variedade de fontes clinicamente relevantes, foram usadas em experimentos como mostrado em **Erro! Fonte de referência não encontrada**. MICs foram determinados em um estudo de tabuleiro quadriculado *in vitro* mais cedo (AstraZeneca estudo reportado # CAZ-AVI-M 1-061) e foram determinados por microdiluição, de acordo com as orientações de ISO (ISO 2006). Este método é CLSI compatível.

Animais:

[0063] Camundongos CD-1 fêmeas desenvolvidos (Charles River, Netherlands), 4 a 5 semanas de idade, pesando 20 a 25 g, foram usados nos experimentos. Granulocitopenia foi induzida por duas doses de ciclofosfamida s.c. quatro dias (150 mg/kg) e um dia (100 mg/kg) antes do experimento de infecção.

[0064] Os animais foram alojados sob condições padrão com bebida e alimentação suprida *ad libitum*, e foram examinados uma vez por dia e, depois de imunossupressão, 2-3 vezes por dia. Os estudos dos animais foram conduzidos de acordo com as recomendações da Comunidade Européia (Instrução 86/609/EEC, 24 de novembro de 1986), e todos os procedimentos de animais foram aprovados pelo Comitê do Bem Estar Animal da Universidade de Radboud (RU-DEC 2012-003).

Infeção:

[0065] Camundongos neutropênicos foram infectados com uma cepa de *P. aeruginosa* por animal. 0,05 mL de suspensão bacteriana, consistindo em aproximadamente  $10^5 - 10^6$  bactérias foram inoculadas intranasalmente com uma seringa sob anestesia leve com isoflurano. Tratamento com doses aumentadas de 0,1 mL de ceftazidima ou salina (controle) administradas subcutaneamente, foi começado 2 horas depois da iniciação da infecção (t=0h) com um regime de dosagem de q2 horas que continuou por um período de 24 horas. Todos os regimes de dosagem foram realizados em, pelo menos, dois animais. Em t=0 hora, 2 camundongos foram humanamente sacrificados para determinar a inoculação inicial logo antes do início do tratamento. Todos os outros animais foram sacrificados a t=24 horas, a menos que o bem estar dos animais tenha indicado que terminação mais cedo era necessária, seguindo os regulamentos de bem estar do animal. Os pulmões foram tirados e movidos para um tubo de plástico de 10-mL pré-refrigerado (Tubo de Transporte, Omnilabo, NL) contendo 2 mL de fosfato tamponado salino (PBS; NaCl 8.00 g/L, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> \* 2 H<sub>2</sub>O 1.44 g/L, KH<sub>2</sub>P04 0.26 g/L, pH 7,2 – 7,4). Subsequentemente os pulmões foram triturados usando uma Ultra-Turrax (IKA Labortechnik, Alemanha). Uma série de diluições de dez vezes foi preparada e  $3 \times 10^6$  µE plaqueada (Chromagar, Biomerieux, NL) por diluição. No dia seguinte, as colônias foram contadas e o número de cfu calculado por pulmão.

Análise de dados:

[0066] A relação exposição-resposta de avibactam em camundongos neutropênicos com pneumonia experimental, foi determinada sob tratamento com um regime de dosagem fixa da dose mais alta de ceftazidima que resultou em um aumento de cfu de 1- a 2-log<sub>10</sub> comparado à inoculação inicial da cepa particular depois de 24 horas de tratamento de ceftazidima. Este regime foi escolhido por causa da sensibili-

dade às mudanças em efeitos de avibactam. A quantidade de avibactam administrada variou em frequência e dose. Exposições de ceftazidima e avibactam foram determinadas usando o software MicLab 2.36 (Medimatics, Maastricht, The Netherlands) usando estimativas de parâmetros farmacocinéticos obtidos de estudos farmacocinéticos (AstraZeneca relatório de estudo # CAZ-AVI-MI-065). Nas simulações uma ligação de proteína foi usada de 10% para ceftazidima e 8% para avibactam. O efeito do fármaco foi determinado como a diferença entre os valores de cfu de  $\log_{10}$  em  $t=24$  e  $t=0$  11 (valor médio de 2 camundongos) expresso como dcfu. Concentrações de fármaco livre foram usadas em todos os cálculos. O modelo  $E_{\max}$  (ou regressão linear) foi ajustado para as respostas de dose e índice PK/PD (PDI) para determinar os valores de PDI de ceftazidima só e, separadamente, de avibactam em combinação com ceftazidima. Para %  $fT > C_T$  de avibactam, o % de tempo do intervalo de dosagem da concentração de limiar  $C_T$  acima foram calculados para  $C_T$  de 0,25, 1 e 4 mg/L. Os valores de  $C_T$  foram escolhidos baseados na atividade de avibactam *in vitro*, 4 mg/L sendo usados no teste de susceptibilidade, mas concentrações mais baixas também sendo ativas como determinado nos estudos de tabuleiro quadriculado *in vitro*.

## RESULTADOS

[0067] Tabela 11 mostra as características das cepas usadas e a eficácia da monoterapia. O % de  $fT > MIC$  de ceftazidima durante a monoterapia foi entre 0 e 38%. Para as cepas mais resistentes, nenhum efeito pode ser observado. Por outro lado, menos de % de  $fT > MIC$  pareceu ser necessário para algumas cepas altamente resistentes. Avibactam reduziu a estática de % de  $fT > MIC$  de ceftazidima para todas as cepas.

[0068] Curvas de respostas à exposição ( $R^2$  0,54-0,86) para avibactam q2 horas ou q8 horas indicaram que o regime de q2 horas foi

mais eficiente do que o regime de q8 horas (Figura 12). A dose diária de avibactam resultante em um efeito estático, quando os camundongos foram expostos à ceftazidima, foi mais baixa para avibactam q2 horas do que q8 horas pelos fatores de 2,7 e 10,1 para cepas 11 e 18, respectivamente. Isto correspondeu a uma média toda de % de  $fT > C_T$  1 mg/L para avibactam de 20,1 % (faixa de 16,1-23,5) (Tabela 16). A Tabela 17 mostra a estimativa do parâmetro dos ajustes do modelo  $E_{max}$ .

[0069] **Figura 13** mostra os resultados de duas cepas submetidas a um estudo de fracionamento de dose inteira de avibactam. Embora cada um dos índices  $C_{max}$ , AUC/MIC e dose mostraram alguma correlação, a inspeção visual das figuras levou à conclusão de que % de  $fT > C_T$  foi um preditor um tanto melhor, mas houve significativa variação. Isto indica que % de  $fT > C_T$  não é o único fato que determina resultado nesta composição. A figura mostra o % de  $fT > C_T$  para três concentrações do  $C_T$ . O % de  $fT > C_T$  1 mg/L pareceu ser um preditor um tanto melhor do que 0,25 mg/L e 4 mg/L. Entretanto, o valor limite exato não pode ser determinado a partir desta figura. As estimativas requeridas para um efeito estático foram parcialmente dependentes da dose de ceftazidima (um valor mais baixo requerido se a dose de ceftazidima foi mais alta).

[0070] **Figura 14** mostra a relação de exposição resposta de avibactam para quatro cepas de *P. aeruginosa* (7, 5, 19 e 1), quando tratadas com várias doses de ceftazidima q2 horas. Duas das quatro cepas de *P. aeruginosa* mostraram mais resposta para avibactam do que esperado, quando observadas a partir de 2 painéis mais baixos. A Tabela 18 provê as estimativas de % de  $fT > C_T$  1 mg/L de avibactam das quatro cepas para a mudança em  $\log_{10}(\text{amostra de cfu/tecido}) = 0$ , ou estase durante 24 horas. Para cepas 1 e 19 que mostraram um efeito melhor do que previsto, esta poderia não ser confiavelmente estimada.

Para as outras duas cepas foi 21,4 e 19,4%.

Tabela 16: 1 mg/L de % de  $fT > C_T$  de avibactam em camundongos tratados com ceftazidima q2 h e avibactam q2 h e q8 h.

Cepa	MIC mg/L	Dose CAZ mg/kg	TDD AVI q2h mg/kg	log TDD AVI q2h mg/kg	TDD AVI q8h mg/kg	log TDD AVI q8h mg/kg	% $fT > C_T$ 1 q2	% $fT > C_T$ 1 q8
18	32	16	56,65	1,75	150,57	2,18	23,5	16,1
11	128	16	45,65	1,66	463,29	2,67	19,7	20,9
média							21,6	18,5
sd							2,7	3,4

[0071]  $C_T$  = concentração limite (concentração inibidora virtual *in vivo*), TDD = dose diária total, CAZ = ceftazidima, AVI = avibactam

Tabela 17: estimativas de parâmetro (SE) de regressão não linear (modelo de  $E_{max}$ ) de efeitos com tratamento com ceftazidima q2 h e avibactam q2 h ou q8 h.

q2h		
Cepa	18	11
máxima	2.56 (0.68)	1.60 (1.15)
mínima	-2.51 (0.53)	-2.57 (1.92)
EC <sub>50</sub>	56.38	69.55
Inclinação da proeminência	-4.62 (4.11)	-1.13 (1.55)
q8h		
Cepa	18	11
máxima	3.45 (0.66)	1.91 (0.73)
mínima	-2.79 (1.11)	-2.93 (23.38)
EC <sub>50</sub>	133.30	505.80
Inclinação da proeminência	-1.77 (0.95)	-4.92 (52.91)

Tabela 18: Exposição-resposta de 4 cepas *P. aeruginosa* para camundongos tratados com ceftazidima q2 h e avibactam.

[0072] Determinação de % de tempo que a concentração de fármaco livre excede 4 mg/L (ceftazidima) e 1 mg/L (avibactam) no ponto

de estase em 24 h: isto é,  $\text{dlog}_{10}\text{cfu (E)} = 0$

Cepa	MIC mg/L	Dose CAZ mg/kg	%fT> 4mg/L CAZ	TDD AVI mg/kg	log TDD AVI	%fT> C <sub>T</sub> 1
7	64	16	34.6	50.12	1.7	21.4
5	128	64	63.5	44.9	1.65	19.4
19	64	32	49.3			-
1	128	32	49.3	2.38	0.38	-
Média			49.1			20.4
Sd			11.8			1.4

C<sub>T</sub> = Concentração limite (concentração inibidora virtual *in vivo*), TDD = dose diária total, CAZ = ceftazidima, AVI = avibactam



## **REIVINDICAÇÕES**

1. Combinação de ceftazidima, ou um sal farmacêuticamente aceitável da mesma, e avibactam, ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo, caracterizada pelo fato de ser para uso como um medicamento para tratamento de uma infecção de pneumonia nosocomial;

em que a quantidade de ceftazidima é 2000 mg e a quantidade de avibactam é 500 mg por dose;

em que a combinação é administrada aproximadamente a cada oito horas;

em que a combinação de ceftazidima e avibactam é administrada simultaneamente; e

em que a combinação é administrada intravenosamente durante o curso de aproximadamente 2 horas.

2. Combinação de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a infecção de pneumonia nosocomial é pneumonia adquirida em hospital (HAP).

3. Combinação de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a infecção de pneumonia nosocomial é pneumonia adquirida por ventilator (VAP).

Fig 1

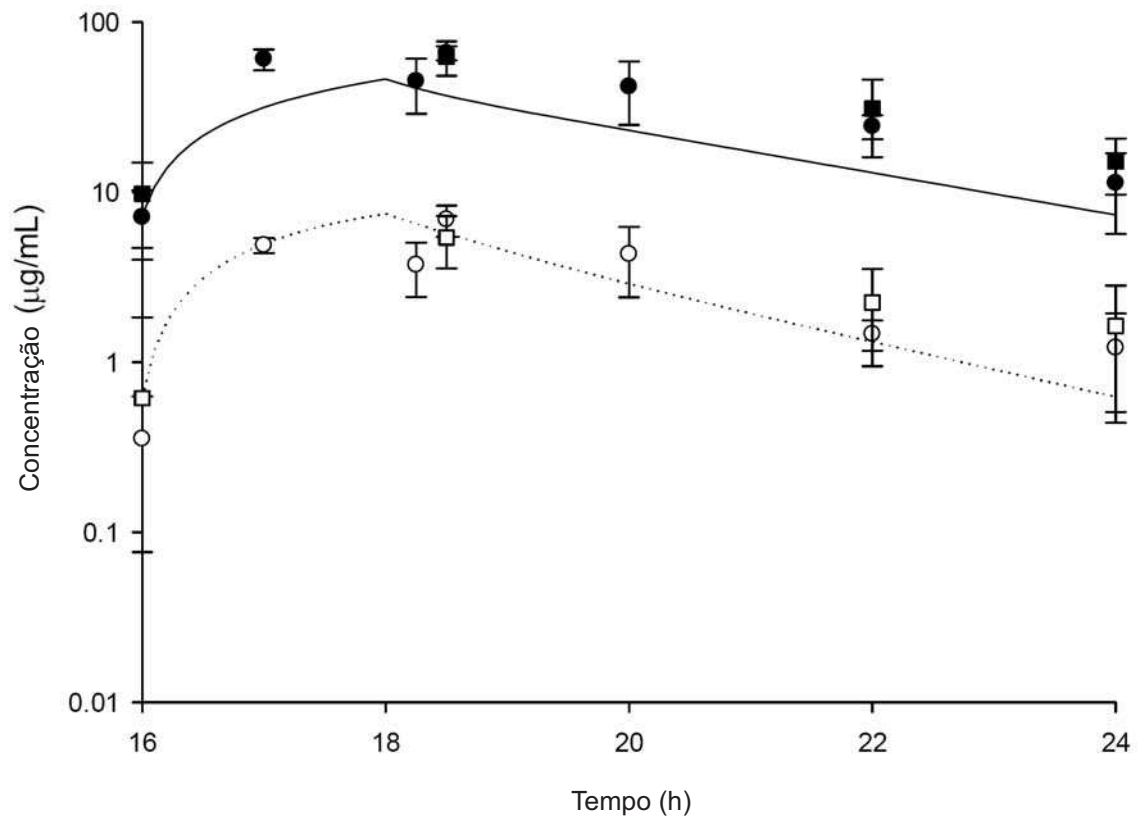


Fig 2A

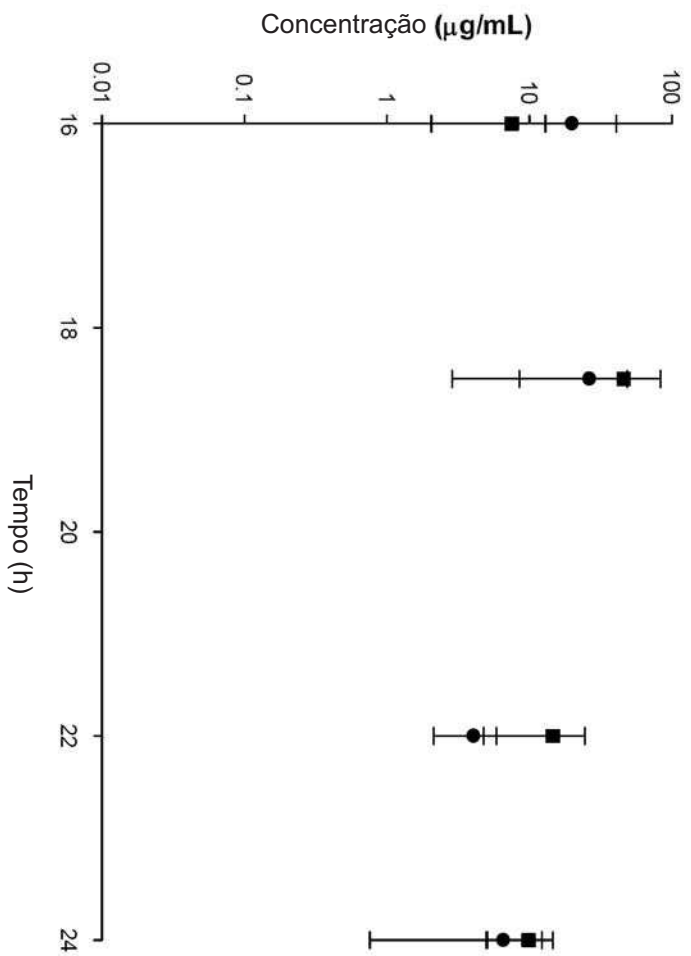
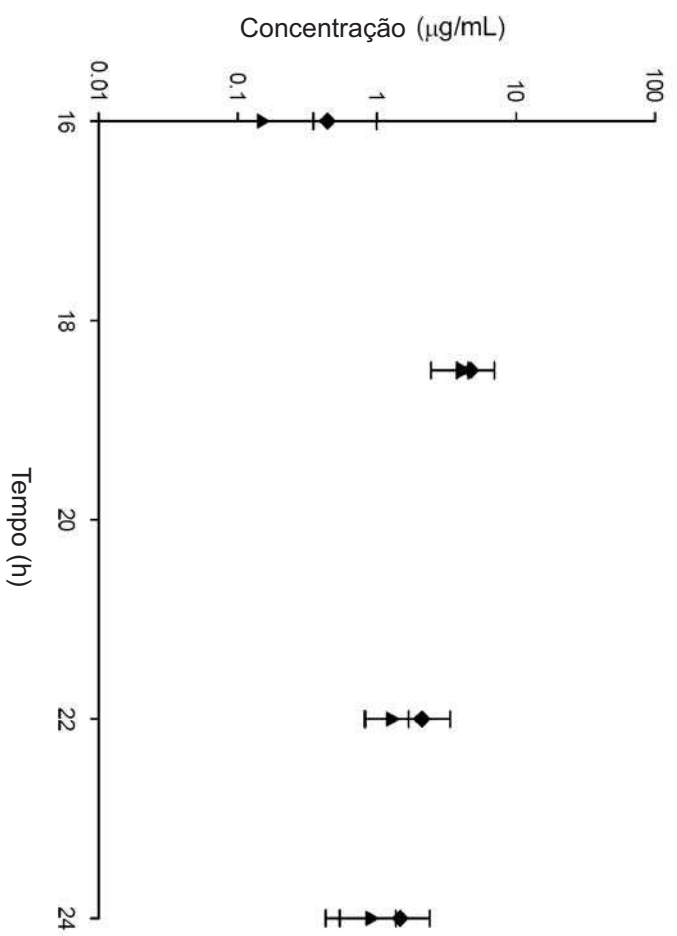


Fig 2 B



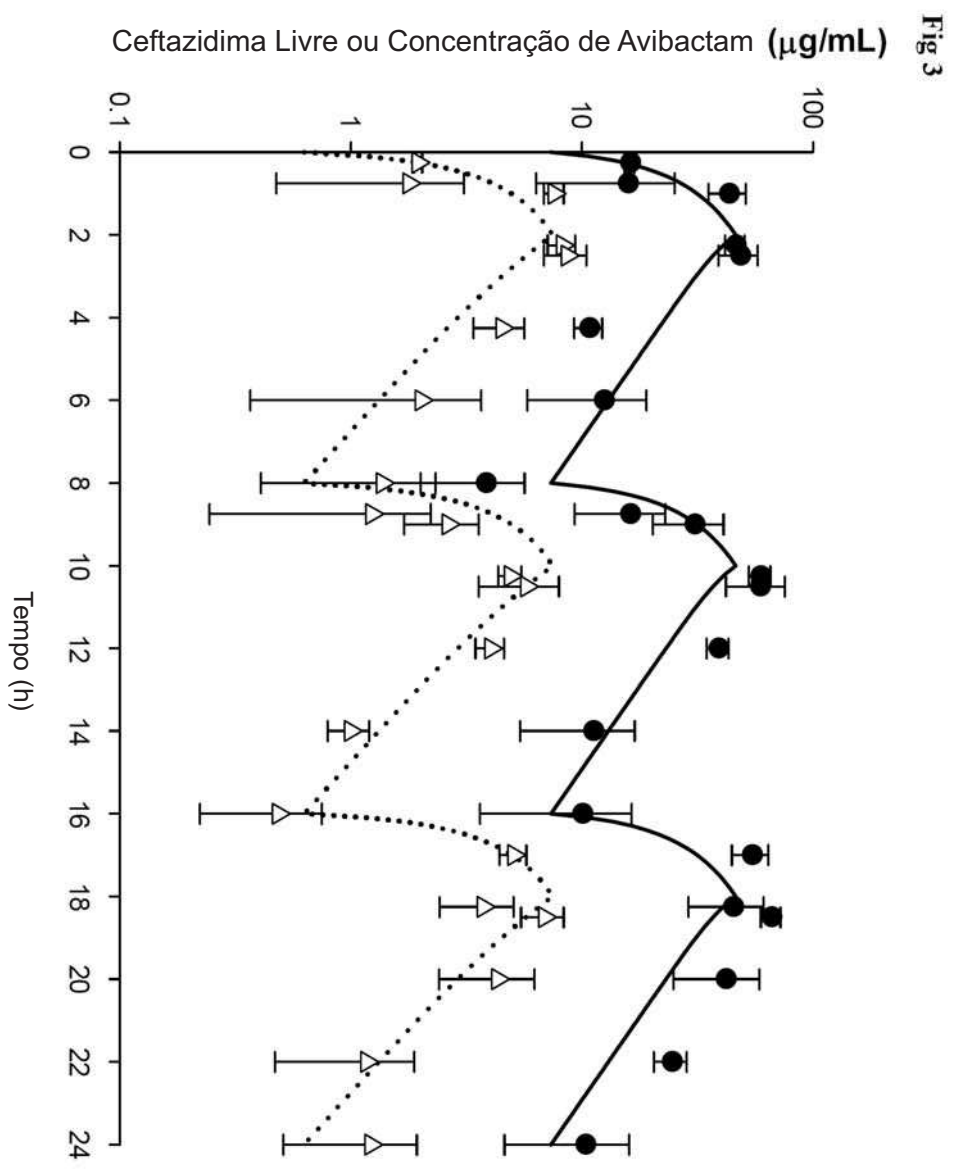


Fig 4

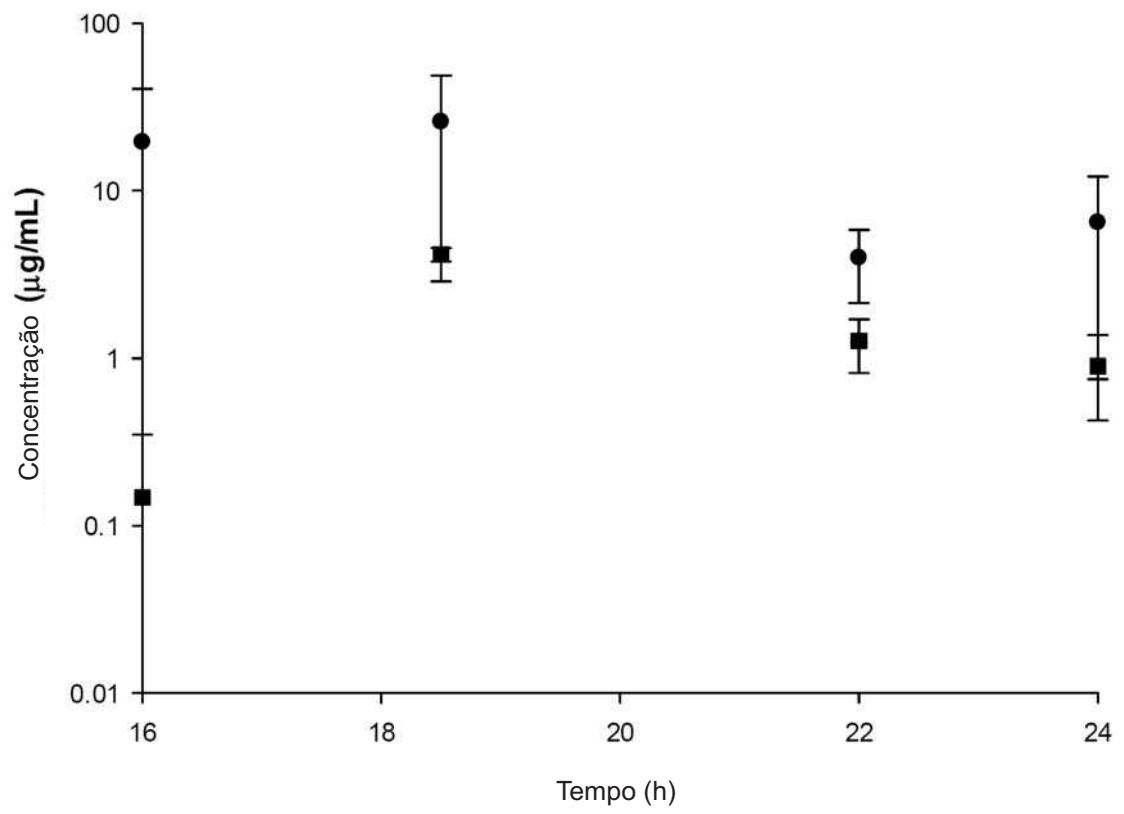


Fig 5

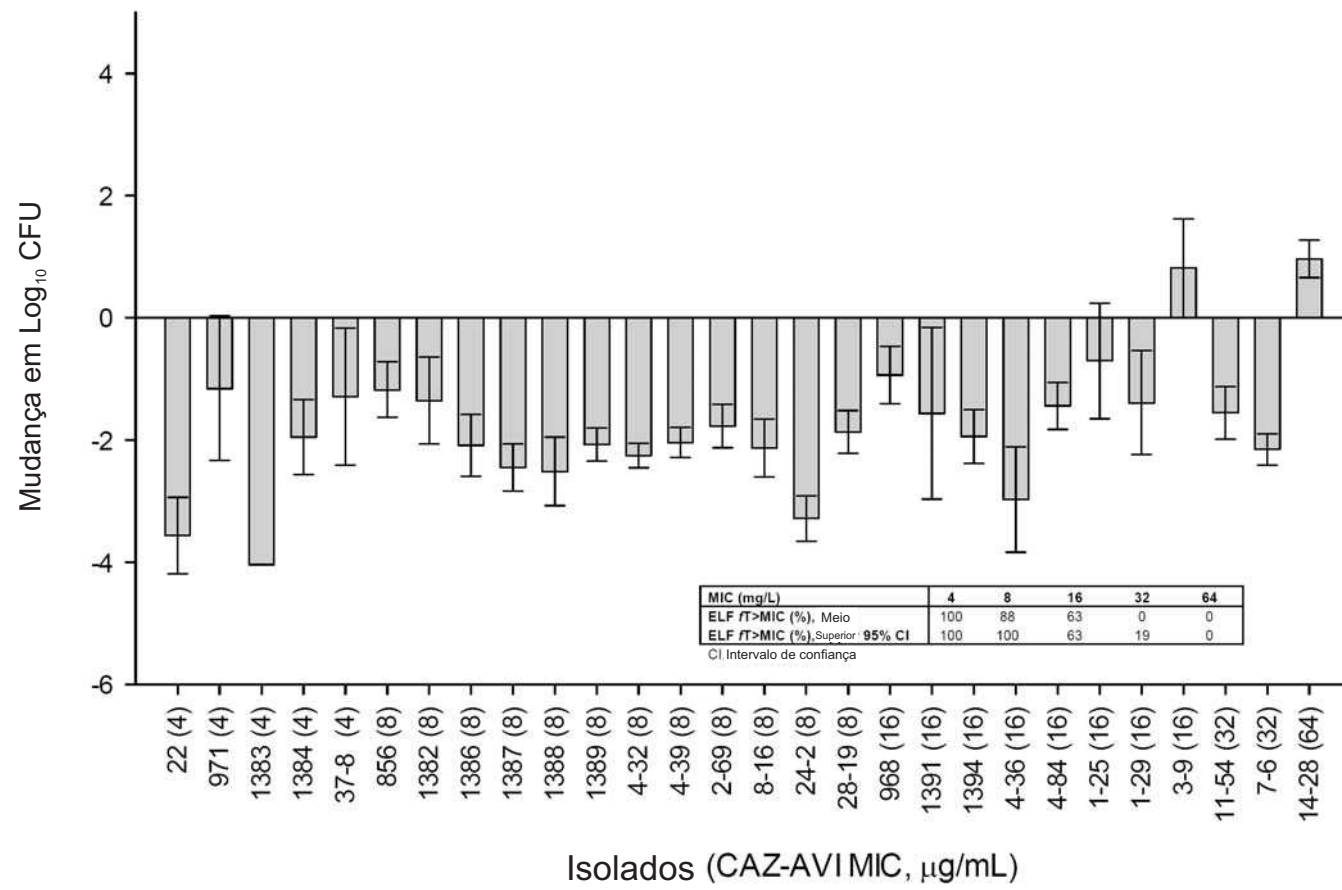


Fig 6

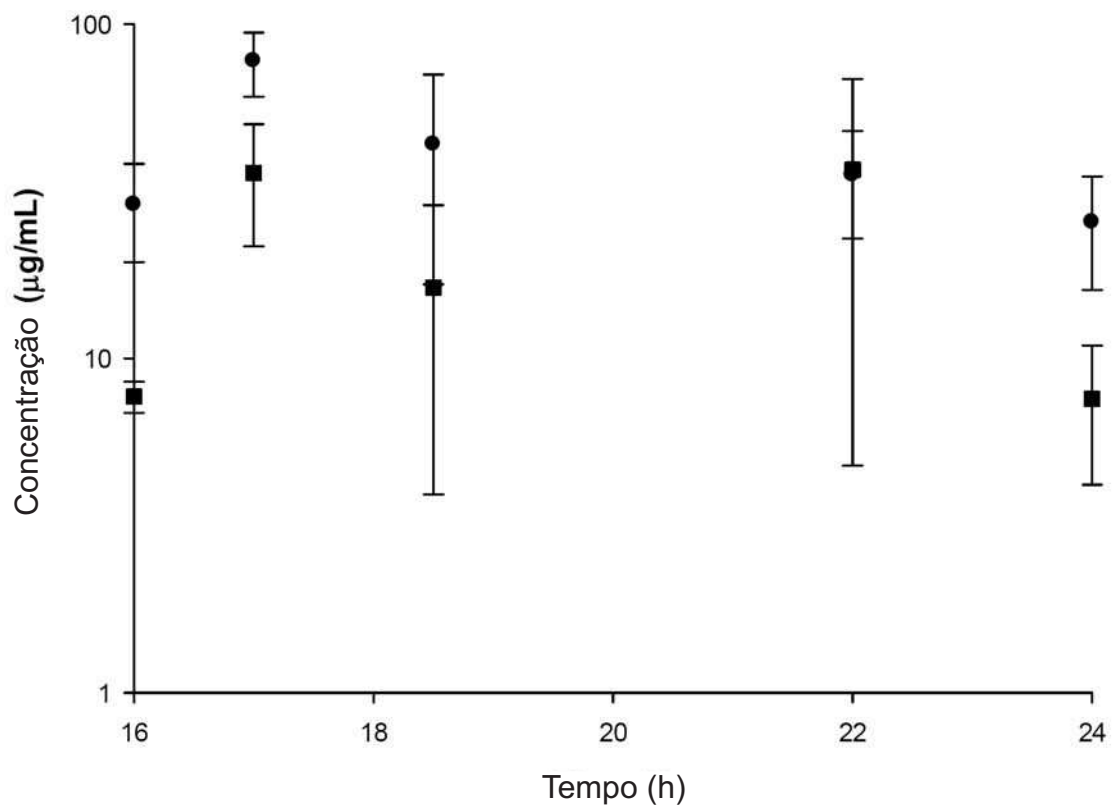


Fig 7

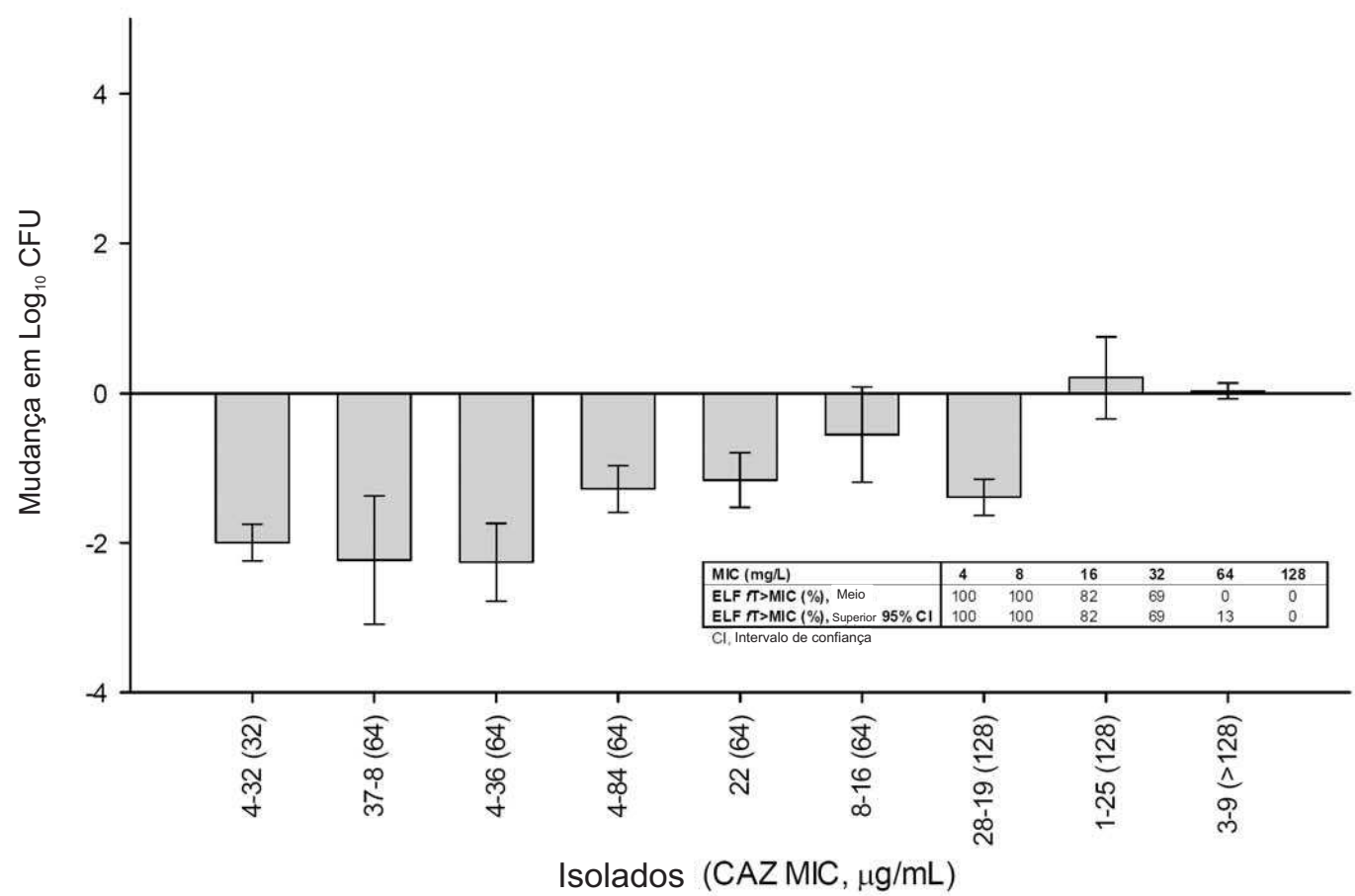




Fig 8.

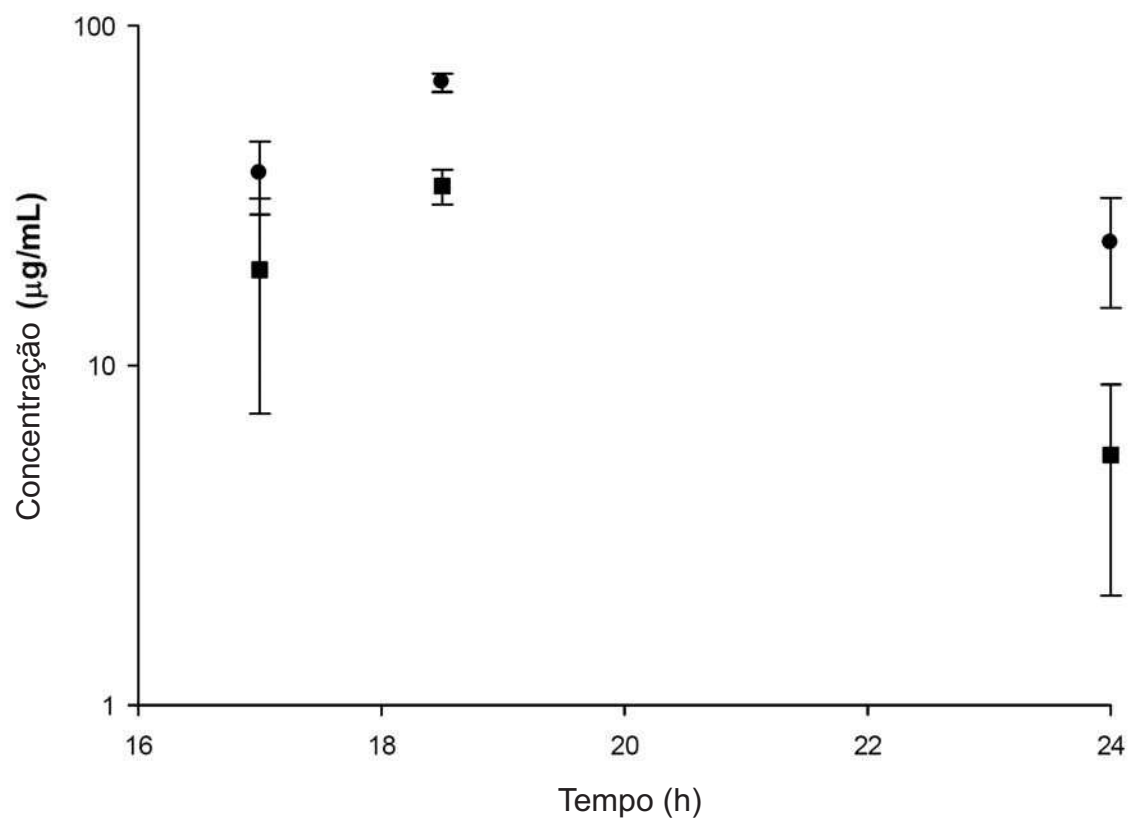


Fig 9

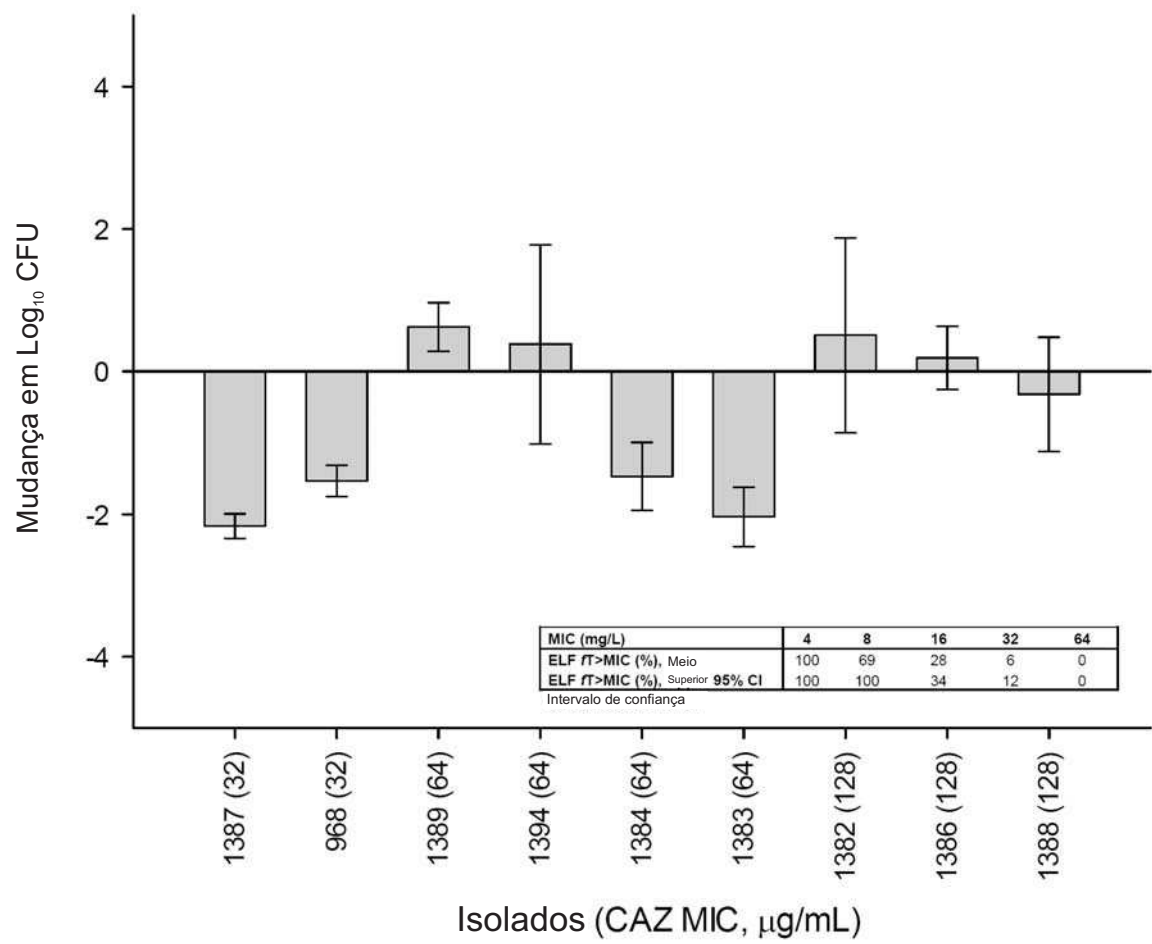
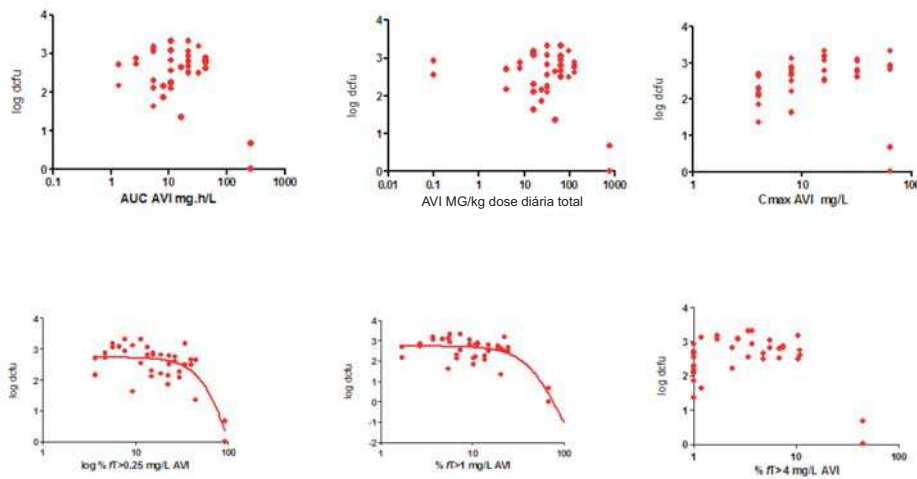


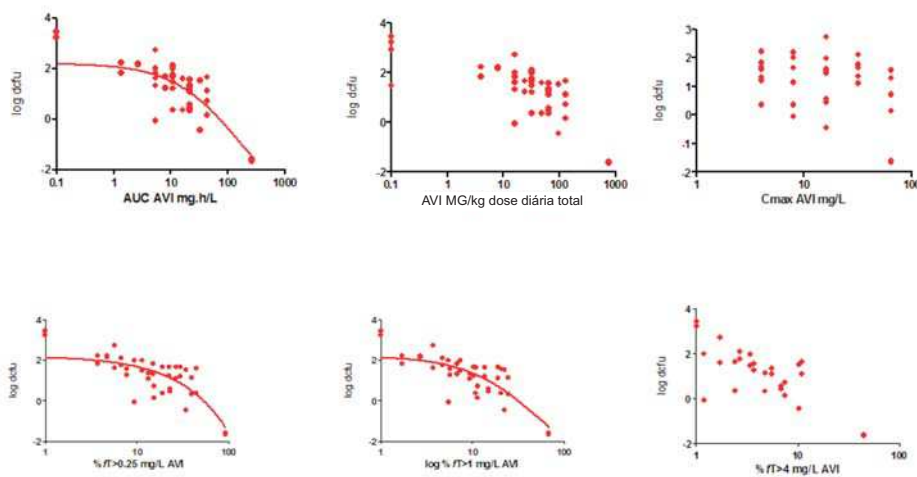
Fig 10: Resposta da exposição de avibactam em camundongos infectados na coca tratada com caftadizima q2 horas: fracionamento de dose

Painel Superior: cepa P. Aeruginosa 7 (MIC CAZ=64 mg/L, MIC CAZ-AVI=4 mg/L)  
 Painel Inferior: cepa P. Aeruginosa 18 (MIC CAZ=32 mg/L, MIC CAZ-AVI=2 mg/L)

Cepa P. Aeruginosa 7 hermética caz 27.2 mg/kg q2h



Cepa P. Aeruginosa 18 hermética caz 27.2 mg/kg q2h

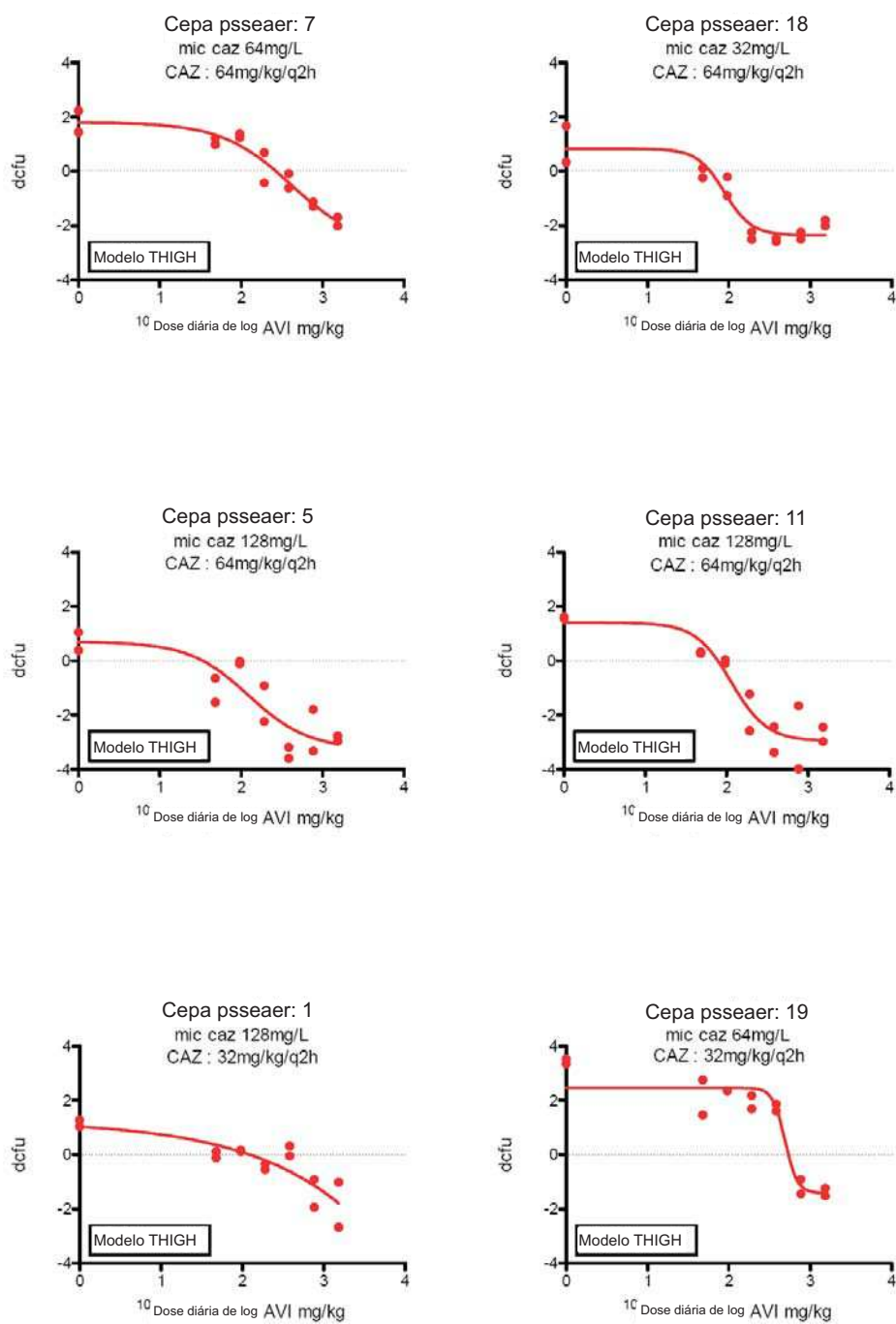


CAZ = cefazidime, AVI = avibactam,

Dcfu: a mudança de cfu comparado à inoculação inicial

AUC = área sob a curva de tempo de concentração

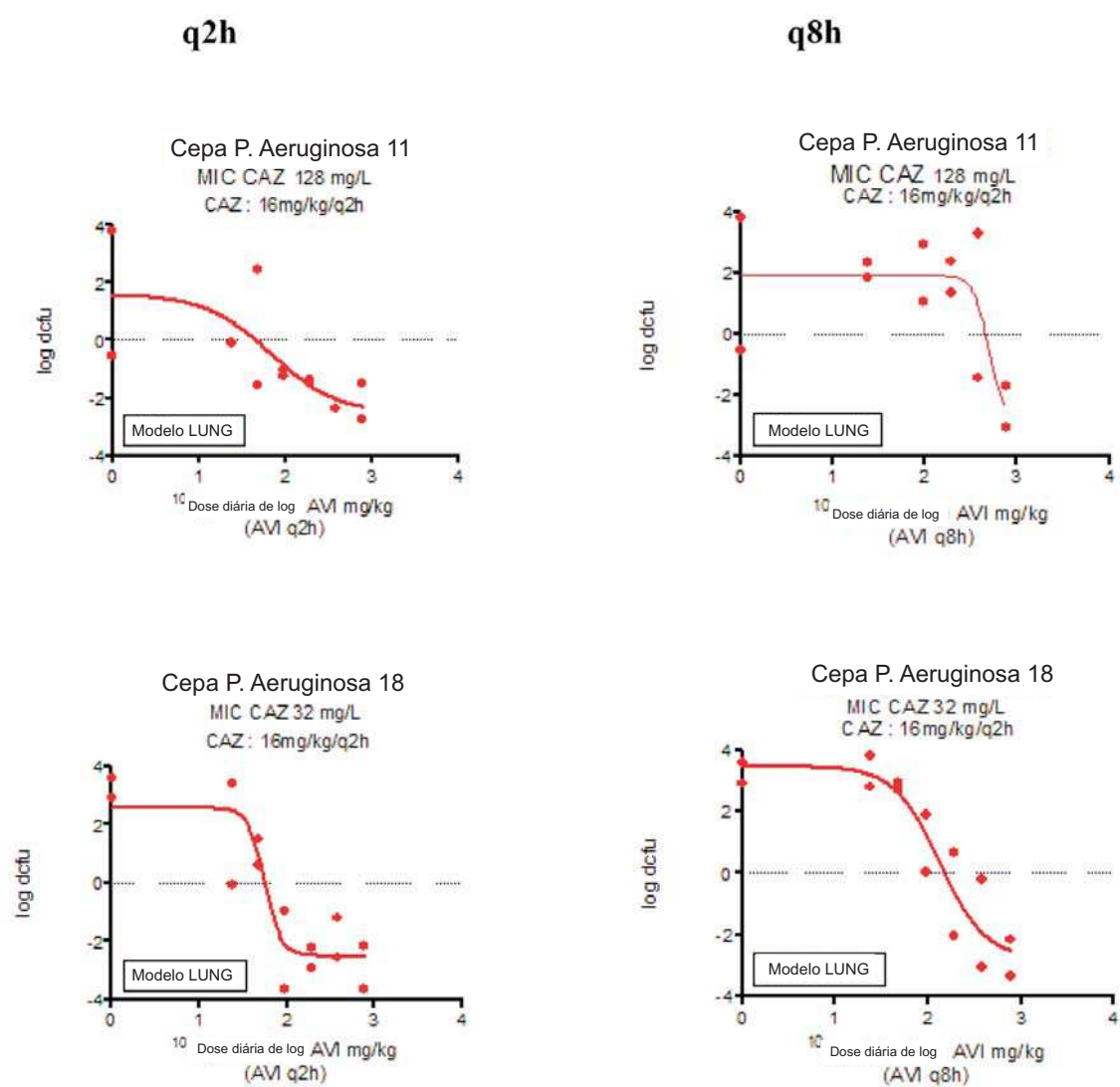
Fig 11



CAZ = cefazidime, AVI = avibactam

Dcfu: a mudança de cfu comparado à inoculação inicial

Fig 12



CAZ = cefazidime, AVI = avibactam

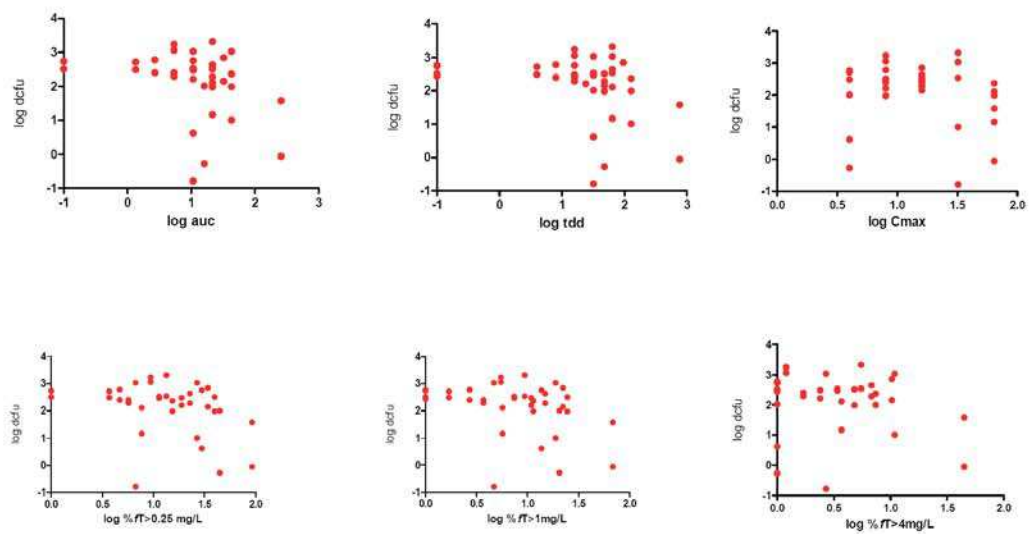
Dcfu: a mudança de cfu comparado à inoculação inicial

**Fig 13**

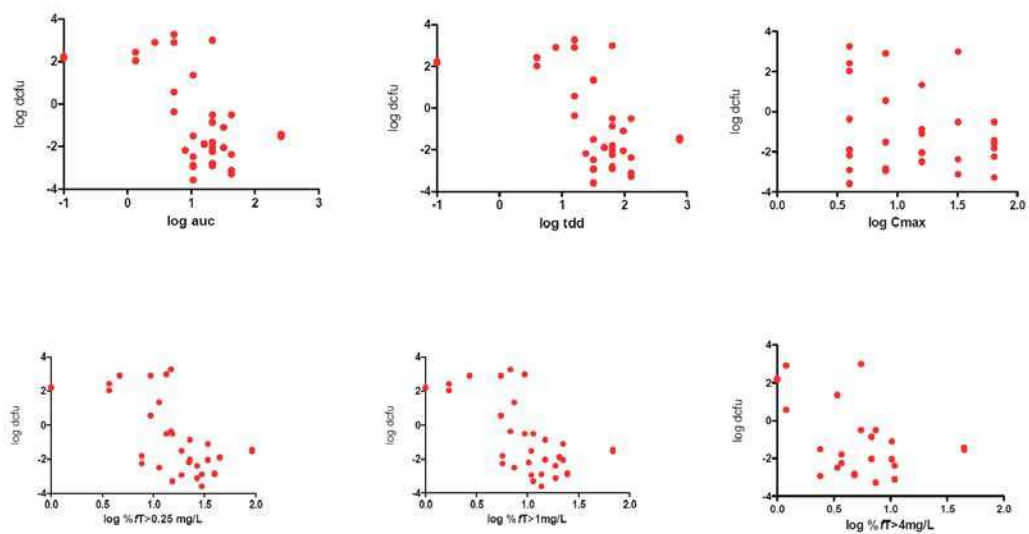
Painel Superior : *P. aeruginosa* strain 7 (MIC CAZ=64 mg/L, MIC CAZ-AVI=4 mg/L)

Painel Inferior : *P. aeruginosa* strain 18 (MIC CAZ=32 mg/L, MIC CAZ-AVI=2 mg/L)

*P. aeruginosa* 7 lung CAZ 1.87 mg/kg q2h



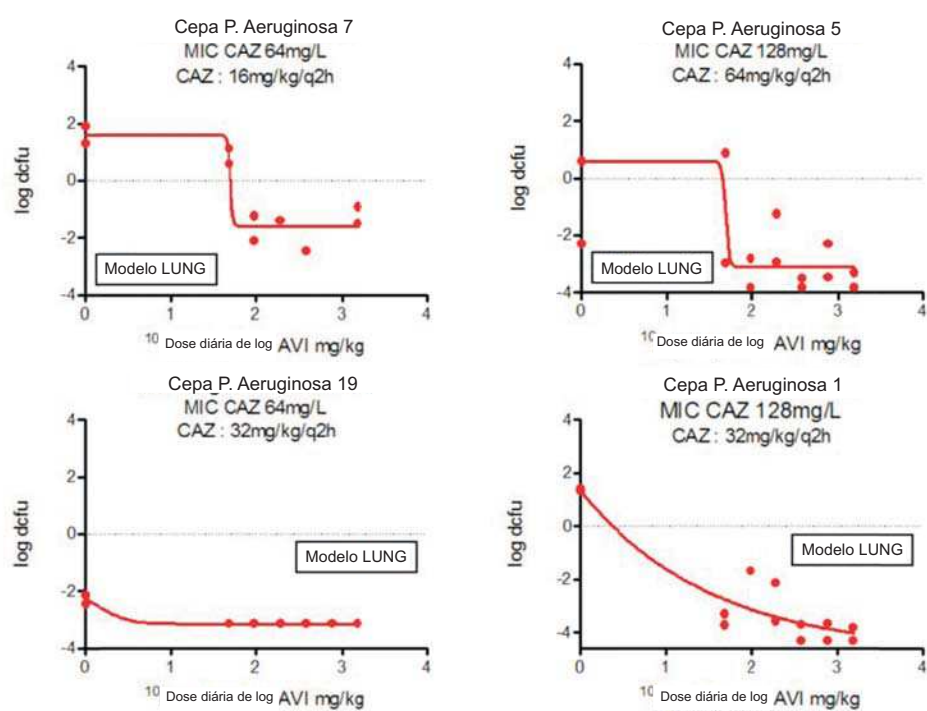
*P. aeruginosa* 18 lung CAZ 20.9 mg/kg q2h



CAZ = cefazidime, AVI = avibactam

Dcfu: a mudança de cfu comparado à inoculação inicial

Fig 14: Resposta de exposição de avibactam em pulmão de camundongo infectado tratado com ceftazidime q2 horas por 4 cepas



Dcfu: a mudança de cfu comparado à inoculação inicial