

# Ocena penetracji amoksycyliny do płynu owodniowego, łożyska oraz krwi płodu

## The evaluation of penetration of amoxicillin to placenta, amniotic fluid and fetal blood

© GINEKOLOGIA I POŁOŻNICTWO 3 (9) 2008

Artykuł oryginalny/Original article

JULIA ZARĘBA-SZCZUDLIK<sup>1</sup>, KRZYSZTOF CZAJKOWSKI<sup>1</sup>, HANNA RÓŻAŃSKA<sup>2</sup>,  
EWA ROMEJKO-WOLNIEWICZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> II Katedra i Klinika Położnictwa i Ginekologii I Wydziału Lekarskiego  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego  
Kierownik: prof. dr hab. med. Krzysztof Czajkowski

<sup>2</sup> Państwowy Instytut Weterynarii, Puławy  
Dyrektor: dr hab. Tadeusz Wijaszka

Adres do korespondencji/Address for correspondence

II Katedra i Klinika Położnictwa i Ginekologii I Wydziału Lekarskiego  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego  
ul. Karowa 2, 00-315 Warszawa, Poland  
tel. 022 5966421; e-mail: ewamariar@wp.pl, juliaszmed@wp.pl

### Statystyka/Statistic

Liczba słów/Word count	2203/2372
Tabele/Tables	2
Ryciny/Figures	0
Piśmiennictwo/References	16

Received: 14.04.2008

Accepted: 20.06.2008

Published: 05.09.2008

### Streszczenie

*Wstęp:* Amoksycyлина jest syntetycznym antybiotykiem B-laktamowym o szerokim spektrum działania. W przypadku kobiet ciężarnych można ją podawać doustnie, dożylnie lub dopochwowo.

*Cel:* Celem pracy była ocena penetracji amoksycyliny do płynu owodniowego, łożyska, oraz krwi płodu.

*Material i metoda:* Badaniem objęto 36 kobiet, które urodziły drogą elektywnego cięcia cesarskiego. Pacjentkom podano dożylnie 0,6 mg amoksiklawu. Po okresie 2 godzin, podczas cięcia cesarskiego pobierano próbki tkanek i płynów ustrojowych. Stężenie antybiotyku było oceniane z użyciem metody mikrobiologicznej.

*Wyniki:* Średnie stężenie amoksycyliny w płynie owodniowym wynosiło  $3,12 \pm 1,9 \mu\text{g/g}$ , a w łożysku  $1,54 \pm 0,89 \mu\text{g/g}$ . Stężenie antybiotyku we krwi u matki wynosiło średnio  $3,14 \pm 0,62 \mu\text{g/ml}$ , a we krwi pępowinowej  $4,10 \pm 1,04 \mu\text{g/ml}$ .

*Wnioski:* Stężenie amoksycyliny we krwi płodu nie różniło się statystycznie od stężenia we krwi matki. Nie dochodziło do kumulacji amoksycyliny w łożysku. Typ konstytucjonalny oraz choroby ciężarnej nie miały istotnego wpływu na zawartość amoksycyliny w tkankach.

**Słowa kluczowe:** amoksycyлина, płyn owodniowy, łożysko, krew pępowinowa, penetracja

### Summary

*Introduction:* Amoxicillin is a synthetic, wide-spectrum beta-lactamic antibiotic. In case of pregnant women it is administrated orally, intravenously and vaginally.

*The aim:* The aim of this study was to evaluate the penetration of amoxicillin to placenta, fetal blood and amniotic fluid.

*Material and methods:* The study covered 36 women delivered by elective caesarean section. The patients were given 0,6 mg amoxiclav intravenously. Two hours later during the operation samples of tissues, amniotic fluid and blood were taken. The measurement of antibiotics concentration was performed using the microbiological method.

*Results:* The mean concentration of amoxicillin in amniotic fluid was  $3.12 \pm 1.9 \mu\text{g/g}$ , and in placenta  $1.54 \pm 0.89 \mu\text{g/g}$ . The mean maternal serum concentration was  $3.14 \pm 0.62 \mu\text{g/ml}$ , the mean fetal serum concentration was  $4.10 \pm 1.04 \mu\text{g/ml}$ .

*Conclusions:* The concentration of amoxicillin in fetal serum did not differ from maternal serum concentration. Amoxicillin did not cumulate in placenta. The complications of pregnancy and the constitutional type of mother had no impact on amoxicillin concentration in tissues.

**Key words:** amoxicillin, amniotic fluid, placenta, fetal blood, penetration

## WSTĘP

Amoksycylina jest syntetycznym antybiotykiem B-laktamowym o szerokim spektrum działania. Może być podawana doustnie, dożylnie i dopochwowo w postaci globulek. Po podaniu doustnym wchłania się w 80-95% z przewodu pokarmowego, niezależnie od posiłku i rodzaju diety, osiągając maksymalne stężenie w surowicy po 2 godzinach. Jej  $T_{1/2}$  waha się od 60-90 minut (średnio 80 minut). Antybiotyk wiąże się w 17-20% z białkami osocza. Charakteryzuje się również dobrą penetracją do tkanek m.in.: moczu, żółci, płynu stawowego, opłucnowego, osierdziowego, otrzewnowego, wydzieliny oskrzelowej, ucha środkowego, a także: wód płodowych, łożyska, macicy, jajników, mleka kobiecego.

Dostępność biologiczna amoksycyliny wynosi od 74% do 92%. Jest wydalana przez nerki, w 60% w postaci niezmiennionej. Amoksycylina, podobnie jak inne antybiotyki B-laktamowe, może być rozkładana przez enzymy bakteryjne B-laktamazy, które rozrywają wiązanie B-laktamowe w ich cząsteczce. Aby zapobiec temu zjawisku antybiotyki łączy się z inhibitorami B-laktamaz, którym w przypadku amoksycyliny jest kwas klawulanowy. Połączenie to nosi nazwę ko-amoksiklaw [1-3].

Według amerykańskiej organizacji Food and Drug Administration (FDA), która zakwalifikowała wszystkie leki do kilku grup ryzyka uwzględniając ewentualną możliwość ich niekorzystnego działania na rozwijający się płód przy stosowaniu terapii u ciężarnych, amoksiklaw należy do grupy B [4]. Przynależność antybiotyku do grupy B oznacza, że badania przeprowadzone na ciężarnych samicach zwierząt nie wykazały wzrostu ryzyka dla płodów przy braku kontrolnych badań u kobiet ciężarnych lub badania nad zwierzętami wykazały niekorzystny wpływ leku, ale nie został on potwierdzony w kontrolnych badaniach u kobiet w pierwszym trymestrze ciąży.

Amoksiklaw jest jednym z antybiotyków najczęściej stosowanych u pacjentek ciężarnych. Przyczyną tego stanu jest szerokie spektrum jego działania (większość bakterii powodujących zakażenia u kobiet ciężarnych jest wrażliwa na amoksiklaw) oraz przynależność do grupy ryzyka B według FDA. Znajduje on zastosowanie przede wszystkim w przypadku zakażeń dróg rodnych u kobiet ciężarnych, jako profilaktyka zakażeń w przypadku przedwczesnego pęknięcia pęcherza płodowego oraz jako profilaktyka zakażeń okołoperacyjnych.

Celem pracy była ocena penetracji amoksycyliny do płynu owodniowego, łożyska, krwi płodu oraz ocena jej stężenia w surowicy matki w tym samym czasie.

## MATERIAŁ I METODY

Badanie przeprowadzono w II Klinice Położnictwa i Ginekologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Uzyskano zgodę Komisji Etycznej przy Akademii

## INTRODUCTION

Amoxicillin is a synthetic, wide-spectrum beta-lactamic antibiotic. It could be administered orally, intravenously and vaginally. It is absorbed in 80 to 95% from digestive system when given orally. Its absorption is independent from meal and diet. It reaches the highest level in serum two hours after administration. The half-time of amoxicillin varies from 60 to 90 minutes (mean time is 80 minutes). It is bound to serum proteins in 17 to 20%. It is also characterized by good penetration to many tissues i.e. urine, bile, articular fluid, pleural, pericardial and peritoneal fluid, bronchial excretion, middle ear as well as to amniotic fluid, placenta, uterus, ovaries and milk.

Biological availability of amoxicillin ranges from 74% to 92%. It is excreted with urine, 60% of it is still active. Amoxicillin, the same as other beta-lactamic antibiotics may be inactivated by bacterial enzymes – beta-lactamases, that damage beta-lactamic junction in antibiotic structure. To prevent this phenomenon, beta-lactamic antibiotics are attached to beta-lactamase inhibitors. Clavulanic acid is beta-lactamase inhibitor, in case of amoxicillin this connection is called co-amoxiclav [1-3].

Food and Drug Administration Organization (FDA) classified all drugs to a few groups of risk, according to the possibility of unfavorable influence on fetus when used in therapy of pregnant women. Amoxicillin is categorized by FDA to group B, that means researches done on pregnant animals did not reveal the increased risk for fetuses with no data on human or researches done on animals demonstrated unfavorable effect but it was not proven in pregnant women in the first trimester of pregnancy [4].

Amoxiclav is one of the most frequent used antibiotic in pregnant women. The reason for this is the wide spectrum of its activity (most of bacteria causing infections in pregnant women are susceptible to amoxiclav) and that it belongs to category B of drugs in FDA classification. It is given in cases of genital tract infections in pregnancy, as a prophylaxis of infections in cases of premature rupture of membranes and in cases of operations.

The aim of this study was to evaluate the penetration of amoxicillin to amniotic fluid, placenta and fetal blood as well as the estimation of its concentration in maternal serum in the same time.

## MATERIAL AND METHODS

The study was conducted in the Second Department of Obstetrics and Gynecology Warsaw Medical University. The approval of Bioethic Board was obtained. The study covered 36 women delivered by elective caesarean section from 16<sup>th</sup> November 2004 to 25<sup>th</sup> November 2005.

Medycznej w Warszawie. Badaniem zostało objętych 36 kobiet w okresie od 16 listopada 2004 roku do 25 listopada 2005 roku, które urodziły drogą planowego cięcia cesarskiego.

Kryteriami włączenia do badania były: wiek ciąży 37-41 tygodni, ciąża pojedyncza, kwalifikacja do rozwiązania ciąży poprzez planowe cięcie cesarskie, zachowane błony płodowe, pacjentka nie uczulona na amoksycylinę, pacjentka w ciągu 5 dni przed cięciem cesarskim nie otrzymywała antybiotyków, podpisanie świadomej zgody przez pacjentkę.

Po przyjęciu pacjentki do szpitala przeprowadzano wywiad lekarski, wykonywano badanie ogólne lekarskie i ginekologiczne, podczas którego pobierano wymaz z kanału szyjki macicy na posiew. W ocenie przebiegu ciąży zwrócono m.in. uwagę na następujące powikłania: nadciśnienie tętnicze, cukrzyce, cholestazę ciężarnych, choroby tarczycy, choroby infekcyjne, zaburzenia krzepnięcia, patologię łożyska. Każda pacjentka była skrupulatnie informowana o celowości badania, każda uzyskiwała odpowiedzi na nurtujące ją pytania i podpisała formularz świadomej zgody na udział w badaniu klinicznym.

Dwie godziny przed operacją (czas liczony od momentu podania antybiotyku do wydobycia płodu) pacjentki otrzymały 0,6 mg amoksiklawu (500 mg amoksycyliny, 100 mg kwasu klawulanowego) dożylnie.

Podczas cięcia cesarskiego po otwarciu jamy brzusznej, przecięciu mięśnia macicy i przebicciu pęcherza płodowego u wszystkich pacjentek pobrano metodą aspiracyjną 20 ml płynu owodniowego celem oznaczenia w nim stężenia antybiotyku oraz 5 ml płynu owodniowego na posiew. Po urodzeniu popłodu pobrano fragment łożyska o wadze około 100g. Ponadto w 6 przypadkach pobrano 10 ml krwi matki i 10 ml krwi pępowinowej. Próbkę płynu owodniowego i łożyska umieszczano w odpowiednich pojemnikach i zamrażano w temperaturze  $-20^{\circ}\text{C}$ . Krew matczyną i pępowinową wirowano, a uzyskane osocze zamrażano w temperaturze  $-20^{\circ}\text{C}$ . Próbkę przesyłano w miesięcznych odstępach do Państwowego Instytutu Weterynarii w Puławach, gdzie oznaczano w nich stężenie antybiotyku. Należy dodać, iż podczas każdego cięcia cesarskiego dokonywano makroskopowej oceny płynu owodniowego (ilość, barwa) oraz popłodu.

Do oceny stężenia amoksycyliny użyto metody mikrobiologicznej opisanej przez Kudrata [5], której zasada opiera się na hamowaniu wzrostu szczepu testowego *Bacillus stearothermophilus* spore suspension w obecności antybiotyku w badanej próbce. Krzywą wzorcową, na podstawie której odczytywano stężenie amoksycyliny w badanych próbkach przygotowano z użyciem substancji wzorcowej Sigma o numerze katalogowym A/8523 i zawartości  $\geq 900$  ug/g (substancja zgodna z F.D.A.).

Izolowanie i identyfikację mikroorganizmów z uzyskanego materiału (wydzielina z kanału szyjki i płyn

The inclusion criteria were the following: singleton pregnancy, gestational age of 37 to 41 week, qualification to elective caesarean section, intact membranes, a patient without allergy to amoxicillin, a patient was not given any antibiotics at least 5 days before operation, informed consent signed.

At admission the history was obtained and the patient was examined. Cervical culture was done in every woman. Assessing the course of pregnancy we paid attention to the presence of hypertension, diabetes, cholestasis, thyroid disorders, infections, coagulation disturbances, pathology of placenta. Every patient was fully informed about the purpose of the study and each was fully answered. The consent was signed after full explanation.

The patient was given 0,6 mg of amoxiclav (500mg of amoxicillin and 100 mg clavulenic acid) intravenously. Two hours later the baby was delivered by cesarean section.

During the operation after laparotomy being done, uterus cut and after amniotomy, 25 ml of amniotic fluid was aspirated in all patients. 20 ml of it was used for the measurement of amoxicillin concentration and the rest 5 ml was cultured. After placenta being delivered 100g of this tissue was taken, also for the estimation of amoxicillin concentration. In 6 cases 10 ml of maternal blood and 10 ml of fetal blood from umbilical cord were taken. Samples of amniotic fluid and placenta were frozen in  $-20^{\circ}\text{C}$ . The maternal and fetal blood were centrifuged and serum was separated and frozen in  $-20^{\circ}\text{C}$ . The samples were sent every month to National Veterinary Research Institute in Puławy, where the measurement of amoxicillin concentration was performed.

The macroscopic assessment of placenta and amniotic fluid (the amount and the color) were done at every cesarean delivery.

To measure the concentration of amoxicillin, the microbiological method discovered by Kudrat was used. The rule of this method is based on growth inhibition of test strain of *Bacillus stearothermophilus* spore suspension in the presence of antibiotic in the sample. Model curve to read amoxicillin concentration in examined samples was prepared using model substance Sigma numbered A/8523 and containing 900 or more micrograms/g (substance consistent with F.D.A.).

The isolation and identification of microorganisms from amniotic fluid and cervical excretion were done in Bacteriological Laboratory of Anna Mazowiecka Hospital.

The statistical analysis was performed using Statgraphics Plus 5.1 program.

owodniowy) przeprowadzono w Pracowni Bakteriologii Szpitala Klinicznego im. ks. Anny Mazowieckiej w Warszawie.

Analizę statystyczną wykonano przy użyciu programu Statgraphics Plus 5.1.

## WYNIKI

Średni wiek matek wynosił  $30,6 \pm 7,7$  lat (najmłodsza miała 22 lata, najstarsza 37 lat). Pięćdziesiąt sześć procent kobiet (20) było wieloródkami.

W badanej grupie 36-ciu kobiet u 25% ciąży przebiegała prawidłowo. Wśród pozostałych trzy chorowały na cukrzycę przedciążową, osiem na cukrzycę ciążową, dwie na nadciśnienie tętnicze, dwie na cholestazę ciężarnych, u ośmiu w przebiegu ciąży występowało zakażenie w pochwie lub kanale szyjki macicy, u czterech infekcja górnych dróg oddechowych, u jednej zakażenie układu moczowego. Dwie pacjentki chorowały na wrodzoną trombofilię, dwie na małopłytkowość powstałą w ciąży. Dziewięć procent pacjentek było uzależnionych od nikotyny i wypalały średnio 5 papierosów na dobę.

Siedem pacjentek otrzymywało antybiotyki w przebiegu ciąży (infekcje górnych dróg oddechowych, układu moczowego, dróg rodnych), z czego w trzech przypadkach była to amoksyacylina.

Średnia masa ciała kobiet przed ciążą wynosiła  $66,3 \pm 11,99$ kg, a średni BMI (wskaźnik masy ciała) przed ciążą wynosił  $24,1 \pm 4,55$ , średni przyrost masy ciała w ciąży wynosił  $13,13 \pm 4,7$ kg.

Najczęstszym wskazaniem do cięcia cesarskiego było podejrzenie makrosomii płodu. U dwóch pacjentek przed cięciem cesarskim występowała regularna czynność skurczowa macicy, a u dwóch płodów objawy zagrażającej wewnątrzmacicznej zamartwicy pod postacią deceleracji w zapisie kardiokograficznym.

Średni tydzień ukończenia ciąży wynosił  $38,2 \pm 1,25$  tygodni. W 88% przypadków zastosowano znieczulenie przewodowe, pozostałe pacjentki znieczulono ogólnie. Podczas cięcia cesarskiego w dwóch przypadkach stwierdzono nieprawidłowe zabarwienie płynu owodniowego – zielonkawe, w jednym przypadku (u pacjentki z cukrzycą przedciążową) występowała nadmierna jego ilość. Podczas makroskopowej oceny płodu nie stwierdzono żadnej patologii.

Urodzono 19 noworodków płci żeńskiej oraz 17 noworodków płci męskiej. Średnia urodzeniowa masa ciała noworodków wynosiła  $3548,6 \pm 665,5$ g. Wszystkie noworodki były urodzone w stanie ogólnym dobrym - najniższa ocena to 8 punktów w skali Apgar.

W 36 przypadkach oceniono stężenie antybiotyku w płynie owodniowym i łożysku (tab.1). Średnio płyn owodniowy zawierał  $3,12 \pm 1,9$  ug/g amoksyacyliny, a łożysko  $1,54 \pm 0,89$  ug/g tego antybiotyku – różnica istotna statystycznie,  $p=0,000042$ .

Dodatkowo w sześciu przypadkach oceniono również stężenie antybiotyku we krwi u matki uzyskując średni wynik  $3,14 \pm 0,62$  ug/ml, oraz we krwi pepo-

## RESULTS

The mean maternal age was  $30.6 \pm 7.7$  years (the youngest was 22 years old, the oldest was 37). More than half of patients in the study (56%) were multiparous, and 80% of them had already been delivered by cesarean.

In 25% of women the course of pregnancy was uneventful. Among the rest three suffered from pregestational diabetes mellitus, eight presented gestational diabetes mellitus (GDM), two were hypertensive, two suffered from cholestasis of pregnancy. Eight patients presented vaginitis or cervicitis during pregnancy, in four the course of pregnancy was complicated by upper respiratory tract infection and in one – by urinary tract infection. Two patients were thrombophilic and two developed pregnancy-induced low platelet count. Only a small number of patients were smokers (9%), they smoked about 5 cigarettes a day.

Seven patients were given antibiotics during pregnancy (upper respiratory tract infections, urinary tract infection, genital tract infections), in three cases it was amoxicillin.

The mean prepregnant weight of women entering the study was  $66.3 \pm 11.99$ kg, the mean body mass index (BMI) before pregnancy was  $24.1 \pm 4.55$  kg/m<sup>2</sup>, mean pregnancy weight gain was about  $13.13 \pm 4.7$ kg (the highest was 30kg, the lowest was 4kg).

The most often indication for cesarean section was fetal macrosomia. Two patients presented regular contractions before cesarean. In two cases fetal distress was detected, decelerations were seen in CTG tracings.

The mean gestational age for performing the cesarean section was  $38.3 \pm 1.25$  weeks. Only 12% of patients had the cesarean done under general anesthesia, in most cases epidural or subarachnoid anesthesia were performed. In two cases the green color of amniotic fluid was noticed during the operation, there was one case of polyhydramnion established in patient with prepregnancy diabetes. The macroscopic evaluation of placenta did not reveal any abnormalities.

Nineteen female and seventeen male neonates were delivered. The mean birth weight was  $3548.6 \pm 665.5$ g. All of the children were born in a good condition, lowest Apgar score was 8 points.

The concentration of antibiotic in amniotic fluid and placenta were measured in samples taken from 36 parturients (tab.1). The mean concentration of amoxicillin in amniotic fluid was  $3.12 \pm 1.9$  ug/g. It was significantly higher comparing to the mean concentration of amoxicillin in placenta –  $1.54 \pm 0.89$  ug/g,  $p=0.000042$ .

winowej, która średnio zawierała  $4,10 \pm 1,04$  ug/ml amoksycyliny – nie stwierdzono różnicy istotnej statystycznie (tab.2).

Stężenie antybiotyku w łożysku było znamienne niższe niż we krwi pępowinowej ( $p=0,00000017$ ) i we krwi matki ( $p=0,00015$ ). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy stężeniami amoksycyliny we krwi pępowinowej i krwi matki ( $p=0,083$ ), krwi pepo-

Additionally maternal serum concentration as well as fetal serum concentration of amoxicillin were measured in six cases (tab.2). The mean maternal serum concentration of amoxicillin was  $3.14 \pm 0.62$  ug/ml, the mean fetal serum concentration of amoxicillin was  $4.10 \pm 1.04$  ug/ml. The difference was not statistically significant.

**Tab. 1.** Stężenie amoksycyliny w płynie owodniowym i łożysku

**Tab. 1.** The concentration of amoxicillin in amniotic fluid and placenta

Nr pacjentki Number of patient	Stężenie amoksycyliny w płynie owodniowym w $\mu\text{g/g}$ The concentration of amoxicillin in amniotic fluid in $\mu\text{g/g}$	Stężenie amoksycyliny w łożysku w $\mu\text{g/g}$ The concentration of amoxicillin in placenta in $\mu\text{g/g}$
1	3,46	0,728
2	3,27	1,32
3	2,72	1,36
4	2,49	1,42
5	11,42	1,2
6	6,94	1,8
7	4,34	0,48
8	3,15	2,3
9	3,15	2,46
10	4,62	3,04
11	1,54	1,74
12	3,02	0,33
13	1,58	0,17
14	1,72	1,82
15	1,25	1,3
16	0,5	0,37
17	1,32	0,55
18	3,84	1,32
19	3,2	1,82
20	0,38	1,44
21	3,56	1,78
22	4,28	1,32
23	2,1	1,06
24	1,1	0,96
25	2,2	0,36
26	2,88	1,16
27	3,04	1,96
28	2,04	1,9
29	2,64	0,61
30	0,96	0,36
31	3,2	1,86
32	3,12	2,88
33	4	2,82
34	4,48	2,34
35	3,66	3,64
36	5,16	3,34

**Tab. 2.** Stężenie amoksycyliny w płynie owodniowym, łożysku, krwi pępowinowej, krwi matki

**Tab. 2.** The concentration of amoxicillin in amniotic fluid, placenta, fetal serum and maternal serum

Nr pacjentki Number of patient	Stężenie amoksycyliny / The concentration of amoxicillin			
	W płynie owodniowym w $\mu\text{g/g}$ In amniotic fluid in $\mu\text{g/g}$	W łożysku w $\mu\text{g/g}$ In placenta in $\mu\text{g/g}$	W surowicy matki w $\mu\text{g/ml}$ In maternal serum in $\mu\text{g/ml}$	We krwi pępowinowej w $\mu\text{g/ml}$ In fetal serum in $\mu\text{g/ml}$
31	3,2	1,86	2,69	2,4
32	3,12	2,88	3,63	4,49
33	4	2,82	2,82	5,25
34	4,48	2,34	2,35	3,31
35	3,66	3,64	4	4,57
36	5,16	3,34	3,36	4,57

winowej i płynie owodniowym ( $p=0,247$ ) oraz krwi matki i płynie owodniowym ( $p=0,98$ ). Należy dodać, że w tym ostatnim przypadku oba stężenia były prawie równe.

Analizując wpływ wieku matki na stężenie antybiotyku w badanych próbkach stwierdzono, iż zawartość amoksycyliny w płynie owodniowym jest niższa w miarę wzrostu wieku pacjentek ( $p=0,02$ ,  $R^2$  14,6, współczynnik korelacji:  $-0,38$ ). Nie ma takiej zależności w przypadku stężenia antybiotyku w łożysku, krwi matki, krwi pępowinowej.

Z przeprowadzonej analizy statystycznej wynika również, iż tydzień ukończenia ciąży, rodność, BMI, przyrost masy ciała w ciąży, obecność chorób wnikających ciążę i urodzeniowa masa ciała noworodka nie miały wpływu na stężenie amoksycyliny w badanych próbkach. Stwierdzono natomiast, iż stężenie antybiotyku w tkance łożyskowej jest wyższe u płodów płci żeńskiej (średnio  $1,86 \pm 0,19$  ug/g) w stosunku do płodów płci męskiej (średnio  $1,18 \pm 0,2$  ug/g),  $p=0,021$ .

Wszystkie pacjentki miały wykonany posiew wydzieliny z kanału szyjki macicy. U 22% (8 pacjentek) uzyskano wynik dodatni, z czego w 5 przypadkach wykryto jeden patogen, w 1 przypadku 2 patogeny, a w 2 przypadkach 3 patogeny. Najczęściej izolowano bakterie Gram-dodatnie, wśród których najliczniej występował *Streptococcus agalactiae* (62% dodatnich posiewów) i *Enterococcus faecalis* (25%). Grupę bakterii Gram-ujemnych reprezentowała *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* oraz beztlenowa pałeczka. U dwóch pacjentek stwierdzono w posiewie *Candida albicans*. Przebadano 36 próbek płynu owodniowego, w 2 (5,5%) stwierdzono obecność drobnoustrojów, którymi były *Morganella morgani* w pierwszym przypadku i *Candida albicans* w drugim. Wszystkie bakterie wyizolowane z kanału szyjki i płynu owodniowego były wrażliwe na amoksycylinę.

Nie stwierdzono zależności pomiędzy obecnością patogenów w kanale szyjki macicy i płynie owodniowym a stężeniem amoksycyliny w badanych próbkach.

Wszystkie pacjentki opuściły szpital w stanie ogólnym dobrym z dziećmi, z prawidłowo zagojoną raną po cięciu cesarskim.

## DYSKUSJA

Amoksycylina jest antybiotykiem stosowanym na całym świecie przede wszystkim z powodu szerokiego spektrum działania, dobrej penetracji do tkanek, bezpieczeństwa stosowania - również w ciąży [6], możliwości podawania doustnego i parenteralnego i stosunkowo niskiej ceny. Większość tlenowych i beztlenowych gram-dodatnich ziarenkowców, jak również tlenowe gram-ujemne pałeczki są wrażliwe na działanie antybiotyku. *Staphylococcus aureus* zwykle jest oporny na jej działanie [2,3].

Antybiotyk jest skutecznie stosowany w przypadku infekcji wewnątrzmacicznych, jako profilaktyka podczas cięcia cesarskiego i operacji ginekologicznych.

The concentration of antibiotic in placenta was significantly lower than in fetal serum ( $p=0.00000017$ ) and maternal serum ( $p=0.00015$ ). There were no significant differences between fetal and maternal serum concentrations of amoxicillin ( $p=0.083$ ) and fetal serum and amniotic fluid concentrations of amoxicillin ( $p=0.247$ ). Maternal serum and amniotic fluid concentrations of amoxicillin were nearly the same ( $p=0.98$ ).

The analysis of the influence of maternal age on the concentration of amoxicillin revealed that amniotic fluid concentration of amoxicillin decreased with maternal age ( $p=0.02$ ,  $R^2$  14,6, correlation coefficient:  $-0.38$ ). No such correlation was observed with amoxicillin concentration in placenta, maternal serum and fetal serum.

Parity, gestational age, BMI, pregnancy weight gain, complications of pregnancy, birth weight and ponderal index had no impact on amoxicillin concentrations. It was noted that amoxicillin concentration in placenta was significantly higher in female babies (mean  $1.86 \pm 0.19$  ug/g) than in male ( $1.18 \pm 0.2$  ug/g),  $p=0.021$ .

All patients had cervical culture done and in 22% of them (8 patients) it revealed the presence of pathogens. The presence of one pathogen was revealed in 5 patients, two pathogens were found in 1 patient, three pathogens were present in 2 patients. The most often isolated microorganisms were Gram-positive bacteria, among them *Streptococcus agalactiae* (62% of positive culture) and *Enterococcus faecalis* (25%). Among Gram-negative bacteria *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* and anaerobic bacillus were isolated. *Candida albicans* was found in 2 patients. All 36 amniotic fluid samples were cultured and in 2 cases (5,5%) revealed the presence of microorganisms, *Morganella morgani* in 1 case and *Candida albicans* in 1 case. All isolates from amniotic fluid and the cervix were susceptible to amoxicillin.

No correlation was found between positive cervical culture or the presence of pathogens in amniotic fluid and the concentration of amoxicillin in examined samples.

All patients were discharged from the hospital in a good state with their children, with surgical wound healed up. The mean time of hospitalization was six days.

## DISCUSSION

Amoxicillin is an antibiotic widely used around the world because of its wide spectrum, good penetration to tissues, safety, also in pregnancy [6], possibility to be administered orally and intravenously and relatively low price. Most aerobic and anaerobic Gram-positive coccaceae, as well as aerobic Gram-negative bacilli are susceptible to amoxicillin. *Staphylococcus aureus* is usually resistant to amoxicillin [2,3].

This antibiotic is successfully used in case of intrauterine infection, as a prophylaxis during cesarean sections and gynecological operations. Combination of amoxicillin with clavulanic acid - a beta-lactamase inhibitor additionally increases the spectrum of activ-

Połączenie cząsteczki amoksycyliny z kwasem klawulanowym – inhibitorem B-laktamaz dodatkowo zwiększa jej spektrum działania na MRSA (metycylinooporny *Staphylococcus aureus*). W tej postaci jest używana do leczenia zakażeń układu moczowego, skóry, zapalenia błony śluzowej macicy oraz stanów zapalnych miednicy mniejszej [2]. Należy pamiętać, że ko-amoksiklaw jest jedynym połączeniem aminopenicylin z inhibitorem B-laktamaz dostępnym w formie doustnej [1].

American College of Obstetricians and Gynecologists zaleca również stosowanie amoksycyliny u kobiet ciężarnych w przypadku chlamydiozy oraz jako profilaktykę bakteryjnego zapalenia wsierdza [4].

W naszym badaniu amoksycylina prezentowała bardzo dobrą penetrację do tkanek. Średnie stężenie antybiotyku w płynie owodniowym wynosiło  $3,12 \pm 1,9$  ug/g, łożysku  $1,54 \pm 0,89$  ug/g, krwi u matki  $3,14 \pm 0,62$  ug/ml, krwi pępowinowej  $4,10 \pm 1,04$  ug/ml.

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy stężeniami amoksycyliny we krwi pępowinowej, krwi matki i płynie owodniowym, a stężenie w łożysku było znacznie niższe niż we krwi pępowinowej i we krwi matki. Można więc wysnuć wniosek, iż nie ma zjawiska kumulacji antybiotyku w tkance łożyskowej, przez którą penetruje on z dużą łatwością. Potwierdzają to również badania Matsuda i Takase [7,8], którzy stwierdzili, że po podaniu doustnym 250 mg amoksycyliny osiąga ona maksymalne stężenie we krwi pępowinowej po 2 godzinach - średnio 2,2 ug/ml. Należy pamiętać, że zawartość leku we krwi matki była bardzo podobna do zawartości w płynie owodniowym, a używając metody mikrobiologicznej badaliśmy stężenie aktywnego antybiotyku. Pamiętając, iż wszystkie próbki były pobierane w niemalże jednakowym czasie, a antybiotyk wydalany jest przez nerki (płodu) w 60% w formie aktywnej, jak wyjaśnić to podobieństwo stężeń? Istnieją dwie możliwości - jedna z nich dotyczy wydalania leku przez płód, druga penetracji przez błony płodowe. Obie wydają się być prawdopodobne. Metabolizm amoksycyliny był badany u ludzi dorosłych, natomiast płód może wydalać większą ilość antybiotyku w postaci niezmienionej z powodu niedojrzałości układów enzymatycznych oraz układu wydalniczego. Z drugiej jednak strony jeżeli antybiotyki B-laktamowe charakteryzują się bardzo dobrą penetracją do tkanek, dlaczego więc miałyby nie przechodzić przez błony płodowe? Teoria ta dodatkowo znajduje uzasadnienie w wynikach naszego badania, w którym w miarę wzrostu wieku pacjentki, a co za tym idzie postępujących patologicznych zmian w naczyniach krwionośnych, stężenie leku w płynie owodniowym było niższe. Gorsza penetracja poprzez zmienione tkanki tłumaczy, dlaczego stężenie amoksycyliny we krwi pępowinowej i łożysku nie różniło się zasadniczo w zależności do wieku. Prawdopodobnie oba mechanizmy mogą występować jednocześnie, ale z pewnością wymaga to dalszych badań.

ity to MRSA (meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*). In this form it is used in treatment of urinary tract infections, skin infections, endometritis and pelvic infections [2]. It is important that co-amoxiclav is the only orally given form of compound of aminopenicillin with beta-lactamase inhibitor [1].

American College of Obstetricians and Gynecologists recommends to use amoxicillin in pregnant woman in case of chlamydiosis as prophylaxis of bacterial endocarditis [4].

In our study amoxicillin presented very good penetration to tissues. The mean concentration of this antibiotic in amniotic fluid was  $3.12 \pm 1.9$  ug/g, in placenta -  $1.54 \pm 0.89$  ug/g, in maternal blood -  $3.14 \pm 0.62$  ug/ml, in fetal blood -  $4.10 \pm 1.04$  ug/ml.

No statistically significant differences were seen in amoxicillin concentrations in fetal blood, maternal blood and amniotic fluid. Placental amoxicillin concentration was significantly lower than in fetal and maternal blood. We could speculate, that amoxicillin does not cumulate in placenta, though it penetrates through it very well. Matsuda and Takase [7,8] studies confirmed this observation. They estimated that after oral administration of 250 milligrams of amoxicillin it had reached maximal concentration in umbilical blood after two hours – mean concentration was 2.2 ug/ml. It should be remembered that maternal blood concentration of this antibiotic was similar to that in amniotic fluid, and as we used microbiological method, we estimated the concentration of active fraction of antibiotic. All samples were taken nearly at the same time and antibiotic is excreted through (fetal) kidneys in active form up to 60%, so how to explain this similarity of concentrations? There are two possibilities – one refers to excretion of drug by fetus, another one – the penetration through amniotic membranes. Two of them seem possible. The metabolism of amoxicillin was investigated in adults, but the fetus may excrete an increased amount of antibiotic in unchanged form because of immaturity of enzyme systems and excretory system. On the other hand, if beta-lactamic antibiotics are characterized by very good penetration to tissues, why should not they penetrate through amniotic membranes? This theory finds its confirmation in the results of our study. As the age of the patient increased, the drug concentration in amniotic fluid decreased. Probably the tissue permeability decreases with the age. Simultaneously the maternal age did not impact the amoxicillin concentration in fetal blood and placenta. Probably both mechanisms may play the role, but it certainly needs further investigations.

W pracy stwierdzono również, iż stężenie antybiotyku w tkance łożyskowej jest statystycznie wyższe u płodów płci żeńskiej (średnio  $1,86 \pm 0,19$  ug/g) w stosunku do płodów płci męskiej (średnio  $1,18 \pm 0,2$  ug/g),  $p=0,021$ . Niestety i ta zależność jest dla nas niejasna. Być może w tym przypadku wpływ mają czynniki hormonalne, których nie znamy.

U 22% badanych pacjentek stwierdzono zakażenie w kanale szyjki macicy. Najczęściej, w 62% izolowano *Streptococcus agalactiae* (GBS- Group B Streptococcus), w każdym przypadku wrażliwego na amoksyycylinę. GBS można podzielić na serotypy: Ia, Ib, II-IV [9,10]. Największe znaczenie w położnictwie ma typ III, który jest przyczyną ponad 60% wszystkich zakażeń noworodków i 80-90% zapaleń opon mózgowo-rdzeniowych w tej grupie [9]. U zdrowych osób *Streptococcus agalactiae* występuje w przewodzie pokarmowym, jamie ustnej, jamie nosowo-gardłowej, pochwie. Bakteria kolonizuje drogi moczowo-płciowe kobiet ciężarnych w 5-50% przypadków [11,12], w Polsce w ok. 20% [13]. Infekcja wewnątrzrodniowa może być przyczyną m.in. poronienia lub wewnątrzmacicznej śmierci płodu [10,14]. Yancey i wsp.[11] stwierdzili, że kolonizacja matki jest niezależnym czynnikiem ryzyka wystąpienia posocznicy u noworodka. Przeniesienie patogenu ze skolonizowanej matki na dziecko występuje w od 40% do 75% przypadków [15], a choruje ok. 1-2% dzieci urodzonych z matek, które są nosicielkami GBS [10]. Śmiertelność w tej grupie wynosi od 20 do 80% [11]. W pierwszym tygodniu życia zakażenie występuje najczęściej pod postacią posocznicy i zapalenia płuc, a między 1 a 8 tygodniem manifestuje się, jako posocznica i zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych [11,16]. Jest to więc istotny problem położniczy i wskazanie do zastosowania aminopenicylin. Bardzo dobra penetracja amoksyycyliny do tkanek może w tym przypadku, jak również przy występowaniu innych patogenów, wewnątrzmacicznie zmniejszyć ryzyko powikłań u płodu [4].

Podsumowując należy powiedzieć, iż konieczne są dalsze badania, które pozwolą odpowiedzieć na pytania, które dzisiaj nas nurtują. W najbliższym czasie planujemy kolejne badania kliniczne z użyciem amoksyycyliny, tym razem oceniające jej penetrację do tkanek po podaniu doustnym i dopochwowym, celem określenia najlepszego sposobu podawania.

## WNIOSKI

1. Stężenie amoksyycyliny we krwi płodu 2 godziny po podaniu dożylnym nie różni się statystycznie od stężenia we krwi matki.
2. Nie dochodzi do kumulacji amoksyycyliny w łożysku, a jej stężenie w tej tkance jest o około 50% niższe niż w płynie owodniowym, krwi matki i krwi płodu.
3. Typ konstytucjonalny oraz choroby ciężarnej nie mają istotnego wpływu na zawartość amoksyycyliny w tkankach.

In our study we also established that the antibiotic concentration in placenta is significantly higher in female fetuses ( mean values  $1.86 \pm 0.19$  ug/g) comparing to male fetuses (mean values  $1.18 \pm 0.2$  ug/g),  $p=0.021$ . Also this dependence is unclear to us. Hormonal factors may play role, but we did not examine them.

In 22% patients from our study cervical culture revealed the presence of pathogens. The most often isolated microorganism was *Streptococcus agalactiae* (GBS - Group B Streptococcus), in 62%, in every case susceptible to amoxicillin. GBS may be divided into certain serotypes: Ia, Ib, II-IV [9,10]. The most important in obstetrics is type III, which causes more than 60% of all neonatal infections and 80-90% of meningitis in neonates [9]. In healthy people *Streptococcus agalactiae* is present in gastrointestinal tract, oral cavity, nasopharyngeal cavity, vagina. These bacteria colonize urogenital tracts of pregnant women in 5 to 50% [11,12], in Poland in about 20% [13]. Intraamniotic infection may cause abortion or intrauterine death [10,14]. Yancey and al.[11] stated that maternal colonization is independent risk factor for neonatal sepsis. The transmission of pathogen from colonized mother to her baby happens in 40 to 75% [15] and 1-2% of children of GBS-mothers is ill [10]. The mortality in that group is estimated from 20 to 80% [11]. In the first week of life GBS infection causes sepsis and pneumonia, between 1<sup>st</sup> and 8<sup>th</sup> week of life it is manifested as sepsis and meningitis [11,16]. It is very important obstetric problem and indication to introduce aminopenicillins. Very good penetration of amoxicillin to tissues may in such cases decrease intrauterine risk of fetal complications, as well as the risk connected to the presence of other pathogens [4].

In summary, further investigations are needed to answer the questions that are important for obstetricians. We are planning several researches with the use of amoxicillin, administered orally and vaginally, to estimate the penetration to tissues, to define the best way of administration.

## CONCLUSIONS

1. The concentration of amoxicillin in fetal serum 2 hours after intravenous administration to its mother does not differ from maternal serum concentration.
2. Amoxicillin does not cumulate in placenta, its concentration in placenta is about half of its concentration in amniotic fluid and fetal and maternal serum.
3. The complications of pregnancy and the constitutional type of mother have no impact on amoxicillin concentration in tissues.

## Piśmiennictwo / References:

1. **Miller EL.** The penicillins: a review and update. *J of Midwifery and Women's Health* 2002; 47:426-433.
2. **Oshiro BT.** The semisynthetic penicillins. *Prim Care Update OB/Gyn* 1999; 6:56-60.
3. **Raynor BD.** Penicillin and ampicillin. *Prim Care Update OB/Gyn* 1997; 4:147-152.
4. **ACOG educational bulletin.** Antimicrobial therapy for obstetric patients. *Int J of Gynecol Obstet* 1998; 61:299-308
5. **Kundrat W.** Methoden zur Bestimmung von Antibiotika-Rückständen in tierischen Produkten. *Z Anal Chem* 1968. 624-630.
6. **Czeizel AE, Rockenbauer M, Olsen J.** Use of antibiotics during pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998; 81:1-8.
7. **Matsuda S, Tauno M, Kashiwagura T, Seida A.** Fundamental and clinical status on BRL25000 (clavulanic acid-amoxicillin) in the field of obstetrics and gynecology. *Chemiotherapy* (Tokyo) 1992; 30(Suppl.2.):538-47.
8. **Takase Z, Shirafuji H, Uchida M.** Clinical status on BRL25000 (clavulanic acid-amoxicillin) in the field of obstetrics and gynecology. *Chemiotherapy* (Tokyo) 1982; 30(Suppl.2.):579-86.
9. **Garland S.M, Ni Chuileannain F, Satzke C, Robins-Browne R.** Mechanisms, organisms and markers of infection in pregnancy. *J of Reprod Immunol* 2002; 57:169-183.
10. **Schuchat A.** Group B streptococcus. *Lancet* 1999; 353:51-56.
11. **Virella G.** Mikrobiologia i choroby zakaźne. Wyd. Med. Urban & Partner, Wrocław.
12. **Yancey MK, Duff P, Kubilis P, Clark P, Horn Frentzen B.** Risk Factors for Neonatal Sepsis. *Obstet Gynecol* 1996; 87:188- 194.
13. **Kowalska B, Niemiec KT, Drejewicz H.** Częstość występowania kolonizacji paciorkowcami b hemolizującymi grupy B kobiet ciężarnych i noworodków – określana na podstawie badań przeprowadzonych u pacjentek Polikliniki i Kliniki Położnictwa i Ginekologii Instytutu Matki i Dziecka. *Gin Pol* 2003; 10:1223-1227.
14. **Goldenberg RL, Thompson C.** The infectious origins of stillbirth. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189:861-873.
15. **Clay LS.** Group B Streptococcus in the perinatal period. *J of Nurse-Midwifery* 1996; 41:355-363.
16. **Spiellerberg B.** Pathogenesis of neonatal Steeptococcus agalactiae infections. *Microbes and Infection* 2002; 2:1733-1742.