

Rational or irrational antibiotherapy: the quiet voice of antibiotic resistance debate.



ASSIST PROF. DR. NUVEE PRAPASARAKUL
DEPT. VET MICRO, FAC VET SCI, CU

TOPIC CONCERNING ANTIBIOTIC USE.



Microbes.
Antimicrobials.
Sensitivity detection.
Situations in Thailand.
Rational antibiotherapy.
Impact on human pathogens.

Clinical Resistance is a Multifactorial Issue

• HOST

Immune status
Site of infection
Severity of infection
Foreign devices
Noncompliance with drug regimen

• Organisms

Initial MIC
Cell type: Bacteria/Yeast/hyphae..
Genomic stability
Biofilm production
Population bottlenecks

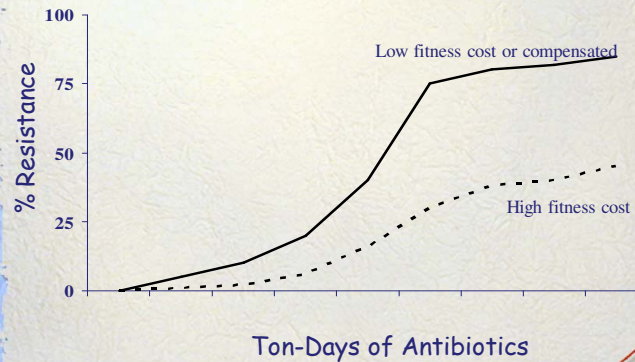
• DRUG

Efficacy nature
Dosing
Pharmacokinetics
Drug-drug interactions

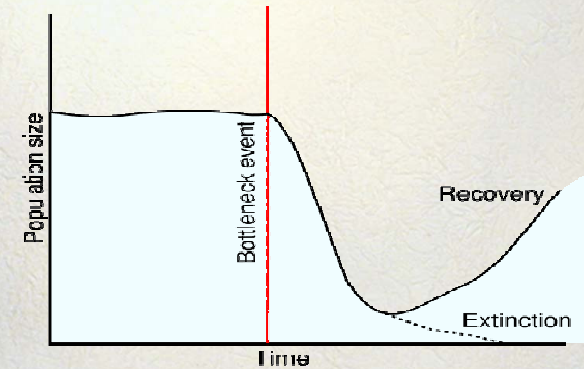
Most Common Bacterial Pathogens.

- *Mycobacterium tuberculosis*
- Enterics (*Salmonella enterica*, *Shigella sp.*, *E. coli*)
- *Staphylococcus aureus*
- *Streptococcus sp.* (*S. pneumoniae*, *S. pyogenes*)
- *Neisseria sp.* (*N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*)
- *Hemophilus sp.*

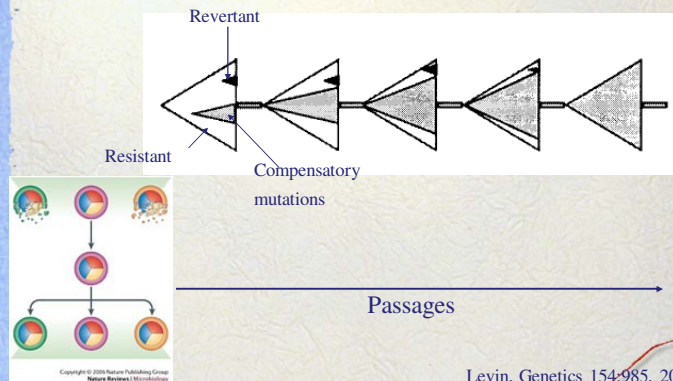
Selective Pressure



Population bottleneck (genetic bottleneck)



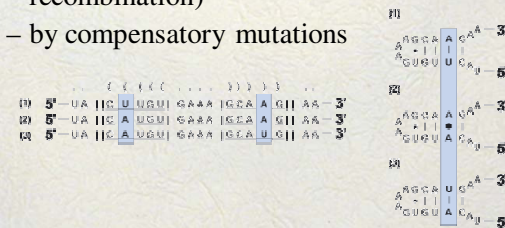
Effect of Bottleneck on Emergence of Compensatory Mutations

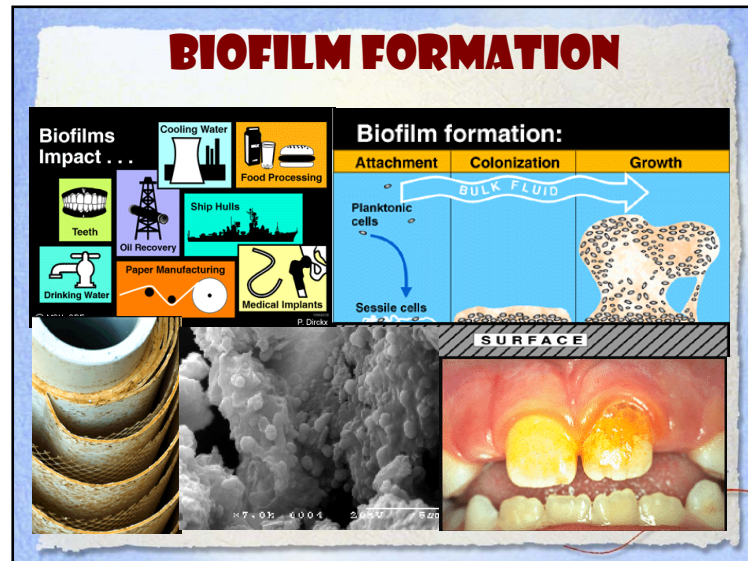


Levin, Genetics 154:985, 2000

Compensatory Mutations

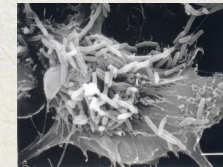
- Wild-type is best adapted, most fit.
- Mutation (or acquisition of resistance genes) comes at a cost.
- Cost can be compensated by
 - loss of resistance (by reversion or recombination)
 - by compensatory mutations





Biofilm (Anton van Leeuwenhoek in 1684)

- Biofilm = a microbial community attached to a surface
- May be one or several organisms
- Sessile organisms: attached
- Planktonic organisms: free living



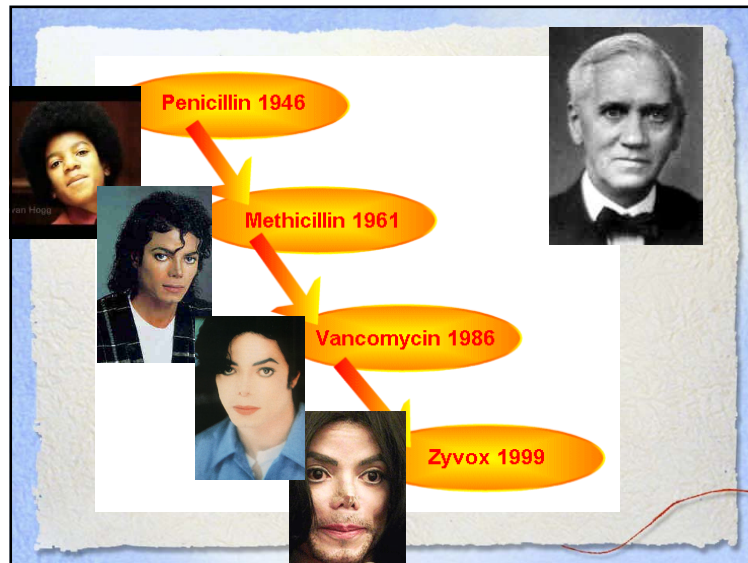
Benefits of Biofilm Formation to Bacteria

- Adherence to hospitable locale
- Syntrophic metabolism
- Horizontal gene transfer
- Disease reservoir



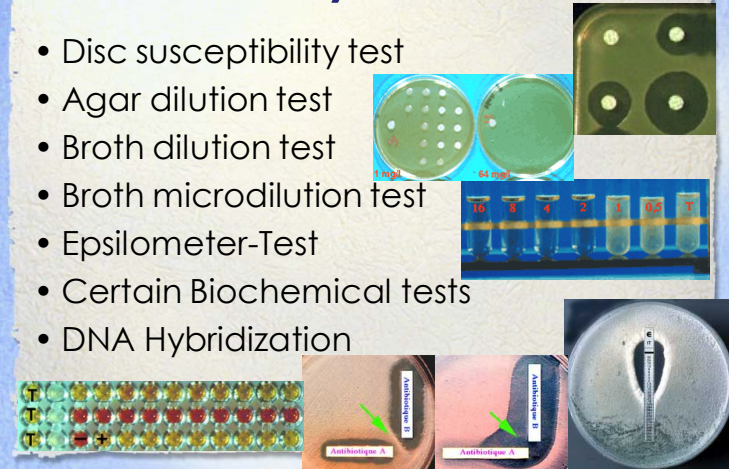
Antimicrobial Resistance

- 10^3 - 10^4 higher doses of antimicrobials needed to kill biofilm compared with planktonic organisms
- Biofilm is a molecular filter
- Low metabolism of attached cells
- Reduces drug activity

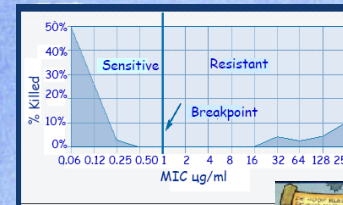
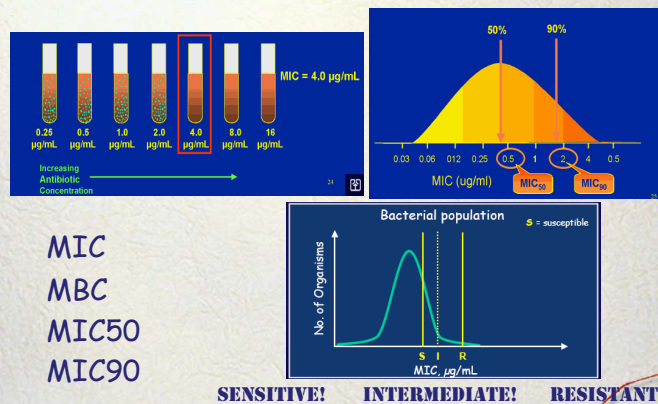


Sensitivity Detection

- Disc susceptibility test
- Agar dilution test
- Broth dilution test
- Broth microdilution test
- Epsilometer-Test
- Certain Biochemical tests
- DNA Hybridization



Minimal Inhibitory Concentration



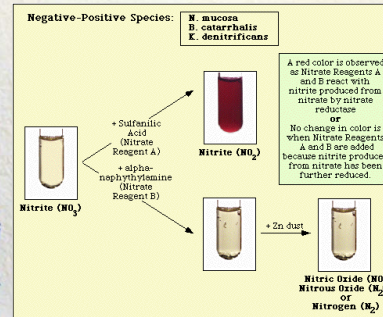
- No international agreement on breakpoints for interpretation of antimicrobial susceptibility test.

A conflict of breakpoint

SUA National Committee for Clinical Laboratory

	Cefotaxime (µg/L)	B/point	Ciprofloxacin	B/point		
	Old Breakpoints			New Breakpoints		
	S	I	R	S	I	R
Penicillin	≤ 0.06	0.12-1	≥ 2	< 1	2	≥ 4
Amoxicillin	≤ 0.5	1	≥ 2	≤ 2	4	≥ 8
Amoxiclav	≤ 0.5	1	≥ 2	≤ 2	4	≥ 8
Ceftriaxone	≤ 0.5	1	≥ 2	≤ 1	2	≥ 4
Cefuroxime	≤ 0.5	1	≥ 2	≤ 1	2	≥ 4
	[NCCLS: M2-A4]			[NCCLS: M2-A5]		

NITRATE REDUCTASE ASSAY FOR DETECTION OF DRUG RESISTANCE IN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*: SIMPLE AND INEXPENSIVE METHOD FOR LOW-RESOURCE LABORATORIES



The NRA was easy to perform and represents a useful tool for rapid and accurate determination of drug-resistant *M. tuberculosis* strains in low-resource countries.

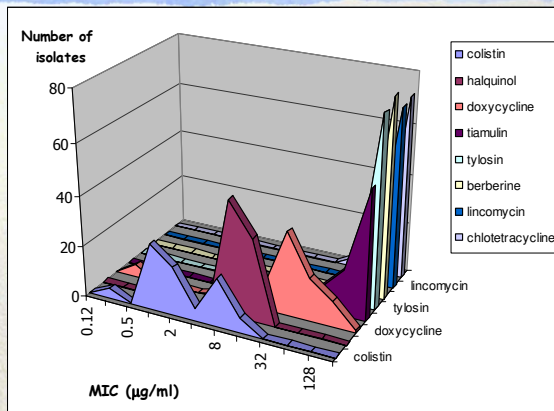


Fig.1 Distribution pattern of MIC value of 78 *E. coli* isolates against 8 antimicrobial agents.

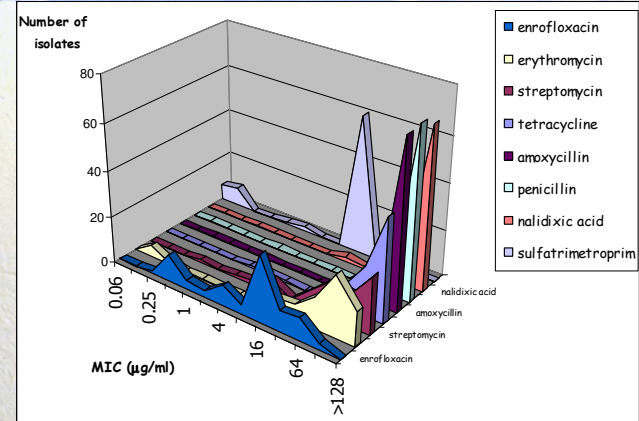


Fig.2 Distribution pattern of MIC value of *E. coli* isolates against 8 antimicrobial agents.

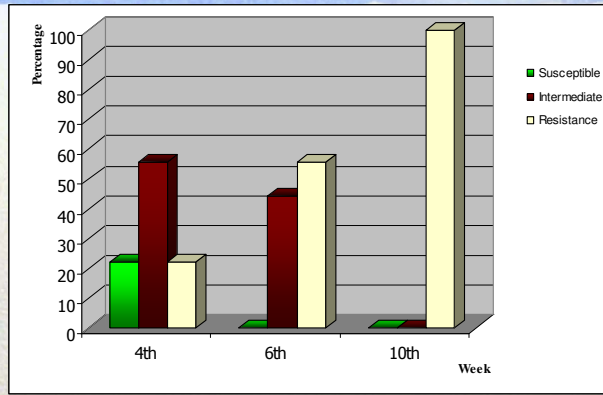


Fig.3 Susceptibility level of field isolates of *E. coli* against colistin by Agar dilution method.
(Breakpoint ≥ 8 mg/ml)

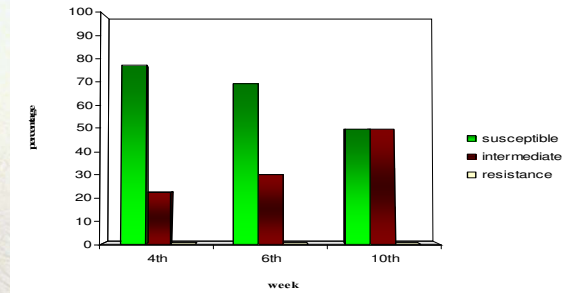


Fig.4 Susceptibility level of 78 field isolates of *E. coli* against colistin by disc diffusion method

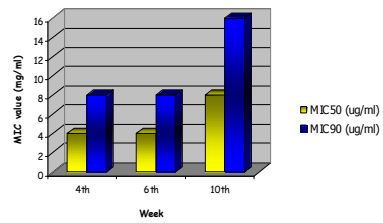


Fig. 2 Comparison of MIC values among *E. coli* isolates at 4th, 6th and 10th week of colistin group against colistin.

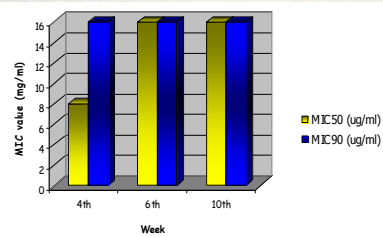


Fig. 3 Comparison of MIC values among *E. coli* isolates at 4th, 6th and 10th week of halquinol group against halquinol.

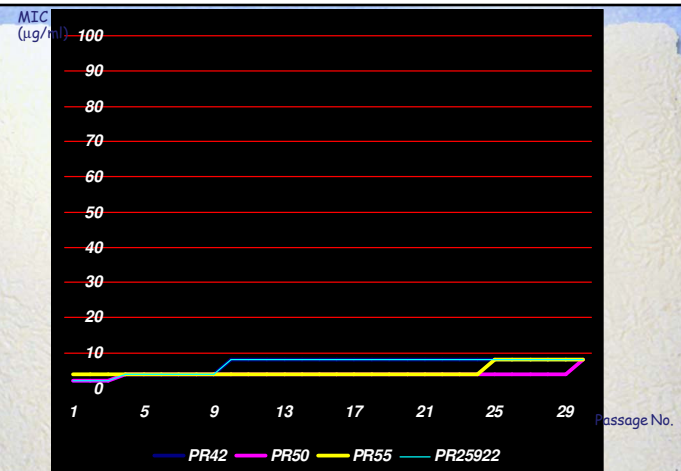
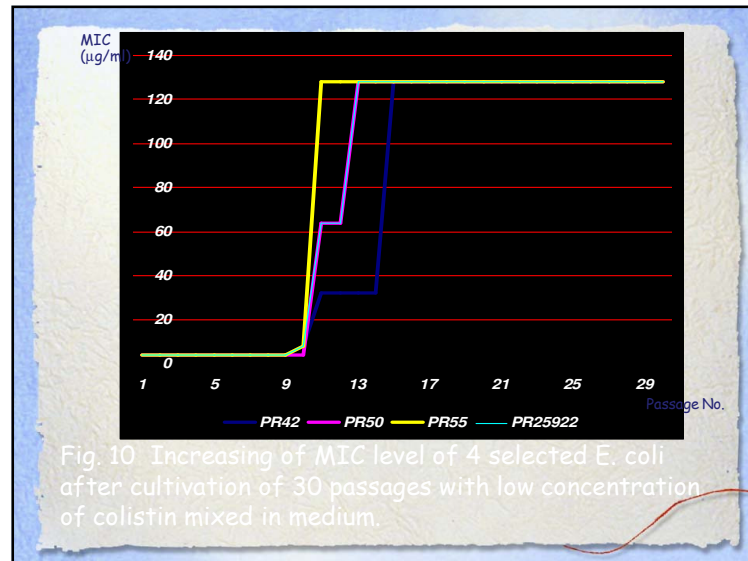


Fig. 9 MIC level of 4 selected *E. coli* after cultivation of 30 passages without antimicrobial condition.



Research problems

- Laboratory detection for pathogenic *E. coli* is routinely interpreted by producing the hemolytic zone on blood agar, even the zone can not represent in all pathogenic isolates.
- Therefore, minimal inhibitory concentration (MIC) values or other susceptibility interpretation yielded from the non-pathogenic *E. coli* may not reflect a real representative value.

Table 1 Antimicrobial susceptibilities of 116 *E. coli* divided as PEC and Non-PEC isolates to the 16 agents

Antimicrobials	MIC ₅₀		MIC ₉₀		Range of NPEC (μg/ml)	Range of PEC (μg/ml)
	NPEC (μg/ml)	PEC (μg/ml)	NPEC (μg/ml)	PEC (μg/ml)		
Amoxicillin	>512	>512	>512	>512	>512	>512
Berberine	>512	>512	>512	>512	>512	>512
Colistin	1	8	8	16	0.25-8	4-32
Chlortetracycline	>512	>512	>512	>512	>512	>512
Doxycycline	32	32	32	64	0.125-128	4-128
Erythromycin	64	64	128	128	0.125-128	32-128
Enrofloxacin	16	16	16	32	0.5-64	0.5-128
Halquinol	8	32	16	32	8-16	8-32
Lincomycin	>512	>512	>512	>512	>512	>512
Nalidixic	>512	>512	>512	>512	>512	>512
Penicillin	>512	>512	>512	>512	>512	>512
Streptomycin	64	128	128	128	8-256	16-256
Tetracycline	128	128	128	128	64-128	64-256
Tiamulin	128	128	128	128	64-128	64-256
Tylosin	>512	>512	>512	>512	>512	>512
Sulfamethoxazole/Trimethoprim	>8/152	>8/152	>8/152	>8/152	0.06/1.19	0.06/1.19

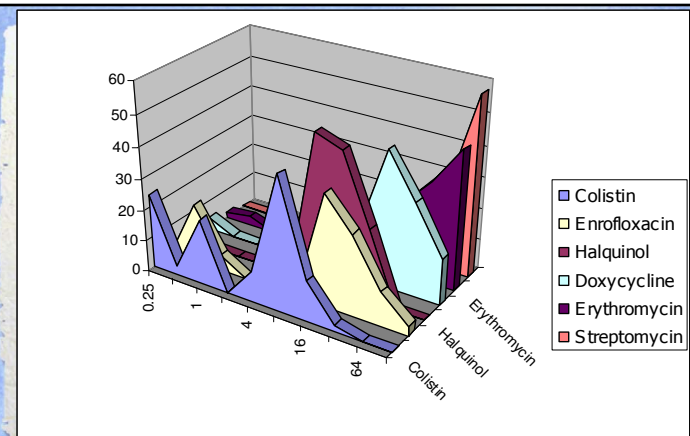


Fig 5. Distribution of MIC values of 116 *E. coli* isolated from piglets against the 6 antimicrobials.

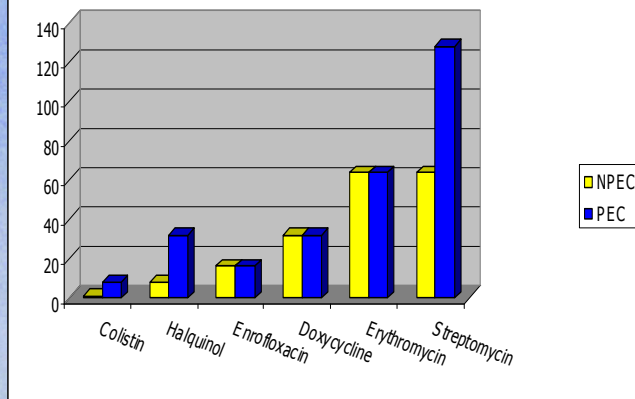


Fig 9. Comparison of MIC 50 of *E. coli* isolated from normal pigs (Gr1) and pigs with diarrhea (Gr2) against the 6 antimicrobials.

In vitro susceptibility test

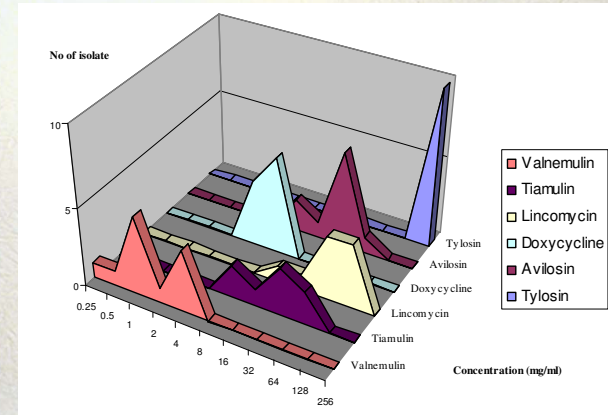


Table 2. Comparison of MIC50 of the antimicrobials for *B. hyodysenteriae* isolated between 2001 and 2003.

Antimicrobial agents	MIC50 ($\mu\text{g/ml}$)	
	2001	2003
Tylosin	512	>512
Lincomycin	64	64
Valnemulin	0.25	2
Doxycycline	-	8
Actylisovaleryltylosin	-	32
Tiamulin	2	32

In vitro sensitivity of 5 antimicrobial agents and drug combinations against porcine respiratory bacterial pathogens 2007.

ตารางที่ 1 ค่า MIC₅₀ และช่วงของค่า MIC ของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคที่ระบบทางเดินหายใจสูดต่อสารต้านจุลชีพ 5 ชนิด

สารต้านจุลชีพ	MIC (μg/ml)	อีโมฟิลาส พาราซูอิส	แอคติโนบาซิลลัส ฟลูโรนิวโมเนีย	สเตรปโตคอคคัส	พาสตูเลลลา มัลโดซิตา
ไทโลซิน	MIC ₅₀ Range	8 1-128	8 4-64	64 32-128	64 8-64
อะมอกซิซิลิน	MIC ₅₀ Range	64 2-128	32 16-128	128 64-128	128 128
ไทอะมูลิน	MIC ₅₀ Range	8 1-32	16 4-32	8 2-16	8 8-16
ลินโคมัยซิน	MIC ₅₀ Range	64 16-128	128 64-128	128 32-128	64 32-128
คล็อกซิซัยคลิน	MIC ₅₀ Range	16 1-32	16 16-32	16 8-32	4 4

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบค่า MIC₅₀ และช่วงของค่า MIC ของคล็อกซิซัยคลินและไทอะมูลินระหว่างชนิดเดี่ยวและผสมร่วมกัน

เชื้อแบคทีเรีย	MIC ₅₀ (μg/ml)	คล็อกซิซัยคลิน		ไทอะมูลิน	
		ชนิดเดี่ยว	สองชนิดผสม	ชนิดเดี่ยว	สองชนิดผสม
อีโมฟิลาส พาราซูอิส	MIC ₅₀	16	0.125	64	0.5
	Range	1-32	0.625-0.5	64-128	0.5-1
แอคติโนบาซิลลัส ฟลูโรนิวโมเนีย	MIC ₅₀	16	0.5	16	4
	Range	16-32	0.125-4	4-128	0.5-16
สเตรปโตคอคคัส	MIC ₅₀	16	8	8	2
	Range	8-32	0.25-16	2-16	0.25-8
พาสตูเลลลา มัลโดซิตา	MIC ₅₀	4	1	8	1
	Range	4	0.00391-2	8-16	0.125-16

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบค่า MIC₅₀ และช่วงของค่า MIC ของอะมอกซิซิลินและไทอะมูลินระหว่างชนิดเดี่ยวและผสมร่วมกัน

เชื้อแบคทีเรีย	MIC ₅₀ (μg/ml)	อะมอกซิซิลิน		ไทอะมูลิน	
		ชนิดเดี่ยว	สองชนิดผสม	ชนิดเดี่ยว	สองชนิดผสม
อีโมฟิลาส พาราซูอิส	MIC ₅₀	64	2	64	2
	Range	2-128	0.25-4	64-128	1-4
แอคติโนบาซิลลัส ฟลูโรนิวโมเนีย	MIC ₅₀	32	4	16	2
	Range	16-128	0.25-8	4-128	1-4
สเตรปโตคอคคัส	MIC ₅₀	128	64	8	2
	Range	64-128	0.5-128	2-16	0.5-8
พาสตูเลลลา มัลโดซิตา	MIC ₅₀	128	4	8	2
	Range	128	0.25-64	8-16	2-64

ตารางที่ 3 แสดงค่า Fractional Inhibitory Concentration ของคล็อกซิซัยคลินและไทอะมูลิน

เชื้อแบคทีเรีย	จำนวนตัวอย่าง	ผลรวม		
		เสริมฤทธิ์กัน (FIC ≤ 0.5)	ไม่เสริมฤทธิ์กัน (0.5 < FIC ≤ 4)	ออกฤทธิ์หักล้างกัน (FIC > 4)
อีโมฟิลาส พาราซูอิส	11	11	0	0
แอคติโนบาซิลลัส ฟลูโรนิวโมเนีย	7	7	0	0
สเตรปโตคอคคัส	5	1	4	0
พาสตูเลลลา มัลโดซิตา	5	2	3	0

ตารางที่ 5 แสดงค่า Fractional Inhibitory Concentration ของอะม็อกซิซิลิน และโทอะมูลิน

เชื้อแบคทีเรีย	จำนวน ตัวอย่าง	ผลรวม		
		เสริมฤทธิ์กัน (FIC ≤ 0.5)	ไม่เสริมฤทธิ์กัน (0.5 < FIC ≤ 4)	ออกฤทธิ์หักล้างกัน (FIC > 4)
อีโมฟิแลคัส พาราซูอิส	11	11	0	0
แอคทีโนบาซิลลัส พูโรนิวโรโมเนีย	7	7	0	0
สเตรปโตคอคคัส	5	2	3	0
พาสตุเลลลา มัลโตซิคา	5	1	4	0

ตารางที่ 6 ความไวของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในระบบทางเดินหายใจต่อสารต้านจุลชีพ 5 ชนิด

สารต้านจุลชีพ	อีโมฟิแลคัส พาราซูอิส (11 ตัวอย่าง)			แอคทีโนบาซิลลัส พูโรนิวโรโมเนีย (7 ตัวอย่าง)			สเตรปโตคอคคัส (5 ตัวอย่าง)			พาสตุเลลลา มัลโตซิคา (5 ตัวอย่าง)		
	S ¹	I ²	R ³	S	I	R	S	I	R	S	I	R
ไคลอิจิน (susceptible breakpoint ≤ 1 µg/ml resistance breakpoint ≥ 4 µg/ml) ⁴	1	3	7	0	0	7	0	0	5	0	0	5
อะม็อกซิซิลิน (susceptible breakpoint ≤ 2 µg/ml resistance breakpoint ≥ 8 µg/ml) ¹	1	2	8	0	0	7	0	0	5	0	0	5
โทอะมูลิน (susceptible breakpoint ≤ 8 µg/ml resistance breakpoint ≥ 16 µg/ml) ⁴	10	0	1	2	0	5	3	0	2	3	0	2
อิมิกะนิน (susceptible breakpoint ≤ 0.5 µg/ml resistance breakpoint ≥ 4 µg/ml) ⁶	0	0	11	0	0	7	0	0	5	0	0	5
คลอซิมัยซิน (susceptible breakpoint ≤ 4 µg/ml resistance breakpoint ≥ 16 µg/ml) ⁶	3	1	7	0	0	7	0	1	4	5	0	0

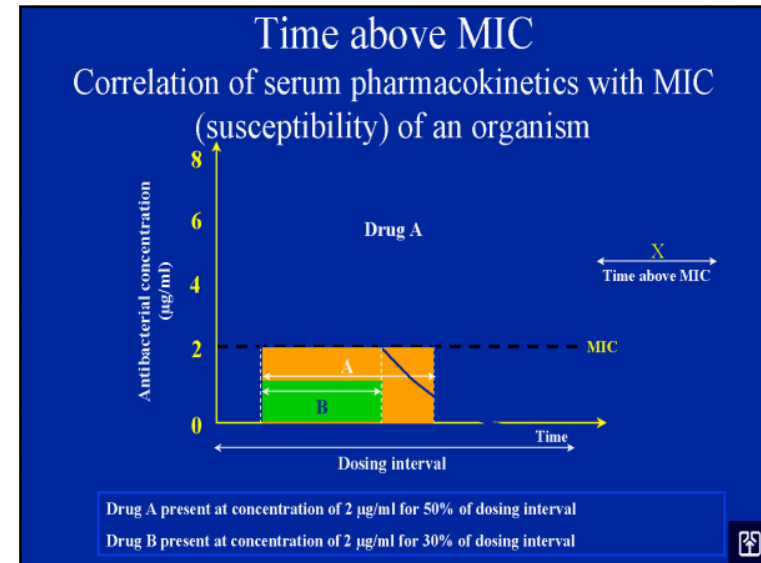
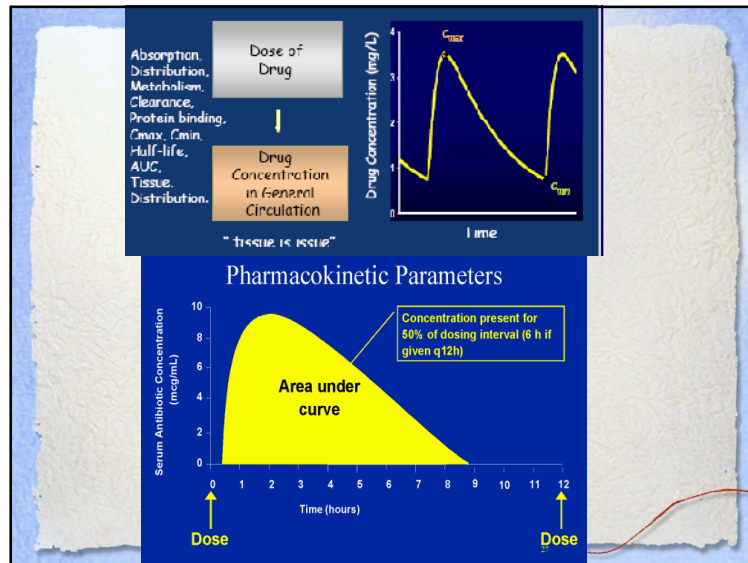
Indications for antibacterial therapy:

- **DEFINITIVE THERAPY:**
- **EMPIRICAL THERAPY:** Septicemic shock, immunocompromised patients with severe systemic infection, neutrophilic leukocytosis,
- **PROPHYLACTIC THERAPY:** *susceptible patients to prevent specific infections:* eg. Colibacillosis prophylaxis, PRDC prophylaxis, Feed additive.

• There is NO single prophylaxis to 'prevent' all possible bacterial infections.

Evaluating antibiotic efficacy

- Pharmacokinetics
 - Serum concentration profiles
 - Penetration to site of infection
- Pharmacodynamics
 - Susceptibility (MIC) (Potency)
 - Concentration and time dependent killing
 - Post antibiotic effect (PAE)



Principle concentration-dependent and time-dependent antibiotics

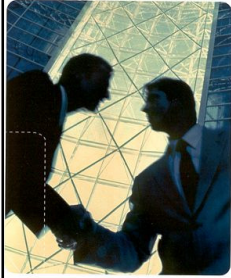
- Dose-dependent antibiotics
 - Aminoglycosides Most
 - Amoxycillin *E. coli* and *Streptococci*
 - Fluoroquinolones Gram negative
- Time-dependent antibiotics
 - Penicillin G Most
 - Cephalosporins Most
 - Fluoroquinolones Gram positive
 - Macrolides and their related Most

Combination of antibiotics

- Benefit..
 - Increase in activity
 - Reduced of development of DNA resistance
 - Complementary mode of tissue diffusion
 - Reduce toxicity



HOW TO BE A SYNERGISM



- A increase wall permeability produced by B
 - B-lactam ♥ aminoglycoside
- A and B blocking one of the bacterial metabolism pathway at two successive points
 - Trimethoprim ♥ Sulphonamide
- A inactive enzyme which inhibit B
 - Amoxycillin ♥ Clavulanic acid

HOW TO BE ANTAGONISM



- A inhibit the protein that be required by B.
 - Macrolide, tetracyclines VS B-lactam and quinolones
- A inhibit influx (active transport) of B
 - Tetracyclines VS aminoglycoside
- A induce enzyme which inhibit B
 - Cephalosporins VS other cephalosporins



Point to remember for veterinarians



- Its spectrum (broad or narrow, gram+ or gram -)
- Consider on MIC (The best guide by MIC90)
- Type of action
- Type of bactericidal activity: time or dose-dependent
- Their combination effect.
 - Bacteriostatic and B-lactam should be avoid.



Antibiotherapy:

Strike Quickly



Strike hard



A long time