

EFFICACY OF FOSFOMYCIN ALONE AND IN COMBINATION WITH CARBAPENEMS AGAINST CARBAPENEMS-RESISTANT *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* CLINICAL ISOLATES

BENJAPORN KUNAKONVICHAYA 5437069 PYBS/M

M.Sc. (BIOPHARMACEUTICAL SCIENCES)

THESIS ADVISORY COMMITTEE : MULLIKA T CHOMNAWANG, Ph.D., KRIT THIRAPANMETHEE, Dr. Pharm. Sci.

ABSTRACT

Pseudomonas aeruginosa has been found to be highly infectious in nosocomial infected patients, particularly in immunocompromised patients. The patients infected with this bacterium are mostly difficult to treat due to the resistance development of the bacteria. Carbapenems are β -lactam agents with a high potency for bacterial infection. The efficacy of carbapenems is effective against Gram-positive and Gram-negative bacteria. Currently, the increasing occurrences of carbapenems resistance phenomena have been reported in many countries. The aims of this study were to determine the efficacy of fosfomycin alone and in combination with carbapenems against seventy carbapenems-resistant *P. aeruginosa* isolates. The best characteristics of fosfomycin are less toxicity, the ability to inhibit a broad spectrum of bacteria and the capability to enhance the synergy. Therefore, fosfomycin is an interesting antibiotic to study the efficacy of the combination antibiotic effect with carbapenems.

In this study, seventy carbapenems-resistant *P. aeruginosa* clinical isolates were firstly examined for their on susceptibility to fosfomycin, meropenem, imipenem, and doripenem using the broth microdilution method. The results of this experiment showed that the MIC ranges of fosfomycin, meropenem, imipenem, and doripenem were 8 - >1024, 8 - 256, 2 - 256, and 1 - >256 μ g/ml, respectively. It was found that MIC₉₀ of fosfomycin were more than 1024 μ g/ml and MIC₉₀ of all carbapenems were 64 μ g/ml. In synergy testing, the combination between fosfomycin and doripenem indicated the maximum percentage of synergistic at about 45.71%, followed by the combination of fosfomycin with meropenem and fosfomycin with imipenem at about 40 and 38.57%, respectively. However, the statistical difference was not significant between three groups of combination antibiotics with a 95% confidence interval. The determination of the time-killing rate at various concentrations demonstrated the concentrations of 0.25xMIC and 0.5xMIC at 8 hours in fosfomycin combined with meropenem and imipenem were synergistic. Fosfomycin combined with doripenem showed a synergistic effect at 0.25xMIC after 8 hours and at 0.5xMIC after 4 hours. The bacterial killing rates of these combinations appeared in a concentration-dependent manner. The strains with positive synergy results possessed carbapenems resistance mechanisms by the overexpression of efflux pumps (MexAB and MexXY) and the loss of OprD protein. The time-kill assay indicated that fosfomycin combined with carbapenems showed synergism at 0.25xMIC within 8 hours. Mutation frequency analysis did show no difference between given alone and in combination with antimicrobials. Clear disruption of the bacterial cell wall was observed by SEM at 0.25xMIC after being treated with antimicrobials for 8 hours. Remarkably, combinations between carbapenems and fosfomycin showed anti-biofilm activity. All of these results supported the combination treatment between fosfomycin and carbapenems had promising effects against carbapenems-resistant *P. aeruginosa* strains. Especially, fosfomycin, combined with doripenem, was an interesting alternative option for carbapenems-resistant *P. aeruginosa* infections.

KEY WORDS: CARBAPENEMS-RESISTANT *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* / COMBINATION THERAPY / FOSFOMYCIN

92 pages

ประสิทธิภาพของยาฟอสโฟมัยซินเดี่ยวและเมื่อใช้ร่วมกับยากลุ่มคาร์บาเพนิมส์ต่อเชื้อโคมอส แอโรจิโนซา สายพันธุ์คือต่อยากลุ่มคาร์บาเพนิมส์ที่แยกจากผู้ป่วย

EFFICACY OF FOSFOMYCIN ALONE AND IN COMBINATION WITH CARBAPENEMS AGAINST CARBAPENEMS-RESISTANT *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* CLINICAL ISOLATES

เบญจพร คุณากรวิชญ 5437069 PYBS/M

วท.ม. (เภสัชศาสตร์ชีวภาพ)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: มัลลิกา ชมนาวัง, Ph.D., กฤษณ์ ธีรพันธุ์เมธี, Dr. Pharm. Sci.

บทคัดย่อ

เชื้อโคมอส แอโรจิโนซา ก่อให้เกิดการติดเชื้อในผู้ป่วยที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาลค่อนข้างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ป่วยที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง ผู้ป่วยที่ติดเชื้อจากแบคทีเรียชนิดนี้มักจะพบปัญหาในการรักษาเนื่องจากการพัฒนาการคือยา ยาคาร์บาเพนิมส์จัดเป็นยาปฏิชีวนะแบบตัว-แผลดแผลดที่มีประสิทธิภาพในการรักษาผู้ติดเชื้อแบคทีเรีย การออกฤทธิ์นั้นออกฤทธิ์ได้คือต่อทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ แต่ปัจจุบันพบอุบัติการณ์การคือต่อยาคาร์บาเพนิมส์เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ ในหลายประเทศ วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้เพื่อศึกษาหาประสิทธิภาพของยาฟอสโฟมัยซินเดี่ยว และประสิทธิภาพการใช้ร่วมกับยากลุ่มคาร์บาเพนิมส์ต่อเชื้อโคมอส แอโรจิโนซาที่คือต่อยากลุ่มคาร์บาเพนิมส์ทั้งหมด 70 สายพันธุ์ คุณลักษณะที่โดดเด่นของฟอสโฟมัยซินได้แก่ ความเป็นพิษต่อเซลล์ในระดับต่ำมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้กว้าง และมีความมีประสิทธิภาพในการเสริมฤทธิ์ของยาฟอสโฟมัยซิน ด้วยเหตุนี้จึงส่งผลให้ยาฟอสโฟมัยซินมีความน่าสนใจในการนำมาศึกษาปฏิกิริยาการใช้ร่วมกับยา กลุ่มคาร์บาเพนิมส์

ในการศึกษานี้ ตัวอย่างเชื้อโคมอส แอโรจิโนซาคือต่อยากลุ่มคาร์บาเพนิมส์ทั้งหมด 70 สายพันธุ์ ได้ถูกนำมาทดสอบหาค่าความไวต่อยาฟอสโฟมัยซิน, เมอร์โรเพนิมส์, อิมิพีเนมส์, และโคริทีเนมส์ โดยวิธีการทำการเจือจางในอาหารเหลวระดับไมโคร ซึ่งจากผลการทดลองที่ได้พบว่า ช่วงค่าความเข้มข้นของยาในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสำหรับยาฟอสโฟมัยซิน, เมอร์โรเพนิมส์, อิมิพีเนมส์, และโคริทีเนมส์มีค่าเท่ากับ 8 - >1024, 8 - 256, 2 - 256, และ 1 - >256 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยพบว่าค่าความเข้มข้นของยาในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ร้อยละ 90 ของยาฟอสโฟมัยซินอยู่ที่มากกว่า 1024 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสำหรับยาในกลุ่มคาร์บาเพนิมส์นั้นมีค่าความเข้มข้นของยาในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ร้อยละ 90 อยู่ที่ 64 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในการทดสอบการใช้ยาปฏิชีวนะร่วมเพื่อหาประสิทธิภาพในการเสริมฤทธิ์กัน พบว่าการทดสอบยาร่วมฟอสโฟมัยซินร่วมกับโคริทีเนมส์มีการเสริมฤทธิ์สูงสุดเท่ากับร้อยละ 45.71 ตามด้วยการใช้ร่วมกับเมอร์โรเพนิมส์และอิมิพีเนมส์ คือร้อยละ 40 และ 38.57 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามเมื่อนำผลการเสริมฤทธิ์ที่ได้มาหาค่าความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อนำมาหาอัตราเวลาการเกิดการทำเชื้อแบคทีเรียเพื่อหาเวลาที่สามารถฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.5 เท่าของค่าความเข้มข้นของยาในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ ที่ 8 ชั่วโมง ในการใช้ยาร่วมฟอสโฟมัยซินกับทั้งเมอร์โรเพนิมส์ และอิมิพีเนมส์ สามารถเกิดการเสริมฤทธิ์กันในการฆ่าเชื้อ ยาร่วมฟอสโฟมัยซินกับโคริทีเนมส์พบว่าการเกิดเสริมฤทธิ์กันในการฆ่าเชื้อได้ที่ความเข้มข้น 0.25 เท่าของค่าความเข้มข้นของยาในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ ในการฆ่าเชื้อหลังจากสัมผัสกับยา 8 ชั่วโมง และ 0.5 เท่า หลังจากสัมผัสกับยา 4 ชั่วโมง โดยความสามารถในการฆ่าเชื้อของยาร่วมนี้จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นที่นำไปใช้ สายพันธุ์ที่เกิดการประสิทธิภาพการเสริมฤทธิ์กันมีกลไกการคือต่อยาคาร์บาเพนิมส์ ซึ่งได้แก่ บีบีซยาปฏิชีวนะที่แสดงออกมากเกิน (เมกซ์เอบี และ เมกซ์เอชช่วย) การสูญเสีย โอพีอาร์ดี การหาระยะเวลาที่ที่ยังคงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อพบว่าฟอสโฟมัยซินร่วมกับคาร์บาเพนิมส์แสดงการเสริมฤทธิ์กันที่ค่าความเข้มข้น 0.25 เท่าของค่าความเข้มข้นของยาในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อที่ 8 ชั่วโมง การทดสอบหาค่าความถี่ในการเกิดกลายพันธุ์ของทั้งยาเดี่ยวและยาร่วมค่าที่ได้นั้น ไม่แตกต่างกัน ประสิทธิภาพการทำลายผนังเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ที่ความเข้มข้น 0.25 เท่าของค่าความเข้มข้นของยาในระดับต่ำสุดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อหลังจากสัมผัสกับยาเป็นเวลา 8 ชั่วโมง ยาร่วมระหว่างคาร์บาเพนิมส์และฟอสโฟมัยซินแสดงให้เห็นถึงการทำลายทำลายไป โอพีฟิล์มได้อย่างสิ้นเชิง จากผลการทดลองทั้งหมดได้สนับสนุนการใช้ยาร่วมระหว่างยาฟอสโฟมัยซินกับยาในกลุ่มคาร์บาเพนิมส์ถึงกรณีที่มีประสิทธิภาพในการต่อต้านเชื้อโคมอส แอโรจิโนซาสายพันธุ์ที่คือต่อยากลุ่มคาร์บาเพนิมส์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งยาร่วมฟอสโฟมัยซินกับโคริทีเนมส์นั้นมีความน่าสนใจในการเป็นทางเลือกต่อการคือต่อเชื้อโคมอส แอโรจิโนซาที่คือต่อยาคาร์บาเพนิมส์ได้