รายงานฉบับสั้น

อัตราเร็วของการฆ่าเชื้อ *P. pseudomallei* ด้วยยาปฏิชีวนะสองขนานที่มีประสิทธิภาพสูง

นลินี อัศวโภคี พ.บ., D.T.M.&H.*
สุรภี พฤกษชาติวุฒิ วท.ม. (จุลชีววิทยา)*

เรื่องย่อ โรคติดเชื้อเมลิออยโดสิสชนิดเส็พติศีเมียทั้งที่มีและไม่มีการกระจายของเชื้อไปยังอวัยวะระบบต่างๆ มีอัตราตายสูง. การรักษาที่ได้ผลดีอาจทำได้โดยการให้ยาปฏิชีวนะที่มีประสิทธิภาพสูงและสามารถฆ่าเชื้อได้รวดเร็วขณะที่เชื้อยังอยู่ในกระแสเลือด. ได้ทำการศึกษาการฆ่าเชื้อ *P. pseudomallei* ในหลอดทดลองด้วยวิธี time-kill curve แบบมาตรฐานด้วยยาปฏิชีวนะ 2 ตัวคือ ceftazidime และ piperacillin แล้วพบว่ายาทั้งสองสามารถฆ่าเชื้อด้วยอัตราเร็วที่ใกล้เคียงกันในชั่วโมงที่ 2-8. แต่ในชั่วโมงที่ 24 ceftazidime ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้.

Abstract **Bactericidal rates of two potent antimicrobial agents for *P. pseudomallei***
Aswapokee N, Pruksachatvuthi S.
Department of Medicine, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand.
***J Infect Dis Antimicrob Agents* 1989; 6:109-111.**

Septicemic melioidosis with and without organ dissemination carries high fatality. Potent bactericidal antimicrobial agents may improve the outcome by rapid killing of the organism in circulation. This study determined the killing rates of ceftazidime and piperacillin, two potent antimicrobial agents, for *P. pseudomallei.* It was shown that at times 2 to 8 hours after exposure to both antimicrobial agents, the rates of killing were similar. At 24 hours, however, ceftazidime failed to kill *P. pseudomallei.* The possible mechanisms of this finding are discussed.

โรคติดเชื้อเมลิออยโดสิสในรูปแบบเส็พติศีเมียทั้งที่มีและไม่มีการกระจายของเชื้อไปยังอวัยวะต่างๆ เป็นรูปแบบที่มีอัตราตายสูง.[1] การรักษาโรคนี้ในรูปแบบดังกล่าวให้ได้ผลดี ขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง. ปัจจัยที่สำคัญน่าจะได้แก่ การใช้ยาปฏิชีวนะที่สามารถฆ่าเชื้อที่อยู่ในกระแสเลือดได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งเป็นปัจจัยที่แพทย์สามารถเลือกและกำหนดได้. คณะผู้รายงานได้ศึกษาอัตราเร็วในการฆ่าเชื้อ *P. pseudomallei* ของยาปฏิชีวนะที่มีประสิทธิภาพสูงต่อเชื้อ, เพื่อดูจลนศาสตร์ของยาและเชื้อในระยะเวลา 24 ชั่วโมง. ผลที่ได้น่าจะนำไปประยุกต์ในทางคลินิกในการรักษาโรคและนำไปสู่ความเข้าใจเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะในระดับโมเลกุล.

วัตถุและวิธีการ

ใช้เชื้อ *P. pseudomallei* สายพันธุ์ที่แยกได้จากเลือดของผู้ป่วยโรคเมลิออยโดยสิส 1 สายพันธุ์ (สายพันธุ์ 03) มาทดสอบอัตราเร็วในการฆ่าเชื้อโดยวิธี time-kill curve แบบมาตรฐาน,[2]

*ภาควิชาอายุรศาสตร์, คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

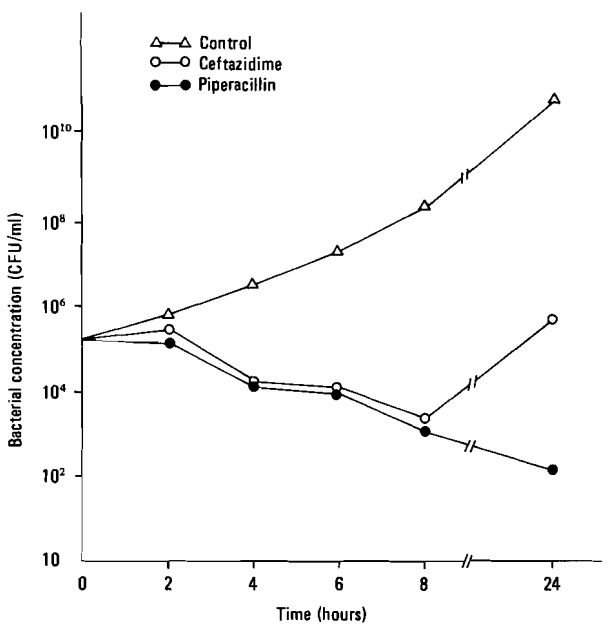
ด้วยยา ceftazidime และ piperacillin.

การทดสอบเริ่มด้วยเชื้อที่มีความเข้มข้นประมาณ 10^5 CFU/มล. ที่เวลา 0 ชั่วโมง. ยาปฏิชีวนะที่ใช้ทดสอบใช้ระดับเท่ากับ 2 เท่าของ MIC ของเชื้อ คือ ใช้ ceftazidime 2 ไมโครกรัม/มล. และ piperacillin 2 ไมโครกรัม/มล. แล้วนับจำนวนเชื้อที่มีชีวิตหลังสัมผัสยาที่เวลา 2, 4, 6, 8 และ 24 ชั่วโมง. การควบคุมการทดสอบใช้เชื้อขนาด 10^5 CFU/มล. ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton, pH 7.2

ผลและวิจารณ์

พบว่าอัตราเร็วในการฆ่าเชื้อ *P. pseudomallei* ของทั้ง ceftazidime และ piperacillin ในชั่วโมงที่ 2, 4, 6 และ 8 ใกล้เคียงกัน, คือเชื้อลดจำนวนจากจุดตั้งต้นที่ 10^5 CFU/มล. เป็น 10^4 CFU/มล. ในชั่วโมงที่ 4, และเป็นประมาณ 10^3 CFU/มล. ในชั่วโมงที่ 8. ในชั่วโมงที่ 2 และ 6 ระดับเชื้อไม่เปลี่ยนแปลงจากชั่วโมงที่ 0 และ 4 ตามลำดับ. ในชั่วโมงที่ 24 พบว่ามีความแตกต่างกันในอัตราการฆ่าเชื้อของยา 2 ตัว. นั่นคือ เชื้อมีการเพิ่มจำนวนจนเท่าเดิม (regrowth) คือเท่ากับจุดตั้งต้น 10^5 CFU/มล. ใน ceftazidime. ส่วน piperacillin นั้นสามารถยับยั้งเชื้อลงได้อีกจำนวนหนึ่งคือในชั่วโมงที่ 24 เชื้อเหลือประมาณ 10^2 CFU/มล. (รูปที่ 1)

จากผลการศึกษาพบว่า *P. pseudomallei* สายพันธุ์ที่มีความไวต่อยาปฏิชีวนะเท่ากันโดยการวัดค่า MIC ต่อยาเบต้าแลคแทมที่ประสิทธิภาพสูงมาก 2 ตัวคือ ceftazidime และ piperacillin



รูปที่ 1 Time-kill curves of *P. pseudomallei* strain 03 in broths containing either ceftazidime or piperacillin.

นั้น, เมื่อศึกษาจลนศาสตร์จากการฆ่าเชื้อด้วยวิธีมาตรฐาน พบว่าเชื้อมีพฤติกรรมต่างกันเมื่อสัมผัสกับยาสองตัวนี้. ยังไม่ทราบถึงกลไกและคำอธิบายที่แน่ชัดสำหรับผลการทดลองนี้. ถึงแม้ว่ายา ceftazidime จะทนทานต่อการทำลายด้วยเอนซัยม์เบต้าแลคแทมเมสทั้งชนิด chromosomal-mediated และ plasmid mediated[3-6] มากกว่า piperacillin, ซึ่งทนทานต่อเอนซัยม์ชนิด chromosomal-mediated เท่านั้น[7,8] การที่เชื้อ *P. pseudomallei* มีการเพิ่มจำนวนจนเท่าเดิม (regrowth) กับ ceftazidime โดยไม่เกิดเหตุการณ์เช่นนี้ขึ้นกับ piperacillin แสดงว่ามีกลไกอื่นทำให้เชื้อไม่มี regrowth ในการทดสอบกับ piperacillin. ปรากฏการณ์นี้น่าจะอธิบายได้โดยแบบจำลองทางจลนศาสตร์ (kinetic model) ของการยับยั้งการเจริญเติบโตและการฆ่าเชื้อ. Nikaido และ Normark[9] พบว่าแบบจำลองทางจลนศาสตร์ของยาปฏิชีวนะกลุ่มเบต้าแลคเทมนั้น เป็น function ของความเข้มข้นของยาเบต้าแลคแทมในช่อง periplasmic ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโดยมีความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับระดับที่สามารถจับกับ penicillin-binding protein (PBP) ได้ร้อยละ 50 (Cinh), กับดรรชนีที่เรียกว่า target access index (TAI) ซึ่งมีค่าเท่ากับอัตราส่วนระหว่าง permeability number (Pn) กับจำนวนของเอนซัยม์เบต้าแลคแทมเมส (Q). เมื่อเขียนเป็นสมการจะได้ว่า

$$\text{MIC} = \text{Cinh}\left(1 + \frac{1}{\text{TAI}}\right)$$

โดยที่

$$\text{TAI} = \frac{\text{Pn}}{\text{Q}}$$

แบบจำลองทางจลนศาสตร์ของ Nikaido และ Normark สามารถนำไปพยากรณ์ค่า MIC ของยาปฏิชีวนะเบต้าแลคแทมได้ถูกต้องประมาณร้อยละ 80 ของยาและเชื้อ, แสดงให้เห็นว่าการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะเป็นกลไกสลับซับซ้อนและเป็น function ของจลนศาสตร์ของปัจจัยหลายอย่างทางด้านยาและเชื้อ. การที่ยา ceftazidime ซึ่งทนทานต่อเบต้าแลคแทมเมสมากกว่า piperacillin กลับทำให้เชื้อมี regrowth โดยยาทั้งสองมีค่า MIC เท่ากันนั้น, เมื่อใช้แบบจำลองทางจลนศาสตร์ของ Nikaido และ Normark มาอธิบาย, อาจเป็นได้ว่า ceftazidime และ piperacillin มีค่า Cinh และค่า TAI ไม่เท่ากัน. Hayer และ Orr[10] รายงานว่าความเข้มข้นของ ceftazidime ที่จะจับกับร้อยละ 50 ของ PBP_3 และ PBP_{1a} และ PBP_{1b} มีค่าเท่ากับ 0.2 และ 3.4-6 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ. ยังไม่มีรายงานถึงความเข้มข้นของยา piperacillin ในการจับกับร้อยละ 50 ของ PBP. Iida และคณะ[11] รายงานว่า piperacillin ขนาดไม่เกิน 25 มก./ลิตร ทำให้เซลล์แบคทีเรียเปลี่ยนรูปร่างเป็น filament แต่ไม่มีการแตกสลาย. ทั้ง ceftazidime และ piperacillin พบว่าสามารถผ่านเข้า barrier ของเซลล์เชื้อแกรมลบได้ดี แต่ด้วยอัตราเร็วที่ต่างกันสำหรับเชื้อแต่ละตัว.[4,12,13] อย่างไรก็ตาม, ยังไม่มีรายงานถึงค่าต่างๆ เหล่านี้ในเชื้อ *P. pseudomallei*.

การใช้แบบจำลองทางจลนศาสตร์ของ Nikaido และ Normark ไม่สามารถอธิบายได้ว่า การที่เชื้อมี MIC เท่ากัน (ถึงแม้จะมีค่าต่างๆ ที่เป็น function ของ MIC ไม่เท่ากัน) ทำไมจึงมีพฤติกรรมต่างกัน. Livermore และ Yang พบว่าค่า MIC ของเชื้อจะเปลี่ยนแปลงไปในเวลาที่เพิ่มขึ้น เมื่อยาที่ใช้มีฤทธิ์เป็น inducer และค่าจะยิ่งสูงขึ้นเมื่อยาเป็น potent inducer.[14] ยา ceftazidime สามารถกระตุ้นให้มีการหลั่งเอนซัยม์เบต้าแลคแทมเมสได้มากกว่า piperacillin.[14] ผลนี้อาจใช้อธิบายได้ว่าในเวลาที่เพิ่มขึ้น, MIC ของ ceftazidime ต่อ *P. pseudomallei* อาจสูงกว่าของ piperacillin.

อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้เป็นเพียงการศึกษาที่ได้จาก *P. pseudomallei* เพียงสายพันธุ์เดียว. ผลการศึกษาจึงไม่สามารถใช้ตัดสินว่าประสิทธิภาพของยาตัวใดจะดีกว่ากัน. ผลการศึกษานี้เป็นเครื่องเตือนให้แพทย์ระลึกถึงความซับซ้อนในกลไกการออกฤทธิ์ของยา. ผลการทดสอบความไวของยาทางห้องปฏิบัติการไม่สามารถนำมาใช้พยากรณ์ผลการรักษาทางคลินิกได้แน่นอน และแพทย์ควรใช้ผลต่างๆ เหล่านี้ด้วยความระมัดระวัง. นอกจากนั้นการประเมินประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะต่างๆ นอกจากจะประเมินในด้านพื้นฐาน เช่น ประสิทธิภาพในการครอบคลุมเชื้อ, เภสัชจลนศาสตร์, พิษวิทยา และการศึกษาทดลองทางคลินิกแล้วนั้น ควรมีการประเมินด้านอื่นด้วย.[15]

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณ นางสาวรัตน์สรา เปรื่องสุวรรณ ในการจัดเตรียมต้นฉบับ.

เอกสารอ้างอิง

1. สมพนธ์ บุณยคุปต์. สถานการณ์ปัจจุบันของโรคเมลิออยโดสิสในประเทศไทย. คลินิก 2529; 2:48-52.
2. Schoenknecht FD, Sabath LD, Thornsberry C. Susceptibility Special tests. In: Lennette EH, Balows A, Howsler WJ, Shadomy HJ. 4th eds. Manual of clinical microbiology. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1985:1000-8.
3. Hart CA, Percival A. Resistance to cephalosporins among gentamicin-resistant klebsiellae. J Antimicrob Chemother 1982; 9:275-86.
4. Jone RN, Barry AL, Thornsberry C, Gerlach EH, Fuchs PC, Gaven TL, Sommers HM. Ceftazidime, a Pseudomonas-active cephalosporin: in vitro antimicrobial activity evaluation including recommendations for disc diffusion susceptibility tests. J Antimicrob Chemother 1981; 8(Suppl B):187-211.
5. Livermore DM, Williams RJ, William JD. Comparison of the β-lactamase stability and in vitro activity of cefoperazone, cefotaxime, cefsulodin, ceftazidime, moxalactam and ceftriaxone against *P. aeruginosa*. J Antimicrob Chemother 1981; 8:323-31.
6. Simpson IN, Plested SJ, Harper PB. Investigation of the β-lactamase stability of ceftazidime and eight other new cephalosporin antibiotics. J Antimicrob Chemother 1982; 9:357-68.
7. Fu KP, Neu HC. Piperacillin, a new penicillin active against many bacteria resistant to other penicillins. Antimicrob Agents Chemother 1978; 13:358-67.
8. Wise R, Andrews JM, Hancox J. SQ 26 776, a novel B-lactam: An in vitro comparison with other antimicrobial agents. J Antimicrob Chemother 1981; 8(Suppl E):39-47.
9. Nikaido H, Normark S. Sensitivity of *Escherichia coli* to various β-lactams is determined by the interplay of outer-membrane permeability and degradation by periplasmic β-lactamases: a quantitative predictive treatment. Molec Microbiol 1987; 153:232-40.
10. Hayer MV, Orr DC. Mode of action of ceftazidime: affinity for penicillin-binding proteins of *Escherichia coli* K12, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother 1983; 12:119-26.
11. Iida K, Hirata S, Nakamuta S, Koike M. Inhibition of cell division of *Escherichia coli* by a new synthetic penicillin, piperacillin. Antimicrob Agents Chemother 1978; 14:257-66.
12. Yokota T, Sekiguchi R. Ceftazidime: penetrability through the outer membrane and the affinity for penicillin-binding proteins of gram-negative bacteria. Chemother 1983; 31(Suppl 3):17-21.
13. Neu HC. Carbenicillin and ticarcillin. Med Clin North Amer 1982; 66:61-77.
14. Livermore DM, Yang YJ. β-lactamase lability and inducer power of newer β-lactam antibiotics in relation to their activity against β-lactamase — inducibility mutants of *Pseudomonas aeruginosa*. J Infect Dis 1987; 155:775-82.
15. นลินี อัศวโภคี. การประเมินคุณค่าของยาปฏิชีวนะกลุ่ม β-lactamase-resistant β-lactam. *ใน:* อุกฤษต์ เปล่งวาณิช, และคณะ. บรรณาธิการ. การประชุมใหญ่ทางวิชาการงานฉลอง 100 ปีศิริราช. กรุงเทพฯ : เมดิคัล มีเดีย, 2531:276-8.