

## การทดสอบ serum bactericidal : ประโยชน์ทางคลินิก

สุรภี พงษ์ชาติวุฒิ วท.ม.\*

การทดสอบ serum bactericidal เป็นวิธีในหลอดทดลองที่วัดประสิทธิภาพของยาต้านจุลชีพโดยพิจารณาว่า ระดับยาด้านจุลชีพในซีรัมของผู้ป่วยสามารถฆ่าเชื้อก่อโรคของผู้ป่วยเองได้ดีเพียงใด วิธีนี้ได้เริ่มรู้จักกันมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2490 โดย Schlichter และ MacLean<sup>1</sup> ซึ่งได้เสนอวิธีการวัดประสิทธิภาพของเพนิซิลลินในการรักษา bacterial endocarditis ซึ่งเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย ทั้งยังไม่ต้องอาศัยเครื่องมือและอุปกรณ์ที่มีราคาแพง หลักการของวิธีนี้คือ เจือจางซีรัมของผู้ป่วยและใส่เชื้อก่อโรคของผู้ป่วยเองเพื่อหาซีรัมที่เจือจางมากที่สุดที่ยังสามารถฆ่าเชื้อก่อโรคได้ หลักการดังกล่าวได้เป็นที่นิยมใช้กันต่อๆ มานานกว่า 30 ปี แต่ก็ยังไม่มีวิธีมาตรฐาน<sup>2,3</sup> ทำให้มีปัญหาในการแปลผล ดังเช่นในปี พ.ศ. 2525 Coleman และคณะ<sup>4</sup> ได้ศึกษาเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่าง serum inhibitory titer และ serum bactericidal titer (SBT) และผลการรักษาในผู้ป่วย bacterial endocarditis โดยรวบรวมรายงานที่ดีที่สุดระหว่างปี พ.ศ. 2491-2523 ได้ 90 ฉบับที่มีผู้ป่วยอย่างน้อย 2 ราย แต่ปรากฏว่ามีเพียง 17 ฉบับซึ่งมีผู้ป่วยรวม 226 รายที่มีข้อมูลพอที่จะนำมาวิเคราะห์ แต่ก็ไม่สามารถสรุปความสัมพันธ์ได้เนื่องจากรายงานแต่ละฉบับมีผู้ป่วยที่มีลักษณะแตกต่างกัน (heterogeneity) วิธีทดสอบที่ดูเหมือนง่ายนี้ก็มีความแปรปรวนมากและวิธีที่แตกต่างกันไปในแต่ละห้องปฏิบัติการ ความแตกต่างที่เกิดขึ้นได้แก่ diluent ซึ่งมีการใช้น้ำยาต่างๆ กัน เช่น Mueller Hinton broth (MHB), MHB ที่เติม  $Ca^{++}$  และ  $Mg^{++}$  (MHB-S), brain heart infusion broth, tryptic soy broth, ซีรัมคนปกติ, ซีรัมม้าปกติ เป็นต้น เวลาที่ให้เจาะเลือดผู้ป่วยในขณะที่มีระดับยาด้านจุลชีพสูงสุดและต่ำสุด, ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ, จนกระทั่งการอ่านผลความสามารถในการฆ่าเชื้อในความเข้มข้นต่างๆ กันตั้งแต่ร้อยละ 98-100. ดังนั้นในปี พ.ศ. 2520 Stratton และ Reller ได้ศึกษาเพื่อเลือก physiologic diluent<sup>5</sup> และกำหนดภาวะที่เหมาะสม<sup>6</sup> จนได้เสนอวิธีมาตรฐานดังต่อไปนี้คือ ใช้ MHB-S กับ

ซีรัมคนปกติ ในอัตราส่วน 1:1 เป็น diluent, เชื้อแบคทีเรียที่มีความเข้มข้น  $10^5$ - $10^6$  CFU/มล. และให้อ่านผลที่มีการฆ่าเชื้อได้ร้อยละ 99.9 การศึกษาในระยะหลังต่อๆ มาก็ได้อ้างอิงวิธีมาตรฐานนี้ซึ่งทำให้สามารถใช้อ้างอิงข้อมูลต่างๆ เหล่านี้ที่ได้มาจากวิธีการเดียวกันมาวิเคราะห์และใช้เป็นประโยชน์ต่อไปได้

ปัจจุบันการทดสอบ serum bactericidal ได้เป็นที่นิยมและพัฒนาประยุกต์ใช้ไม่เพียงแต่การทำนายผลการรักษา bacterial endocarditis แต่รวมถึงโรคติดเชื้อรุนแรงอื่นๆ และผลของยาด้านจุลชีพในด้านต่างๆ ดังต่อไปนี้

1. เป็นแนวทางในการรักษาด้วยยาด้านจุลชีพ ซึ่งรวมถึงการเลือกชนิดของยาและปริมาณยาที่ใช้ในโรคติดเชื้อรุนแรงต่างๆ<sup>7</sup> เช่น endocarditis, osteomyelitis, septic arthritis, empyema, bacteremia, bacterial pneumonia, meningitis และโรคติดเชื้อรุนแรงในผู้ป่วย granulocytopenia และโรคมะเร็งซึ่งมีรายงานที่ได้ศึกษาและรายงานความสัมพันธ์ระหว่าง SBT และผลการรักษาไว้ดังนี้ เช่น

1.1 Bacterial endocarditis ปี พ.ศ. 2528 Weinstein และคณะ<sup>8</sup> ได้ศึกษาร่วมกันแบบ multicenter collaborative evaluation โดยใช้วิธีมาตรฐานของ Stratton และ Reller. การเจาะเลือดผู้ป่วยเพื่อหาระดับยาสูงสุดให้เจาะหลังให้ยาทางหลอดเลือดหมดแล้ว 30 นาที หรือหลังให้ยาทางกล้ามเนื้อ 1 ชั่วโมง ส่วนระดับยาต่ำสุดให้เจาะภายใน 30 นาทีก่อนที่จะให้ยาครั้งต่อไปในการศึกษานี้มีผู้ป่วย 127 ราย เชื้อที่พบบ่อยได้แก่ *S. aureus*, *S. viridans* และ *S. epidermidis* ตามลำดับ ผลการศึกษาพบความสัมพันธ์ระหว่าง SBT และผลการรักษาดังนี้คือ ถ้า SBT ของระดับยาสูงสุดหรือต่ำสุดเป็น  $\geq 1:64$  หรือ  $\geq 1:32$  ตามลำดับ พบว่าอัตราหายสูงถึงร้อยละ 100 และถ้า SBT ของระดับยาสูงสุดหรือต่ำสุดเป็น  $\geq 1:8$  จะมีอัตราหายร้อยละ 93 หรือ 97.5 ตามลำดับ และถ้ามีความจำเป็นที่เจาะเลือดได้เพียงครั้งเดียว พบว่าการหา SBT ของระดับยาสูงสุดจะมีประโยชน์มากกว่า อย่างไรก็ตามผลการรักษาไม่ได้ขึ้นกับ SBT เพียงอย่างเดียว แต่ขึ้นกับการมีหรือ

\*สาขาวิชาโรคติดเชื้อ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

ตารางที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับยาสูงสุดและต่ำสุดในการทำนายผลการรักษา

Disease	Peak	Trough
Acute osteomyelitis	no predictive value	≥1:2, 100% cure <1:2, 71% cure
Chronic osteomyelitis	≥1:16, 90.9% cure <1:16, 71.4% failure	≥1:4, 100% cure <1:2, 100% failure

ไม่มี prosthetic valve, โรคเดิมของผู้ป่วย, ความรุนแรงของโรค, ภาวะการไหลเวียนล้มเหลว, การมี aneurysm หรือ embolic phenomena หรือไม่ เป็นต้น.

1.2 *Osteomyelitis* ปี พ.ศ.2530 Weinstein และคณะ<sup>9</sup> ได้ศึกษาเปรียบเทียบแบบ multicenter collaborative evaluation เช่นเดียวกัน รายงานนี้ได้ศึกษาผู้ป่วย acute osteomyelitis จำนวน 30 ราย และ chronic osteomyelitis จำนวน 13 ราย รวมได้ 58 episodes เชื้อที่พบบ่อยตามลำดับคือ *S. aureus*, Enteric gram-negative rods และ *P. aeruginosa* ความสัมพันธ์ระหว่าง SBT และผลการรักษาได้แยกให้ดูในตารางที่ 1 ซึ่งจะเห็นได้ว่า SBT ของระดับยาต่ำสุดให้การทำนายผลการรักษาได้ดีกว่าของระดับยาสูงสุด ซึ่งถ้าจำเป็นใช้เพียงซีรัมเดียวจึงควรเลือกที่ระดับยาต่ำสุด (ซึ่งจะตรงกันข้ามกับใน bacterial endocarditis) นอกจากนี้ผลการรักษายังขึ้นอยู่กับความสามารถของยาในการซึมผ่านเข้าไปในกระดูกและระยะเวลาที่ใช้ในการรักษา

1.3 *Gram-negative rod bacteremia* ปี พ.ศ.2527 Sculier และคณะ<sup>10</sup> ได้รายงานผลการศึกษาย้อนหลัง (retrospective study) ผู้ป่วยจำนวน 79 ราย ตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ.2522 ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ.2524 ผู้ป่วยกลุ่มนี้มี neutropenia 30 ราย เชื้อที่พบได้บ่อยเรียงตามลำดับคือ *E. coli*, *K. pneumoniae* และ *P. aeruginosa* พบว่า SBT ของระดับยาสูงสุดในผู้ป่วยที่มี granulocytopenia และไม่มี granulocytopenia มีค่า ≥ 1:16 และ ≥1:8 มีอัตราหายเป็นร้อยละ 87 และ 98 ตามลำดับ ส่วน SBT ของระดับยาต่ำสุดไม่ช่วยในการทำนายผลการรักษา

2. ใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพของการใช้ยาร่วมกัน วิธีนี้ใช้ตรวจดู synergism ระหว่างยาด้านจุลชีพและร่างกายคน เช่น การศึกษา vancomycin ขนานเดี่ยว และร่วมกับ ceftazidime<sup>11</sup> และ rifampin ร่วมกับ nafcillin, vancomycin, clindamycin, pefloxacin, ciprofloxacin, trimethoprim, teicoplanin หรือ erythromycin<sup>12</sup> เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการหาความสัมพันธ์จากสูตร<sup>13</sup> ดังที่ได้แสดงวิธีการแปลผลการออกฤทธิ์ร่วมกันของยาที่ใช้ร่วมกันมากกว่า 1 ขนาน

วิธีการแปลผลการออกฤทธิ์ร่วมกันของยาที่ใช้ร่วมกันมากกว่า 1 ขนาน โดยใช้สูตรดังนี้

$$\frac{\text{drug}_a - f}{\text{MBC}_a} + \frac{\text{drug}_b - f}{\text{MBC}_b} + \dots = P$$

ถ้า P มีค่าน้อยกว่า SBT แปลว่ามี synergistic effect  
 ถ้า P มีค่ามากกว่า SBT แปลว่ามี antagonistic effect  
 ถ้า P มีค่าเท่ากับ SBT แปลว่ามี additive effect  
 drug - f = free drug concentration  
 MBC = minimal bactericidal concentration

3. เป็นแนวทางในการเปลี่ยนการบริหารยาจากการให้ทางหลอดเลือดเป็นทางปาก วิธีนี้ใช้กับผู้ป่วย endocarditis, osteomyelitis และอื่นๆ<sup>3,14,15</sup>

4. ประเมินผลยาด้านจุลชีพขนานใหม่ รวมถึงการใช้ร่วมกับยาอื่น โดยการหาระดับไคเดอโรนซีรัม, บัสสวาระ และน้ำในร่างกายอื่นๆ เช่น น้ำหล่อสมองไขสันหลัง เมื่อใช้ยาปริมาณต่างๆ กัน หรือบริหารยาต่างกัน<sup>6-21</sup>

การทดสอบ serum bactericidal ก็เช่นเดียวกับการทดสอบอื่นๆ ที่มีทั้งข้อดีและข้อเสีย ซึ่งจะต้องนำมาพิจารณาร่วมกันก่อนจะนำไปใช้ ข้อบกพร่องต่างๆ ที่รวบรวมได้ดังนี้คือ

1. เป็นการวัดความสามารถของการฆ่าเชื้อเฉพาะในเลือด การนำไปประเมินผลการรักษาการติดเชื้อนอกหลอดเลือดยังไม่เพียงพอ<sup>3</sup>
2. ไม่ได้รวมถึงการฆ่าเชื้อของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย เช่น การทำลายจุลชีพของเม็ดเลือดขาว<sup>2,22</sup>
3. เป็นการวัดการฆ่าเชื้อที่สัมพันธ์กับยาด้านจุลชีพที่มีความเข้มข้นคงที่ แต่ระดับยาในร่างกายจะเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา และระดับยาบางขนานในร่างกายจะสะสมเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ<sup>2</sup> หลังจากให้ยาไปแล้วระยะเวลาหนึ่ง
4. หลังการเจาะเลือด การแข็งตัวของเลือดจะทำให้เกร็ดเลือดปล่อยสารโปรตีนที่ออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อออกมาในซีรัม ทำให้ผลการทดลองผิดจากที่เป็นจริง<sup>3</sup>
5. วิธีทำในแต่ละห้องปฏิบัติการยังมีความแตกต่างกันอยู่บ้าง การนำข้อมูลไปใช้หรือเปรียบเทียบควรคำนึงถึงวิธีทำด้วย<sup>4</sup>
6. จะต้องใช้เวลาถึง 3 วันติดต่อกัน จึงจะทราบผล<sup>3</sup>

เอกสารอ้างอิง

1. Schlichter JG, MacLean H. A method of determining the effective therapeutic level in the treatment of subacute bacterial endocarditis with penicillin a preliminary report. *Am Heart J* 1947; 34:209-11.
2. Pien FD, Vosti KL. Variation in performance of the serum bactericidal test. *Antimicrob Agents Chemother* 1974; 6:330-3.
3. Wolfson JS, Swartz MN. Serum bactericidal activity as a monitor of antibiotic therapy. *N Engl J Med* 1985; 312:968-75.
4. Coleman DL, Horwitz RI, Andriole VT. Association between serum inhibitory and bactericidal concentrations and therapeutic outcome in bacterial endocarditis. *Am J Med* 1982; 73:260-7.

5. Stratton CW, Reller LB. Serum dilution test for bactericidal activity. I. Selection of a physiologic diluent. *J Infect Dis* 1977; 136:187-95.
6. Reller LB, Stratton CW. Serum dilution test for bactericidal activity. II. Standardization and correlation with antimicrobial assays and susceptibility tests. *J Infect Dis* 1977; 136:196-204.
7. Reller LB. The serum bactericidal test. *Rev Infect Dis* 1986; 8:803-8.
8. Weinstein MP, Stratton CW, Ackley A, et al. Multicenter collaborative evaluation of a standardized serum bactericidal test as a prognostic indicator in infective endocarditis. *Am J Med* 1985; 78:262-9.
9. Weinstein MP, Stratton CW, Hawley HB, Ackley A, Reller LB. Multicenter collaborative evaluation of a standardized serum bactericidal test as a predictor of therapeutic efficacy in acute and chronic osteomyelitis. *Am J Med* 1987; 83:218-22.
10. Sculier JP, Klastersky J. Significance of serum bactericidal activity in Gram-negative bacillary bacteremia in patients with and without granulocytopenia. *Am J Med* 1984; 76:429-35.
11. Boeckh M, Lode H, Borner K, Hoffken G, Wagner J, Koeppe P. Pharmacokinetics and serum bactericidal activity of vancomycin alone and in combination with ceftazidime in healthy volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 1988; 32:92-5.
12. Hackbarth CJ, Chambers HF, Sande MA. Serum bactericidal activity of rifampin in combination with other antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1986; 29:611-3.
13. Robinson A, Bartlett RC, Mazens MF. Antimicrobial synergy testing based on antibiotic levels, minimal bactericidal concentration, and serum bactericidal activity. *Am J Clin Pathol* 1985; 84:328-33.
14. Parker RH, Fossieck BE Jr. Intravenous followed by oral antimicrobial therapy for staphylococcal endocarditis. *Ann Intern Med* 1980; 93:832-4.
15. Tetzlaff TR, McCracken GH Jr, Nelson JD. Oral antibiotic therapy for skeletal infections of children. II. Therapy of osteomyelitis and suppurative arthritis. *J Pediatr* 1978; 92:485-90.
16. Zeiler HJ, Beermann D, Wingender W, Forster D, Schacht P. Bactericidal activity of ciprofloxacin, norfloxacin and ofloxacin in serum and urine after oral administration to healthy volunteers. *Infection* 1988; 16(Suppl 1):S19-23.
17. Standiford HC, Drusano GL, Forrest A, Tatem B, Plaisance K. Bactericidal activity of ciprofloxacin, compared with that of cefotaxime in normal volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 1987; 31:1177-82.
18. Flaherty JF, Barriere SL, Mordenti J, Gambertoglio JG. Effect of dose on pharmacokinetics and serum bactericidal activity of mezlocillin. *Antimicrob Agents Chemother* 1987; 31:895-8.
19. Machka K, Milatovic D. Serum bactericidal activity of ciprofloxacin and ofloxacin in volunteers. *Eur J Clin Microbiol* 1987; 6:59-62.
20. Van-der-Auwera P, Klastersky J, Lagast H, Husson M. Serum bactericidal activity and killing rate for volunteers receiving imipenem, imipenem plus amikacin, and ceftazidime plus amikacin against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1986; 30:122-6.
21. Trautmann M, Krause B, Birnbaum D, Wagner J, Lenk V. Serum bactericidal activity of two newer quinolones against *Salmonella typhi* compared with standard therapeutic regimens. *Eur J Clin Microbiol* 1986; 5:297-302.
22. Levy J, Klastersky J. Serum bactericidal test: a review with emphasis on its role in the evaluation of antibiotic combinations. In: Klastersky J, Staquet MJ eds. *Combination antibiotic therapy in the compromised host*. New York: Raven Press 1982; 43-58.
23. Weksler BB, Nachman RL. Rabbit platelet bactericidal protein. *J Exp Med* 1971; 134:1114-30.