นิพนธ์ต้นฉบับ

การตรวจหาเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่ถูกกระตุ้นให้สร้างเบต้าแลคตาเมส

นวพรรณ จารุรักษ์ พ.บ.
อรุณลักษณ์ ลุลิตานนท์ พ.บ.
พนิดา ชัยเนตร พ.บ.

เรื่องย่อ

คณะผู้รายงานได้ตรวจหาความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพโดยใช้ วิธี Kirby-Bauer disc diffusion, ตรวจหาเอ็นซัยม์เบต้าแลคตาเมส R&S type I ด้วยวิธี disc approximation, และตรวจหาisoelectric points ของเอ็นซัยม์ดังกล่าวด้วยวิธี polyacrylamide gel electrophoresis แล้วพบว่า *E. cloacae* มีความไวต่อ เศฟาโลสปอรินส์รุ่นที่สามถึงร้อยละ 80, *Enterobacter* spp. มีความไวร้อยละ 65–81, *P. aeruginosa* มีความไวร้อยละ 27–81, และเชื้อที่ศึกษาทั้งหมดไวต่อ imipenem, เมื่อนำสายพันธุ์ที่ไวต่อยาเศฟาโลสปอรินส์ ดังกล่าวมาตรวจหาการสร้างเอ็นซัยม์เบต้าแลคตาเมส R&S type I พบว่า *E. cloacae* ถูกกระตุ้นให้สร้างเอ็นซัยม์ดังกล่าวถึงร้อยละ 71–74, *Enterobacter* spp. ร้อยละ29–60, และ *P. aeruginosa* ร้อยละ 20–52, เมื่อตรวจหา isoelectric points พบว่า *E. cloacae* 33 สายพันธุ์, *Enterobacter* spp. 13 สายพันธุ์, และ *P. aeruginosa* 22 สายพันธุ์ มี pI focus ที่ 7.4–8.1 คณะผู้วิจัยมีความเห็นว่าวิธี disc approximation สามารถจะนำมาใช้ตรวจหาเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่ถูกกระตุ้นให้สร้างเอ็นซัยม์เบต้าแลคตาเมส R&S type I ได้

Abstract

Screening Tests for Inducible Beta-lactamases in Gram–negative Bacilli
Charuruks N, Lulitanont A, Jayanetra P.
Division of Clinical Pathology, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand.
***J Infect Dis Antimicrob Agents* 1990; 7:4-9.**

The purpose of this communication is to study the prevalence of inducible B-lactamase among certain Gram–negative bacteria which present medical problems. The studied bacteria were recent clinical isolates at Ramathibodi Hospital including *E. cloacae, Enterobacter* spp. and *P. aeruginosa.* The susceptibility test was done by Kirby-Bauer disc diffusion method. The detection of inducible B-lactamase was done by disc approximation test, using cefoxitin as an inducer. The determination of isoelectric points of the enzyme were determined by polyacrylamide gel electrophoresis. The organisms were susceptible to third generation cephalosporins as follows: *E. cloacae* 80%, *Enterobacter* spp. 65-81%, *P. aeruginosa* 27-81%. All strains were sensitive to imipenem. From these susceptible strains, the inducible B-lactamase were detected as follows: *E. cloacae* 71-74%, *Enterobacter* spp. 29-60%, *P. aeruginosa* 20-52%. Imipenem was not effected by this enzyme. The inducible B-lactamase from *E. cloacae* was found to focus at pI 7.7-8.1. We suggested that, disc approximation test may be used as the screening test for inducible B-lactamase enzyme among the Gram–negative bacteria known to produce R & S type I B-lactamase enzyme.

หน่วยพยาธิวิทยาคลินิค, ภาควิชาพยาธิวิทยา, คณะแพทยศาสตร์, โรงพยาบาลรามาธิบดี

บทนำ

เบต้าแลคแตม เป็นยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์ทำลายแบคทีเรียได้ดีและมีปฏิกิริยาข้างเคียงในคนน้อย แต่จากความจริงพื้นฐานที่ว่า เชื้อจุลชีพเกิดการดื้อต่อยาต้านจุลชีพกลุ่มนี้ได้อย่างกว้างขวางเนื่องจากการสร้างเอ็นซัยม์มาทำลายยาเบต้าแลคแตม ทำให้มีการพัฒนาให้ได้ยารุ่นใหม่ที่มีความคงทนต่อเอ็นซัยม์คือ เศฟาโลสปอรินส์รุ่นที่ 3 ที่มีความคงทนต่อเอ็นซัยม์ที่ทำลายเบต้าแลคแตม อย่างไรก็ตามเมื่อมีการนำยาต้านจุลชีพเหล่านี้มาใช้ก็เป็นที่ประจักษ์ว่าแบคทีเรียแกรมลบหลายชนิด ในจีนัส *Enterobacter, Pseudomonas, Serratia, Proteus, Providencia, Citrobacter* และกลุ่ม non-fermenters สามารถทนทานต่อเศฟาโลสปอรินส์รุ่นที่ 3 นี้ได้โดยการสร้างเบต้าแลคตาเมสชนิด Richmond and Sykes type I ซึ่งควบคุมการสร้างโดยโครโมโซม[1] ในภาวะปกติแบคทีเรียเหล่านี้สร้างเอ็นซัยม์ในปริมาณน้อยๆ แต่เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีตัวกระตุ้น จะมีการสร้างเอ็นซัยม์ในปริมาณมาก ยาต้านจุลชีพเบต้าแลคแตมหลายชนิดเป็นตัวกระตุ้น แต่มีเพียงบางชนิดที่เป็นตัวกระตุ้นที่มีประสิทธิภาพ เช่น cefoxitin และ imipenem เบต้าแลคตาเมส type I นี้มีความสามารถในการจับกับยาเศฟาโลสปอรินส์รุ่นที่ 3 ได้อย่างเฉพาะเจาะจง การยึดระหว่างโมเลกุลของเบต้าแลคแตมและเอ็นซัยม์จึงเกิดขึ้นอย่างแน่นแฟ้นและไม่เหลือโมเลกุลของเบต้าแลคแตมให้ไปจับกับ penicillin binding proteins (PBPs) ของแบคทีเรีย เนื่องจากกลไกนี้เอ็นซัยม์ไม่ได้ทำลายโมเลกุลของเบต้าแลคแตม จึงเรียกว่า non-hydrolytic barrier หรือ trapping[2-4] แบคทีเรียที่สร้างเบต้าแลคตาเมส type I นี้พบได้ใน 2 ลักษณะคือ 1) เชื้อจุลชีพโดยทั่วไป (wild-type) ถูกกระตุ้นจากตัวกระตุ้น เช่น ยาต้านจุลชีพกลุ่มเบต้าแลคแตมเองทำให้ยีนส์ควบคุมการยับยั้งการสร้างเบต้าแลคตาเมสถูกระงับอย่างชั่วคราว (reversible derepression of beta-lactamase) และแบคทีเรียที่สามารถสร้างเบต้าแลคตาเมสได้เรียกว่า "inducible beta-lactamase organism" 2) เชื้อจุลชีพเกิดการผ่าเหล่าขึ้นเอง (spontaneous mutation of wild-type organisms) ทำให้เกิดสายพันธุ์ที่สามารถสร้างเบต้าแลคตาเมสอย่างถาวร (constitutive producing) อัตราการเกิดผ่าเหล่านี้ พบในอัตราที่ค่อนข้างต่ำคือ 10^{-6} -10^{-7} [1,5,6]

ดังได้กล่าวข้างต้นว่า ยาในกลุ่มเบต้าแลคแตมแต่ละตัวมีความสามารถในการกระตุ้นเบต้าแลคตาเมส type I ไม่เท่ากัน ตัวที่กระตุ้นมาก เช่น imipenem และ cefoxitin[1,5,7-10] การศึกษานี้มีจุดประสงค์ตรวจหาเชื้อจุลชีพแกรมลบที่ถูกกระตุ้นให้สร้างเบต้าแลคตาเมส type I ได้ด้วย cefoxitin

วัสดุและวิธีการ

จุลชีพ: จุลชีพที่นำมาศึกษาเป็นเชื้อที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจทางคลินิกซึ่งทำการเพาะแยกและวินิจฉัยที่หน่วยจุลชีววิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี ชนิดของเชื้อและจำนวนสายพันธุ์ที่ศึกษามีดังนี้ *Acinetobacter* 68 สายพันธุ์, *Citrobacter* 8 สายพันธุ์, *E.cloacae* 102 สายพันธุ์, *E. coli* 104 สายพันธุ์, *Enterobacter* spp. 57 สายพันธุ์, *K. pneumoniae* 87 สายพันธุ์, *P. aeruginosa* 110 สายพันธุ์ และ *P. mirabilis* 46 สายพันธุ์

Antibiotics discs: ใช้ในการตรวจความไวของแบคทีเรียโดยวิธี Kerby-Bauer disc diffusion test[11] ประกอบด้วยชนิดของ disc และปริมาณยาในแต่ละ disc ดังต่อไปนี้ cefoxitin (30 mcg/disc), cefoperazone (75 mcg/disc), cefotaxime (30 mcg/disc), ceftriaxone (30 mcg/disc), และ imipenem (10 mcg/disc) ของ BBL, Becton Dickinson and Co., USA, ceftazidime (30 mcg/disc) ของ Oxoid, Oxoid Ltd., England, cefsulodin (30 mcg/disc ของ Wako, Wako Pure Chemical Industries Ltd., Japan.

Disc approximation tests for antagonism[7] ใช้เป็น screening test ตรวจหาสายพันธุ์ที่สร้าง inducible beta-lactamase ในขั้นต้นคัดเลือกสายพันธุ์ที่จะนำไปศึกษาดู inducible beta-lactamase enzyme โดยนำเชื้อจุลชีพทุกตัวมาทำ disc diffusion test ด้วยcefoxitin ก่อน เลือกเฉพาะเชื้อจุลชีพที่ดื้อต่อ cefoxitin มาตรวจความไวต่อยาเศฟาโลสปอรินส์ชนิดต่างๆ เลือกเชื้อจุลชีพที่ไวต่อยาเศฟาโลสปอรินส์นั้นๆ มาตรวจ inducible beta-lactamase ต่อยาเบต้าแลคแตมที่กล่าวมา โดยวาง cefoxitin disc และ cephalosporins disc ที่ต้องการทดสอบให้ห่างเท่ากับรัศมีที่เกิดจากยาเศฟาโลสปอรินส์ยับยั้งเชื้อที่ทดสอบแล้ว (radius of zone of inhibition) นำจานเลี้ยงเชื้อมาอบค้างคืนที่ 35 องศาเศลเสียส อ่านผลโดยเปรียบเทียบความกว้างของรัศมีด้านที่อยู่ระหว่าง disc กับด้านที่อยู่ตรงข้าม disc ถ้าค่าของรัศมีด้านที่อยู่ระหว่าง disc มีขนาดเท่ากับหรือน้อยกว่า 4 มม. ของด้านที่อยู่ตรงข้าม ให้ถือว่ามี antagonism เกิดขึ้น แสดงว่า cefoxitin สามารถกระตุ้นให้เชื้อจุลชีพสร้างเบต้าแลคตาเมสออกมาทำลายเศฟาโลสปอรินส์ที่ทดสอบและ/หรือ cefoxitin ได้[8] polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)[12] ใช้วิเคราะห์หา isoelectric point (pI) เพื่อตรวจสอบและ identify เบต้าแลคตาเมสโดยอาศัยหลักการที่ว่าเบต้าแลคตาเมสมีคุณสมบัติเป็นโปรตีน และโปรตีนสามารถจะแยกโดยใช้กระแสไฟฟ้า โดยใช้ polyacrylamide gel เป็นตัวกลางให้กระแสไฟฟ้าผ่าน ทำให้ได้จุด pI ต่างๆ กันตามความ

แตกต่างกันของโปรตีน แล้วใช้ nitrocefin ย้อมตรวจหาตำแหน่งของเอ็นซัยม์ และวัด pH ตรงตำแหน่งที่ปรากฏแถบของเอ็นซัยม์ เป็นค่า pI ของ เอ็นซัยม์นั้นๆ

ผลการศึกษา

ตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่า *P. aeruginosa* ดื้อต่อยา cefoxitin สูงที่สุดคือ ร้อยละ 98 ตามด้วยเชื้อ *E.cloacae,Citrobacter, Acinetobacter* และ *Enterobacter* spp. ซึ่งดื้อร้อยละ 91, 88, 84 และ 49 ตามลำดับ ส่วนเชื้อ *P. mirabilis, E. coli* และ *K. pneumoniae* มีความไวต่อ cefoxitin สูงคือ ร้อยละ 98, 97 และ 86 ตามลำดับ เมื่อนำสายพันธุ์ ที่ดื้อต่อยา cefoxitin มากๆ คือ สายพันธุ์ที่ไม่มี inhibition zone เลย ซึ่งประกอบด้วย *Acinetobacter* 55 สายพันธุ์, *Citrobacter* 7 สายพันธุ์, *E. cloacae* 91 สายพันธุ์, *Enterobacter* spp. 26 สายพันธุ์, *K. pneumoniae* 4 สายพันธุ์ และ *P. aeruginosa* 108 สายพันธุ์ มาคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีความไวต่อยาเศฟาโลสปอรินส์รุ่นที่ 3 ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 2 คือ เชื้อดื้อต่อ cefoxitin มีความไวต่อยาในกลุ่มเศฟาโลสปอรินส์รุ่นที่ 3 ต่างๆ กัน เช่น *E. cloacae* มีความไวต่อ ceftazidime และ ceftriaxone ร้อยละ 80, เชื้อ *Enterobacter* spp. ไวต่อ cefotaxime ร้อยละ 77, cefoperazone ร้อยละ 65, ceftazidime และ ceftriaxone ร้อยละ 81 เป็นต้น ส่วน imipenem นั้นพบว่าเชื้อจุลชีพทั้งหมดที่ศึกษาไวต่อ imipenem สูงมากคือ ร้อยละ 98 ถึง 100

Table 1 Cefoxitin susceptibility of Gram-negative bacilli, Microbiology Laboratory, Ramathibodi Hospital, Bangkok 1988-1989.

Organisms	Total number tested	Cefoxitin susceptibility No. (Percent)		
		R	IS	S
Acinetobacter	68	57 (84)	3 (4)	8 (12)
Citrobacter spp.	8	7 (88)	0	1 (12)
E. cloacae	102	93 (91)	1 (1)	8 (8)
E. coli	140	1 (1)	2 (2)	101 (97)
Enterobacter spp.	57	28 (49)	9 (16)	20 (35)
K. pneumoniae	87	4 (5)	8 (9)	75 (86)
P. aeruginosa	110	108 (98)	0	2 (2)
P. mirabilis	46	0	1 (2)	45 (98)

Abbreviations: R = resistant, IS = intermediate susceptible, S = susceptible

เมื่อนำเชื้อที่ดื้อ cefoxitin แต่ไวต่อเศฟาโลสปอรินส์ดังแสดงในตารางที่ 2 มาหาจำนวนเชื้อที่ถูก cefoxitin กระตุ้นให้สร้างเบต้าแลคตาเมส type I ในปริมาณมากพอที่สามารถทำลายเศฟาโลสปอรินส์รุ่นที่ 3 จนเกิดการดื้อขึ้น พบว่าเชื้อ *E. cloacae* ถูกกระตุ้นให้สร้างเบต้าแลคตาเมส type I และดื้อต่อ ceftriaxone และ ceftazidime ร้อยละ 74 และ 71 ตามลำดับเชื้อ *Enterobacter* spp. ถูกกระตุ้นให้ดื้อต่อ cefotaxime, cefoperazone, ceftriaxone และ ceftazidime ร้อยละ 60, 47, 43 และ 29 ส่วน imipenem นั้นพบว่าเอ็นซัยม์ที่เกิดจากการกระตุ้นโดย cefoxitin ไม่สามารถทำให้เชื้อดื้อต่อยา imipenem ได้ เชื้อ *P. aeruginosa* ถูกกระตุ้นและดื้อต่อ ceftriaxone, ceftazidime, cefoperazone และ cefsulodin ร้อยละ 52, 37, 23 และ 20 ตามลำดับ ส่วน imipenem นั้นได้ผลเช่นเดียวกับเชื้อ *Enterobacter* spp. เชื้อ *Citrobacter* ถูกกระตุ้นด้วย cefoxitin ให้ดื้อต่อ cefotaxime, ceftazidime และ ceftriaxone ร้อยละ 25, 25 และ 20 ตามลำดับ cefoxitin ไม่สามารถกระตุ้นให้ *Citrobacter* สร้างเอ็นซัยม์ที่ทำให้เชื้อดื้อต่อ cefoperazone และ imipenem ได้ เช่นเดียวกับ *Acinetobacter* และ*K. pneumoniae* ซึ่งพบว่า cefoxitin ไม่สามารถกระตุ้นให้

Table 2 Pattern of cephalosporins susceptibility test of Gram-negative bacilli highly resistant to cefoxitin.

Organisms	Number tested	Strains sensitive to indicated antimicrobial agents No. (Percent)					
		CTX	CFP	CAZ	CRO	CFS	IMP
Acinetobacter	55	2 (4)	NS	41 (76)	19 (34)	NS	54 (98)
Citrobacter	7	4 (57)	3 (43)	4 (57)	5 (71)	NS	7 (100)
E. cloacae	91	ND	ND	73 (80)	73 (80)	ND	ND
Enterobacter spp.	26	20 (77)	17 (65)	21 (81)	21 (81)	NS	26 (100)
K. pneumoniae	4	2 (50)	2 (50)	2 (50)	2 (50)	NS	4 (100)
P. aeruginosa	108	ND	78 (72)	84 (78)	29 (27)	88 (81)	108 (100)

Abbreviations: CTX = cefotaxime, CFP = cefoperazone, CAZ = ceftazidime, CRO = ceftriaxone, CFS = cefsulodin, IMP = imipenem, ND = not done, NS = no susceptible strain

Table 3 Result of inducible beta-lactamase in cefoxitin-resistant Gram– negative bacilli

Organisms	Percent inducible to indicated cephalosporins (Number tested)					
	CTX	CFP	CAZ	CRO	CFS	IMP
Acinetobacter	0 (2)	ND	0 (42)	0 (19)	ND	0 (54)
Citrobacter	25 (4)	0 (3)	25 (4)	20 (5)	ND	0 (7)
E. cloacae	ND	ND	71 (73)	74 (73)	ND	ND
Enterobacter spp.	60 (20)	47 (17)	29 (21)	43 (21)	ND	0 (26)
K. pneumoniae	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)	ND	0 (4)
P. aeruginosa	ND	23 (78)	37 (84)	52 (29)	20 (88)	0 (108)

Abbreviations: CTX = cefotaxime, CFP = cefoperazone, CAZ = ceftazidime, CRO = ceftriaxone, CFS = cefsulodin, IMP = imipenem, ND = not done

Table 4 The isoelectric focusing patterns of inducible beta–lactamases.

Organisms (number tested)	No. of Strains	pI
E. cloacae	20	7.9
(N = 33)	6	7.7
	2	8.1, 7.9
	2	8.1
	1	8.1, 5.4
	1	7.9, 5.4
	1	7.7, 5.4
Enterobacter spp.	9	7.9
(N = 13)	3	8
	1	7.9, 5.4
P. aeruginosa	9	7.9
(N = 22)	9	7.7
	2	7.4
	1	8.1
	1	7.7, 5.4

เชื้อทั้งสองดื้อต่อยาเศฟาโลสปอรินส์รุ่นที่ 3 และ imipenem ที่นำมาใช้ทดสอบ

ตารางที่ 4 เมื่อนำเชื้อ *E. cloacae* จำนวน 33 สายพันธุ์ที่สร้าง inducible beta-lactamase มาวิเคราะห์หา isoelectric pointsโดย PAGE พบว่าทั้ง 33 สายพันธุ์มี pI focus ที่ 7.7-8.1 และพบว่ามี 3 สายพันธุ์ มีเอ็นซัยม์ชนิดอื่นซึ่งมี pI 5.4 รวมอยู่ด้วย ส่วนเชื้อ *Enterobacter* spp. จำนวน 13 สายพันธุ์ มี pI focus ที่ 7.9-8 และมี 1 สายพันธุ์ มีเอ็นซัยม์ pI 5.4 รวมอยู่ด้วย ส่วน *P. aeruginosa* จำนวน 22 สายพันธุ์มี pI focus 7.4-8.1 และมี 1 สายพันธุ์ มีเอ็นซัยม์ pI 5.4 รวมอยู่ด้วย

วิจารณ์

ยาเศฟาโลสปอรินส์รุ่นที่ 2 เช่น cefoxitin และเศฟาโลสปอรินส์รุ่นที่ 3 เช่น cefotaxime, cefoperazone, ceftazidime เป็นต้น เป็นยาที่มีความคงทนต่อเบต้าแลคตาเมสและมีการออกฤทธิ์ได้กว้างขวางต่อจุลชีพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ การศึกษานี้พบเชื้อ *E.coli, P.mirabilis* และ *K.pneumoniae* เป็นกลุ่มที่มีความไวต่อยา cefoxitin สูง ส่วนเชื้อ *E. cloacae, Enterobacter* spp., *P. aeruginosa, Citrobacter* และ *Acinetobacter* มีความดื้อต่อ cefoxitin สูงมาก ซึ่งเนื่องจากเชื้อในกลุ่มหลังนี้มีคุณสมบัติสามารถสร้างเบต้าแลคตาเมส type I ทำให้ดื้อต่อเศฟาโลสปอรินส์รุ่นที่ 3 ได้นั่นเอง[1,3,5,7,8,13,14,18] นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อต่างจีนัสหรือต่างสปีศีส์กัน ถูกกระตุ้นให้สร้างเบต้าแลคตาเมสได้ต่างกัน เช่น เชื้อ *E. cloacae* ถูกกระตุ้นให้สร้างเบต้าแลคตาเมส type I ได้มากกว่า *Enterobacter* spp., *P. aeruginosa* และ *Citrobacter* เป็นต้น และแม้แต่จุลชีพในสปีศีส์เดียวกันก็ถูกกระตุ้นโดย cefoxitin ให้ดื้อต่อเศฟาโลสปอรินส์รุ่นที่ 3 ชนิดต่างๆ กัน ดังจะเห็นได้จากความแตกต่างในอัตราร้อยละของเชื้อ *Enterobacter* spp. ต่อเศฟาโลสปอรินส์ ซึ่งพบว่า *Enterobacter* spp. ถูกกระตุ้นให้ดื้อต่อ cefotaxime ได้ดีกว่า cefoperazone, ceftriaxone และ ceftazidime เป็นต้น ทั้งนี้แสดงให้เห็นว่า อัตราการถูกกระตุ้นให้สร้างเบต้าแลคตาเมส type I มีความแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ของเชื้อจุลชีพและการออกฤทธิ์นั้นได้ผลแตกต่างกันต่อยาต้านจุลชีพที่นำมาใช้ร่วมกันด้วย[3] นอกจากนี้ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับความรู้ในระยะหลัง ที่ว่าเอ็นซัยม์เบต้าแลคตาเมส type I เป็นกลุ่มเอ็นซัยม์หลายชนิดพบในเชื้อจุลชีพต่างๆ กัน และมี isoelectric points (pI) ต่างกัน ซึ่งส่วนใหญ่จะมี pI อยู่ในภาวะที่เป็นด่าง[1,18,19] และถูกยับยั้งปฏิกิริยาได้ด้วย isoxazolyl penicillins,

carbenicillin และ halopenicilloates บางตัว แต่ไม่ถูกยับยั้งโดย clavulanic acid และ sulbactam[18] การออกฤทธิ์ของเอ็นซัยม์ต่อยาต้านจุลชีพแต่ละชนิดยังอาจแตกต่างกันซึ่งเป็นผลมาจากความแตกต่างในโครงสร้างของยาเศฟาโลสปอรินส์ ทำให้ affinity ในการจับกับ PBPs ต่างกันซึ่งมีผลต่อ rate of hydrolysis ต่างกันด้วย[1,16-18] นอกจาก inducible beta–lactamase แล้ว ยังพบเอ็นซัยม์ ซึ่งมี pI 5.4 ในหลายสายพันธุ์ของเชื้อเหล่านี้ เอ็นซัยม์ที่มี pI 5.4 คือplasmid mediated beta–lactamase ชนิด TEM 1 ซึ่งอยู่บน transposon และพบแพร่กระจายอย่างกว้างขวางในแบคทีเรียในกลุ่มEnterobacteriaceae[12,18]

ส่วน imipenem นั้นพบว่าเชื้อจุลชีพที่ศึกษามีความไวต่อ imipenem สูงถึงร้อยละ 98-100 และเมื่อนำเชื้อจุลชีพมากระตุ้นให้สร้างเบต้าแลคตาเมส type I ด้วย cefoxitin เชื้อจุลชีพที่ศึกษากระตุ้นให้สร้างเอ็นซัยม์แต่ไม่สามารถทำลาย imipenem ได้, imipenem เป็นยาเบต้าแลคแตมที่จัดอยู่ในกลุ่ม carbapenems[16-18,20] สามารถซึมผ่านผนังด้านนอกของเชื้อจุลชีพซึ่งประกอบด้วย lipopolysaccharides และ proteins ได้ดี มีความคงทนต่อเบต้าแลคตาเมส มี affinity จับกับ lethal หรือ essential PBP คือ PBP_2 ได้ดีมาก. PBP_2 มีจำนวนน้อยเมื่อเทียบกับ PBPs อื่นๆ ด้วยเหตุนี้ แม้มี imipenemใน periplasmic space เพียงเล็กน้อยก็สามารถทำให้เชื้อจุลชีพตายได้[1-3,5,6,8,17] ทำให้เชื้อที่นำมาศึกษาแม้จะเป็น inducible strainsซึ่งถูกกระตุ้นให้สร้างเบต้าแลคตาเมส type I ได้ก็ไม่สามารถทำลาย imipenem ได้ ทำให้เชื้อยังคงไวต่อ imipenem

ในระยะเวลาหลายปีที่ผ่านมามีรายงานอุบัติการการดื้อของเชื้อจุลชีพต่อยาเศฟาโลสปอรินส์ในสายพันธุ์ที่เคยไวต่อยานั้นโดย susceptibility tests เช่น *P. aeruginosa, E. cloacae,* และ *Enterobacter* spp. เป็นต้น[2,8,21-23,25,26] ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากการสร้างinducible enzyme นี้เอง แสดงให้เห็นว่าการใช้ susceptibility test โดยลำพังนั้นไม่เพียงพอในการนำไปประกอบการเลือกยาเพื่อการรักษา ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อจากจุลชีพในกลุ่มที่สามารถถูกกระตุ้นให้สร้างเบต้าแลคตาเมส type I ได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้การใช้ยาร่วมกันที่เชื่อว่าจะให้ผลดีขึ้นในการรักษา (synergistic effect) อาจไม่ประสบความสำเร็จตามที่คาดหวังในบางกรณี และ อาจมีผลต่อต้านกันเอง (antagonistic effect) อันเป็นผลเสียในการรักษา[2,27,28] จึงได้มีการนำ disc approximation test มาใช้ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาและพบว่าสามารถนำมาใช้ในการตรวจหาแบคทีเรียที่ถูกกระตุ้นให้สร้างเบต้าแลคตาเมส type I[7,8] เช่นเดียวกับการศึกษานี้ คณะผู้วิจัยมีความเห็นว่า disc approximation tests จะมีประโยชน์ screening test เพื่อตรวจสอบสายพันธุ์ที่สามารถสร้าง inducible beta–lactamase R & S type I ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการเลือกใช้ยาต้านจุลชีพในกลุ่มเศฟาโลสปอรินส์ในการรักษาการติดเชื้อจากจุลชีพที่ทราบว่าส่วนใหญ่สร้าง inducible beta–lactamase enzyme โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการใช้ยาต้านจุลชีพร่วมกัน อันจะทำให้การใช้มีประโยชน์และมีความปลอดภัยแก่ผู้ป่วยยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้ทำการศึกษาขอขอบคุณเจ้าหน้าที่หน่วยจุลชีววิทยา ที่กรุณาช่วยเก็บตัวอย่าง และอำนวยความสะดวกอย่างดียิ่งในการศึกษานี้

เอกสารอ้างอิง

1. Sanders CC. Chromosomal cephalosporinases responsible for multiple resistance to newer B-lactam antibiotics. Am Rev Microbiol 1987; 41:573-93.
2. Sanders CC. Novel resistance selected by the new expanded-spectrum cephalosporins: A concern. J Infect Dis 1983; 147: 585-9.
3. Sanders CC, Sanders WE Jr. Microbial resistance to newer generation beta–lactam antibiotics: Clinical and laboratory implications. J Infect Dis 1985; 151:399-406.
4. Sanders CC. Leading article: Inducible B-lactamases and non-hydrolytic resistance mechanisms. J Antimicrob Chemother 1984; 13:1-3.
5. Sanders CC, Sanders WE Jr. Type I beta–lactamase of Gram-negative bacteria: Interactions with beta–lactam antibiotics. J Infect Dis 1986; 154:792-800.
6. Kunakorn M, Jayanetra P. Type I chromosomal mediated beta-lactamases, Preliminary study of the effect of induction on selection of stably dereprssed mutant. Abstracts: Western Pacific Congress on Infectious Diseases & Chemotherapy, Kuala Lumpur, malaysia, 21th-24th Feb. 1989.
7. Sanders CC, Sanders WE Jr, Goering RV. In vitro antagonism of beta–lactam antibiotics by cefoxitin. Antimicrob Agents Chemother 1982; 21:968-75.
8. Sanders CC, Sanders WE Jr. Emergence of resistance to cefamandole: Possible role of cefoxitin–inducible beta–lactamase. Antimicrob Agents Chemother 1979; 15:792-7.
9. Cullman W, Buscher KH, Dich W. Selection and properties of *P. aeruginosa* variants resistant to beta–lactam antibiotics. Eur J Clin Microbiol 1987; 6:467-73.
10. Neu HC. Contribution of beta–lactamases to bacterial resistance and mechanisms to inhibit beta–lactamases. Am J Med 1985; 79 (58):2-12.
11. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. Am J Clin Pathol 1966; 45:493-6.
12. Matthew M, Harris AM, Marshall MJ, Ross GW. The use of analytical isoelectric focusing for detection and identification of B-lactamases. J Gen Microbiol 1975; 88:169-78.

13. Neu HC. Cefoxitin a semisynthetic cephamycin antibiotic: Antibacterial spectrum and resistance to hydrolysis by Gram–negative beta–lactamases. Antimicrob Agents and Chemother 1974; 6:170-6.
14. Barry AL, Jones RN, Thornsberry C. Cefuroxime, cefamandole, cefoxitin and cephalothin in vitro susceptibility tests: Reassessment of the "class representative" concept, confirmation of disk interpretative criteria and proposed quality control guidelines. Am J Clin Pathol 1983; 30:182-9.
15. Vu H, Nidalido H. Role of B-lactam hydrolysis in the mechanism of resistance of a B-lactamase-constitutive *Enterobacter cloacae* strain to expanded-spectrum B-lactams. Antimicrob Agents and Chemother 1985; 27:393-8.
16. Richmond MH. B-lactam antibiotics: the background to their use as therapeutic agents. Paddon and Brooks Ltd., Tunbridge Wells, Kent, England. 1981: p 55-65.
17. Neu HC. B-lactam antibiotics: Structural relationships affecting in vitro activity and pharmacologic properties. Rev Inf Dis 1986; 8(Suppl 3):S237-S59.
18. Neu HC. Antibiotic inactivating enzymes and bacterial resistance. Antibiotics in laboratory medicine. Williams & Wilkins, Batimore. 1986: p.757-89.
19. Lindberg R, Normark S. Contribution of chromosomal B-lactamases to B-lactam resistance in enterobacteria. Rev Inf Dis 1986; 8(Suppl 3):S292-S304.
20. Leelarasame A. Imipenem. J Inf Dis and Antimicrob Agents 1987; 4:133-50.
21. Quinn JP, Divincenzo CA, Foster J. Emergence of resistance to ceftazidime during therapy for *Enterobacter cloacae* infections. J Infect Dis 1987; 155:942-7.
22. Trenholme GM, Pottage JC Jr, Earabusis PH. Use of ceftazidime in the treatment of nosocomial lower respiratory infections. Am J Med 1985; 79(Suppl 2A):32-6.
23. King A, Shannen K, Eykyn S, Phillips I. Reduced sensitivity to B-lactam antibiotics arising during ceftazidime treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. J Antimicrob Chemother 1983; 12:363-70.
24. Bittnor MJ, Dworzack DL, Preheim LC, Tofte RW, Crossley KB. Ceftriaxone therapy of serious bacterial infections in adults. Antimicrob Agents Chemother 1983; 23:261-6.
25. Aronoff SC, Murdell D, O'Brien CA, Klinger JD, Reed MD, Blumer FL. Efficacy and safety of ceftriaxone in serious pediatric infections. Antimicrob Agents Chemother 1983; 24:663-6.
26. Eron LJ, Park CH, Golderg RI, Poretz DM. Ceftriaxone therapy of serious bacterial infections. J Antimicrob Chemother 1983; 12:65-78.
27. Waterworth PM, Emmerson AM. Dissociated resistance among cephalosporins. Antimicrob Agents Chemother 1979; 15:497-503.
28. Kuck NA, Testa RT, Forbes M. In vitro and in vivo antibacterial effects of combinations of beta-lactam antibiotics. Antimicrob Agents Chemother 1981; 19:634-8.