

เปรียบเทียบผลความไวของ nifuroxazide, ampicillin, cotrimoxazole และ norfloxacin ต่อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอุจจาระร่วงและ normal flora ของลำไส้

มาลัย วรจิตร วท.ม. (พยาธิวิทยาคลินิก)*
 อโณทัย อุตสาหกรรม วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)*
 ศุภวรรณ บุญสอง พนักงานวิทยาศาสตร์*
 พนิดา ชัยเนตร พ.บ.*

เรื่องย่อ

ศึกษาค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดของสารต้านจุลชีพ ที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC) ที่เป็นสาเหตุของอุจจาระร่วงและ normal flora ของลำไส้รวม 501 สายพันธุ์ต่อสารต้านจุลชีพ 4 ชนิดคือ nifuroxazide, ampicillin, cotrimoxazole และ norfloxacin โดยวิธี agar dilution แบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษานี้แยกได้จากอุจจาระของผู้ป่วยจากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา โรงพยาบาลรามาริบัติและจาก stock culture ของโรงพยาบาลบาราศนราดอร์ ซึ่งประกอบด้วยชนิดของแบคทีเรียและจำนวนสายพันธุ์ ดังนี้คือ *Salmonella* (105), *Shigella* (100), *Vibrio* (100), *E. coli* (96), *Aeromonas* (20), *Plesiomonas* (30), *S. aureus* (20), *K. pneumoniae* (20) และ *C. freundii* (20) ผลการศึกษาพบว่าแบคทีเรียทุกชนิดที่ทดสอบไวต่อ norfloxacin มากที่สุดและไวต่อ ampicillin น้อยที่สุด ยกเว้น *Salmonella* ซึ่งไวต่อ ampicillin ร้อยละ 70 แบคทีเรียที่ทดสอบไวต่อ cotrimoxazole กว่าร้อยละ 85 ยกเว้น *Salmonella*, *E. coli* และ *Shigella* ซึ่งไวเพียง 67, 55 และร้อยละ 13 ตามลำดับ แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุหรืออาจเป็นสาเหตุของอุจจาระร่วงที่ทดสอบเกือบทั้งหมดไวต่อ nifuroxazide ร้อยละ 90-100 ยกเว้น *E. coli* และ *Salmonella* ซึ่งไวเพียงร้อยละ 72 และร้อยละ 55 ตามลำดับ แต่แบคทีเรียที่เป็น normal flora ของลำไส้ที่ทำการศึกษานี้คือ *K. pneumoniae* และ *C. freundii* ไวต่อ nifuroxazide เพียงร้อยละ 5 และ 10 ตามลำดับ nifuroxazide เป็นสารสังเคราะห์ที่เป็นอนุพันธ์ของ nitrofuranes ซึ่งไม่ละลายในน้ำทำให้ไม่มีการดูดซึมในลำไส้ และไม่มีผลต่อ normal flora ของลำไส้ จากการทดลองนี้พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอุจจาระร่วงโดยเฉพาะ *Shigella* ได้ดีมากจึงน่าจะได้มีการศึกษาในทางคลินิกต่อไป

*หน่วยจุลชีววิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาริบัติ มหาวิทยาลัยมหิดล

Abstract:

Comparison of the in vitro antibacterial activity of nifuroxazide, ampicillin, cotrimoxazole and norfloxacin against the enteropathogens and normal intestinal flora.

Vorachit M., M.Sc. (Clin. Path.), Rittaporn A., B.Sc. (Med. Tech), Boonsong S., Cla., Jayanetra P., M.D.

Microbiology Section, Pathology Department, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital.

J Infect Dis Antimicrob Agents 1991; 8:91-94.

Five-hundred and one strains of recently stool isolates from the clinical microbiology laboratory Ramathibodi Hospital and from stock culture of Bhumrasnaradul Hospital are determined for the minimum inhibitory concentration (MIC) against nifuroxazide, ampicillin, cotrimoxazole and norfloxacin by the agar dilution technique. The type of organisms and number of strain are; *Salmonella* (105), *Shigella* (100), *Vibrio* (100), *E. coli* (96), *Aeromonas* (20), *Plesiomonas* (20), *S. aureus* (20), *K. pneumoniae* (20) and *C. freundii* (20). Norfloxacin shows the highest percentage of antibacterial activity to all the organisms tested while ampicillin shows the lowest percentage of susceptible except *Salmonella*. The percentage of susceptibility to cotrimoxazole of the organisms tested is equal or greater than 85 except *Salmonella* (67%), *E. coli* (55%) and *Shigella* (13%). Nifuroxazide shows the high percentage of susceptibility (90-100) by almost enteropathogens and moderately high susceptibility by *E. coli* (72%) and *Salmonella* (55%). The normal intestinal flora are resistant to nifuroxazide as high as 90-95 per cent. Nifuroxazide is a synthetic derivative of the nitrofurans which almost completely insoluble in water, poor absorption by the intestinal mucosa and posses no selective inhibitory effect on the intestinal flora. These properties fascilitate the advantage on the elimination of enteropathogen especially *Shigella* without any effect in normal flora. The clinical trial of nifuroxazide in the treatment of bacterial diarrhea is mandatory.

บทนำ

อุจจาระร่วงเป็นปัญหาสำคัญของประเทศไทยและประเทศอื่นๆ โดยเฉพาะประเทศด้อยพัฒนาและประเทศที่กำลังพัฒนา แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอุจจาระร่วงตามรายงานของพนิดาชัยเนตร และคณะ¹ คือ *Salmonella* (3-6.75% ในเด็ก, 3-4.23% ในผู้ใหญ่), *Shigella flexneri* (2-2.54% ในเด็ก, 2.74-3.81% ในผู้ใหญ่), *Vibrio eltor* (0.04-0.22%), *Aeromonas hydrophila* (1.64% ในเด็ก, 1.79% ในผู้ใหญ่), *Plesiomonas shigelloides* (0.64 ในเด็ก, 2.34% ในผู้ใหญ่) และ *Staphylococcus aureus* (0.04-0.27%) นอกจากนี้แบคทีเรียเหล่านี้ยังมีรายงานถึง *Escherichia coli* ที่เป็นสาเหตุของอุจจาระร่วง ซึ่งอาจก่อให้เกิดอุจจาระร่วงโดยการสร้าง toxin หรือไซซอน เข้าไปในเยื่อเมือกของลำไส้² หรือ *E. coli* serotype O157:H7 ซึ่งก่อให้เกิด hemorrhagic diarrhea³ นอกจากนี้ไวรัสแบคทีเรียดังกล่าวจากรายงานของสุวณี สุภาเวชย์⁴ พบเชื้อ *Campylobacter jejuni* ในเด็กที่เป็นอุจจาระร่วงได้ถึงร้อยละ 7.8⁴ อุจจาระร่วงในเด็กที่อยู่รวมกัน เช่น ในหออภิบาลเด็ก (nursery) หรือในโรงเรียน จำเป็นต้องให้การรักษาด้วยสารต้านจุลชีพเพื่อป้องกันการระบาดของเชื้อ แต่ในการใช้สารต้านจุลชีพ มักมีผลไม่พึง

ประสงค์ที่เกิดร่วมด้วยคือการทำลายแบคทีเรียที่เป็น normal flora ของลำไส้

Nifuroxazide เป็น derivative ของ nitrofurans ที่ไม่ละลายในน้ำ ทำให้มีคุณสมบัติต่างจาก nitrofurans สองประการคือ ไม่มีการดูดซึมในลำไส้ และไม่ผลต่อแบคทีเรียที่เป็น normal flora ของลำไส้⁵ ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการเปรียบเทียบความไวของ nifuroxazide กับสารต้านจุลชีพที่ใช้ในการรักษาอุจจาระร่วงในผู้ป่วยในปัจจุบันนี้คือ ampicillin, cotrimoxazole และ norfloxacin โดยทำการศึกษาความเข้มข้นน้อยที่สุดของสารต้านจุลชีพเหล่านี้ ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ (Minimum Inhibitory Concentration = MIC) ต่อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอุจจาระร่วงและ normal flora ของลำไส้จำนวน 501 สายพันธุ์ ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลทางห้องปฏิบัติการซึ่งจะได้นำมาร่วมพิจารณาในการเลือกสารต้านจุลชีพสำหรับผู้ป่วยอุจจาระร่วงต่อไป

วัตถุประสงค์และวิธีการ

แบคทีเรีย ที่ทำการศึกษประกอบด้วย แบคทีเรียที่ใช้ควบคุมคุณภาพในการหา MIC คือ *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และแบค-

ที่เรียกที่แยกได้จากอุจจาระของผู้ป่วยจากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิกของโรงพยาบาลรามารัตนบุรี ระหว่างเดือนเมษายนถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2532 และเชื้อจาก stock culture ของโรงพยาบาลรามารัตนบุรีซึ่งแบ่งเป็น

1. แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอุจจาระร่วง คือ Salmonella 105 สายพันธุ์, Shigella (*S. flexneri* 64 สายพันธุ์, *S. sonnei* 35 สายพันธุ์และ *S. boydii* 1 สายพันธุ์) และ Vibrio (*V. cholerae* 40 สายพันธุ์, *V. parahaemolyticus* 20 สายพันธุ์, *V. alginolyticus* 20 สายพันธุ์, *V. fluvialis* 15 สายพันธุ์และ *V. furnisii* 5 สายพันธุ์) อย่างละ 100 สายพันธุ์

2. แบคทีเรียที่อาจเป็นสาเหตุของอุจจาระร่วง คือ *Escherichia coli* (Enteropathogenic *E. coli* 52 สายพันธุ์ และ *E. coli* จากอุจจาระ 44 สายพันธุ์) จำนวน 96 สายพันธุ์, *Aeromonas* (*A. hydrophila* 11 สายพันธุ์และ *A. sobria* 9 สายพันธุ์), *Plesiomonas shigelloides* และ *Staphylococcus aureus* อย่างละ 20 สายพันธุ์

3. แบคทีเรียที่เป็น normal flora ของลำไส้คือ *Citrobacter freundii* และ *Klebsiella pneumoniae* อย่างละ 20 สายพันธุ์

สารต้านจุลชีพ สารต้านจุลชีพมาตรฐานของ nifuroxazide (Synthelabo Laboratories, France), ampicillin (Sigma, USA), sulfamethoxazole (Sigma, USA), trimethoprim (Sigma, USA) และ norfloxacin (Sigma, USA)

อาหารเลี้ยงเชื้อ Brain heart infusion broth, Mueller Hinton broth และ Mueller Hinton agar ของ BBL

Agar dilution technique เตรียมอาหารที่มีสารต้าน

จุลชีพและแบคทีเรียตามวิธีของ National Committee for Clinical Laboratories Standards M7-A⁶ สำหรับ nifuroxazide เป็นสารที่ไม่ละลายในน้ำจึงใช้ 50% polyethylene glycol (PEG) เป็นตัวทำละลาย

ผลการทดลอง

จากตารางที่ 1 ค่า MIC₉₀ ของ AMP ต่อเชื้อ Salmonella, Shigella, *Escherichia coli* และ *Aeromonas* จะมากกว่า 128 มก/ลิตร และ MIC₉₀ ของ COTRI จะมากกว่า 128 มก/ลิตร สำหรับเชื้อ Salmonella, Shigella และ *E. coli* ค่า MIC₉₀ ของ nifuroxazide ต่อเชื้อ Salmonella, *E. coli*, *K. pneumoniae* และ *C. freundii* จะมากกว่า 128 มก/ลิตรเช่นกัน แต่ค่า MIC₉₀ ของ norfloxacin จะมีค่าต่ำกว่า 1 มก/ลิตร ยกเว้น *S. aureus* และเมื่อนำค่า MIC ที่ได้ไปคำนวณเปอร์เซ็นต์ของเชื้อที่ไวต่อสารต้านจุลชีพแต่ละชนิด โดยใช้ MIC breakpoint ตาม NCCLS⁷ คือ AMP ≤ 8 มก/ลิตรสำหรับแบคทีเรียแกรมลบที่ทดสอบ และ ≤ 0.25 มก/ลิตรสำหรับ *S. aureus*, COTRI 40 มก/ลิตร, norfloxacin ≤ 4 มก/ลิตร และ nifuroxazide ≤ 32 มก/ลิตร⁸ จะเห็นว่า AMP ได้ผลค่อนข้างดีต่อเชื้อ Salmonella, *Plesiomonas* และ Vibrio, COTRI ให้ผลดีต่อเชื้อ Vibrio, *Plesiomonas*, *C. freundii*, *Aeromonas* และ *S. aureus* และให้ผลค่อนข้างดีต่อ Salmonella และ *E. coli*, NIFU ให้ผลดีต่อ Shigella, *Plesiomonas*, *S. aureus*, *Aeromonas* และ Vibrio ให้ผลค่อนข้างดีต่อ *E. coli* และ Salmonella ส่วน NORF ให้ผลดีต่อแบคทีเรียที่ทดสอบทั้งหมด ดังแสดงในตารางที่ 2

Table 1 ค่า MIC range, MIC₅₀ และ MIC₉₀ ของแบคทีเรีย 501 สายพันธุ์ต่อ ampicillin, cotrimoxazole, nifuroxazide และ norfloxacin.

Organisms	No of Strains	Minimum Inhibitory Concentration (mg/L)											
		Ampicillin			Cotrimoxazole			Nifuroxazide			Norfloxacin		
		Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Salmonella	105	1->128	2	>128	<0.5->128	2	>128	8->128	32	>128	0.015-0.25	0.125	0.125
Shigella	100	1->128	64	>128	<0.5->128	>128	>128	1-32	8	16	0.03-0.5	0.06	0.06
Vibrio	100	1->128	4	>32	<0.5->128	1	2	1->128	2	32	0.008-2	0.06	0.5
<i>E. coli</i>	96	2->128	128	>128	<0.5->128	8	>128	8->128	16	>128	0.015-8	0.06	0.125
<i>Aeromonas</i>	20	2->128	>128	>128	<0.5->128	4	8	1-128	4	4	<0.001-0.03	0.008	0.03
<i>Plesiomonas</i>	20	2->128	8	16	2->128	4	4	1-16	2	2	0.004-0.06	0.015	0.06
<i>S. aureus</i>	20	<0.25-32	1	4	<0.5->128	1	8	4-8	8	8	0.5->32	1	2
<i>K. pneumoniae</i>	20	16->128	32	64	1->128	4	32	16->128	>128	>128	0.06-0.25	0.25	0.25
<i>C. freundii</i>	20	2-128	16	128	1->128	2	8	8->128	>128	>128	0.015-2	0.125	0.25

Table 2 ผลความไวของแบคทีเรีย 501 สายพันธุ์ต่อ ampicillin, cotrimoxazole, nifuroxazide และ norfloxacin

Organisms	No of strains	Percentage of susceptible at indicated MIC breakpoint			
		AMP (≤8, ≤0.25)	COTRI ≤ 40	NIFU ≤32	NORF ≤4
Salmonella	105	70	67	55	100
Shigella	100	34	13	100	100
Vibrio	100	59	96	90	100
<i>E. coli</i>	96	49	55	72	99
Aeromonas	20	10	85	95	100
Plesiomonas	20	60	90	100	100
<i>S. aureus</i>	20	40	85	100	90
<i>K. pneumoniae</i>	20	0	85	5	100
<i>C. freundii</i>	20	45	90	10	100

AMP = Ampicillin, COTRI = Cotrimoxazole, NIFU = Nifuroxazide, NORF = Norfloxacin
The MIC breakpoint for AMP to all organisms is ≤ 8 mg/L except *S. aureus* (≤ 0.25 mg/L)

สรุปและวิจารณ์

จากผลการทดลองจะเห็นว่า *Shigella* ซึ่งเป็นสาเหตุของบิด ไวต่อ AMP และ COTRI ในเปอร์เซ็นต์ที่ค่อนข้างต่ำคือร้อยละ 34 และร้อยละ 13 ตามลำดับ AMP ได้ผลความไวต่อแบคทีเรียที่ทดสอบไม่เกินร้อยละ 60 ยกเว้น *Salmonella* ซึ่งไวร้อยละ 70 ส่วน COTRI ไวต่อแบคทีเรียที่ทดสอบเท่ากับหรือมากกว่า ร้อยละ 85 ยกเว้น *Salmonella* (67%), *E. coli* (55%) และ *Shigella* (13%) แบคทีเรียที่ทดสอบไวต่อ NORF ร้อยละ 90-100 ซึ่งน่าจะได้ผลดีในการรักษาอุจจาระร่วงที่เกิดจากแบคทีเรียเหล่านี้ แต่ก็จะมีผลในการทำลาย normal flora ของลำไส้ที่เป็นแบคทีเรียแกรมลบชนิดแอโรบัสต์ด้วย NIFU ได้ผลความไวต่อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุและน่าจะเป็นสาเหตุของอุจจาระร่วง คิดเป็นร้อยละ 90-100 ยกเว้น *Salmonella* และ *E. coli* ซึ่งได้ผลเพียงร้อยละ 55 และ 72 ตามลำดับ แต่ได้ผลความไวที่ต่ำกับแบคทีเรียที่เป็น normal flora ของลำไส้คือ *C. freundii* และ *K. pneumoniae* คือได้ผลเพียงร้อยละ 10 และ 5 ตามลำดับ ดังนั้นหากนำ nifuroxazide มาใช้ในการขจัดแบคทีเรียซึ่งเป็นสาเหตุของอุจจาระร่วงน่าจะได้ผลดี ยกเว้น *Salmonella* และจะไม่มียาต่อ normal flora ของลำไส้ที่เป็นแบคทีเรียแกรมลบชนิดแอโรบัสต์

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับความสนับสนุนจากบริษัทเอพีซีลิด ประเทศไทย ผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณสมศรี สายบริสุทธิ์ ที่ช่วยจัดหาเชื้อที่ทำการศึกษางานบางส่วน ขอขอบคุณคุณเอกชัย เนวชื่น ที่ช่วยพิมพ์ต้นฉบับ

เอกสารอ้างอิง

- Jayanetra P, Vorachit M. Etiology Agents of Bacterial Diarrhea at Ramathibodi Hospital. *Ramathibodi Med J* 1981; 4:214-20.
- Sack RB. Human diarrheal disease caused by enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Ann Rev Microbiol* 1975; 29:333-53.
- Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, McGee HB, Wells JG, Davis BR, et al. Hemorrhagic colitis associated with 9 rare *Escherichia coli* serotype. *N Engl J Med* 1983; 308:681-5.
- Supavej S, et al. *Campylobacter jejuni*: Enteritis in Thai Children: Clinical and Bacteriological Aspects. *J Med Tech Assoc Thailand* 1987; 15(2):77-82.
- Buisson Y, Lang T and Saliou P. Study of the in vitro antibacterial activity of nifuroxazide. *Medecine et Maladies Infectieuses* 1988; 2:64-9.
- Thomsberry C, Anhalt J, Barry AL, Cotton JL, Gerlach EH, Jones RN, et al. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. *NCCLS M7-A*. 1985; 5:579-95.
- Jones RN, Barry AL, Gavan TL, Hackett JL, Lane AL, Moellering RC, et al. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 3rd ed, *NCCLS M2-A3*. 1984; 4:369-83.