

## Glycopeptide tolerance\_(การต้านยา glycopeptide)

อมรรัตน์ ลีลาภรณ์

Glycopeptides เป็นยาในกลุ่มสำคัญในการรักษาโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียแกรมบวก ยาออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์และเป็น bactericidal antibiotics. ฤทธิ์ฆ่าเชื้อ (bactericidal effect) ของยาด้านจุลชีพมีความจำเป็นสำหรับการรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียที่มีความรุนแรง เช่น meningitis, endocarditis และ septicemia

Gram-positive cocci เช่น streptococci, enterococci และ staphylococci เป็นสาเหตุที่สำคัญของ endocarditis และ septicemia. ส่วน *Streptococcus pneumoniae* นั้นพบเป็นต้นเหตุของ meningitis และ septicemia. กรณีที่จำเป็นต้องใช้ glycopeptide ในการรักษาโรคติดเชื้อเหล่านี้ ในปัจจุบันมีแนวโน้มว่า การทดสอบการต้านยา (tolerance test) ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่เป็นต้นเหตุของการติดเชื้อจะมีความสำคัญเทียบเท่ากับการทดสอบการดื้อยา เนื่องจากทั้งการดื้อยาและการต้านยาอาจทำให้การรักษาโรคติดเชื้อนั้นล้มเหลวได้ (1, 2) และนอกจากนั้นยังพบว่าแบคทีเรียดังกล่าวข้างต้นมีการต้านยาในอัตราสูง ห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่จะทดสอบความไวของเชื้อต่อยา ซึ่งอาจจะเป็นวิธี disk diffusion หรือการหาค่า MIC (Minimal Inhibitory Concentration, ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย) ทำให้ทราบว่าเชื้อสายพันธุ์นั้นๆ มีความไวหรือดื้อต่อยาเท่าไร โดยไม่ได้ทำการทดสอบการต้านยา เนื่องจากการทดสอบการต้านยาทำได้ยากที่จะให้ได้ผลเชื่อถือได้ (3, 4)

การต้านยา (antimicrobial tolerance) เป็นปรากฏการณ์ที่แบคทีเรียยังคงมีความไวต่อยา นั่นคือยาในความเข้มข้นที่กำหนดยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ แต่ยาไม่สามารถฆ่าเชื้อได้แม้จะใช้ยาในความเข้มข้นที่สูงกว่าความเข้มข้นที่ใช้ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียมากหลายเท่าก็ตาม โดยมีกำหนดไว้ว่า ถ้าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal Bactericidal Concentration, MBC) มากกว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (MIC)  $\geq 32$  เท่า จะเรียกว่าเชื้อเกิดการต้านยา (5). หรืออาจจะใช้เกณฑ์การต้านยาว่ามีการฆ่าแบคทีเรีย  $\leq$  ร้อยละ 99.9 หลังการอบ 24 ชม. ใน time-kill experiment. ทั้งนี้การต้านยาจะเกิดกับยาด้านจุลชีพที่มี bactericidal effect เท่านั้นและเท่าที่มีรายงานจะเป็นยาด้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ ได้แก่  $\beta$ -lactams และ glycopeptides

## ชนิดของการต้านยา

ปี ค.ศ. 1970 (6) มีรายงานการต้านยาในเชื้อ pneumococci ครั้งแรก และในปี ค.ศ. 1977 (7) มีรายงานการต้านยาในเชื้อ *S. aureus* ครั้งแรก ต่อมา มีรายงานการต้านยาของแบคทีเรียอื่นอีกหลายชนิด (1, 4, 5, 8-13) การต้านยามี 2 แบบ คือ phenotypic tolerance และ genotypic tolerance

### Phenotypic tolerance

เป็นการต้านยาที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรม แต่ในบางสภาวะ เช่น ในที่ขาดแคลนสารอาหาร เชื้อหยุดการเจริญหรือมีการเจริญเติบโตช้า แบคทีเรียจะหยุดการสังเคราะห์ macromolecules เช่น DNA, phospholipids และ cell wall peptidoglycan. ในสภาวะเหล่านี้จะไม่มีการ lysis ของเซลล์แบคทีเรียจากผลของยาในกลุ่ม  $\beta$ -lactams ส่วนใหญ่ เหตุการณ์นี้เรียกว่า phenotypic tolerance ยังไม่มีคำอธิบายที่ชัดเจนของเหตุการณ์นี้ เพียงแต่พบว่าเกี่ยวข้องกับการควบคุมการทำงานของ autolytic enzymes (enzymes ที่ทำให้เซลล์แบคทีเรียมีการ lysis หรือเรียก enzymes เหล่านี้ว่า autolysin) และพบว่า autolysin ของแบคทีเรียที่เกิด phenotypic tolerance ยังมีประสิทธิภาพอยู่ แต่จะไม่ออกฤทธิ์ หากนำ enzyme ไปใส่ให้กับเซลล์แบคทีเรียที่มีการเจริญเติบโต ก็จะออกฤทธิ์ได้. ในสภาวะที่มี pH ต่ำ, มีสารยับยั้งการทำงานของ autolytic enzymes หรือการเติม lipoteichoic acid ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เหล่านี้สามารถทำให้เกิด phenotypic tolerance ได้เช่นกัน ในกรณีเหล่านี้ไม่มีการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรม

### Genotypic tolerance

เป็นการต้านยาที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรม ยังไม่มีคำอธิบายที่ชัดเจนของกลไกการต้านยาประเภทนี้เช่นเดียวกับ phenotypic tolerance แต่จากการศึกษาการต้านยาของเชื้อ pneumococci และแบคทีเรียอื่นๆ พบว่า การต้านยาอาจเกิดจาก ไม่มีการกระตุ้น autolysin (cell wall hydrolase) หรือ autolysin ไม่มีประสิทธิภาพ หรือเชื้อสายพันธุ์นั้นไม่มี autolysin (14). สำหรับการที่ autolysin ไม่มีประสิทธิภาพนั้นพบว่ามีสาเหตุที่ autolysin gene ที่ชื่อ *lytA* ในสายพันธุ์จากผู้ป่วย พบว่าการต้านยาเกิดจากมีความผิดปกติในการควบคุม autolysin activity. และจากการศึกษา antibiotic-tolerant mutants พบว่ามีหลายกลไก/ปัจจัยที่สามารถทำให้การควบคุมการแตกของเซลล์มีความผิดปกติไป ได้แก่ two-component regulatory system (VncS-R) (2), ABC transporters (Psa และ Pst) (15), zinc metalloprotease (ZmpB), heat-shock protein (ClpC) และการสร้าง capsular polysaccharides ของเชื้อ (16)

การทำงานของ autolysin มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของเซลล์แบคทีเรียปกติ โดย autolysin จะสลาย (dissolve) murein ชั้นนอกสุดในขณะเซลล์มีการเจริญเติบโต จากนั้นจะมีการ

ขยายการสร้างผนังเซลล์ และเมื่อมีการแบ่งเซลล์ autolysin จะทำให้สองเซลล์แยกจากกันได้ นอกจากนั้นยังเชื่อว่า autolysin มีส่วนเกี่ยวข้องในขบวนการ apoptosis หรือ programmed cell death ด้วย จากสมมติฐานของ Koch (17) กล่าวว่า ในภาวะปกติที่แบคทีเรียไม่มีการต้านยา เมื่อให้ยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ เซลล์แบคทีเรียจะขยายขนาดไม่ได้ แต่ในขณะเดียวกันยังมีการเจริญเติบโตต่อไปเรื่อยๆ ของซัยโตพลาสซึม (cytoplasmic synthesis) ทำให้ความดัน turgor ของเซลล์เพิ่มขึ้น จึงไปกระตุ้นระบบการทำงานของ autolysin มาทำให้เซลล์แบคทีเรานั้นมีการ lysis แต่ในกรณีที่แบคทีเรียที่มีการต้านยา Koch เชื่อว่าไม่มีระบบการทำงานของ autolysin ทำให้ไม่มีการ lysis เกิดขึ้นถึงแม้จะมีการเพิ่มขึ้นของ cytoplasmic synthesis และความดัน turgor อย่างไรก็ตามมีข้อขัดแย้งว่าถึงแม้ไม่มีระบบการทำงานของ autolysin เซลล์ที่ขยายขนาดไม่ได้แต่มีการเพิ่มของ cytoplasmic synthesis และความดัน turgor ในที่สุดก็จะสูงมากจนมีการฉีกขาดของผนังเซลล์ได้อยู่ดี จึงเชื่อว่าน่าจะต้องมีคำอธิบายอื่นๆ นอกจากการไม่มีระบบการทำงานของ autolysin เช่น อาจเป็นไปได้ว่ามีกลไกในการลดความดัน turgor ลงจากเซลล์นั้น โดยมีการรั่วของสารโมเลกุลเล็กๆ หรือ มีกลไกทำให้แบคทีเรียหยุดเจริญเติบโต หรือ กลไกที่ควบคุมการทำงานของเซลล์จะมีความไวต่อความดันภายในเซลล์ เมื่อความดันเพิ่มขึ้นก็จะส่งผลให้เซลล์หยุดการสังเคราะห์ macromolecules ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ โดยสรุปยังไม่สามารถอธิบายภาวะที่แบคทีเรียมีการต้านยาปฏิชีวนะจากภาวะที่เซลล์แบคทีเรานั้นไม่มีการทำงานของระบบ autolysin อย่างเดียว

### **การต้านยากลุ่ม glycopeptides ใน Gram-positive cocci**

จากการศึกษาของคณะผู้วิจัยหลายกลุ่ม (5, 11, 13, 16, 18) พบว่า Gram-positive cocci หลายชนิด ทั้ง streptococci, enterococci และ staphylococci มีการต้านยา vancomycin และ teicoplanin ในอัตราสูง ส่วน pneumococci ยังมีการต้านยาเหล่านี้ในอัตราที่ต่ำ

#### Pneumococci

ปัจจุบัน pneumococci มีการดื้อ penicillin เพิ่มขึ้น อาจพบได้ถึงร้อยละ 50 ของสายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วย (10). ทำให้มีการใช้ glycopeptide ในการรักษาโรคติดเชื้อนี้เพิ่มขึ้น และพบมีสายพันธุ์ที่ต้านยา จากการศึกษารายงานของ Henriques Normark และคณะ (11) พบว่า pneumococci 116 สายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วยในสวีเดน ระหว่างปี.ศ.1987-1992 มีการต้านยา vancomycin ร้อยละ 3 อย่างไรก็ตามในบางประเทศ เช่น สเปน (19) ก็ยังไม่พบ pneumococci ที่มีการต้านยา vancomycin รายงานของ Novak (2) พบว่าเชื้อสายพันธุ์ที่ต้านยา มีการ mutate ที่ vncS gene ทำให้ histidine kinase ทำงานไม่ได้ ทำให้ไม่มีการกระตุ้นการทำงานของระบบ autolysin ทำให้สายพันธุ์นี้เกิดการ

ต้านยา. การ mutate ที่ *vncS* และ *lytA* genes ทำให้ pneumococci เกิดการต้านยาทั้ง penicillin และ vancomycin. แม้ในปัจจุบันยังไม่มีรายงาน pneumococci ตื้อต่อ vancomycin แต่ก็มีแนวโน้มว่าการต้านยาจะทำให้แบคทีเรียมีโอกาสรับยีนควบคุมการดื้อยาเข้าสู่เซลล์ได้ง่ายขึ้น (2) นั่นคือโอกาสที่ pneumococci ที่มีการต้านยาจะมีโอกาสที่จะดื้อยา vancomycin มากกว่า pneumococci ที่ไม่มีการต้านยา

### Streptococci

Perry และคณะ (13) ได้ศึกษาการต้านยาในแบคทีเรียที่แยกได้จากผู้ป่วย endocarditis พบว่า ค่า teicoplanin MIC สำหรับเชื้อ streptococci สายพันธุ์ส่วนใหญ่จะมีค่าต่ำกว่า vancomycin MIC. แต่อัตราการต้านยาใน teicoplanin ประมาณร้อยละ 78 ซึ่งสูงกว่าการต้านยาใน vancomycin ซึ่งประมาณร้อยละ 57. อัตราการต้านยายังมีความแตกต่างกันใน *Streptococcus* แต่ละ species ด้วย จากการศึกษาของ Zaoutis และคณะ (18) ก็พบร้อยละ 57 ของ Group G streptococci ที่แยกได้จากผู้ป่วยด้วย invasive infections (septicemia, meningitis ฯลฯ) มีการต้านยา vancomycin

### Enterococci

เชื้อ enterococci มี teicoplanin MIC ต่ำกว่า vancomycin MIC เช่นกัน. enterococci เกือบทุกสายพันธุ์มีการต้านยาทั้ง vancomycin และ teicoplanin. อัตราการต้านยา vancomycin สูงกว่าอัตราการต้านยา teicoplanin เล็กน้อย. ผลการศึกษาของ Perry และคณะ (13) ในประเทศอังกฤษที่ทำการศึกษา enterococci ที่แยกได้จากผู้ป่วย endocarditis พบอัตราการต้านยา vancomycin ร้อยละ 100 และอัตราการต้านยา teicoplanin ร้อยละ 92. สำหรับในประเทศไทย จากการศึกษาเบื้องต้นของผู้เขียนเองที่ได้ทำการศึกษา enterococci 140 สายพันธุ์ที่แยกได้จากเลือดของผู้ป่วยที่มารับการรักษาที่โรงพยาบาลศิริราช พบเชื้อที่มีการต้านยาเช่นกันโดยร้อยละ 96 และร้อยละ 87 ต้านยา vancomycin และ teicoplanin ตามลำดับ

### Staphylococci

ทั้ง *Staphylococcus aureus* และ coagulase-negative staphylococci มีการต้านยากลุ่ม glycopeptides (5, 8, 13). staphylococci ที่แยกได้จากผู้ป่วย endocarditis (13) มี teicoplanin MIC ต่ำกว่า vancomycin MIC เล็กน้อย แต่การต้านยา teicoplanin พบมากกว่าการต้านยา vancomycin (ร้อยละ 37 และร้อยละ 13 ตามลำดับ). May และคณะ (5) ใช้ทั้ง MBC/MIC ratio และ Time-kill measurements ในการศึกษาการต้านยาใน staphylococci พบว่าสายพันธุ์ที่ดื้อต่อ

methicillin มีอัตราการต้านยาสูงกว่าสายพันธุ์ที่ไวต่อ methicillin และสายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วย endocarditis มีอัตราการต้านยาสูงกว่าสายพันธุ์ที่เป็นต้นเหตุของโรคติดเชื้ออื่น. ในปีค.ศ.1994 (1) มีรายงานเกี่ยวกับการศึกษาในหลอดทดลองพบว่า เมื่อให้ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ที่ไม่ต้านยาอยู่ในสภาวะที่มี vancomycin หลายๆ passages เชื้อจะสามารถเปลี่ยนไปเป็นสายพันธุ์ที่ต้านยาได้

ในปัจจุบันพบแบคทีเรียหลายชนิดมีการต้านยากลุ่ม glycopeptides ในอัตราสูง การต้านยาจะมีผลต่อการรักษาผู้ป่วยมากน้อยเพียงใดคงต้องมีการศึกษาต่อไปให้ชัดเจนขึ้น และต้องศึกษาถึงความจำเป็นในการทดสอบการต้านยาของแบคทีเรียที่แยกได้จากผู้ป่วย โดยเฉพาะแบคทีเรียสายพันธุ์ที่เป็นต้นเหตุของการติดเชื้อที่รุนแรง เช่น endocarditis, septicemia และ meningitis เป็นต้น

#### References:

1. Voorn GP, Kuyvenhoven J, Goessens WH, Schmal-Bauer WC, Broeders PH, Thompson J, *et al.* Role of tolerance in treatment and prophylaxis of experimental *Staphylococcus aureus* endocarditis with vancomycin, teicoplanin, and daptomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 487-93.
2. Novak R, Henriques B, Charpentier E, Normark S, Tuomanen E. Emergence of vancomycin tolerance in *Streptococcus pneumoniae*. *Nature* 1999; 399: 590-3.
3. Sherris JC. Problems in *in vitro* determination of antibiotic tolerance in clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 1986; 30: 633-7.
4. Tuomanen E, Durack DT, Tomasz A. Antibiotic tolerance among clinical isolates of bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 1986; 30: 521-7.
5. May J, Shannon K, King A, French G. Glycopeptide tolerance in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 1998; 42: 189-97.
6. Tomasz A, Albino A, Zanati E. Multiple antibiotic resistance in a bacterium with suppressed autolytic system. *Nature* 1970; 227: 138-40.
7. Sabath LD, Wheeler N, Laverdiere M, Blazevic D, Wilkinson BJ. A new type of penicillin resistance of *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 1977; 1: 443-7.
8. Watanakunakorn C. Antibiotic tolerance of *Staphylococcus epidermidis*. *Scand J Infect Dis* 1985; 17: 59-61.

9. Krasinski K, Hanna B, LaRussa P, Desiderio D. Penicillin tolerant group A streptococci. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1986; 4: 291-7.
10. Baquero F. Pneumococcal resistance to beta-lactam antibiotics: a global geographic overview. *Microb Drug Resist* 1995; 1: 115-20.
11. Henriques Normark B, Novak R, Ortqvist A, Kallenius G, Tuomanen E, Normark S. Clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* that exhibit tolerance of vancomycin. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 552-8.
12. Zelenitsky S, Franczuk C, Fine A, Ariano R, Harding G. Antibiotic tolerance of peritoneal bacterial isolates in dialysis fluids. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49: 863-6.
13. Perry JD, Jones AL, Gould FK. Glycopeptide tolerance in bacteria causing endocarditis. *J Antimicrob Chemother* 1999; 44: 121-4.
14. Charpentier E, Tuomanen E. Mechanisms of antibiotic resistance and tolerance in *Streptococcus pneumoniae*. *Microbes Infect* 2000; 2: 1855-64.
15. Novak R, Braun JS, Charpentier E, Tuomanen E. Penicillin tolerance genes of *Streptococcus pneumoniae*: the ABC-type manganese permease complex Psa. *Mol Microbiol* 1998; 29: 1285-96.
16. Henriques Normark B, Normark S. Antibiotic tolerance in pneumococci. *Clin Microbiol Infect* 2002; 8: 613-22.
17. Koch AL. Autolysis control hypotheses for tolerance to wall antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 2671-5.
18. Zaoutis T, Schneider B, Steele Moore L, Klein JD. Antibiotic susceptibilities of group C and group G streptococci isolated from patients with invasive infections: evidence of vancomycin tolerance among group G serotypes. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3380-3.
19. Anton N, Blazquez R, Gomez-Garces JL, Alos JI. Study of vancomycin tolerance in 120 strains of *Streptococcus pneumoniae* isolated in 1999 in Madrid, Spain. *J Antimicrob Chemother* 2001; 47: 902-3.

---

ผ.ศ.ดร.ภ.ญ.อมรรัตน์ ลีลาภรณ์  
ภาควิชาจุลชีววิทยา

คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล  
มหาวิทยาลัยมหิดล  
siale@mahidol.ac.th