นิพนธ์ต้นฉบับ

ความไวของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายขนานต่อยา meropenem, imipenem, cefepime, cefoxitin and ciprofloxacin

พรพิมล พฤกษ์ประเสริฐ[1]
วนัสนันทน์ ธัญญพาณิชย์[2]
ละม้าย แก้วจังหวัด[3]

***In vitro* activity of meropenem, imipenem, cefepime, cefoxitin and ciprofloxacin against multiresistant *Klebsiella pneumoniae*.**

Pruekprasert P, Tunyapanit W, Kaewjungwad L.

Department of Pediatrics, Faculty of Medicine,

Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90110, Thailand

Songkla Med J 2006;24(3):147-151

Abstract:

One hundred strains of Klebsiella pneumoniae, resistant to amikacin and ceftazidime, were tested in vitro for susceptibility to meropenem, imipenem, cefepime and cefoxitin by the E test, and tested for susceptibility to ciprofloxacin by the disk test. All strains tested were highly susceptible to meropenem and imipenem with minimal inhibitory concentrations for 90 percent of the strains (MIC_{90}) of 0.125 and 1 mg/L, respectively. Seventy-seven and 61 percent of strains were susceptible to cefepime and cefoxitin, but with lower levels of activity with MIC_{90} of 64 and > 256 mg/L, respectively. Only 32 percent of strains were susceptible to ciprofloxacin. All 13 strains resistant to amikacin, ceftazidime, cefepime, cefoxitin and ciprofloxacin were susceptible to meropenem and imipenem.

---

[1]พบ., วว. (กุมารเวชศาสตร์) รองศาสตราจารย์ [2]วท.ม. (จุลชีววิทยา) นักวิทยาศาสตร์ [3]ป. (จุลชีววิทยา) พนักงานวิทยาศาสตร์การแพทย์
ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110
รับต้นฉบับวันที่ 30 กันยายน 2548 รับลงตีพิมพ์วันที่ 31 มีนาคม 2549

These results suggest that meropenem and imipenem should be recommended as therapy for multiresistant K. pneumoniae infections. Other antimicrobial agents might be useful but should be confirmed with the antimicrobial susceptibility test. Cefoxitin should be used with special caution because of its very high MIC_{90}.

Key words: *Klebsiella pneumoniae, meropenem, imipenem*

บทคัดย่อ:

ศึกษาความไวของเชื้อ Klebsiella pneumoniae สายพันธุ์ที่ดื้อต่อ amikacin และ ceftazidime จำนวน 100 สายพันธุ์ ต่อ meropenem, imipenem, cefepime, cefoxitin และ ciprofloxacin โดยหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ (MIC) ของ meropenem, imipenem, cefepime และ cefoxitin โดยวิธี E-test และศึกษาความไวของเชื้อต่อ ciprofloxacin โดยวิธี disk diffusion ผลการศึกษาพบว่าเชื้อทุกสายพันธุ์ไวต่อ meropenem และ imipenem โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ร้อยละ 90 ของสายพันธุ์ที่ใช้ศึกษา (MIC_{90}) เท่ากับ 0.125 และ 1.0 มก./ล. ตามลำดับ เชื้อร้อยละ 77 และ 61 ไวต่อ cefepime และ cefoxitin แต่ค่า MIC_{90} ของยาทั้งสองมีระดับสูงมากคือ 64 และ >256 มก./ล. ตามลำดับ เชื้อไวต่อ ciprofloxacin เพียงร้อยละ 32 เชื้อ 13 สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพ 5 ชนิด คือ amikacin, ceftazidime, cefepime, cefoxitin และ ciprofloxacin ทุกสายพันธุ์ยังไวต่อ meropenem และ imipenem

จากผลการศึกษานี้ น่าจะใช้ meropenem และ imipenem รักษาการติดเชื้อที่เกิดจาก K. pneumoniae ที่ดื้อต่อยาหลายขนานได้อย่างมั่นใจ ยาอื่นอีก 3 ชนิด ต้องดูผลความไวของเชื้อก่อนให้การรักษา สำหรับ cefoxitin ต้องใช้อย่างระมัดระวังเป็นพิเศษ เนื่องจากค่า MIC_{90} มีระดับสูงมาก

คำสำคัญ: *Klebsiella pneumoniae, meropenem, imipenem*

บทนำ

การติดเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิด เป็นปัญหาสำคัญในการรักษาผู้ป่วยในโรงพยาบาล เชื้อสายพันธุ์ดังกล่าวมักดื้อต่อยาในกลุ่มที่เคยใช้รักษาได้ผล เช่น aminoglycoside (gentamicin, amikacin), cephalosporin รุ่นที่ 3 (cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime), penicillin (piperacillin), co-trimoxazole รวมทั้ง quinolone (ciprofloxacin)[1-4] เชื้อยังสามารถถ่ายทอดคุณสมบัติการดื้อยาให้แก่เชื้ออื่น ๆ ที่อยู่ในกลุ่ม enterobacteriaceae ด้วยกัน เช่น *Escherichia coli*, Enterobacter species ทำให้เป็นปัญหามากขึ้น[5-7] การศึกษาหลายแห่งพบว่าเชื้อดังกล่าวยังไวต่อยาในกลุ่ม carbapenem (meropenem, imipenem) และบางส่วนไวต่อ cephalosporin บางตัว (cefepime, cefotaxime) และ ciprofloxacin กลุ่มผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาความไวของเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ดื้อต่อยา amikacin และ ceftazidime ที่แยกได้จากผู้ป่วยของโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ต่อยาต้านจุลชีพดังกล่าว เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกใช้ยาต้านจุลชีพรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อดื้อยาดังกล่าวต่อไป

วัสดุและวิธีการ

วิธีการศึกษา เป็นการศึกษาแบบทดลอง

เชื้อแบคทีเรีย เก็บตัวอย่างเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ดื้อต่อยา amikacin, ceftazidime และ cefotaxime จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ นำเชื้อมาทดสอบความไวกับยา amikacin และ ceftazidime โดยวิธี disk diffusion เพื่อยืนยันว่าเป็นสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาทั้งสองจริง นำเชื้อที่ผลทดสอบยืนยันว่าดื้อยาจำนวน 100 ตัวอย่างมาทำการศึกษา

ยาต้านจุลชีพ ใช้ disk ทดสอบความไวมาตรฐานของยา amikacin, ceftazidime และ ciprofloxacin ของบริษัท Oxoid ใช้แผ่น E test ของยา meropenem, imipenem, cefepime และ cefoxitin ของบริษัท AB BIODISK

วิธีการศึกษา ศึกษาความไวของเชื้อต่อยา meropenem, imipenem, cefepime และ cefoxitin โดยวิธี E test เพื่อหาค่า minimum inhibitory concentration (MIC) ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของยาต้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ และศึกษาความไวของเชื้อต่อยา ciprofloxacin โดยวิธี disk diffusion

ตารางที่ 1 แสดงผลความไวของเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ดื้อยา amikacin และ ceftazidime จำนวน 100 ตัวอย่าง

ยาต้านจุลชีพ	ระดับความไวต่อยาต้านจุลชีพ		
	เชื้อไวต่อยา	เชื้อดื้อยาระดับปานกลาง	เชื้อดื้อยาระดับสูง
Meropenem	100	-	-
Imipenem	100	-	-
Cefepime	77	7	16
Cefoxitin	61	13	26
Ciprofloxacin	32	33	35

การทดสอบทุกวิธีทำตามมาตรฐานของ National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) โดยใช้ *Escherichia coli* ATCC 25922 เป็นตัวควบคุม[8]

ผลการศึกษา

เชื้อ *K. pneumoniae* ที่ดื้อยา amikacin และ ceftazidime จำนวน 100 ตัวอย่าง เก็บระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2541 ถึง มิถุนายน พ.ศ. 2542 เก็บจากผู้ป่วยเพศชาย 60 ราย เพศหญิง 40 ราย เป็นผู้ป่วยเด็ก 32 ราย, ผู้ใหญ่ 68 ราย ผู้ป่วยทุกคนมีอาการและอาการแสดงของการติดเชื้อ เชื้อแยกได้จากสิ่งส่งตรวจดังนี้ ปัสสาวะ 51 ตัวอย่าง เสมหะ 21 ตัวอย่าง เนื้อเยื่อหรือหนองจากแผล 20 ตัวอย่าง เลือด 4 ตัวอย่าง น้ำในช่องท้อง 3 ตัวอย่าง และน้ำไขสันหลัง 1 ตัวอย่าง

ตารางที่ 2 แสดงค่า minimum inhibitory concentration (MIC) ของยาต้านจุลชีพต่อเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ดื้อยา amikacin และ ceftazidime จำนวน 100 ตัวอย่าง

ยาต้านจุลชีพ	MIC (มก./ล.)*	
	MIC_{50}	MIC_{90}
Meropenem	0.064	0.125
Imipenem	0.38	1
Cefepime	3	64
Cefoxitin	6	>256

*ช่วงความเข้มข้นของยาที่ใช้ทดสอบตั้งแต่ 0.016 ถึง 256 มก./ล.

ผลการทดสอบความไวของเชื้อที่ดื้อยา amikacin และ ceftazidime ต่อยาต้านจุลชีพ และ MIC ของยาต้านจุลชีพต่อเชื้อแสดงในตารางที่ 1 และ 2 ตามลำดับ และผลการทดสอบความไวของเชื้อที่ดื้อยาต้านจุลชีพมากกว่า 2 ขนานต่อยาต้านจุลชีพ แสดงในตารางที่ 3

วิจารณ์

เชื้อ *K. pneumoniae* เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดปัญหาการติดเชื้อในโรงพยาบาล[1-2, 9-11] การแพร่ระบาดของเชื้อนี้มีเพิ่มมากขึ้นหลังจากมีการใช้ยากลุ่ม extended-spectrum cephalosporins[11] กลไกการดื้อยาของ *K. pneumoniae* มีหลายกลไกแต่กลไกที่สำคัญ คือ การลดการนำยาเข้าสู่เซลล์ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของ outer membrane proteins (OMPs)[2, 4, 9] และการผลิตเอนไซม์ β-lactamase ชนิด extended-spectrum β-lactamases (ESBLs) โดยกลไกนี้ทำให้เกิดปัญหาการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาไปทั่วโลก[2-3, 7, 11-12] เอนไซม์ ESBLs ที่สร้างโดย *K. pneumoniae* รายงานครั้งแรก ในปี พ.ศ. 2523 เอนไซม์นี้มีคุณสมบัติในการย่อยสลายยากลุ่ม oxyiminocephalosporins (cefotaxime, ceftazidime และ ceftriaxone) รวมถึง aztreonam ซึ่งเป็นยากลุ่ม monobactam นอกจากนี้ยังพบว่า *K. pneumoniae* ที่สร้าง ESBLs มักจะดื้อต่อยากลุ่ม aminoglycosides และ fluoroquinolones มากกว่าชนิดที่ไม่สร้างเอนไซม์นี้[2-4, 7, 9, 11-13]

การดื้อยาของ *K. pneumoniae* ต่อยาต้านจุลชีพในกลุ่มต่างๆ เกิดจากกลไกดังนี้ การดื้อยากลุ่ม cephalosporins เกิดจากการหายไปของ OmpK35 และ OmpK36 porin ซึ่งเป็น outer membrane proteins ที่ยอมให้สารและยาต้านจุลชีพเข้าไปใน เซลล์ของแบคทีเรีย การหายไปของ porins ดังกล่าวมีผลทำให้ *K. pneumoniae* ดื้อยา cefoxitin และ cephalosporins ตัวอื่น รวมถึง

ตารางที่ 3 แสดงผลการทดสอบความไวของเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ดื้อยาต้านจุลชีพมากกว่า 2 ขนาน ต่อยาต้านจุลชีพ

ชนิดของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* (จำนวน)	ร้อยละของเชื้อที่ไวต่อยาต้านจุลชีพที่ใช้ทดสอบ				
	Meropenem	Imipenem	Cefepime	Cefoxitin	Ciprofloxacin
เชื้อดื้อยา amikacin, ceftazidime และ ciprofloxacin (n=68)	100	100	72	54	0
เชื้อดื้อยา amikacin, ceftazidime และ cefoxitin (n=39)	100	100	49	0	21
เชื้อดื้อยา amikacin, ceftazidime และ cefepime (n=23)	100	100	0	17	17
เชื้อดื้อยา amikacin, ceftazidime, cefoxitin และ ciprofloxacin (n=31)	100	100	100	0	0
เชื้อดื้อยา amikacin, ceftazidime, cefepime และ cefoxitin (n=20)	100	100	0	0	20
เชื้อดื้อยา amikacin, ceftazidime, ciprofloxacin และ cefepime (n=19)	100	100	0	0	0
เชื้อดื้อยา amikacin, ceftazidime, cefepime, cefoxitin และ ciprofloxacin (n=13)	100	100	0	0	0

ciprofloxacin และหาก *K. pneumoniae* มีการสร้าง ESBLs ร่วมด้วย จะทำให้ค่า MIC ของยาในกลุ่ม cephalosporins รวมถึง cefoxitin ในการทำลายเชื้อเพิ่มสูงขึ้น[2-4, 9, 13, 15] กลไกการดื้อยา ciprofloxacin หรือยากลุ่ม quinolones จะเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงเป้าหมายของยา (DNA gyrase หรือ DNA topoisomerase IV) บนโครโมโซม มีผลทำให้ยาจับกับเป้าหมายได้ลดลงหรือลดการสะสมของยาในเซลล์ เชื้อจึงดื้อยา ในบางพื้นที่พบว่าการดื้อยา quinolones ของ *K. pneumoniae* เกี่ยวข้องกับยีน *qrn* บนพลาสมิดซึ่งกลไกนี้จะทำให้เชื้อดื้อยาในระดับต่ำ และยังสามารถถ่ายทอดการดื้อยาไปยังแบคทีเรียอื่นได้[5, 14, 16]

ในการศึกษาผู้วิจัยได้คัดเลือก *K. pneumoniae* ที่ดื้อยา amikacin และ ceftazidime ซึ่งคาดว่าการดื้อยาของเชื้อเกิดจากการสร้างเอนไซม์ ESBLs[2-4, 7, 9, 11-14] มาทดสอบความไวของเชื้อกับยาต้านจุลชีพในกลุ่มต่าง ๆ คือยากลุ่ม fluoroquinolones ใช้ยา ciprofloxacin, ยากลุ่ม cephalosporins ใช้ยา cefoxitin และ cefepime และยากลุ่ม carbapenem ใช้ imipenem และ meropenem

ดังนั้นจะเห็นว่าการศึกษาถึงแบบแผนความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ จะทำให้เห็นถึงแนวโน้มของการดื้อยา ซึ่งข้อมูลดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ในการเลือกใช้ยาอย่างเหมาะสมจากผลการทดลองหากเชื้อ *K. pneumoniae* ดื้อยา ciprofloxacin สามารถเลือกใช้ cefepime ได้ และเมื่อเชื้อดื้อยา ciprofloxacin, cefoxitin, cefepime ยังสามารถใช้ imipenem และ meropenem ได้ เนื่องจากเชื้อยังคงไวต่อยาสูง นอกจากนี้ยังควรมีการศึกษาถึงกลไกการดื้อยาของเชื้อต่อไป เนื่องจากการทราบถึงกลไกการดื้อยาของเชื้อยังช่วยชะลอและป้องกันไม่ให้เชื้อพัฒนากลไกการดื้อยาต้านจุลชีพที่ใช้รักษาและต่อยาชนิดใหม่ ๆ ที่จะนำมาใช้

สรุป

ศึกษาความไวของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* สายพันธุ์ที่ดื้อต่อ amikacin และ ceftazidime จำนวน 100 สายพันธุ์ ต่อยาต้านจุลชีพ 5 ชนิด คือ meropenem, imipenem, cefepime, cefoxitin และ ciprofloxacin พบว่าเชื้อทุกสายพันธุ์ไวต่อ meropenem และ imipenem เชื้อร้อยละ 77 และ 61 ไวต่อ cefepime และ cefoxitin ตามลำดับ เชื้อไวต่อ ciprofloxacin เพียงร้อยละ 32 เชื้อ 13 สายพันธุ์ ที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิด คือ amikacin, ceftazidime, cefepime, cefoxitin และ ciprofloxacin ทุกสายพันธุ์ยังไวต่อ meropenem และ imipenem จากผลการศึกษานี้ น่าจะใช้ meropenem และ imipenem รักษาการติดเชื้อที่เกิดจาก *K. pneumoniae* ที่ดื้อต่อยาหลายขนานได้อย่างมั่นใจ ยาอื่นอีก 3 ชนิด ต้องดูผลความไวของเชื้อก่อนให้การรักษา

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ หัวหน้าภาควิชาพยาธิวิทยาและหัวหน้าหน่วยจุลชีววิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่อนุญาตให้เก็บตัวอย่างเชื้อมาทำการศึกษา

เอกสารอ้างอิง

1. Itokazu GS, Quinn JP, Bell-Dixon C, Kahan FM, Weinstein RA. Antimicrobial resistance rates among aerobic gram-negative bacilli recovered from patients in intensive care

units: evaluation of a national post marketing surveillance program. Clin Infect Dis 1996;23:779-84.

2. Hernandez-Alles S, Benedi VJ, Martinez-Martinez L, Pascual A, Aguilar A, Tomas JM, et al. Development of resistance during antimicrobial therapy caused by insertion sequence interruption of porin genes. Antimicrob Agents Chemother 1999;43:937-9.
3. Martinez-Martinez L, Hernandez-Alles S, Alberti S, Tomas JM, Benedi VJ, Jacoby GA. *In vivo* selection of porin-deficient mutants of *Klebsiella pneumoniae* with increased resistance to cefoxitin and expanded-spectrum cephalosporins. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40:342-8.
4. Domenech-Sanchez A, Pascual A, Suarez AI, Alvarez D, Benedi VJ, Martinez-Martinez L. Activity of nine antimicrobial agents against clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β-lactamases and deficient or not in porins. J Antimicrob Chemother 2000;46:858-9.
5. Martinez-Martinez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. Lancet 1998; 351:797-9.
6. Woloj M, tolmasky ME, Roberts MC, Crosa JH. Plasmid-encoded amikacin resistance in multiresistant strains of *Klebsiella pneumoniae* isolated from neonates with meningitis. Antimicrob Agents Chemother 1986; 29:315-9.
7. Shannon K, Stapleton P, Xiang X, Johnson A, Beattle H, Bakri FE, et al. Extended-spectrum β-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains causing nosocomial outbreaks of infection in the United Kingdom. J Clin Microbiol 1998;36:3105-10.
8. National Committee of Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Ninth Informational supplement NCCLS Documents M100-S9. NCCLS: (Pa): Wayne (Pa): 1999.
9. Ardanuy C, Linares J, Dominguez MA, Hernandez-Alles S, Benedi VJ, Martinez-Martinez L. Outer menbrane profiles of clonally related *Klebsiella pneumoniae* isolates from clinical samples and activities of cephalosporins and carbapenems. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42:1636-40.
10. Yan JJ, Ko WC, Wu HM, Tsai SH, Chuang CL, Wu JJ. Complexity of *Klebsiella pneumoniae* isolates resistant to both cephamycins and extended-spectrum cephalosporins at a teaching hospital in Taiwan. J Clin Microbiol 2004; 42:5337-40.
11. Pena C, Pujol M, Ardanuy C, Ricart A, Pallares R, Linares J, et al. Epidemiology and successful control of a large outbreak due to *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β-lactamases. Antimicrob Agents Chemother 1998;42:53-8.
12. Wachino JI, Doi Y, Yamane K, Shibata N, Yagi T, Kubota T, et al. Nosocomial spread of ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains producing a novel class A β-lactamase, GES-3, in a neonatal intensive care unit in Japan. Antimicrob Agents Chemother 2004;48: 1960-7.
13. เอนไซม์เบต้าแลคทาเมส: ตอนที่ 1 ข้อมูลปัจจุบัน (Beta-lactamase enzymes: Part1 Current data). ใน: นลินี อัศวโภคี, บรรณาธิการ. ความก้าวหน้าในการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ (Progress in antimicrobial therapy). กรุงเทพฯ: ทีพี พริ้นท์; 2538:232-45.
14. Wang M, Sahm DF, Jacoby GA, Hooper DC. Emerging plasmid-mediated quinolone resistance associated with the *qrn* gene in *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in the United States. Antimicrob Agents Chemother 2004;48:1295-9.
15. Hernandez-Alles S, Alberti S, Alvarez D, Domenech-Sanchez A, Martinez- Martinez L, Gil J, et al. Porin expression in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* . Microbiology 1999;145:673-9.
16. Deguchi T, Fukuoka A, Yasuda M, Nakano M, Ozeki S, Kanematsa E, et al. Alterations in the GyrA subunit of DNA Gyrase and the ParC subunit of topoisomerase IV in quinolone-resistant clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41:699-701.