

54-001-23
10-1-1
13

การทดสอบความไวของแอนแอโรบิกแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ 8 ชนิด

ปริญญานิพนธ์

ของ

ช่อทิพย์ กลุ่มทุมทิพย์

ร.ร. ก.พ. 2527

สำนักหอสมุดกลาง มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
สุขุมวิท 23 พระโขนง กรุงเทพฯ-11 โทร. 3921575, 3915058

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประธานมิตร

เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต

พฤษภาคม 2526

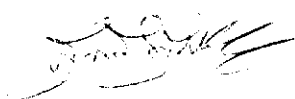
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

153213

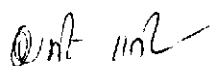
คณะกรรมการที่ปรึกษาประจำตัวนิสิตและคณะกรรมการสอบ ได้พิจารณาปัญหานี้
ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิตของ
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒได้

คณะกรรมการที่ปรึกษา

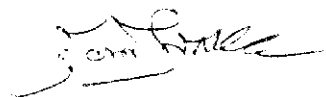
คณะกรรมการสอบ



ดร. นิพนธ์ นิพนธ์



ประธาน



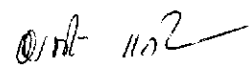
ประธาน

กรรมการ

ดร. นิพนธ์ นิพนธ์

กรรมการ

กรรมการ



กรรมการ

ดร. นิพนธ์ นิพนธ์

กรรมการ

ประกาศัญญการ

ขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงในความกรุณาของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ลู่ฉี ลู่เว่ยยี่ ภาควิชาจุลชีววิทยาและอิมมิวโนโลยี คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหิดล ประธานผู้ควบคุมการทำ ปรินญาณพนธ์ สำหรับคำแนะนำและความช่วยเหลือด้านต่าง ๆ ในการทำปรินญาณพนธ์ ขอกราบ ขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ลู่ปรีดา หัพนานนท์ ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหิดล และ อาจารย์ อรพินท์ แก้วลาย ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร ที่กรุณาเป็นกรรมการควบคุม การทำปรินญาณพนธ์ ให้คำปรึกษา เล่นอนแนะ และตรวจแก้ไขปรินญาณพนธ์ ณ ที่นี้ขอระลึกถึงด้วย ความขอบพระคุณอย่างสูง แต่ ศาสตราจารย์ นายแพทย์ จำลอง หะรินสุต อดีตคณบดีคณะ เวชศาสตร์เขตร้อน มหิดล ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ลู่ฉีฉี ธาระวานิช หัวหน้าภาควิชา จุลชีววิทยาและอิมมิวโนโลยี คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหิดล ที่อนุญาตให้ทำการทดลองที่ภาควิชา ดังกล่าว สำหรับรองศาสตราจารย์ นายแพทย์ สันติศิริ ศรัณย์ คณบดีคณะเวชศาสตร์เขตร้อน (ปัจจุบัน) มหิดล และ นายแพทย์ ยง ภู่วรรณ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ตลอดจนบริษัทฯ ต่าง ๆ ที่มอบยาด้านจุลชีววิทยาไปใช้ในการทำปรินญาณพนธ์ ในที่นี้ขอขอบพระคุณและขอบคุณต่อ อาจารย์ เจ้าหน้าที่ และพนักงานของภาควิชาจุลชีววิทยาและอิมมิวโนโลยี คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหิดล ทุกท่าน ที่ให้ความสะดวก ความช่วยเหลือและความเป็นกันเองตลอดเวลา

ท้ายที่สุดนี้ ขอกราบขอบพระคุณ พ่อ-แม่ และยายอันเป็นที่รัก และขอรำลึกถึงบุคคลเหล่านี้ ด้วยความขอบพระคุณและขอบคุณ เป็นพิเศ แต่ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พันธุ์สิน เกตุทัต คุณดวงรัตน์ ไกรนาม คุณจันทร์เพ็ญ ธาราคักดี คุณสมศรี หวานกิจเจริญ คุณอุดมเกียรติ อลงกตกุล และ คุณจินตนา ภักธโพธิ์กุล ที่เป็นพี่ปรึกษาและให้กำลังใจในการทำปรินญาณพนธ์ตลอดมา

ยอทิพย์ ลุ่มทุมทิพย์

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
คำนำ	1
ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า	7
ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า	7
ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า	8
คำจำกัดความศัพท์เฉพาะ	8
2 เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย	10
แหล่งที่พบเชื้อแอนแอโรบัสเป็นปกติในร่างกาย	10
อุบัติการณ์ของเชื้อแอนแอโรบัสที่แยกได้จากผู้ป่วย	13
วิธีทดสอบความไวของเชื้อแอนแอโรบัส	15
ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการทดสอบความไวของแอนแอโรบัสต่อยาต้านจุลชีพ ..	17
กฎเกณฑ์ที่สำคัญในการตัดสินความไวของแอนแอโรบิกแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ	20
รายงานการศึกษาเกี่ยวกับการทดสอบความไวของยาต้านจุลชีพในต่างประเทศ	21
รายงานการศึกษาเกี่ยวกับการทดสอบความไวของยาต้านจุลชีพในประเทศไทย	22
3 วิธีดำเนินการศึกษา	25
กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา	25
วิธีวินิจฉัยส่งส่งตรวจในห้องปฏิบัติการ	25
อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา	29
การทดสอบความไวของเชื้อแอนแอโรบิกแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ	31
การเตรียมยาต้านจุลชีพเพื่อใช้ในการทดสอบ	31

บทที่	หน้า
การเย็บเชื้อ	36
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดสอบ	36
วิธีทดสอบ	38
4 ผลการค้นคว้า	41
ผลการค้นคว้า	41
จำนวนเชื้อแอนแอโรบส์ที่ใช้ในการทดสอบ	47
แหล่งตัวอย่าง	49
ค่า MICs ของเชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน	50
ค่าความไวของแอนแอโรบส์ต่อยาต้านจุลชีพ	52
เปรียบเทียบความแตกต่างค่า MIC ของยาต้านจุลชีพทั้ง 8 ชนิด	68
สรุปความไวเป็นเปอร์เซ็นต์ของแอนแอโรบส์	69
เปอร์เซ็นต์ของแอนแอโรบส์ที่ไวต่อยาต้านจุลชีพ 8 ชนิด	70
5 บทย่อ สรุปผล อภิปราย และข้อเสนอแนะ	81
บทย่อ	81
ความมุ่งหมายในการค้นคว้า	81
วิธีดำเนินการวิจัย	82
สรุปผลการค้นคว้า	83
อภิปรายผล	83
ข้อเสนอแนะ	89
บรรณานุกรม	91
ภาคผนวก	103

บัญชีตาราง

ตาราง		หน้า
1	การเตรียมยาต้านจุลชีพ	32
2	ตัวทำลายและตัวทำให้เสื่อมสภาพในการเตรียม stock solution ของ ยาต้านจุลชีพ 8 ชนิด	34
3	การเตรียมยาต้านจุลชีพสำหรับวิธี Agar dilution โดยเสียดังเป็นลำดับ	35
4	แสดงส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ Wilkins-Chalgren Agar	37
5	จำนวนเชื้อแอนแอโรบิกที่ใช้ในการทดสอบ	47
6	แหล่งตัวอย่าง	49
7	ค่า MICs ของเชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน	50
8	ความเข้มข้นที่น้อยที่สุด (MIC) ของยาแอมพิซิลลินที่สามารถยับยั้งแอนแอโรบิก ในเชื้อสายต่าง ๆ	52
9	ความไวของแอนแอโรบิกชนิดต่าง ๆ ต่อยาแอมพิซิลลิน	53
10	ความเข้มข้นที่น้อยที่สุด (MIC) ของยาเซฟทาโลนที่สามารถยับยั้งแอนแอโรบิก ในเชื้อสายต่าง ๆ	54
11	ความไวของแอนแอโรบิกชนิดต่าง ๆ ต่อยาเซฟทาโลน	55
12	ความเข้มข้นที่น้อยที่สุด (MIC) ของยาคลินดามัยซินที่สามารถยับยั้งแอนแอโรบิก ในเชื้อสายต่าง ๆ	56
13	ความไวของแอนแอโรบิกชนิดต่าง ๆ ต่อยาคลินดามัยซิน	57
14	ความเข้มข้นที่น้อยที่สุด (MIC) ของยาคลอแรมเฟนิคอลที่สามารถยับยั้ง แอนแอโรบิกในเชื้อสายต่าง ๆ	58
15	ความไวของแอนแอโรบิกชนิดต่าง ๆ ต่อยาคลอแรมเฟนิคอล	59
16	ความเข้มข้นที่น้อยที่สุด (MIC) ของยาอีริโทรมัยซินที่สามารถยับยั้ง แอนแอโรบิกในเชื้อสายต่าง ๆ	60

17	ความไวของแอนแอโรบัสชนิดต่าง ๆ ต่อยาอีริโทรไมซิน	61
18	ความเข้มข้นที่น้อยที่สุด (MIC) ของยาเมโทรนิดาโซลที่สามารถยับยั้ง แอนแอโรบัสในเชื้อสายต่าง ๆ	62
19	ความไวของแอนแอโรบัสชนิดต่าง ๆ ต่อยาเมโทรนิดาโซล	63
20	ความเข้มข้นที่น้อยที่สุด (MIC) ของยาเพนิซิลลิน ซี ที่สามารถยับยั้งแอนแอโรบัส ในเชื้อสายต่าง ๆ	64
21	ความไวของแอนแอโรบัสชนิดต่าง ๆ ต่อยาเพนิซิลลิน จี	65
22	ความเข้มข้นที่น้อยที่สุด (MIC) ของยาเตตราไซคลีนที่สามารถยับยั้งแอนแอโรบัส ในเชื้อสายต่าง ๆ	66
23	ความไวของแอนแอโรบัสชนิดต่าง ๆ ต่อยาเตตราไซคลีน	67
24	เปรียบเทียบความแตกต่างของค่า Mode MIC ของยาด้านจุลชีพ 8 ชนิด กับ แอนแอโรบัสทุกสายพันธุ์	68
25	สรุปความไว เป็นเปอร์เซ็นต์ของแอนแอโรบัส 114 เชื้อสายต่อยาด้านจุลชีพ 8 ชนิด	69
26	เปอร์เซ็นต์ของแอนแอโรบัสที่ดื้อต่อยาด้านจุลชีพ 8 ชนิด	70

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 โกลแอนแอโรบิก	30
2 Steers' replicator และ replicator block	31
3 แสดง replicator block ซึ่งหยอกเชื้อลงในหลุมเรียงตามลำดับ 21 เชื้อ	38
4 แสดงการเรียงลำดับการทดสอบ MIC	39
5 จานเลี้ยงเชื้อควบคุมก่อนการทดสอบ pre anaerobe หลังจากบ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่มีออกซิเจน เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	71
6 จานเลี้ยงเชื้อควบคุมก่อนการทดสอบ pre anaerobe หลังจากบ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส ในโกลแอนแอโรบิก เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	72
7 แสดง MIC ของเชื้อแอนแอโรบส์กับเมโทรนิดาโซลที่ความเข้มข้น 0.048 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	73
8 แสดง MIC ของเชื้อแอนแอโรบส์กับเมโทรนิดาโซลที่ความเข้มข้น 0.195 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	74
9 แสดง MIC ของเชื้อแอนแอโรบส์กับเมโทรนิดาโซลที่ความเข้มข้น 0.781 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	75
10 แสดง MIC ของเชื้อแอนแอโรบส์กับเมโทรนิดาโซลที่ความเข้มข้น 3.125 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	76
11 แสดง MIC ของเชื้อแอนแอโรบส์กับเมโทรนิดาโซลที่ความเข้มข้น 12.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	77
12 แสดง MIC ของเชื้อแอนแอโรบส์กับเมโทรนิดาโซลที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	78
13 จานเลี้ยงเชื้อควบคุมหลังทดสอบ post aerobe หลังจากบ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่มีออกซิเจน เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	79
14 จานเลี้ยงเชื้อควบคุมหลังทดสอบ post anaerobe หลังจากบ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส ในโกลแอนแอโรบิกเป็นเวลา 48 ชั่วโมง	80

ตาราง (ภาคผนวก)

ตาราง	หน้า
1 แสดงการสั้ดแอนแอโรบิคแบคทีเรียที่มีความสำคัญทางการแพทยัออกเป็นสนั้ล ต่าง ๆ	104
2 เปรียบเทียบคุณสมบัตัของยาต้านจุลชีพที่ไ้กับแอนแอโรบัส	106
3 ความไวของ แอนแอโรบัสต่อยาต้านจุลชีพ	107
4 แหล่งที่พบแอนแอโรบัสเป็นปกติในร่างกาย	108
5 แหล่งที่พบเชื้อ <i>Bacteroides</i> sp.	109
6 แหล่งที่พบเชื้อ <i>Fusobacterium</i> sp.	110
7 แหล่งที่พบเชื้อ <i>Peptococcus</i> sp.	110
8 แหล่งที่พบเชื้อ <i>Peptostreptococcus</i> sp.	111
9 แหล่งที่พบเชื้อ <i>Propionibacterium</i> sp.	111
10 แสดงอุปัติการณัของภาวะติดเชื้อมแอโรบัส	112
11 โรคติดเชื้อมที่ เกิดจากแอนแอโรบัส	115
12 แสดง เปอร์เซนต์การกระจายของโรคติดเชื้อมแอโรบัสในผู้ป่วย	117
13 แสดง เปอร์เซนต์การกระจายของแอนแอโรบิคแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปใน โรคติดเชื้อมที่แยกได้ห้ห้องปฏิบัติการของมหาวิทยาลัยขอนแก่น	118
14 เปรียบเทียบอุปัติการณัของแอนแอโรบัสจากสิ่งส่งตรวจทางคลินั้จาก ห้องปฏิบัติการต่าง ๆ	120
15 อุปัติการณัของแอนแอโรบัสที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจห้ห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา และอิมมิวโนโลยี คณะเวชศาสตร์เขตร้อน	121
16 อุปัติการณัของ แอนแอโรบัสที่แยกได้จากช่องคลอดและปากมดลูกของสตรีไทยใน ระหว่างมีครรภ์	122

17	ปฏิบัติการแยกแวนแวนโรบส์ที่แยกได้จาก ฝัที่ลุ่มอง หน้าหนวกเรื้อรัง หนองซังนอก และใต้เปื้อนดูรา การติดเชื้ที่พื้น หนองซังบริเวณทรวงอก หนองฝัที่ด้านม ฝัที่ตบ เปื้อนย่องท้องอีกเส้น ไล่ตั้งอีกเส้น และหนองฝัใต้กระบังลม ...	123
18	ปฏิบัติการแยกแวนแวนโรบส์ที่แยกได้จากคนไข้ 60 รายที่เป็นโรคติดเชื้แวนแวนโรบส์ ณ โรงพยาบาลรามารับดี ระหว่าง 1 ตุลาคม 2514 ถึง 30 พฤศจิกายน 2516	124
19	ปฏิบัติการของ แวนแวนโรบส์ที่แยกได้จากผู้ป่วยปากมดลูกอักเสบ 69 ราย	125
20	ความแตกต่างของค่า MICs เมื่อใช้ Wilkins-Chalgren Agar	126
21	แสดงค่า MIC ของยาเมโทรไนดาโซลและไนริดาโซล (niridazole) ต่อ แวนแวนโรบส์	127
22	แสดงการสั้ดจำแนกความไวของ แวนแวนโรบส์ต่อยาด้านจุลชีพต่าง ๆ ตามค่า MIC	128
23	ความไวของแวนแวนโรบส์ที่คล้บที่โรงพยาบาลรามารับดี ระหว่าง 1 มกราคม 2514 - 30 พฤศจิกายน 2516	129
24	ความไวของเชื้อแวนแวนโรบส์ 338 เชื้อสายต่อยาด้านจุลชีพ 5 ชนิด	130
25	ความไวของแวนแวนโรบส์ 726 เชื้อสายต่อยาด้านจุลชีพต่าง ๆ ของโรงพยาบาล รามารับดีระหว่างมกราคม 2522 - ธันวาคม 2524	131
26	แสดงการเตรียมความเข้มข้นต่าง ๆ ของยาด้านจุลชีพ 2 ชนิด คือ คลินดามัยซิน และอีริธโรมัยซิน จาก stock solution ที่มีความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร	138
27	การเตรียมยาเมโทรไนดาโซล ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ จาก stock solution 1,250 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร	139

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (ภาคผนวก)

สูตร	หน้า
1 อาหารเลี้ยงเชื้อ Basal Medium-PY-Peptide Yeast Extract	132
2 อาหารเลี้ยงเชื้อ BHIA	133
3 อาหารเลี้ยงเชื้อ Cooked Meat Medium	133
4 อาหารเลี้ยงเชื้อ Deep tube agar	133
5 อาหารเลี้ยงเชื้อ Fluid Thioglycollate Medium ของบริษัท Difco	134
6 อาหารเลี้ยงเชื้อ Thioglycollate ที่ไม่มีอินดิเคเตอร์	134
7 ฟอสเฟตบัพเฟอร์	135
8 ฟอสเฟตบัพเฟอร์ 1 % pH 8.0 สำหรับละลายยาซีรียโรมัยซิน ตาม Abbott Australia Internal Reference Standard	135
9 สารละลายเอมิน	136
10 การเตรียมสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต	136
11 resazurin solution	136
12 น้ำกลั่นนอร์มัล	137
13 McFarland nephelometer barium sulfate standard เบอร์ 0.5	137

บทที่ 1

บทนำ

คำนำ

แอนแอโรบส์ (anaerobes) เป็นแบคทีเรียพวกที่เจริญในที่ที่ไม่มีออกซิเจน (Smith. 1970) โดยทั่วไป แอนแอโรบส์แบ่งออกเป็นสองกลุ่ม กลุ่มแรก คือ อีโอบลิเกทแอนแอโรบส์ (obligate anaerobes) เป็นแบคทีเรียที่เจริญเติบโตในที่ที่ไม่มีออกซิเจนเลย เช่น *Bacteroides fragilis* เป็นต้น กลุ่มที่สอง คือ แฟคคัลเททีฟแอนแอโรบส์ (facultative anaerobes) เป็นแบคทีเรียที่เจริญเติบโตได้ทั้งในสภาพที่มีออกซิเจนและในสภาพที่ไร้ออกซิเจน เช่น *Escherichia coli* เป็นต้น (Thomas. 1979)

โดยปกติอีโอบลิเกทแอนแอโรบส์อาศัยอยู่ตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกายโดยไม่ทำให้เกิดโรค เช่นที่ผิวหนัง ในช่องปาก หลอดอาหาร ลำไส้ใหญ่ และอวัยวะสืบพันธุ์ของสัตว์ เชื้อพวกนี้มีจำนวนมากกว่พวกแอโรบส์และแฟคคัลเททีฟ ที่ผิวหนังมีมากกว่า 10 เท่า ในช่องปากมีมากกว่าประมาณ 30 เท่า ในหลอดอาหารอัตราส่วนระหว่างแอนแอโรบส์ต่อแอโรบส์และแฟคคัลเททีฟจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตามระยะทางจนกระทั่งในอุจจาระจะมีแอนแอโรบส์มากกว่าถึง 1,000 เท่า (Finegold. 1977: 1)

แอนแอโรบส์ที่อาศัยอยู่เป็นปกติในร่างกายอาจก่อให้เกิดโรคได้เมื่อมีสภาวะที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตของเชื้อพวกนี้ เช่น เชื้อนิวโมคอคคัสหรือมีการอุดตันในบริเวณใดบริเวณหนึ่งของร่างกาย ซึ่งจะทำให้มี oxidation-reduction potential (Eh) ในบริเวณนั้นลดต่ำลงจากภาวะปกติ (ประมาณ + 120 มิลลิโวลท์) หรือในสภาวะที่มีการติดเชื้อจากพวกแอโรบส์และแฟคคัลเททีฟอยู่แล้ว พวกนี้จะใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโต ทำให้ Eh ลดลงด้วย ในสภาวะเช่นนั้นประกอบกับมีแหล่งพลังงานที่เกิดจากการทำลายของเซลล์ในร่างกาย ทำให้แอนแอโรบส์สามารถเจริญเติบโตและแบ่งตัว ทำให้เกิดภาวะติดเชื้อที่เกิดจากแอนแอโรบส์ (Finegold and others. 1977 : 2) นอกจากนี้ภาวะติดเชื้อจากแอนแอโรบส์อาจเกิดจากการได้รับ

เชื้อจากภายนอก เช่น อาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อ *Clostridium botulinum* และเชื้อ *C. perfringens* แผลติดเชื้อบาดทะยัก หรือภาวะติดเชื้อที่เกิดจากสัตว์หรือมนุษย์กัด เป็นต้น (Lennette. 1980)

โรคที่เกิดจากการติดเชื้อแอนแอโรบิกมักเกิดได้ตามอวัยวะหรือเนื้อเยื่อในร่างกาย เช่น ฝีสมอง (brain abscess) ฝีโพรงกระดูก (chronic otitis) โพรงจมูกอักเสบ (sinusitis) การติดเชื้อของฟันและช่องปาก (dental and oral infections) ฝีตับ (liver abscess) ฝีใต้กระบังลมและบริเวณช่องท้อง (subphrenic and other intraabdominal abscess) ฝีไส้ติ่งอักเสบและเกิดการอักเสบของต่งในลำไส้และโรคแทรกซ้อนอื่น ๆ (appendicitis and diverticulitis and other complications) เยื่อช่องท้องอักเสบ (peritonitis) เกิดบาดแผลติดเชื้อหลังศัลยกรรมบริเวณลำไส้หรือแผลบาดเจ็บ (wound infections following bowel surgery or trauma) การติดเชื้อหลังคลอดหรือหลังแท้ง (puerperal or postabortal sepsis) เยื่อบุช่องคลอดอักเสบ (endometritis) ฝีท่อรังไข่ (tubo-ovarian abscess) ฝีรอบ ๆ ทวารหนัก (perirectal abscess) เนื้อเยื่อบริเวณผิวหนังเกิดตายและเนื้อเยื่ออ่อนเกิดติดเชื้อ (necrotizing skin and soft tissue infections) เกิดกาชจากเซลล์เนื้อเยื่ออักเสบ (gas-forming cellulitis) เกิดกาชในแผลตายเน่า (gas gangrene) เส้นใยกล้ามเนื้อตายจากแอนแอโรบิก (anaerobic myonecrosis) และ เลือดมีแบคทีเรีย (bacteremia)

แอนแอโรบิกแบคทีเรียที่มีความสำคัญทางการแพทย์นั้นมีเป็นจำนวนมาก การจำแนกชนิดของเชื้อแอนแอโรบิกที่พบบ่อยและเกี่ยวข้องในทางการแพทย์ โดยอาศัยรูปร่าง การติดสีแกรมและคุณสมบัติทางชีวเคมี และคุณสมบัติอื่น ๆ โดย โฮลด์แมน คาโต และ มัวร์ (Holdeman Cato and Moore. 1977) ได้จัดแอนแอโรบิกแบคทีเรียออกเป็นชนิดต่าง ๆ แสดงในตาราง 1

การวินิจฉัยโรคติดเชื้อแอนแอโรบิกในประเทศไทย ยังไม่เป็นที่แพร่หลาย เพราะขาดผู้มีความรู้ ความชำนาญในวิธีการเพาะเชื้อ การแยกเชื้อ ตลอดจนการวินิจฉัยแยกเชื้อ ซึ่งเป็นวิธีการที่ค่อนข้างยุ่งยากและต้องการความเอาใจใส่และเครื่องมือพิเศษมากกว่าการแยกเชื้อและการวินิจฉัยเชื้อพวกแอโรบิก ดังนั้นจะพบว่า มีห้องปฏิบัติการสำหรับแยกเชื้อแอนแอโรบิกเพียงไม่กี่แห่งใน

ประเทศไทย ซึ่งบางแห่งก็เพิ่งจะเริ่มทำการศึกษาหรือเพิ่งเปิดห้องปฏิบัติการสำหรับแยกเชื้อ แอนแอโรบส์โดยเฉพาะ เพราะฉะนั้นความรู้ทางด้านนี้ของเราจึงน้อยกว่าต่างประเทศมาก

การรักษาโรคติดเชื้อแอนแอโรบส์นั้นก็เช่นเดียวกับการรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อ พวกแอโรบส์ คือ ใช้ยาต้านจุลชีพ สำหรับยาต้านจุลชีพที่ใช้บ่อยในโรคติดเชื้อแอนแอโรบส์ คือ (บุรณะ ชวลิตธำรง และคนอื่น ๆ 2523 : 191 - 202) แสดงในตาราง 2 และ 3 ภาคผนวก

1. ยาในกลุ่มเพนิซิลลิน (penicillin) ซึ่งอาจเป็น เบนซิล เพนิซิลลิน (benzyl penicillin) หรือที่เรียกว่า เพนิซิลลิน จี (penicillin G) หรือ แอมพิซิลลิน (ampicillin) เบนซิล เพนิซิลลิน เป็นยาประเภททำลายเชื้อ ออกฤทธิ์ที่ผนังเซลล์ของเชื้อ เป็นที่นิยมใช้สำหรับ โรคติดเชื้อจากทั้งเชื้อแอโรบส์และเชื้อแอนแอโรบส์ โดยเฉพาะโรคติดเชื้อแอนแอโรบส์มักจะเกิด ร่วมกับเชื้อแอโรบส์ การใช้ยาเพนิซิลลินจึงมักได้ผลดี ยานี้สับกับโปรตีนหลวม ๆ ประมาณร้อยละ 50 - 65 ยาจะสามารถผ่านไปสู่เนื้อเยื่อได้ดี ยกเว้นกระดูกและน้ำไขสันหลังคนปกติ เชื้อ แอนแอโรบส์พวก *Bacteroides* บางสายพันธุ์ เช่น *Bacteroides fragilis* และ *Bacteroides melaninogenicus* สามารถสร้างเอนไซม์เพนิซิลลิเนส (penicillinase) ทำลายเพนิซิลลินได้ ทำให้การใช้ยาเพนิซิลลินไม่ได้ผลในเชื้อกลุ่มนี้ จากการทดลองพบว่า *B. fragilis* ตีต่อเพนิซิลลินถึงร้อยละ 90 แม้ว่าจะมีผู้พบว่าการให้ยาเพนิซิลลินขนาดสูงมาก อาจจะได้ผล แต่ก็ไม่นิยม เพราะอาจจะทำให้เชื้อชนิดนี้ดื้อต่อยานี้สูงขึ้นไปอีก ยานี้ใช้ได้ผลดี ในการบำบัดเชื้อแอนแอโรบส์ ได้แก่ anaerobic streptococcus, *Fusobacterium* sp., *Clostridium* sp., *Actinomyces* sp.

แอมพิซิลลิน (ampicillin) เป็นยาสังเคราะห์ที่อยู่ในกลุ่มเดียวกับเพนิซิลลิน มีฤทธิ์ ทำลายเชื้อออกฤทธิ์เช่นเดียวกับเพนิซิลลิน สามารถทำลายเชื้อได้ทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบ มีอำนาจทำลายเชื้อได้มากกว่าเพนิซิลลิน แต่จากผลการทดลองในห้องปฏิบัติการบางแห่งเชื่อว่า เพนิซิลลินมีอำนาจในการทำลายเชื้อแอนแอโรบส์ได้ดีกว่าแอมพิซิลลินในขนาดเท่ากัน จึงมักไม่นิยมใช้แต่ เพียงอย่างเดียวในโรคติดเชื้อแอนแอโรบส์ แต่แอมพิซิลลินสามารถทำลายเชื้อแอโรบส์ได้มากกว่า ในกรณีที่มีการติดเชื้อแอโรบส์และเชื้อแอนแอโรบส์มีความต้องการที่จะทำลายเชื้อแอโรบส์แกรมลบด้วย

อาจพิจารณาใช้แอมพิซิลลิน ยานี้เป็นยาที่ถูกทำลายโดยเอนไซม์เพนิซิลลิเนส จึงไม่สามารถทำลายเชื้อที่สร้างเพนิซิลลิเนสได้

2. เชฟาลอสปอรินส์ (cephalosporins) เป็นยาประเภททำลายเชื้อที่นิยมใช้มีสองชนิด คือ เชฟาลอทีน (cephalothin) และเชฟาลอริดีน (cephaloridine) ยานี้ใช้ได้ผลต่อเชื้อที่มีความไวต่อเพนิซิลลิน เหมาะที่จะใช้กับผู้ป่วยที่แพ้เพนิซิลลิน เชื้อที่ไวต่อเพนิซิลลินจะไวต่อยานี้ด้วย ยานี้ใช้ได้ผลดีในการบำบัดเชื้อแกรมลบบางชนิดด้วย เช่น *E. coli*, *Salmonella* sp. แต่ไม่ได้ผลใน *Pseudomonas aeruginosa* และ *Bacteroides* sp.

เชฟาลอทีน จะสับกับโปรตีนประมาณร้อยละ 55 - 65 สามารถซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อต่าง ๆ ได้ใกล้เคียงกับในเลือด แต่เข้าในน้ำไขสันหลังไม่ได้ดี ยานี้ควรใช้ฉีดเข้าหลอดเลือดดำ การฉีดเข้ากล้ามเนื้อจะปวดมาก

3. คลอแรมเฟนิคอล (chloramphenicol) เป็นยาหยุดยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบ ยกเว้น *Pseudomonas* sp. แม้ว่าจะมีผลเสียที่รุนแรง เช่น aplastic anemia แต่พบว่าเชื้อแอนแอโรบส์แทบทุกชนิดมีความไวต่อยานี้ รวมทั้ง *Bacteroides* sp. เชื้อ *Clostridium* sp. ส่วนใหญ่ก็มีความไวต่อยานี้ ยานี้ถูกดูดซึมจากทางเดินอาหารได้ดี สับกับโปรตีนร้อยละ 25 - 60 ยานี้จะซึมผ่านเข้าไปในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ได้ดี เข้าสู่ไขสันหลัง น้ำในช่องปอด และน้ำในช่องท้องได้ดี ยานี้ถูกทำลายที่ตับและถูกขับถ่ายออกทางไต ยานี้ออกฤทธิ์โดยกีดขวางการสังเคราะห์โปรตีนของเชื้ออาจกีดขวางการสังเคราะห์โปรตีนของผู้ป่วย รวมทั้งกีดขวางการสังเคราะห์กรดไขมันในผู้ป่วยด้วย คลอแรมเฟนิคอลใช้ได้ผลดีในการบำบัดเชื้อแอนแอโรบส์ ได้แก่ anaerobic gram-positive coccus, anaerobic streptococcus, *Bacteroides* sp. และ *Clostridium* sp.

4. อีริธโรไมซิน (erythromycin) ยานี้มีฤทธิ์ในการกีดขวางการสังเคราะห์โปรตีน ยาขนาดสูงสามารถทำลายเชื้อได้ ในขนาดต่ำจะหยุดการเจริญเติบโตของเชื้อ ส่วนใหญ่ใช้แทนเพนิซิลลินในผู้ป่วยที่แพ้เพนิซิลลิน ยานี้ซึมผ่านไปตามเนื้อเยื่อต่าง ๆ ได้ดี แต่ไม่เข้าสู่ไขสันหลัง ในหญิงมีครรภ์ยาจะผ่านรกไปสู่ทารกและผ่านออกสู่น้ำนมด้วย และมีฤทธิ์ต้านกับคลินดามัยซิน ยานี้

ถูกทำลายโดยตับ ไม่ถูกขับถ่ายทางไต สามารถใช้ได้อย่างปลอดภัยในผู้ป่วยที่เป็นโรคไต ยานี้ใช้ได้ผลดีในการบำบัดเชื้อพวก *Peptococcus* sp., *Peptostreptococcus* sp., *Microaerophilic streptococcus*, *Fusobacterium* sp. และ *Clostridium* sp.

5. คลินดามัยซิน (clindamycin) มีฤทธิ์ต้านเชื้อ ยานี้ออกฤทธิ์กดการสังเคราะห์โปรตีน ถูกดูดซึมได้ดีจากระบบทางเดินอาหาร กระจายไปสู่เนื้อเยื่อต่าง ๆ ได้ดี รวมทั้งผ่านรกและอยู่ในน้ำนมด้วย ยานี้เข้าสู่กระดูกได้ดี แต่ผ่านเข้าน้ำไขสันหลังน้อย เชื้อที่ไวต่อยาอีริโทรไมซิน จะไวต่อคลินดามัยซิน เป็นยาที่ใช้ได้ผลดีมากในโรคติดเชื้อแอนแอโรบส์ ยานี้ใช้ได้ผลดีมากในการบำบัดเชื้อแอนแอโรบส์พวก *Peptococcus* sp., *Peptostreptococcus* sp., *Microaerophilic streptococcus*, *Clostridium* sp., *Bacteroides* sp., *Fusobacterium* sp., *Propionibacterium* sp., *Eubacterium* sp. และ *Actinomyces* sp. นิยมใช้ยานี้สำหรับรักษาโรคติดเชื้อแอนแอโรบส์มาก อาจใช้ได้กับ *Bacteroides* sp.

6. เตตราซัยคลิน (tetracyclines) เป็นยาปฏิชีวนะที่แพร่หลาย ใช้กันมาเป็นเวลานานในประเทศไทยแล้ว ทำให้เชื้อต่าง ๆ ในบ้านเราดื้อต่อยานี้และใช้ไม่ค่อยได้ผล ยานี้มีฤทธิ์หยุดการเจริญเติบโตของเชื้อโดยขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีน ใช้ได้ผลดีมากในการบำบัดเชื้อหลายชนิด ในปัจจุบันความไวของยาต่อเชื้อต่าง ๆ ในบ้านเราต่ำมาก ยานี้ถูกดูดซึมได้ดีจากลำไส้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งขณะที่ท้องว่างแล้วจึงนำไปสู่เนื้อเยื่อต่าง ๆ ได้ดี แต่ผ่านไปยังน้ำไขสันหลังได้น้อย ถูกขับถ่ายออกทั้งทางไตและทางน้ำดี จะต้องระวังการใช้ในผู้ป่วยที่ไตทำงานไม่ปกติ ยานี้ใช้ได้ผลดีต่อเชื้อ anaerobic streptococcus และ *Propionibacterium* sp. สำหรับ *Bacteroides* sp. เคยใช้ได้ผลดีในอดีต ปัจจุบันร้อยละ 50 ถึง 65 ดื้อต่อยานี้ โดยทั่วไปแล้วเชื้อแอนแอโรบส์ ร้อยละ 20 ถึง 60 ดื้อต่อยานี้

7. อมิโนกลัยโคไซด์ (aminoglycosides) ในกลุ่มนี้มีหลายขนาน เป็นที่นิยมใช้กันมาเป็นเวลานาน เช่น สเตรพโตมัยซิน (streptomycin) คานามัยซิน (kanamycin) และเจนตาไมซิน (gentamicin) มีฤทธิ์ทำลายเชื้อ ได้ผลดีในการบำบัดเชื้อได้หลายชนิดโดยเฉพาะชนิดแกรมลบ ในระยะหลังเชื้อดื้อต่อยานี้มากขึ้น ทำให้ประสิทธิภาพของยาลดลงอย่างรวดเร็ว

เนื่องจากการดูดซึมจากลำไส้ปกติได้น้อยมากเพียงร้อยละ 1 - 3 เท่านั้น การให้จึงต้องฉีด ยานี้
 สับกับโปรตีนน้อยจึงสามารถซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อได้มาก สามารถซึมเข้าสู่กระดูก ช่องเยื่อหุ้มปอดและ
 ช่องเยื่อหุ้มหัวใจได้ดี แต่เข้าสู่น้ำไขสันหลังได้น้อย การขับถ่ายขับออกทางไตและน้ำดี มีพิษค่อนข้างสูง
 ต่อหู ทั้งการได้ยินและการทรงตัว และมีพิษต่อไตด้วย บากลุ่มนี้ไม่เป็นที่ยอมรับใช้กับเชื้อแอนแอโรบส์
 เพราะเชื้อส่วนใหญ่ต่อต้านยานี้ โดยเฉพาะ anaerobic streptococcus, *Clostridium* sp.
 และ *Bacteroides* sp. อาจนำยาพวกนี้มาใช้บำบัดเชื้อแอโรบส์ที่เกิดการติดเชื้อร่วมกับเชื้อ
 แอนแอโรบส์

8. เมโทรไนดาโซล (metronidazole) ยานี้่นำมาใช้ครั้งแรกในการรักษาพยาธิ
Trichomonas vaginalis ในช่องคลอดตั้งแต่ปี ค.ศ. 1959 และใช้ในโรคบิดจากอะมีบา
 (amebiasis) และโรคบิดจากไกเดียบ (giardiasis) แล้วยังมีฤทธิ์สามารถทำลายเชื้อ
 แอนแอโรบส์ได้มากมายด้วย (Tally. 1978) แต่ไม่ได้ผลกับเชื้อแอโรบส์ การใช้ยาจึงไม่ทำให้
 เกิดการเปลี่ยนแปลงในเชื้อที่มีตามปกติในร่างกายของผู้ป่วย ยานี้ใช้กิน ถูกดูดซึมได้ดีและกระจาย
 ไปในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ได้ดีทุกอวัยวะ รวมทั้งในน้ำไขสันหลังและโพรงหนอง เมื่อต้นปี ค.ศ. 1979
 เชื่อว่าเป็นยาที่มีอำนาจทำลายเชื้อแอนแอโรบส์ที่ดีที่สุด ต่อมาในปีเดียวกัน ระยะเวลาปีเริ่มมี
 รายงานว่า การรักษาฝีในปอดที่เกิดจากเชื้อแอนแอโรบส์ โดยใช้นานี้แต่เพียงอย่างเดียวไม่ได้
 มีประสิทธิภาพตามที่เชื่อกันมาก่อน เนื่องจากฝีในปอดเกิดจากเชื้อหลายชนิด การใช้นานี้แต่เพียง
 อย่างเดียวไม่สามารถทำลายเชื้อได้ทุกชนิด ซึ่งอาจจะประกอบทั้งเชื้อแอโรบส์และเชื้อแอนแอโรบส์
 นอกจากนั้นเชื้อแอนแอโรบส์ก็ไม่ได้ไวต่อยานี้ทุกชนิด การรักษาจึงจำเป็นต้องใช้ยาปฏิชีวนะอื่น
 ร่วมด้วย ยานี้เสริมฤทธิ์กันดีกับคลินดามัยซิน จึงเหมาะในการใช้ในโรคติดเชื้อแอนแอโรบส์ ยานี้
 ใช้ได้ผลดีในการบำบัดเชื้อแอนแอโรบส์พวก *Fusobacterium* sp., *Clostridium* sp.,
Bacteroides sp., *Peptococcus* sp., *Peptostreptococcus* sp., *Veillonella*
 sp. ส่วนพวกแบซิลโลแกรมบวกชนิดไม่สร้างสปอร์ รวมทั้งเชื้อ *Actinomyces* sp. ด้วย
 มักต่อต้านยานี้

9. ริแฟมปีซิน (rifampicin) เป็นยาก่อนอย่างใหม่ เริ่มนำมาใช้ในการรักษาวัณโรค
 ในระยะแรก ต่อมาพบว่าฤทธิ์ต่อเชื้อทั้งชนิดแอโรบส์และแอนแอโรบส์หลายชนิด ถูกดูดซึมได้ดีจาก

ลำไส้ และซึมผ่านไปในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ได้ดี เข้าไปในอวัยวะต่าง ๆ ได้ระดับยาที่สูง รวมทั้งกระดูกและข้อ เข้าในน้ำไขสันหลังได้ดีมากแต่ระดับไม่สูงเท่าในระดับเลือด เนื่องจากเป็นยาราคาแพง หากเชื้อไวต่อยาชนิดอื่นก็มักไม่ใช้ยาชนิดนี้จะใช้ยาชนิดอื่นแทน นอกจากนั้นยานี้ยังไม่ได้มีการวิจัยแน่ชัดถึงผลการรักษาโรคติดเชื้อแอนแอโรบส์ในผู้ป่วย ซึ่งยังไม่เป็นที่นิยมใช้ คงมีแต่ผลการทดลองในหลอดแก้วว่า เชื้อไวต่อยาปฏิชีวนะเท่านั้น

โดยเหตุที่ในประเทศไทยมีการใช้ยาต้านจุลชีพและยาปฏิชีวนะอย่างกว้างขวางโดยขาดการควบคุมอย่างเข้มงวดอย่างเช่นต่างประเทศ และคุณสมบัติของแอนแอโรบส์ คือ ตีต่อยาบางชนิด ซึ่งกลไกการตีต่อยาของแอนแอโรบส์ เกิดจากการสร้างเอนไซม์ที่มีผลต่อยาที่ใช้ เช่น การสร้างเอนไซม์ เบต้า-แลคแทมเมส (beta-lactamase) และการถ่ายทอดความต้านทานต่อยาชนิดนั้นโดยผ่านทางพลาสมิด (plasmid) (Finegold. 1981 : 13) ดังนั้น ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงมีความสำคัญและความจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อที่แยกได้ในประเทศไทย และ susceptibility pattern ของเชื้อแอนแอโรบส์อันเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อ เพื่อจะได้ทราบว่า เชื้อแอนแอโรบส์ที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคนั้นเหมือนหรือต่างกับรายงานจากต่างประเทศอย่างไร และ susceptibility pattern ของยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการรักษาโรคในประเทศไทยเป็นอย่างไร นอกจากนี้การศึกษาเกี่ยวกับเรื่องดังกล่าวข้างต้นจะเป็นประโยชน์ในการติดตามการตีต่อยาของแอนแอโรบส์ในประเทศไทยต่อไปในอนาคต

ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า

เพื่อทดสอบหาความไวของ เชื้อแอนแอโรบส์ที่แยกได้จากผู้ป่วยต่อยาต้านจุลชีพ 8 ชนิด ซึ่งเป็นยาที่นิยมใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากแอนแอโรบส์

ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า

1. รวบรวมสถิติเกี่ยวกับอุบัติการณ์ของโรคติดเชื้อแอนแอโรบิคซึ่งยัง ไม่มีหรือมีน้อยมากในประเทศไทย

2. เพื่อให้ทราบว่า แอนแอโรบส์ที่แยกได้มีความไวต่อยาที่นิยมใช้รักษาอย่างไรใด ซึ่งในปัจจุบันในประเทศไทยมีรายงานเกี่ยวกับการศึกษาเรื่องนี้้น้อยมาก
3. ผลที่ได้จะเป็นประโยชน์ในการติดตามการดื้อยาของแอนแอโรบส์ในอนาคตต่อไป

ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า

1. เชื้อแอนแอโรบส์ที่แยกได้จากโรคต่าง ๆ ประมาณ 114 เชื้อ
2. เชื้อที่แยกได้มาทดสอบกับยาต้านจุลชีพ 8 ชนิดที่นิยมใช้รักษาโรคที่เกิดจากแอนแอโรบส์ คือ เพนิซิลลิน แอมพิซิลลิน เซฟาโลสปิน คลอแรมเฟนิคอล อิริยิโรรัมบิซิน คลินดามัยซิน เตตราซัยคลิน และ เมโทรไนดาโซล

คำจำกัดความและศัพท์เฉพาะ

1. แอนแอโรบส์ (anaerobes) หมายถึง แบคทีเรียพวกที่เจริญได้ดีในที่ที่ไม่มีออกซิเจน
2. ยาต้านจุลชีพ (antimicrobial agent) หมายถึง สารใดก็ตามที่ยับยั้งหรือทำลายจุลชีพได้ทั้งชนิดที่เป็นตัวทำให้เกิดโรค และที่ไม่ทำให้เกิดโรค สารนั้นอาจมาจากจุลชีพหรือได้จากการเปลี่ยนแปลงโมเลกุลของยาปฏิชีวนะหรือสังเคราะห์ขึ้นมาก็ตาม และรวมไปถึงสารเคมีอื่น ๆ ที่มีผลต่อจุลชีพด้วย
3. ยาปฏิชีวนะ (antibiotics) หมายถึง สารที่ได้โดยตรงจากจุลชีพซึ่งสามารถยับยั้งหรือทำลายจุลชีพอื่นได้ ยาปฏิชีวนะมีมากมายแต่ที่จะนำมาใช้รักษาในคนไข้จะต้องไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ของคนด้วย
4. ความไวของเชื้อ (susceptible) หมายถึง แบคทีเรียซึ่งถูกยับยั้งการเจริญได้ด้วยยาต้านจุลชีพ ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่าที่มีในเลือดเมื่อให้การรักษาด้วยขนาดปกติ (normal dose) นั่นคือ แบคทีเรียมี MIC ประมาณ $\frac{1}{4}$ ของ average peak serum level หรือ $\frac{1}{2}$ ของ mean serum level
5. ไวปานกลาง (intermediate susceptible) หมายถึง แบคทีเรียซึ่งสามารถ

ถูกยับยั้งการเจริญได้ด้วยยาต้านจุลชีพ ซึ่งมีปริมาณสูงกว่าปริมาณปกติซึ่งได้จากการเพิ่มขนาดยาต้านจุลชีพได้โดยไม่เกิดอันตราย นั่นคือ มี MIC ตั้งแต่ $\frac{1}{2}$ ของ mean serum level ถึง mean serum level

6. ตื้อยา (resistant) หมายถึง แบคทีเรียซึ่งยังสามารถมีชีวิตได้ในยาต้านจุลชีพที่มีปริมาณมากเกินไปกว่าที่จะมีได้ในเลือด เมื่อให้การรักษาด้วยยาต้านจุลชีพปริมาณมากที่สุดที่จะให้แล้ว นั่นคือ แบคทีเรียต้องการยาต้านจุลชีพมากเกินไป mean serum level หรือแบคทีเรียที่สามารถทนต่อยาต้านจุลชีพที่มีความเข้มข้นมากกว่าจำนวนซึ่งใช้ในการยับยั้งการเจริญส่วนใหญ่ของแบคทีเรียในพันธุ์เดียวกันหรือสกุลเดียวกัน การใช้ยาต้านจุลชีพนั้น ๆ รักษาจะไม่ได้ผล

7. Minimal inhibitory concentration (MIC) หมายถึง ปริมาณที่น้อยที่สุดของยาต้านจุลชีพที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในจำนวนที่กำหนดขึ้น

8. Peak blood (serum) level หมายถึง ปริมาณสูงสุดของยาต้านจุลชีพที่ตรวจพบในเลือด

9. Average peak blood (serum) level หมายถึง ค่าเฉลี่ยของ peak blood level ของผู้ป่วยหลาย ๆ คน

10. Mean blood (serum) level คือ ค่าระหว่างปริมาณสูงสุดของยาต้านจุลชีพและปริมาณต่ำสุดของยาต้านจุลชีพที่วัดได้จากการให้เป็นครั้ง ๆ (ไม่ไปให้การให้เข้าเส้นในระยะเวลาสั้น)

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

แหล่งที่พบเชื้อแอนแอโรบส์เป็นปกติในร่างกาย

แอนแอโรบส์เป็นเชื้อประจำถิ่นตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย (Finegold. 1977 : 27) ดังแสดงในตาราง 4 ภาคนวกร พบเชื้อพวกนี้ได้มากที่สุดที่ผิวหนัง ช่องปาก ในระบบทางเดินอาหาร และช่องคลอด (Tally and Gorbach. 1981 : 6) บริเวณที่พบเชื้อแอนแอโรบส์ได้มากที่สุด คือ รอยแยกระหว่างเหงือกกับฟัน ซึ่งมีแบคทีเรียประมาณ 200 สายพันธุ์ และในลำไส้ใหญ่ ซึ่งตรวจพบแบคทีเรียได้ประมาณ 400 - 500 สายพันธุ์ จำนวนแบคทีเรียในบริเวณทั้งสองนี้มีประมาณ 10^{11} - 10^{12} เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยมีอัตราส่วนระหว่างแอนแอโรบส์และแอโรบส์ 100 - 1,000 : 1 การที่พบแอนแอโรบส์เป็นจำนวนมากอาจเนื่องมาจากค่า Eh ที่บริเวณทั้งสองนี้ต่ำประมาณ -300 มิลลิโวลท์ (Socransky and others. 1963 : 275 - 280, Holdeman and others. 1976 : 359 - 375)

อัตราส่วนที่ค่อนข้างสูงระหว่างแอนแอโรบส์และแอโรบส์ยังพบได้ที่ช่องคลอดและปากมดลูก (5 - 10 : 1) และในน้ำลาย (3 - 10 : 1) ในบริเวณนี้จะมีแบคทีเรียประมาณ 10^8 ถึง 10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในลำไส้เล็กและพบแอนแอโรบส์และแอโรบส์ในอัตราส่วนเท่ากัน แบคทีเรียที่พบที่ผิวหนังของหมีมีปริมาณเท่ากับที่พบในน้ำลาย แต่ที่พบในลำไส้เล็กส่วนต่าง ๆ นั้นแตกต่างกัน ตั้งแต่ 10^2 ถึง 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (Tally and Gorbach. 1981 : 6)

แอนแอโรบส์ที่พบเป็นปกติในร่างกายนี้เปลี่ยนแปลงตามอายุและสภาวะที่ผิดปกติไปของร่างกาย (Finegold. 1977 : 33) อาหารและยาก็เป็นสิ่งสำคัญที่ทำให้ชนิดและปริมาณของเชื้อประจำถิ่นเปลี่ยนแปลงได้ (Nichole and others. 1975, Finegold and others. 1970)

ความรู้เกี่ยวกับเชื้อแอนแอโรบส์ที่อยู่เป็นปกติในส่วนต่าง ๆ ของร่างกายมีประโยชน์ในการทำนายเชื้อแอนแอโรบส์ที่จะแยกได้จากบริเวณที่เก็บตัวอย่างมา ซึ่งจะมีส่วนช่วยให้แพทย์

เริ่มการรักษาโรคได้ไ้ในระหว่างรอผลการเพาะเชื้อในห้องปฏิบัติการ (Finegold. 1982 : 1988) ความรู้ดังกล่าว ยังช่วยให้นักจุลชีววิทยาเลือกใช้อาหารได้เหมาะสมและช่วยตัดสินว่า เชื้อที่แยกได้เป็นเชื้อก่อโรคหรือเป็นเพียงเชื้อที่ปนเปื้อน นอกจากนี้ยังใช้บ่งชี้ทางติดต่อเข้าสู่ร่างกายของเชื้อได้ในบางกรณีที่ไม่ทราบแหล่งเกิดโรคที่แน่ชัด (Finegold. 1977 : 27)

แหล่งที่พบแอนแอโรบส์แยกตามชนิดของเชื้อ (บุรณะ ชวส์ตรารัง และคนอื่น ๆ 2523 : 4 - 41) แสดงไว้ในตาราง 5 - 9 ภาคผนวก ซึ่งได้แก่

Bacteroides sp. แยกได้จากส่วนต่าง ๆ ของร่างกายมนุษย์ มีประมาณ 18 เชื้อสาย และที่แยกได้จากสิ่งสังเคราะห์จากผู้ป่วยมี 14 เชื้อสาย เชื้อที่พบบ่อยในระบบทางเดินหายใจส่วนบน ได้แก่ *B. fragilis*, *B. melaninogenicus* และ *B. oralis* ชนิดที่พบบ่อยในลำไส้ ได้แก่ *B. fragilis* subspecies *vulgatus*, *B. melaninogenicus* subspecies *asaccharolyticus*, *B. ruminicola*, *B. capillosus* และ *B. clostridiiformis*, ที่พบบ่อยในระบบสืบพันธุ์ช่วงล่าง โดยเฉพาะในสตรี ได้แก่ *B. fragilis* และ *B. oralis* *B. corrodens* และ *B. praeacutus* แต่แบคทีเรียที่พบบ่อยที่สุดและเป็นตัวก่อโรค ได้แก่ *B. fragilis* และ *B. melaninogenicus*

Fusobacterium sp. ที่เกี่ยวข้องกับคนมีประมาณ 14 เชื้อสาย พบได้ในระบบทางเดินหายใจส่วนบน ระบบทางเดินอาหารและระบบสืบพันธุ์ เชื้อที่พบบ่อยในลำไส้ ได้แก่ *F. mortiferum*, *F. russii*, *F. symbiosum*, *F. varium* เชื้อที่พบบ่อยในระบบปัสสาวะและการสืบพันธุ์ ได้แก่ *F. mortiferum*, *F. prausnitzii* เชื้อที่พบบ่อยในช่องปาก ได้แก่ *F. mortiferum*, *F. naviforme*, *F. nucleatum* (*F. fusiforme*) เชื้อที่พบบ่อยทางคลินิก คือ *F. mortiferum*, *F. naviforme*, *F. necrogenes*, *F. necrophorum*, *F. nucleatum* (*F. fusiforme*) *F. russii*, *F. symbiosum*, *F. varium*

Clostridium sp. ส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในลำไส้ของสัตว์กินหญ้า เช่น วัว กายหรือม้า ตามดินหรือหญ้าที่คนและสัตว์พวกนี้อาศัยอยู่ หรือดินแถบแหล่งน้ำชายฝั่งทั้งน้ำจืดและน้ำเค็ม มีส่วนน้อยที่อาศัยอยู่ในลำไส้คน ได้แก่ *C. perfringens* (เป็นเชื้อที่พบตามปกติ) *C. cadaveris*,

C. sordellii, *C. tertium* และ *C. innocuum* นอกจากนี้เคยมีรายงานว่า พบ *C. tetani* ในลำไส้คนปกติด้วย *Clostridium* sp. ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจมีมากกว่า 20 ชนิด ที่พบบ่อยได้แก่ *C. perfringens* (พบประมาณครึ่งหนึ่งของ *Clostridium* sp. ทั้งหมด ที่แยกได้จากผู้ป่วย) นอกจากนี้ ได้แก่ *C. innocuum*, *C. difficile*, *C. sordellii*, *C. bifermentans*, *C. sporogenes*, *C. septicum*, *C. ramosum*, *C. tetani*, *C. novyi*, *C. botulinum* และ *C. sphenoides* เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ยังมีเชื้อที่ไม่สามารถบอกชนิดได้อีกประมาณร้อยละ 5 ของ *Clostridium* sp. ที่แยกได้ทั้งหมด

Eubacterium sp. เชื้อในกลุ่มนี้ที่เกี่ยวข้องกับคนมีประมาณ 28 เชื้อสาย ส่วนใหญ่พบอยู่ในลำไส้และในสิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วย เชื้อที่พบบ่อย ได้แก่ *E. limosum* และ *E. lentum*

Propionibacterium sp. เชื้อในกลุ่มนี้จะพบในต่อมไขมันของผิวหนังเป็นจำนวนมาก และจะมีมากกว่า แอโรบิกแบคทีเรีย คือ มากกว่า *Staphylococcus* sp. และ *Diphtheroides* sp. ประมาณ 10 เท่า นอกจากนั้นอาจจะพบได้ในส่วนอื่นของร่างกายในจำนวนที่ไม่มากนัก เมื่อเทียบกับแอนแอโรบิกแบคทีเรียกลุ่มอื่น ชนิดที่พบบ่อยในลำไส้ ได้แก่ *P. acnes*, *P. granulosum* ชนิดที่พบบ่อยในช่องปาก ได้แก่ *P. jensenii* ชนิดที่พบบ่อยที่ผิวหนัง ได้แก่ *P. acnes*, *P. avidum*, *P. granulosum* ชนิดที่พบบ่อยในทางคลินิก ได้แก่ *P. acnes*, *P. avidum*, *P. freudenreichii*, *P. granulosum*, *P. jensenii*, *P. lymphophilum*

Peptococcus sp. เชื้อที่พบบ่อยในลำไส้ ได้แก่ *P. asaccharolyticus* ชนิดที่พบบ่อยในระบบบัสลวาระและการสืบพันธุ์ ได้แก่ *P. asaccharolyticus*, *P. constellatus*, *P. prevotii* และ *P. variabilis* ชนิดที่พบบ่อยในช่องปาก ได้แก่ *P. asaccharolyticus*, *P. constellatus* ชนิดที่พบบ่อยที่ผิวหนัง คือ *P. constellatus* และ *P. asaccharolyticus* ชนิดที่พบบ่อยทางคลินิก ได้แก่ *P. asaccharolyticus*, *P. constellatus*, *P. prevotii*, *P. variabilis* และ *P. magnus* ซึ่งมักจะแยกได้จากสิ่งส่งตรวจ เชื้อหุ้มปอดอักเสบ กระเพาะ บัสลวาระอักเสบ และเซฟติซีเมีย เป็นต้น

Peptostreptococcus sp. ที่พบได้ในลำไส้ ได้แก่ *P. anaerobius*, *P. intermedius* และ *P. productus* ที่พบบ่อยในช่องปาก คือ *P. anaerobius* วัฒนธรรมทางคลินิก ได้แก่ *P. anaerobius*, *P. intermedius*, *P. micros* และ *P. productus* 2 เชื้อสายแรกเป็นเชื้อที่พบบ่อยกว่าเชื้อตัวอื่น ๆ ตัวอย่างที่ตรวจพบแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้จากหนองจากช่องเยื่อหุ้มปอด ช่องท้อง สมอง และช่องเชิงกรานจากผู้ป่วยที่เป็น puerperal sepsis เซฟติซีเมีย และแผลติดเชื้อต่าง ๆ

Veillonella sp. พบได้ในระบบทางเดินอาหาร รวมทั้งช่องปากและทางขับถ่าย และอวัยวะสืบพันธุ์ นอกจากนี้ อาจพบได้ในสิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วย แต่ไม่บ่อยนักเมื่อเทียบกับ *Peptococcus* sp. และ *Peptostreptococcus* sp.

อุบัติการณ์ของเชื้อแอนแอโรบิกที่แยกได้จากผู้ป่วย

รายงานเกี่ยวกับอุบัติการณ์การติดเชื้อแอนแอโรบิกในส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย (Finegold. 1981 : 9 - 10, Sutter and others. 1980 : 6 - 7) สรุปได้ดังนี้
ภาวะเลือดมีแบคทีเรีย 20 เปอร์เซ็นต์ ระบบประสาทส่วนกลาง 10 - 89 เปอร์เซ็นต์ บริเวณศีรษะและคอ 52 - 100 เปอร์เซ็นต์ ฟัน ลำคอ ใบหน้า 47 - 97 เปอร์เซ็นต์ บริเวณทรวงอก 93 - 100 เปอร์เซ็นต์ บริเวณช่องท้อง 41 - 96 เปอร์เซ็นต์ โรคทางสูติศาสตร์และนรีเวชวิทยา 25 - 100 เปอร์เซ็นต์ โรคติดเชื้อของเนื้อเยื่อและอื่น ๆ 40 - 95 เปอร์เซ็นต์ รายละเอียดแสดงไว้ตาราง 10 ภาคผนวก Tally และ Gorbach รายงานเกี่ยวกับเชื้อแอนแอโรบิกที่แยกได้บ่อยที่สุดจากโรคติดเชื้อในบริเวณส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย (Tally and Gorbach. 1981 : 7 - 9) รายละเอียดแสดงไว้ตาราง 11 ภาคผนวก

รายงานการกระจายเชื้อแอนแอโรบิกเป็นเปอร์เซ็นต์จากผู้ป่วย โดย Finegold และคนอื่น ๆ กับ Allen และ Siders คล้ายคลึงกัน (Finegold, Shepherd and Spaulding. 1977 : 2, Allen and Siders. 1975 - 1978 citing Lennette. 1980 : 407) พบว่า แยกเชื้อแบซิลโลแกรมลบได้มากที่สุด รองมาเป็นคอคโคไคแกรมลบ พวกที่พบได้น้อยที่สุดคือ

คอคโคแกรมลบ รายละเอียดแสดงในตาราง 12 และ 13 ภาคผนวก Finegold (Finegold, 1977 : 70) เปรียบเทียบปฏิบัติการเชื้อแอนแอโรบิกแบคทีเรียที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจทางการแพทย์จากห้องปฏิบัติการ 10 แห่ง ซึ่งให้ผลคล้ายคลึงกัน คือ กลุ่มแบคทีเรียที่พบมากที่สุด คือ พวกลีโลแกรมลบ รองมาคือ คอคโคแกรมบวก แบซิลโลแกรมบวกไม่สร้างสปอร์ และแบซิลโลแกรมบวกที่สร้างสปอร์ คอคโคแกรมลบพบได้น้อยที่สุด รายละเอียดแสดงในตาราง 14 ภาคผนวก

ในประเทศไทยรายงานปฏิบัติการของเชื้อแอนแอโรบิกที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาและอิมมูโนโลยี คณะเวชศาสตร์เขตร้อน ระหว่าง 2521 - 2524 (ลุ่มชัย 2526 รายงานประจำปีของคณะเวชศาสตร์เขตร้อนปี 1983 กำสั่งพิมพ์) คล้ายคลึงกับรายงานจากห้องปฏิบัติการ 10 แห่งในต่างประเทศตามรายงานของ Finegold พบแบซิลโลแกรมลบ 45 เปอร์เซ็นต์ คอคโคแกรมบวก 28 เปอร์เซ็นต์ แบซิลโลแกรมบวกที่สร้างสปอร์ 16.6 เปอร์เซ็นต์ แบซิลโลแกรมบวกที่ไม่สร้างสปอร์ 8.3 เปอร์เซ็นต์ และคอคโคแกรมลบ 2.1 เปอร์เซ็นต์

อนวัตร ลิมสุวรรณ์ และคนอื่น ๆ (Limsuwan A. and others, 1979 : 66) ศึกษาเชื้อจากช่องคลอดและปากมดลูกของสตรีไทยในระหว่างมีครรภ์ พบว่ามี *Bacteroides* sp. 69.4 เปอร์เซ็นต์ *Peptostreptococcus* sp. 8.3 เปอร์เซ็นต์ *Propionibacterium* sp. 5.6 เปอร์เซ็นต์ และ *Fusobacterium* sp. 5.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วน ประมูล ลุขวัฒนา และคนอื่น ๆ (ประมูล ลุขวัฒนา และคนอื่น ๆ อ้างอิงมาจาก บุรณะ ปวีณธำรง และคนอื่น ๆ ม.ป.ป. : 115) พบ *Peptococcus* sp. 50.7 เปอร์เซ็นต์ *Peptostreptococcus* sp. 34.7 เปอร์เซ็นต์ *Bacteroides* sp. 21.8 เปอร์เซ็นต์ *Fusobacterium nucleatum* 1.4 เปอร์เซ็นต์ กัญชติ เลิศโกะสมบัติ และคนอื่น ๆ (กัญชติ เลิศโกะสมบัติ และคนอื่น ๆ 2524) ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และ ลุข่า สุระทอง และคนอื่น ๆ (Sucha Kurathong and others, 1975) คณะแพทยศาสตร์รามธิบดี พบว่า เชื้อที่พบมาก คือ *Bacteroides fragilis* รายละเอียดแสดงในตาราง 15 - 19 ภาคผนวก

วิธีทดสอบความไวของเชื้อแอนแอโรบส์

วิธี Agar Dilution หรือ Agar Dilution MIC Method เป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้ในการทดสอบความไวของเชื้อแอนแอโรบส์ที่มีจำนวนมาก ได้รับการรับรองจาก The National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS) มีผู้รายงานการทดสอบความไวด้วยวิธีนี้ คือ Ingham และคนอื่น ๆ 1968, Nastro และ Finegold. 1972, Kislak. 1972, Whelan และ Hale. 1973, Staneck และ Washington II. 1974, Blazevic. 1975, Sutter และ Finegold. 1975, Chow และคนอื่น ๆ 1975, Busch และคนอื่น ๆ 1976, Reese และคนอื่น ๆ 1976, Sutter และ Finegold. 1976, Weinrich และ Del Bene. 1976, Darland และ Birnbaum. 1977, Henderson และคนอื่น ๆ 1977, Murray และ Rosenblatt. 1977, Schwartzman และคนอื่น ๆ 1977, Shadomy และคนอื่น ๆ 1977, Zabransky และ Hauser. 1977, Wüst. 1977, Appelbaum และ Chatterton. 1978, Hanson และ Martin. 1978, Maki และคนอื่น ๆ 1978, Tally และคนอื่น ๆ 1978, Dornbusch และคนอื่น ๆ 1979, Rosenblatt และคนอื่น ๆ 1979, Sanders และคนอื่น ๆ 1979, Kaye และคนอื่น ๆ 1980, Jorgensen และคนอื่น ๆ 1980, Ralph และ Amatnieks. 1980, Brown และคนอื่น ๆ 1981, Marrie และคนอื่น ๆ 1981, Watanabe และคนอื่น ๆ 1981, Haller. 1982, Joiner และคนอื่น ๆ 1982, Hof และคนอื่น ๆ 1982, Rolfe และคนอื่น ๆ, Finegold. 1982, Keefe และคนอื่น ๆ 1982, John A. Washington II บ.ป.ป. อาหารเลี้ยงเชื้อที่รายงานว่าเหมาะสมสำหรับวิธีนี้ คือ Wilkins-Chalgren Agar ซึ่งใช้แทน Brucella Blood Agar มาตั้งแต่ปี 1977 (Wilkins and Chalgren. 1976)

วิธี Broth Dilution test เป็นวิธีค่อนข้างสะดวก แต่นิยมใช้ Micro broth Dilution test โดยใช้ Microtiter plate มากกว่าการทดลองในหลอดแก้ว เนื่องจากทำได้ง่ายและสะดวกกว่า ผู้รายงานการทดสอบด้วยวิธีนี้ คือ Ralph และ Kirby. 1975,

Jones และ Fuchs. 1976, Evans และ Harrell. 1977, Griffith และคนอื่น ๆ 1977, Ralph และ Clarke. 1978, ลูว์ธี่ ลูว์เวย์ย์ รายงานประจำปีคณะเวชศาสตร์เขตร้อน 0 2515 - 2522 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ ได้แก่ Wilkins and Chalgren Broth, Brain Heart Infusion Broth, Brucella Broth, Tryptic Soy Broth, Thioglycollate Broth และ Schaedler's Broth ถึงแม้ว่าผลการทดสอบโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อต่าง ๆ กัน จะใกล้เคียงกัน แต่มีรายงานว่า Schaedler's Broth จะให้ผลดีที่สุดโดยจะให้ end point ที่ชัดเจนและอ่านง่ายกว่าอาหารอื่น ๆ (คิมพิทสันน์ เสงี่ยมพิบูลย์ และคนอื่น ๆ 2523 : 317, พนิดา ชัยเนตร และ มาลัย วรจิตร 2525, Holdeman and others. 1977, Sutter and Washington II. 1980 : 476, Sutter and others. 1980)

วิธี Broth Disc Method เป็นวิธีที่ใช้ทดสอบ โดยที่ใส่แผ่นยาต้านจุลชีพในจำนวนที่เหมาะสมลงในอาหารที่เลี้ยงเชื้อที่ต้องการทดสอบ ยาในแผ่นกระดาษจะซึมออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อในความเข้มข้นเท่ากับจำนวนยาในแผ่นยาทั้งหมดต่อปริมาณของอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดนั้น หลังจากบ่มเชื้อแล้ว อ่านผลโดยเทียบความขุ่นของหลอดที่ใส่แผ่นยากับหลอดควบคุม ถ้าหลอดที่ทดลองมีความขุ่นมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ของหลอดควบคุม ถือว่าเชื้อดื้อต่อยา นั้น ถ้าความขุ่นน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ของหลอดควบคุมเชื้อไวต่อยา นั้น ๆ การทดสอบทำได้ 2 วิธี คือ วิธีของ Wilkins และ Thiel (Wilkins and Thiel. 1973 : 350 - 356) การทดสอบวิธีนี้ใช้ supplemented-prereduced brain heart infusion broth เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ ต้องบ่มเชื้อไว้ในสภาวะไร้ออกซิเจนที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมงก่อนอ่านผล อีกวิธีหนึ่ง Kurzynski คัดแปลงวิธีของ Wilkins และ Thiel โดยทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพใน Thioglycollate medium บ่มเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส ในสภาวะธรรมดา เป็นเวลา 24 หรือ 48 ชั่วโมง สำหรับเชื้อที่ยืนยาก ผู้รายงานการทดสอบความไวของเชื้อโดยวิธีของ Wilkins และ Thiel คือ Wilkins และคนอื่น ๆ 1972, Wilkins และ Thiel. 1973, Kurzynski และคนอื่น ๆ 1976, Wüst and Wilkins. 1978, Jorgensen และคนอื่น ๆ 1980, มาลัย วรจิตร และ พนิดา ชัยเนตร 2523, พนิดา ชัยเนตร และ มาลัย วรจิตร 2525 และวิธีของ Kurzynski คือ Kurzynski และคนอื่น ๆ 1976

(เพมพ์พันธุ์ เลียงพิบูลย์ และคนอื่น ๆ 2523 : 318, พนิดา ชัยเนตร และ มาสชัย วรจักร 2525, Sutter and Washington II. 1980 : 476 - 477, Sutter and others. 1980)

วิธี Agar Disc Diffusion Test วิธีที่ทดสอบโดยวางแผ่นกระดาษขนาดมาตรฐานที่ชุบยาต้านจุลชีพลงบนอาหารแข็งที่เลี้ยงเชื้อไว้ หลังบ่มเชื้อ วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงกลมรอบแผ่นยาที่ไม่แผ่เชื้อขึ้น เปรียบเทียบขนาดของวงกลมกับตารางมาตรฐานของ Sutter และคนอื่น ๆ (Sutter and others. 1980) หรือ Wilkins (Wilkins. 1972) ผู้รายงานผลด้วยวิธีนี้ คือ Rosenblatt and Schoenknecht. 1972 Sucha Kurathong และคนอื่น ๆ 1975, Wren และคนอื่น ๆ 1977 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ ได้แก่ Brucella Agar เต็มเลือดแกะ (ที่เอาไขมันออก) 5 เปอร์เซ็นต์ เพมพ์พันธุ์ เลียงพิบูลย์ 2523 : 317, พนิดา ชัยเนตร และ มาสชัย วรจักร 2525, Sutter and others. 1980, Holdeman and others. 1977)

ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการทดสอบความไวของแอนแอโรบิลต์ต่อยาต้านจุลชีพ

ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการทดสอบความไวของแอนแอโรบิลต์ต่อยาต้านจุลชีพมีมากกว่าพวกแอโรบิลต์และแฟกคัลเทรียแบบที่เร็ว (Finegold. 1977 : 514) แอนแอโรบิลต์ต่างชนิดกันมีความต้องการปัจจัยการเจริญไม่เหมือนกัน ทำให้ต้องเลือกใช้อาหาร ระยะเวลาในการบ่มเชื้อ สภาพะในการบ่มเชื้อ ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ ปริมาณความชื้น ส่วนผสมของกาซี จุลหุณิ ชนิดของยาต้านจุลชีพ และวิธีทดสอบให้เหมาะสมกับเชื้อที่ต้องการหาความไว (Finegold. 1977 : 514)

ชนิดและความเป็นกรด-ด่างของอาหารที่ใช้ในการทดสอบมีส่วนทำให้ผลทดสอบผิดพลาดไปได้ ถ้ามีสารอาหารที่ไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเชื้อ หรือส่วนประกอบในอาหารมีผลต่อยาต้านจุลชีพให้มีประสิทธิภาพต่ำลง (Tally and Gorbach. 1981 : 45) Mueller-Hinton Agar ซึ่งเป็นอาหารที่ใช้ในการทดสอบหาความไวของเชื้อแอโรบิลต์นั้น ไม่เหมาะสม

การเจริญของแอนแอโรบส์ (Sutter, Kwok and Finegold. 1973 : 188 - 193) Brucella Agar ที่ผสมเลือดแกะ (ที่เอาไฟรินออก) 5 เปอร์เซ็นต์ ก็ไม่เหมาะในการใช้ทดสอบความไวของเชื้อแอนแอโรบส์ เนื่องจากเลือดแกะจากแหล่งต่าง ๆ มีความแตกต่างกัน อายุของเลือด และการปนเปื้อนได้ง่ายก็เป็นปัจจัยสำคัญ แต่แอนแอโรบส์ส่วนใหญ่จะไม่ขึ้นบน Brucella agar ที่ไม่ผสมเลือดแกะ (Wilkins and Chalgren. 1976 : 926) อาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสม cysteine ซึ่งเป็น reducing agent จะทำให้ประสิทธิภาพของยาบางชนิดเปลี่ยนไป (Tally and Gorbach. 1981 : 45) อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการทดสอบความไวของแอนแอโรบส์โดยวิธี Agar Dilution Test คือ Wilkins - Chalgren Agar เพราะมีส่วนผสมที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของแอนแอโรบส์ (Sutter and others. 1976, Wilkins and Chalgren. 1976 : 926 - 928) มีรายงานว่าหลังจากเก็บอาหารเลี้ยงเชื้อนี้ไว้ถึง 14 วัน ยังช่วยให้แอนแอโรบส์เจริญได้ดี และเมื่อเติมยาต้านจุลชีพลงในอาหารและเก็บไว้เป็นเวลา 14 วัน ก็ไม่ทำให้สูญเสียคุณสมบัติในการทำงานของยาต้านจุลชีพ นอกจากนี้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมยาด้านจุลชีพมีให้ผลการทดสอบคงที่ ไม่ว่าจะเตรียมใหม่หรือเมื่อเก็บในสภาพต่าง ๆ กัน (Zabransky and Hauser. 1977 : 440 - 441) ความเป็นกรด-ด่างของอาหารก่อนเพาะเชื้อ และความเป็นกรด-ด่างในระหว่างบ่มเชื้อในสภาพไร้ออกซิเจน ซึ่งเกิดเนื่องจากฤทธิ์ที่เปลี่ยนแปลงไป และจำนวนการขับออกได้ จะส่งผลต่อการลดประสิทธิภาพของยา อีริธโรรมัยซิน สปีนโทรมัยซิน สเป็คติโนไมซิน (spectinomycin) แต่จะเพิ่ม potency ของเตตราไซคลีน (Ingham and others. 1970, Rosenblatt and Schoenknecht. 1972, Goldstein and others. 1981, Hansen and others. 1981, Willis. 1977 : 93, Tally and others. 1981)

ระยะเวลาในการบ่มเชื้อแอนแอโรบส์แต่ละชนิดต่างกัน บางชนิดเจริญได้เร็ว บางชนิดเจริญได้ช้า (Willis. 1977) ความชื้นของเชื้อก็เป็นปัจจัยสำคัญ เพราะแอนแอโรบส์บางชนิดเจริญเติบโตเป็นปฏิกิริยาที่สำคัญ ทำให้เกิดความชื้นยาก หรือบางชนิดไม่เกิดลักษณะชื้นในอาหารเหล่านั้น (Tally and Gorbach. 1981 : 45)

สภาวะ anaerobiosis ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ อุณหภูมิและส่วนผสมของก๊าซมีผลต่อการเจริญเติบโตกับเชื้อแอนแอโรบส์ (Ingham and others. 1970, Rosenblatt and Schoenknecht. 1972, Reilly, 1980 : 573 - 579) แอนแอโรบส์ต่างชนิดกัน ต้องการปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในการเจริญเติบโตไม่เท่ากัน *B. melaninogenicus* ต้องการคาร์บอนไดออกไซด์ 10 - 40 เปอร์เซ็นต์ *Fusobacterium necrophorum* ต้องการก๊าซนี้ น้อยที่สุด 1 เปอร์เซ็นต์ แต่ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ไม่มีผลต่อการเจริญของ *Clostridium* sp. อายุของการเพาะเชื้อก็มีผลต่อการตอบสนองต่อยาต้านจุลชีพ ขนาดของการปลูกเชื้อและอายุของการเพาะเชื้อก็มีผลกระทบต่อผลการทดสอบความไว (Tally and Gorbach. 1981 : 45)

ยาต้านจุลชีพชนิดต่างกัน มีความคงตัว (stability) ความสามารถในการละลาย (solubility) และความสามารถในการแพร่กระจายแตกต่างกัน ซึ่งมีผลกระทบต่อผลการทดสอบความไว (Rosenblatt and Schoenknecht. 1972, Tally and Gorbach. 1981) ควรใช้ยาต้านจุลชีพมาตรฐาน หรือ reference preparation ซึ่งได้จากบริษัทที่ผลิตยาต้านจุลชีพ ไม่ควรใช้ยาต้านจุลชีพที่เตรียมสำหรับใช้รักษาผู้ป่วย เพราะอาจมีสารอื่นซึ่งมีผลต่อการทดสอบในห้องปฏิบัติการ (เพนด้า ชัยเนตร และ มาสชัย วรฉัตร 2525 : 52) แต่สำหรับยาต้านจุลชีพชนิดแผ่น ความชื้นและอุณหภูมิมีผลกระทบต่อความคงตัวของยา (Brown and Kathari. 1975)

การควบคุมประสิทธิภาพของวิธีการทดสอบ ควรใช้สายพันธุ์แอนแอโรบส์มาตรฐานดีกว่าใช้สายพันธุ์แอโรบส์มาตรฐาน (Willis. 1977 : 93) ซึ่งได้แก่ *Clostridium perfringens* ATCC 13124, *Peptococcus variabilis* ATCC 14956, *Bacteroides fragilis* ATCC 25285, *Bacteroides vulgatus* ATCC 29327, *Peptococcus magnus* ATCC 29328, *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC 29741, *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC 29742, และ *Peptococcus asaccharolyticus* ATCC 29743 (Sutter and others. 1979, Sutter and others. 1980, Sutter and Washington II. 1980

citing Lennette. 1980 : 476) ค่า MIC ของสายพันธุ์มาตรฐานต่อยาต้านจุลชีพต่าง ๆ แสดงไว้ ตาราง 20 และ 21 ภาคผนวก

กฎเกณฑ์ที่สำคัญในการตัดสินความไวของแอนแอโรบิกแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ

แบคทีเรียใดถูกยับยั้งได้ด้วยปริมาณยาต้านจุลชีพที่กำหนด ซึ่งแบคทีเรียส่วนใหญ่ถูกยับยั้งได้ เรียกสายพันธุ์นี้ว่า "ไว" ถ้ายับยั้งไม่ได้ก็เรียกว่า "ดื้อ" เนื่องจากแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ อาจใช้ปริมาณยาต้านจุลชีพต่าง ๆ กัน ที่จะยับยั้งการเจริญเติบโต วิธีการแปลความหมายจึงควรวัด ด้วยปริมาณวิเคราะห์ คือ วัดปริมาณยาต้านจุลชีพที่แท้จริงที่ใช้ยับยั้งแบคทีเรีย เรียก Minimal inhibitory concentration (MIC) ถ้าปริมาณนั้นสูงกว่าในเลือดก็เรียกว่า "ดื้อ" (พินดา ชัยเนตร และ มาลัย วรฉัตร 2525 : 26 - 27)

ความหมายของการดื้อยาและไวต่อยา ตาม FDA (Federal Register 1972 citing พินดา ชัยเนตร 2525 : 27) แบ่งเป็นสามระดับ ไวต่อยา (Susceptible) หมายถึง แบคทีเรียซึ่งถูกยับยั้งการเจริญได้ด้วยยาต้านจุลชีพ ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่าที่มีในเลือดเมื่อให้การรักษา ด้วยขนาดปกติ (normal dose) นั่นคือ แบคทีเรียมี MIC ประมาณ $\frac{1}{4}$ ของ average peak serum level หรือ $\frac{1}{2}$ ของ mean serum level ไวต่อยาขนาดปานกลาง (Intermediate susceptible) หมายถึง แบคทีเรียซึ่งสามารถถูกยับยั้งการเจริญได้ด้วยยาต้านจุลชีพ ซึ่งมี ปริมาณสูงกว่าปริมาณปกติซึ่งได้จากการเพิ่มขนาดของยาต้านจุลชีพได้โดยไม่เกิดอันตราย นั่นคือมี MIC ตั้งแต่ $\frac{1}{2}$ ของ Mean serum level ถึง mean serum level ดื้อต่อยา (Resistant) หมายถึง แบคทีเรียซึ่งยังสามารถมีชีวิตได้ในยาต้านจุลชีพที่มีปริมาณมากเกินไปกว่าที่จะมีได้ในเลือด เมื่อให้การรักษาด้วยยาต้านจุลชีพปริมาณมากที่สุดที่จะให้แล้ว นั่นคือ แบคทีเรียต้องการยาต้านจุลชีพ มากกว่า mean serum level หรือแบคทีเรียที่สามารถทนต่อยาต้านจุลชีพที่มีความเข้มข้นมากกว่า จำนวนซึ่งใช้ในการยับยั้งการเจริญส่วนใหญ่ของแบคทีเรียในพันธุ์เดียวกันหรือสกุลเดียวกัน การใช้ ยาต้านจุลชีพนั้น ๆ รักษาจะไม่ได้ผล รายละเอียดแสดงไว้ตาราง 22 ภาคผนวก

รายงานการศึกษาเกี่ยวกับการทดสอบความไวของยาต้านจุลชีพในประเทศไทย

สุชา คุระทอง และคนอื่น ๆ (Sucha Kurathong and others. 1975)
รายงานการทดสอบความไวของยาต้านจุลชีพกับเชื้อที่แยกได้จากคนไข้ ที่โรงพยาบาลรามารับดี
ระหว่าง 1 ตุลาคม 2514 ถึง 30 พฤศจิกายน 2516 โดยวิธี Disc Diffusion ได้ดังนี้
เพนิซิลลินเป็นยาใช้ได้ผล 100 เปอร์เซ็นต์ กับ *C. perfringens* ให้ผล 20 เปอร์เซ็นต์ กับ
B. fragilis ได้ผลเพียง 50 เปอร์เซ็นต์ กับแอนแอโรบิคส์เตริฟโตคอคโค แอมพิซิลลินใช้ได้
กับพวกแอนแอโรบิคส์เตริฟโตคอคโคได้ผลถึง 91 เปอร์เซ็นต์ อีริธโรรมัยซินและคลอแรมเฟนิคอล
ก็ใช้ได้ผลดี รายละเอียดแสดงไว้ในตาราง 23 ภาคผนวก สุชาติ สุภเวชัย (สุชาติ สุภเวชัย
2515 - 2522 : 239) รายงานความไวของเชื้อแอนแอโรบิคส์ 38 เชื้อต่อยาเมโทรไนดาโซล
โดยวิธี Standard tube Dilution เมื่อทดสอบยาเมโทรไนดาโซลในขนาดความเข้มข้น
6.25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Peptococcus*,
Streptococcus และ *Veillonella* ได้ทุกสายพันธุ์ แต่ *Peptostreptococcus* จำนวน
33 เปอร์เซ็นต์ ต้องใช้ยาเข้มข้น 12.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จึงจะสามารถยับยั้งเชื้อพวกนี้ได้
ส่วนคลอแรมเฟนิคอล, อีริธโรรมัยซิน, เพนิซิลลิน ซี, เตตราซัยคลิน และเมโทรไนดาโซล เมื่อ
ทดสอบโดยวิธี Disc Diffusion พบว่า เมโทรไนดาโซลและคลอแรมเฟนิคอลให้ผลดีกับเชื้อ
36 สายพันธุ์ มาสับ วรจิตร และ พนิดา ชัยเนตร (มาสับ วรจิตร และ พนิดา
ชัยเนตร 2523 : 10 - 13, พนิดา ชัยเนตร และ มาสับ วรจิตร 2525 : 97 - 98)
รายงานการทดสอบความไวของยาต้านจุลชีพโดยวิธี Modified Broth Disc Method พบว่า
B. fragilis ไวต่อยาเพนิซิลลินเพียง 4 - 11 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ *Bacteroides* sp. อื่น ๆ
ไวต่อยานี้ 67 - 72 เปอร์เซ็นต์ และ *Clostridium* sp. 67 เปอร์เซ็นต์ เพนิซิลลินใช้ได้ผลดี
กับ *Clostridium perfringens* เชื้อแอนแอโรบิคส์ส่วนใหญ่ยังคงไวต่อยาคลอแรมเฟนิคอล
อีริธโรรมัยซิน คลินดาไมซิน และเซฟไตรแอม และมีส่วนน้อยที่ไวต่อเตตราซัยคลินกับเมโทรไนดาโซล
Bacteroides sp. พันธุ์อื่นนอกจาก *B. fragilis*, *Clostridium* sp. พันธุ์อื่น นอกจาก
C. perfringens และ *Peptostreptococcus* sp. ไวต่อเพนิซิลลิน *C. perfringens*

คือต่อเพนิซิลลิน *C. perfringens* ต่อก่อนคลินดามัยซิน ส่วน *B. fragilis*, *Bacteroides* sp. พันธุ์อื่น และ *Peptococcus* sp. พบว่าต่อก่อนคลินดามัยซินในอัตราต่ำ ๆ *Fusobacterium nucleatum* ต่อก่อนอีริโทรมัยซินในอัตราสูงที่สุด รายละเอียดแสดงไว้ในตาราง 24 และตาราง 25 ภาคผนวก

รายงานการศึกษาเกี่ยวกับการทดสอบความไวของยาต้านจุลชีพในต่างประเทศ

มีผู้รายงานการหาความไวของเชื้อแอนแอโรบส์ที่แยกได้หลายชนิดจากห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ในประเทศสหรัฐอเมริกาต่อยาต้านจุลชีพตั้งแต่ 4 ชนิดจนถึง 23 ชนิด คือ Staneck และ Washington II (Staneck and Washington II. 1974 : 311 - 315) ทำการทดสอบเชื้อ 150 สายพันธุ์ต่อยา 5 ชนิด Sutter และ Finegold (Sutter and Finegold. 1976 : 730 - 752) ทดสอบความไวของเชื้อ 492 ตัวต่อยา 23 ชนิด Brown และ Waatti (Brown and Waatti. 1980 : 629 - 635) ความไวของเชื้อ 1,266 ตัวต่อยา 4 ชนิด Marrie และคนอื่น ๆ (Marrie and others. 1981 : 51 - 55) รายงานการทดสอบความไวของแอนแอโรบส์ 234 เชื้อต่อยา 10 ชนิดในประเทศแคนาดา Peter และ Chatterson รายงานจากประเทศอัฟริกาใต้ โดยทดสอบเชื้อ 265 ตัวต่อยา 10 ชนิด Dornbusch และคนอื่น ๆ (Dornbusch and others. 1979 : 17 - 25) รายงานจากประเทศสวีเดน จากรายงานเหล่านี้พอสรุปได้ว่า กลอแรมเพนิคอลและคลินดามัยซิน ให้ผลดีที่ลุดต่อแอนแอโรบส์ทุกชนิด เพนิซิลลินคงยังเป็นยาให้ผลดีต่อเชื้อแอนแอโรบส์อื่น ๆ ยกเว้น *B. fragilis* อย่างไรก็ตาม เชื้อ *B. melaninogenicus* และ *Clostridium* sp. ต่อด้อยกว่าเชื้ออื่น แอมพิซิลลินเป็นยาที่ให้ผลดีต่อแอนแอโรบส์มากกว่าเพนิซิลลิน ยกเว้น *B. fragilis* ที่มีรายงานว่า ต่อด้อยกว่าเชื้ออื่น สำหรับเตตราซัยคลีนนั้นพบว่ามิใช่เชื้อที่ลุดต่อด้อยกว่า โดยเฉพาะ *Bacteroides* sp., *Fusobacterium* และ *Clostridium* sp. ส่วน อีริโทรมัยซินเป็นยาให้ผลดีน้อยกว่ายาชนิดอื่น ๆ

รายงานที่เกี่ยวกับความไวของแอนแอโรบัสหลายชนิดต่อยาต้านจุลชีพชนิดเตียหาหรือหลายชนิด แต่เป็นยาที่อยู่ในกลุ่มเตียหาชนิดนี้ ผู้ที่รายงานการทดสอบความไวของแอนแอโรบัสต่อยาเมโทรไนดาโซล หรือยาในกลุ่มนี้ คือ Chow และคนอื่น ๆ 1975 : 182 - 185, Ralph and Kirby. 1975 : 409 - 414, Wüst. 1977 : 631 - 637, Tally และคนอื่น ๆ 1978 : 460 - 465, Sanders และคนอื่น ๆ 1975 : 337 - 343, Tally และคนอื่น ๆ 1981 : 46 - 53, O'Keefe และคนอื่น ๆ 1982 : 426 - 430, Hof และคนอื่น ๆ 1982 : 332 - 333 จากรายงานเหล่านี้สรุปได้ว่า เมโทรไนดาโซล และยาในกลุ่มนี้ใช้ได้ผลดีกับแอนแอโรบัสแทบทุกเชื้อสาย ยกเว้นแอนแอโรบิกคอคโคไกรแกรมบวกและแอนแอโรบิกแบซิลไลแกรมบวกที่ไม่สร้างสปอร์บางสายพันธุ์เท่านั้น สำหรับผู้รายงานการทดสอบความไวของแอนแอโรบัสต่อยาในกลุ่มเซฟาโลสปอรินส์ คือ Sutter และ Finegold. 1975 : 417 - 422, Busch และคนอื่น ๆ 1976 : 713 - 720, Weinrich และ Del Bene. 1976 : 106 - 111, Shadomy และคนอื่น ๆ 1977 : 697 - 699, Jorgensen และคนอื่น ๆ 1980 : 901 - 904, Kaye และคนอื่น ๆ 1980 : 957 - 960, Rolfe และ Finegold. 1982 : 338 - 341, Haller. 1982 : 165 - 166 นอกจากนี้ มีผู้รายงานการทดสอบความไวของเชื้อแอนแอโรบัสต่อยาอื่น ๆ เช่น ต่อยาซิลฟาเมทรอกซาโซล กับไทรเมโทโรพริม (Wüst and Wilkins. 1978 : 384 - 390) Reese และคนอื่น ๆ (Reese and others. 1976 : 253 - 257) รายงานผลความไวของแอนแอโรบัส 145 เชื้อต่อยาปฏิชีวนะ คือ โจซามัยซิน (Josamycin) เปรียบเทียบกับยาอีริธโรมัยซิน ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม macrolide เช่นเดียวกัน

เนื่องจาก *B. fragilis* เป็นเชื้อที่แยกได้บ่อยที่สุดตามห้องปฏิบัติการต่าง ๆ (Finegold. 1977 : 2) (ดูตารางจากห้องปฏิบัติการต่าง ๆ) จึงมีผู้ทดสอบความไวของเชื้อนี้ต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิด สำหรับผู้รายงานจากประเทศสหรัฐอเมริกา คือ Nastro และ Finegold. 1972 : 104 - 107, Kislak. 1972 : 295 - 299, Blazevic. 1976 : 481 - 484, Barland และ Birnbaum. 1977 : 725 - 734, Maki และคนอื่น ๆ 1978 : 859 - 863, Hansen. 1980 : 686 - 690, Brown และคนอื่น ๆ 1981 :

248 - 252, Sosa และคนอื่น ๆ 1982 : 771 - 774, Joiner และคนอื่น ๆ 1982 : 561 - 568 จากประเทศอังกฤษมีผู้รายงาน คือ Whelan และคนอื่น ๆ 1968 : 432 - 436, Whelan และ Hale. 1973 : 393 - 395 ผู้รายงานเกี่ยวกับความไวของ *B. fragilis* ของประเทศสวีเดน คือ Haller. 1982 : 165 - 166 ส่วนผู้รายงานจากประเทศแคนาดา คือ Ralph และ Amatnicks. 1980 : 379 - 382 นอกจาก *B. fragilis* มีผู้รายงานความไวของ *B. melaninogenicus* (Murray and Rosenblatt. 1977 : 605 - 608) และ *C. perfringens* (Schwartzman and others. 1977 : 695 - 697) ต่อยาต้านจุลชีพต่าง ๆ

นอกจากนี้ยังมีผู้รายงานการหาความไวของแอนแอโรบส์ต่อยาต้านจุลชีพที่ใช้ควบกันไป คือ Busch และคนอื่น ๆ (Busch and others. 1976 : 321 - 328) ทดสอบเชื้อ *B. fragilis* ต่อยาต่าง ๆ 9 ตัว Klastersky และ Husson (Klastersky and Husson. 1977 : 135 - 138) ทดสอบเชื้อ *B. fragilis* ที่แยกได้ในประเทศเบลเยียมต่อยาเจนดาไมซินร่วมกับคลินดามัยซินหรือเจนดาไมซินร่วมกับคลอแรมเฟนิคอล Griffith และคนอื่น ๆ (Griffith and others. 1977 : 813 - 916) รายงานผลการทดสอบเชื้อ *B. fragilis* ต่อยาอีริโทรมัยซินร่วมกับซีฟาเมนโดล (cefamendole)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการศึกษา

1. กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัยเป็นเชื้อแอนแอโรบิคแบคทีเรียที่แยกได้จากห้องปฏิบัติการ
ภาควิชาจุลชีววิทยาและอิมมูโนโลยี คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล ประกอบด้วย

1.1 Gram negative bacilli

1.1.1 *Bacteroides* spp.

1.1.2 *Fusobacterium* spp.

1.2 Gram positive bacilli

1.2.1 *Clostridium* spp.

1.2.2 *Eubacterium* spp.

1.2.3 *Propionibacterium* spp.

1.3 Gram positive cocci

1.3.1 *Peptococcus* spp.

1.3.2 *Peptostreptococcus* spp.

1.3.3 *Streptococcus* spp.

1.4 Gram negative cocci

1.4.1 *Veillonella* sp.

2. วิธีวิจัยสิ่งส่งตรวจในห้องปฏิบัติการ (Holdeman, Cato and Moore. 1977)

มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

2.1 สิ่งส่งตรวจนำส่งในภาชนะที่ไม่มีออกซิเจน ไม่ควรใส่มาในอาหารเลี้ยงเชื้อหรือ
ในสารละลายอื่น ๆ

2.2 สิ่งส่งตรวจไปยังห้องปฏิบัติการเร็วที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้

2.3 เพาะเชื้อจากสิ่งส่งตรวจบนอาหารแข็ง เสริมเลือดเพื่อบ่มเชื้อในบรรยากาศต่าง ๆ กัน

ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส คือ ในตูบเชื้อที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ ในโถแอนแอโรบิก และในบรรยากาศธรรมดาเป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง

2.4 เก็บสิ่งส่งตรวจบนกระจกแก้วและย้อมสี ตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ บันทึกลักษณะและปริมาณคร่าว ๆ ของเชื้อทุกชนิดที่เห็น

2.5 สิ่งส่งตรวจที่เหลือเพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Chopped meat-glucose medium (CMG) และ/หรือ Thioglycollate medium

2.6 ตรวจจานเลี้ยงเชื้อที่บ่มไว้ในภาวะต่าง ๆ กัน โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยาย 10 เท่าตัว หรือใช้แว่นขยายดูโคโลนีที่มีลักษณะต่าง ๆ กัน แล้วเลือกโคโลนีแต่ละชนิดที่แยกกันดี เพื่อดำเนินการดังต่อไปนี้

2.6.1 ย้อมสีแกรม

2.6.2 เลี้ยงใน Chopped meat-glucose medium (CMG) หรือ Thioglycollate medium

2.6.3 เลี้ยงบนอาหารแข็งเสริมเลือด บ่มในบรรยากาศธรรมดา เพื่อดูความทนทานต่อออกซิเจน

2.7 เก็บจานเลี้ยงเชื้อบ่มต่อในโถแอนแอโรบิกอีก 3 - 5 วัน เพื่อดูเชื้อที่ยืนได้ซ้ำ หลังจากบ่มจานเลี้ยงเชื้อไว้ 7 วัน ถ้าไม่มีเชื้อขึ้นจึงรายงานได้ว่าไม่มีเชื้อขึ้น ควรย้อมสีแกรมจากสิ่งส่งตรวจที่เลี้ยงไว้ใน CMG เพื่อเปรียบเทียบกับเชื้อที่เลี้ยงโดยตรงบนอาหารแข็งเสริมเลือดครั้งแรก

2.8 ตรวจดูเชื้อที่เลี้ยงไว้ใน CMG หรือ Thioglycollate หลังจากเลี้ยงไว้ 18 - 24 ชั่วโมง ถ้าเชื้อขึ้นดี ย้อมสีแกรม เมื่อได้เชื้อที่บริสุทธิ์ ไข่ CMG หรือ Thioglycollate ที่เลี้ยงเชื้อไว้เพื่อทดสอบทางชีวเคมีและการหาความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพต่าง ๆ

2.9 ตรวจผลการทดสอบทางชีวเคมีเมื่อเชื้อเจริญหรือเมื่อเชื้อไม่เจริญเพิ่มขึ้นหลังจากบ่มเชื้อต่อไปอีก 8 ชั่วโมง

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์

(Holdeman, Cato and Moore. 1977 : 12)

<i>Bacteroides</i>	<i>Clostridium</i>	<i>Eubacterium and Clostridium</i>
peptone yeast extract(PY)	peptone yeast extract(PY)	(if you are uncertain about spores)
arabinose	esculin	In addition to media for <i>Eubacterium</i> , inoculate
cellobiose	fructose	melibiose
esculin	glucose(PYG)	ribose
fructose	lactose	xylose
glucose(PYG)	maltose	egg yolk agar**
inositol	mannitol	
lactose	mannose	<i>Propionibacterium</i>
maltose	melibiose	peptone yeast extract(PY)
mannitol	ribose	adonitol
raffinose	starch	esculin
salicin	sucrose	fructose
starch	xylose	glucose(PYG)
sucrose	gelatin	lactose
trehalose	milk	maltose
xylose	chopped meat*	mannitol
gelatin	agar deep	sorbitol
nitrate	urease**	sucrose
glucose-bile	egg yolk agar**	trehalose**
chopped meat*		gelatin
agar deep	<i>Eubacterium</i>	PYG agar slant (catalase)**
SIM-H ₂ S**	peptone yeast extract(PY)	chopped meat*
urease**	amygdalin	nitrate
	erythritol	agar deep
	esculin	
<i>Fusobacterium</i>	fructose	<i>Cocci</i>
peptone yeast extract(PY)	glucose(PYG)	peptone yeast extract(PY)
esculin	glycogen	cellobiose
fructose	inositol	esculin
glucose(PYG)	lactose	glucose(PYG)
lactose	maltose	lactose
maltose	mannitol	maltose
mannose	mannose	mannose
starch	raffinose	sorbitol (for streptococci)
sucrose	rhamnose	starch (needed for intestinals)
chopped meat*	starch	sucrose
agar deep	sucrose	xylose
lactate	gelatin	lactate**
threonine	chopped meat*	nitrate
glucose-bile**	nitrate	agar deep
	agar deep	chopped meat*

*Chopped meat is used for catalase, for indole (remove a portion), and for digestion.

Young (4-6 hr) OM cultures are used for a motility test (microscopic examination).

**May be helpful but usually not required or usually not needed.

***For lactobacilli, inoculate two PYGs. Incubate one at 37 C and one at 45 C.

3. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา

1. โทแวนแอโรบิคของบริษัท Oxoid แสดงรูป 1
2. Water bath ตั้งอุณหภูมิ 50 - 55 องศาเซลเซียส
3. Steers' replicator ซึ่งปราศจากเชื้อ (Sterile) แสดงรูป 2
4. Replicator block ที่มีหลุมขนาด 0.6 มิลลิเมตร จำนวน 21 หลุม ซึ่งปราศจากเชื้อ แสดงรูป 2
5. ซีเปต (Pipettes) ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร ซึ่งปราศจากเชื้อ
6. ปาสเตอร์ซีเปต (Pasteur pipettes) ซึ่งปราศจากเชื้อ
7. หลอดทดลองขนาด 10 × 100 มิลลิเมตร และ 10 × 150 มิลลิเมตร
8. จานเลี้ยงเชื้อของบริษัท Kimax ขนาด 100 มิลลิเมตร
9. สารละลายน้ำเกลือนอร์มัล ซึ่งปราศจากเชื้อ
10. อาหารเลี้ยงเชื้อมีดังนี้ รวบรวมไว้ในภาคผนวก
 - 10.1 Basal Medium-Py-Peptide Yeast Extract
 - 10.2 Brain Heart Infusion Agar (BHIA)
 - 10.3 Cooked Meat Medium ของบริษัท Difco
 - 10.4 Deep tube Agar
 - 10.5 Fluid Thioglycollate Medium ของบริษัท Difco
 - 10.6 Thioglycollate without indicator - 135 C ของบริษัท BBL
 - 10.7 Wilkins-Chalgren Agar
11. ยาต้านจุลชีพ 8 ชนิด มีดังนี้
 - 11.1 แอมพิซิลลิน ของบริษัท Bristol
 - 11.2 เซฟาโลทิน ของบริษัท Eli Lilly
 - 11.3 คลอแรมเฟนิคอล ของบริษัท Lepetit Thailand Co., LTD.
 - 11.4 คลินดามัยซิน ของบริษัท Upjohn

11.5 ธีรียโรรมัยซิน ของบริษัท Abbott Australia Internal Reference
Standard

11.6 เมโทรไนดาโซล ของบริษัท May and Baker

11.7 เพนิซิลลิน เอส ของบริษัท Glaxo

11.8 เตตราไซคลีน ของบริษัท โอสกลัฟเด็กเฮงหญ่ จำกัด

12. แอนแอโรบิกแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐาน (Standard Strains) 3 เชื้อ

12.1 *Clostridium perfringens* ATCC 13124

12.2 *Bacteroides fragilis* ATCC 25285

12.3 *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC 29741

13. เครื่องนึ่งอัตโนมัติ (Autoclave)

14. ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 6.0 และ pH 8.0 และ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์
pH 8.0, 1 เปอร์เซ็นต์ สำหรับละลายยาต้านจุลชีพ

15. เมธานอล (Methanol) 99.5 เปอร์เซ็นต์ของบริษัท Merck

16. เอมีนของบริษัท Eastman Kodak แคตตาล็อกฉบับเบอร์ (Catalog no.) 2203

17. Resazurin ชนิดเม็ดของบริษัท BDH Chemical LTD Poole

18. Tween 80 ของบริษัท Difco แคตตาล็อกฉบับเบอร์ 3118-15

19. เข็มเย็บเย็บทองคำขาว (Platinum wire loops)

20. Volumetric flask ขนาด 25, 50 และ 100 มิลลิลิตร ซึ่งปราศจากเชื้อ

21. น้ำกลั่นสองครั้งซึ่งปราศจากเชื้อ (Sterile double distilled water)

22. เครื่อง Mixer อัตโนมัติแบบ TB-I ของบริษัท Kanda Tokyo

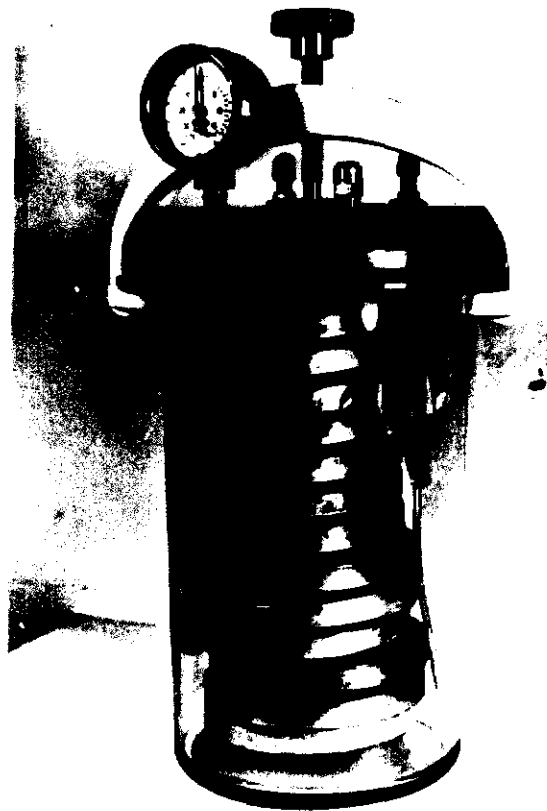
23. ยวตแมคคาร์ทนี (Mac Cartney)

24. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ที่ตั้งอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

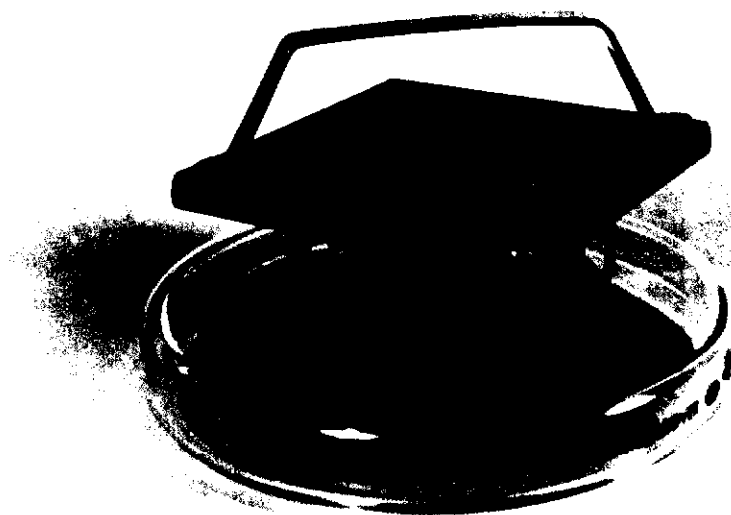
25. เครื่องชั่งละเอียด (Analytical balance) แบบ METLER H 20 T

26. โซเดียมไบคาร์บอเนตของบริษัท BDH Chemical LTD Poole แคตตาล็อกฉบับเบอร์

27. L-Cysteine hydrochloride (L-Cysteine HCl. H_2O) ของบริษัท Sigma



ภาพประกอบ 1 โทแวนแอโรบิค



ภาพประกอบ 2 แสดง steers replicator และ replicator block

4. การทดสอบความไวของเชื้อแอนแอโรบิคแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพด้วยวิธี Agar Dilution MIC Method ของซัตเตอร์ (Sutter) และวอชิงตันที่ 2 (Washington II) (Sutter and Washington II. 1980 citing Lennette. 1980) มีวิธีดำเนินการดังต่อไปนี้

4.1 การเตรียมยาต้านจุลชีพเพื่อใช้ในการทดสอบ

4.1.1 ยาต้านจุลชีพ 8 ชนิดที่ใช้ในการทดสอบจะเตรียมไว้เป็น Stock solution ตามตาราง 1

ตาราง 1 การเตรียมยาต้านจุลชีพ

ยาต้านจุลชีพ	Potency เป็น ไมโครกรัมหรือ IU ต่อมิลลิลิตร	ปริมาตรที่ เตรียมเป็น มิลลิลิตร	น้ำหนักเป็นมิลลิกรัม ของยาต้านจุลชีพที่ คำนวณจากสูตร*	ความเข้มข้นของ Stock solution** ไมโครกรัม หรือ IU ต่อมิลลิลิตร
แอมพิซิลลิน ^a	846	25	378.25	12,800
เซฟาโลซิม ^b	946	100	135.31	1,280
คลอสแตรมเฟนิคอล	997	50	64.19	1,280
คลินดามัยซิน ^c	-	20	20.0	1,000
อีริธโรรมัยซิน ^{b,d}	929	25	134.5	5,000
เมโทรไนดาโซล	1,000	50	62.5	1,250
เพนิซิลลิน ซี	1,653,968 IU	50	3.832	1,280 IU
เตตราซัยคลีน ^e	980	100	65.31	1,280

* สูตรการคำนวณน้ำหนักยาต้านจุลชีพ แสดงไว้ในข้อ 4.1.2

** ตัวทำละลายและตัวทำให้เสื่อจาง แสดงไว้ในตารางข้อ 4.1.3

a แอมพิซิลลินที่เตรียมจากตารางข้างบนนี้ นำมาเสื่อจาง 1 : 10 ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.0 จะได้ Stock solution ที่ความเข้มข้น 1,280 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

b ก่อนย้งทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง ในสภาพสูญญากาศ

c การเตรียมยาคลินดามัยซินทำตามวิธีการที่ระบุไว้ข้างขาด

d อีริธโรรมัยซินที่เตรียมจากตารางข้างบนนี้ นำมาเสื่อจาง 1 : 5 ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 1 เฟอร์เซ็นต์ pH 8.0 จะได้ Stock solution ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

e ความบริสุทธิ์ของเตตราซัยคลีน คือ 98 เฟอร์เซ็นต์ นำมาคำนวณหา Potency เสียก่อน ดังนี้

ใน 100 มิลลิกรัม มีเนื้อยา	98	มิลลิกรัม
ใน 1 มิลลิกรัม มีเนื้อยา	$\frac{98 \times 1,000}{100}$	ไมโครกรัม
∴ Potency ของเตตราไซคลีน =	980	ไมโครกรัม ต่อมิลลิกรัม

4.1.2 การคำนวณ น้ำหนักของยาต้านจุลชีพเพื่อทำ Stock solution ของยาแต่ละชนิด ใช้สูตรดังนี้ (Anhatt and Washington II. 1980 citing Lennette. 1980. : 495)

น้ำหนักของยาต้านจุลชีพมาตรฐาน (มิลลิกรัม) =

$$\frac{\text{ปริมาณของสารละลาย (มิลลิลิตร) \times ความเข้มข้นที่ต้องการ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)}}{\text{Potency ของยาต้านจุลชีพ (ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม)}}$$

ตัวอย่าง การเตรียมยาคลอแรมเฟนิคอล

ยาคลอแรมเฟนิคอล มี Potency 997 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม

ความเข้มข้นที่ต้องการ 1,280 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ต้องการปริมาณของสารละลาย 50 มิลลิลิตร

แทนค่าตามสูตรข้างบนจะได้

$$\text{น้ำหนักของยาต้านจุลชีพมาตรฐาน (มิลลิกรัม)} = \frac{50 \text{ มิลลิลิตร} \times 1,280 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร}}{997 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม}}$$

$$= 64.192577 \text{ มิลลิกรัม}$$

4.1.3 ชั่งน้ำหนักยาต้านจุลชีพมาตรฐานที่คำนวณได้โดยใช้เครื่องชั่งละเอียด โดยใช้ภาชนะและช้อนตวงซึ่งทำให้ปราศจากเชื้อแล้ว ละลายยาต้านจุลชีพใน Volumetric flask ซึ่งปราศจากเชื้อ เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ในขวดแมคคาร์ทนี ขนาด 20 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เมื่อจะใช้ทำให้เจือจางด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมกับยาแต่ละชนิดตามตาราง 2

4.1.4 เตรียม Stock solution ของยาต้านจุลชีพต่าง ๆ โดยใช้ตัวทำละลาย และตัวเจือจาง ดังแสดงในตาราง 2

ตาราง 2 ตัวทำละลายและตัวทำให้เจือจางในการเตรียม Stock solution ของยาต้านจุลชีพ 8 ชนิด (Lennette. 1980 : 496)

ยาต้านจุลชีพ	ตัวทำละลาย	ตัวทำให้เจือจาง
แอมพิซิลลิน	พอลิเพตบัฟเฟอร์ pH 8, 0.1 M	พอลิเพตบัฟเฟอร์ pH 8, 0.1 M; น้ำ
เซฟาลอกซิน	พอลิเพตบัฟเฟอร์ pH 6, 0.1 M	น้ำ
คลอแรมเฟนิคอล	เมธีรานิอล	น้ำ
คลินดามัยซิน	น้ำ	น้ำ
อีริโทรไมซิน	เมธีรานิอล	พอลิเพตบัฟเฟอร์ pH 8, 0.1 M
เมโทรไนดาโซล	น้ำ	น้ำ
เพนิซิลลิน ซี	น้ำ	น้ำ
เตตราไซคลีน	น้ำ	น้ำ

4.1.5 การเตรียมยาต้านจุลชีพเพื่อนำมาใช้ในการเลี้ยงเชื้อนั้น ต้องเตรียม ให้มีความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของความเข้มข้นที่ต้องการใช้ในการทดสอบ แล้วเจือจางให้ ความเข้มข้นลดลงครึ่งหนึ่งตามตาราง 3 (Lennette. 1980 : 454 , Sutter and others. 1980 : 74, Tally and Gorbach. 1981 : 49) โดยเริ่มจาก Stock solution ของยาต้านจุลชีพที่มีความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, 1,250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1,280 ไมโครกรัมหรือ IU ต่อมิลลิลิตร

ตาราง 3 การเตรียมยาต้านจุลชีพสำหรับวิธี Agar dilution โดยเจือจางเป็นลำดับดังนี้

สารละลายของยาต้านจุลชีพ		น้ำกลั่นซึ่ง ฆ่าเชื้อแล้ว (มล.)	ความเข้มข้นของ ยาต้านจุลชีพ (ไมโครกรัมหรือ IU ต่อ มล.)	ความเข้มข้นสุดท้าย ในจานเลี้ยงเชื้อ (ไมโครกรัมหรือ IU ต่อ มล.)
ความเข้มข้นที่ใช้ (ไมโครกรัมหรือ IU ต่อ มล.)	ปริมาณที่ใช้ (มล.)			
2,000	6.4	3.4	1,280	128
1,280	2	2	640	64
1,280	1	3	320	32
1,280	1	7	160	16
160	2	2	80	8
160	1	3	40	4
160	1	7	20	2
20	2	2	10	1
20	1	3	5	0.5
20	1	7	2.5	0.25
10	2	2	1.25	0.125
10	1	3	0.625	0.0625

หมายเหตุ ยาคลินดามัยซินกับอีริทโรมัยซิน และเมโทรไนดาโซล แสดงไว้ในตาราง 26

และ 27 ภาคผนวก

4.2 การเขี่ยเชื้อ

4.2.1 เขี่ยเชื้อ 5 โกลดลงใน Thioglycollate ที่ไม่มีอินดิเคเตอร์

หลังจากที่ต้มในน้ำเดือด 5 นาที แล้วทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และเติมสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4.2.2 บ่มในสภาพไร้ออกซิเจนในโธแอนแอโรบิกที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

เป็นเวลา 18 - 20 ชั่วโมง หรือนานกว่านี้ถ้าต้องการให้ได้เชื้อจำนวนมาก

4.2.3 หลังจากบ่มเชื้อแล้วปรับความขุ่นด้วยน้ำเกลือนอร์มัลซึ่งปราศจากเชื้อ

ให้มีความขุ่นเท่ากับ McFarland nephelometer barium sulfate standard เบอร์ 0.5 ซึ่งมีความขุ่นเทียบเท่ากับแบคทีเรีย 150 ล้านเซลล์ต่อมิลลิลิตร

การเตรียม Thioglycollate ที่ไม่มีอินดิเคเตอร์ และ McFarland nephelometer barium sulfate standard เบอร์ 0.5 แสดงไว้ในภาคผนวก

4.3 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดสอบ

4.3.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Wilkins-Chalgren Agar ตามส่วนผสม

ของ Wilkins และ Chalgren. (Wilkins and Chalgren., 1976., 926 - 928)

ดังแสดงไว้ในตาราง 4

ตาราง 4 แสดงส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ Wilkins-Chalgren Agar

สาร	แคตตาล็อก เน็มเบอร์	บริษัท	น้ำหนัก (กรัม) ต่อ 1,000 มิลลิลิตร	น้ำหนัก (กรัม) ต่อ 350 มิลลิลิตร
Trypticase (pancreatic digest of casein)	11921	BBL	10	3.5
Gelysate (pancreatic digest of gelatin)	11870	BBL	10	3.5
Yeast extract	0127-01	Difco	5	1.75
Glucose (Bacto-Dextrose)	0155-17	Difco	1	0.35
NaCl	003265	Univar	5	1.75
L-Arginine - free base	A-5006	Sigma	1	0.35
Pyruvic acid - sodium salt	P-2256	Sigma	1	0.35
Agar (Bacto - Agar)	0140-01	Difco	15	5.25

4.3.2 ชั่งส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับละลายในน้ำกลั่น 350

มิลลิลิตร

4.3.3 เติมน้ำละลายเอมินในปริมาณ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และวิตามิน เค
หนึ่งในปริมาณ 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

4.3.4 ต้มจนละลาย แบ่งใส่ขวดแมคคาร์ทนี 12 ขวด ขวดละ 22.5
มิลลิลิตร และ 4 ขวด ขวดละ 25 มิลลิลิตร

4.3.5 นำไปนึ่งในเครื่องนึ่งอัตโนมัติ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

4.3.6 ทิ้งให้เป็นลงใน Water bath จนอุณหภูมิ 50 - 55 องศาเซลเซียส

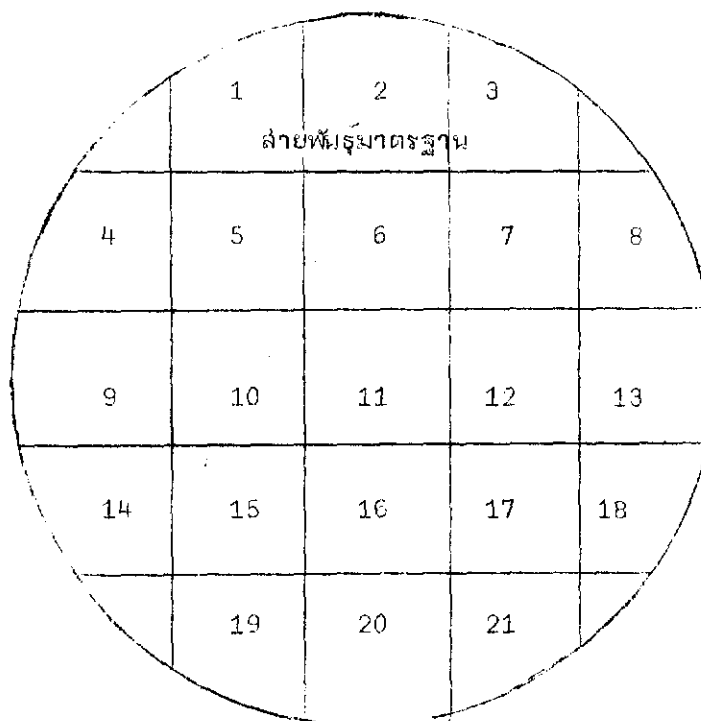
4.3.7 เติมน้ำตาลซูโลฟ 2.5 มิลลิลิตร ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน 12 ความเข้มข้น

ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Wilkins-Chalgren Agar 12 ขวด เขย่าให้เข้ากัน เทลงในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 100 มิลลิเมตร จำนวน 12 จาน อีก 4 ขวด ขวดละ 25 มิลลิตร เทลงในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเดียวกัน จำนวน 4 จาน โดยไม่ผสมยาต้านจุลชีพ วางทิ้งไว้ให้วันแข็งตัว

4.3.8 นำจานเลี้ยงเชื้อที่ได้จาก 4.3.7 ไปวางในตู้บ่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อให้ผิวหน้าของอาหารแห้งสนิท

4.4 วิธีทดสอบ (Tally and Gorbach. 1981 : 48 - 50)

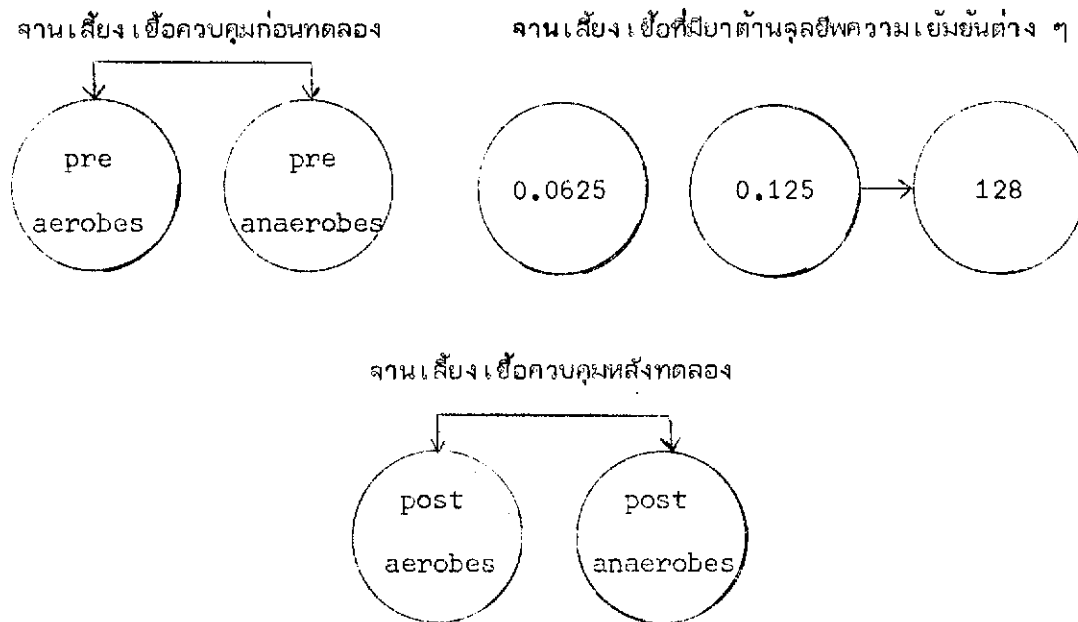
4.4.1 ใช้ปาสเตอร์ปีเปตดูดเชื้อที่เสียดางไว้ลงในหลุมของ Replicator block โดยเริ่มต้นจากหลุมที่ 1, 2 และ 3 ซึ่งเป็นเชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน 3 ชนิด คือ *Clostridium perfringens* ATCC 13124, *Bacteroides fragilis* ATCC 25285 *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC 29741 เป็นตัวควบคุมการทดลอง แล้วหยอดเชื้อที่จะทดสอบลงในแต่ละหลุมของ Replicator block ตามลำดับ ดังแสดงในภาพประกอบ 3



ภาพประกอบ 3 แสดง Replicator block ซึ่งหยอดเชื้อลงในหลุมตามลำดับ 21 เชื้อ

4.4.2 กลุ่ม Steers' replicator ลงใน Replicator block แล้วแต่ลงบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มียาต้านจุลชีพ 2 จาน เป็นจานควบคุมและเปรียบเทียบในสภาวะที่ออกซิเจนและสภาพไร้ออกซิเจน ก่อนทดสอบกับยาต้านจุลชีพ

4.4.3 กลุ่ม Steers' replicator ลงใน Replicator block แล้วแต่ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มียาต้านจุลชีพ 12 จาน โดยเรียงลำดับจากความเข้มข้นน้อยที่สุดไปหาความเข้มข้นมากที่สุด และแต่บนผิวหน้าอาหารที่ไม่มียาต้านจุลชีพ 2 จาน เป็นจานควบคุมและเปรียบเทียบในสภาวะที่ออกซิเจนและสภาพไร้ออกซิเจน หลังทดสอบยาต้านจุลชีพ ดังแสดงในภาพประกอบ 4



ภาพประกอบ 4

4.4.4 วางจานเลี้ยงเชื้อในข้อ 4.4.3 ไว้ 15 นาที เพื่อให้เชื้อที่ตะบนผิวหน้าอาหารแห้งสนิท บ่มเชื้อในสภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 42 - 48 ชั่วโมง จานเลี้ยงเชื้อ pre aerobes และ post aerobes นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

4.4.5 โกลแอนแอโรบิกที่บรรจุจานเลี้ยงเชื้อ ทำให้อยู่ในสภาพไร้ออกซิเจน โดยดูดอากาศภายในโถออกให้เป็นสูญญากาศ แล้วเติมกาซผสม ไนโตรเจน 85 เปอร์เซ็นต์ คาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ และ ไอโตรเจน 10 เปอร์เซ็นต์ นำโกลแอนแอโรบิกไปบ่ม ในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 42 - 48 ชั่วโมง

4.4.6 อ่านผล The Minimal Inhibitory Concentration (MIC) ของแต่ละสายพันธุ์ ความเข้มข้นที่ต่ำสุดของยาต้านจุลชีพที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของแอนแอโรบิก แบคทีเรียบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างสมบูรณ์หรือมีแบคทีเรียขึ้นไม่เกิน 0.1 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดลอง

เชื้อแอนแอโรบ์ที่ทดสอบ 114 เชื้อ ประกอบด้วย แบซิลโลแกรมลบไม่สร้างสปอร์ 19 เชื้อ คอคโคแกรมบวก 51 เชื้อ คอคโคแกรมลบ 5 เชื้อ แบซิลโลแกรมบวกไม่สร้างสปอร์ 12 เชื้อ และแบซิลโลแกรมบวกสร้างสปอร์ 27 เชื้อ (ตาราง 5) แอนแอโรบ์เหล่านี้แยกได้จากหนอง 47 เพอร์ซิเอนต์ เลือด 13 เพอร์ซิเอนต์ และจากแหล่งอื่น ๆ 25 เพอร์ซิเอนต์ (ตาราง 6)

ค่า MIC ของแอนแอโรบ์สายพันธุ์มาตรฐานต่อยาต้านจุลชีพ 8 ชนิด อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ (ตาราง 7) ผลการทดสอบโดยวิธี Agar Dilution MIC Method สังภาพประกอบ 5 - 14

แอมพิซิลลินยับยั้งแอนแอโรบ์ทุกเชื้อสายที่ MIC 16 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ยับยั้ง *Clostridium* sp. ที่ MIC 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วน *Fusobacterium* sp., *Propionibacterium* sp. และ *E. lentum* ถูกยับยั้งได้หมดทุกเชื้อสายที่ MIC 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร คอคโคแกรมบวกทุกเชื้อสายถูกยับยั้งด้วยแอมพิซิลลินที่ MIC 4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สำหรับ *Bacteroides* sp. ต้องไปย่น้ำที่ความเข้มข้น 16 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จึงจะยับยั้งเชื้อพวกนี้ได้ทุกเชื้อสาย (ตาราง 8) แอนแอโรบ์ 87.7 เพอร์ซิเอนต์ไวต่อยานี้ พวกที่ไวปานกลางมี 12.3 เพอร์ซิเอนต์ ซึ่งได้แก่ เชื้อพวก *Bacteroides* sp. และคอคโคแกรมบวกบางสายพันธุ์ เชื้อ *Fusobacterium* sp., *Veillonella* sp., *Propionibacterium* sp., *E. lentum* และ *Clostridium* sp. ไวต่อยานี้ 100 เพอร์ซิเอนต์ *Peptococcus* sp. และ *Peptostreptococcus* sp. ไวต่อยานี้ 97.6 เพอร์ซิเอนต์ และ 90 เพอร์ซิเอนต์ ตามลำดับ ส่วน *B. fragilis* ไวต่อยานี้เพียง 23.1 เพอร์ซิเอนต์ เท่านั้น (ตาราง 9)

เซฟาโลทิน ยับยั้งแอนแอโรบ์ทุกสายพันธุ์ที่ MIC 128 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ยับยั้ง *E. lentum* ที่ MIC 0.125 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร *Veillonella* และ *Propionibacterium* ทุกเชื้อสายที่ MIC 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร *Clostridium* sp. ที่ MIC 4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

และกอคโคแกรมบวกทุกเชื้อสายที่ MIC 32 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ค่า MIC ที่ยับยั้ง *Bacteroides* ได้ทุกเชื้อสาย คือ 128 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ตาราง 10) 86.8 เปอร์เซ็นต์ของแอนแอโรบส์ ที่ทดสอบไวต่อยานี้ เชื้อที่ไวปานกลางมี 3.5 เปอร์เซ็นต์ และที่ดื้อต่อยานี้มี 9.6 เปอร์เซ็นต์ เชฟาลอซินให้ผล 100 เปอร์เซ็นต์ต่อ *Fusobacterium* sp., *Peptococcus* sp., *Veillonella* sp., *Propionibacterium* sp., *E. lentum* และ *Clostridium* sp. เชื้อ *Peptococcus* sp. ไวต่อยานี้ 95.1 เปอร์เซ็นต์ *B. fragilis* ไวต่อยานี้เพียง 23.1 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ *Bacteroides* เชื้อสายอื่น ๆ ไวต่อยานี้ 50 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 11)

คลินดามัยซิน ยับยั้งแอนแอโรบส์ทุกสายพันธุ์ได้ที่ MIC 4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ความเข้มข้นของยานี้เพียง 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้ง *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Peptococcus*, *Propionibacterium* ทุกสายพันธุ์ และ *E. lentum* ได้ ส่วน *Clostridium* ทุกเชื้อสายถูกยับยั้งได้ด้วยยานี้ที่ MIC 4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ตาราง 12) การทดสอบครั้งนี้ไม่พบแอนแอโรบส์ที่ดื้อต่อยาคลินดามัยซิน (ตาราง 13)

ค่า MIC ของคลอแรมเฟนิคอลที่สามารถยับยั้งแอนแอโรบส์ทุกสายพันธุ์ คือ 16 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร *Peptostreptococcus* ทุกเชื้อสายถูกยับยั้งที่ค่า MIC 2 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Clostridium* และ *Veillonella* ทุกเชื้อสายถูกยับยั้งได้ด้วยยานี้ที่ MIC 4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ค่า MIC₁₀₀ ของคลอแรมเฟนิคอลต่อ *Propionibacterium* sp. และ *E. lentum* คือ 8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ตาราง 14) ไม่พบแอนแอโรบส์ที่ดื้อต่อคลอแรมเฟนิคอลเช่นเดียวกับคลินดามัยซิน (ตาราง 15)

ค่า MIC ของอีริโทรมัยซินที่ยับยั้งแอนแอโรบส์ทุกเชื้อสาย คือ 128 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แบซิลโลแกรมบวกทั้งที่สร้างสปอร์และไม่สร้างสปอร์เป็นเชื้อที่ไวต่อยานี้มากกว่า แอนแอโรบส์พวกอื่น ๆ *Propionibacterium* ทุกเชื้อสาย และ *E. lentum* ถูกยับยั้งได้ด้วยอีริโทรมัยซินที่ MIC 0.0625 - 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ค่า MIC ที่ยับยั้ง *Clostridium* ได้หมดทุกเชื้อสาย คือ 2 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร *Fusobacterium* sp. ถูกยับยั้งได้ด้วย

ธรรีโรรมยอานที่ความเข้มขัณระหว่าง 0.0625 - 16 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ยานัับยัง *Bacteroides* ทุกเชื้อสายที่ MIC 2 - 16 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ *Peptococcus* sp. ที่ MIC 4 - 16 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร *Peptostreptococcus* sp. มีค่า MIC₁₀₀ ที่แตกต่างกันมาก ตั้งแต่ 8 - 128 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ตาราง 16) แอนแอโรบลิ์ที่หกลอบ 82.5 เปอร์เซนต์ ไวต่อยานั้ เชื้อไวปานกลางมี 8.8 เปอร์เซนต์ และที่ด้อยยานั้ 8.8 เปอร์เซนต์ ธรรีโรรมยอานให้ผล 100 เปอร์เซนต์ ต่อ *Propionibacterium* sp. และ *Clostridium* sp. เชื้อ *B. fragilis* ไวต่อยานั้ 84.6 เปอร์เซนต์ *Bacteroides* เชื้อสายอื่น ๆ ยกเว้น *B. melaninogenicus* ไวต่อยานั้ 50 เปอร์เซนต์ *Fusobacterium* sp. ด้อยยานั้ 33.3 เปอร์เซนต์ ส่วน *Peptococcus* sp. และ *Peptostreptococcus* sp. คือต่อยานั้ 12.2 เปอร์เซนต์ และ 20 เปอร์เซนต์ เป็นลำดับ (ตาราง 17)

เมโทรไนดาโซล ยังขัณแอนแอโรบลิ์ 87 เปอร์เซนต์ ที่ MIC 6.25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร *E. lentum* ถูกยับยั้งที่ MIC 0.2 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร *Bacteroides* sp. *Fusobacterium* sp. และ *Veillonella* sp. ถูกยับยั้งได้ด้วยยานั้ที่ MIC 0.4 - 0.8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ค่า MIC ที่ยับยั้ง *Peptococcus* sp. อื่น ๆ ยกเว้น *P. prevotii* คือ 1.6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สำหรับ *P. productus* ต้องใช้ยานั้เมโทรไนดาโซลที่ความเข้มขัณ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จึงจะถูกยับยั้งได้ ค่า MIC₁₀₀ ของ *Peptostreptococcus* sp. คือ 1.6 - 12.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมโทรไนดาโซลยังขัณ *Clostridium* ทุกเชื้อสายที่ MIC 0.4 - 6.25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร *Propionibacterium* sp. เป็นเชื้อที่ต้องใช้ความเข้มขัณสูงกว่า 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จึงจะยับยั้งเชื้อนี้ได้ (ตาราง 18) เชื้อทั้ง 114 เชื้อ ไวต่อยานั้ 86.8 เปอร์เซนต์ ไวปานกลาง 3.5 เปอร์เซนต์ และด้อยยานั้ 9.7 เปอร์เซนต์ *B. fragilis*, *B. melaninogenicus*, *Bacteroides* เชื้อสายอื่น ๆ *Fusobacterium* sp., *Veillonella* sp., และ *E. lentum* ไวต่อยานั้ 100 เปอร์เซนต์ ส่วน *C. perfringens*, *Clostridium* เชื้อสายอื่น ๆ *Peptostreptococcus* sp. และ *Peptococcus* sp. ไวต่อยานั้ 94.4 เปอร์เซนต์ 88.9 เปอร์เซนต์ 90.0 เปอร์เซนต์ และ 97.6 เปอร์เซนต์ โดยลำดับ ส่วนการด้อยยานั้พบถึง 100 เปอร์เซนต์ ในกลุ่ม *Propionibacterium* sp. (ตาราง 19)

เพนิซิลลิน ซี ยับยั้งแอนแอโรบส์ที่ทดสอบทั้งหมดที่ MIC 32 IU/มิลลิลิตร ยานี้ใช้ได้ผลดีกับแอนแอโรบส์สกุลต่าง ๆ ยกเว้น *Bacteroides* sp. และ *Peptococcus* บางเชื้อสาย ค่า MIC ของเพนิซิลลิน ซี ที่ยับยั้ง *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Peptostreptococcus* และ *Veillonella* ทุกเชื้อสาย คือ 0.25 - 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ค่า MIC₁₀₀ ของยานี้ต่อ *Peptococcus* คือ 0.25 - 16 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร *Peptococcus* ที่มีค่า MIC₁₀₀ อยู่ระหว่าง 0.25 - 2 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร คือ *P. productus*, *P. prevotii*, *P. saccharolyticus* และ *P. magnus* ส่วน *P. asaccharolyticus* และ *Peptococcus* อื่น ๆ บางเชื้อสายมีค่า MIC₁₀₀ ที่ 16 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ค่า MIC₁₀₀ ของยานี้ต่อ *B. fragilis* และ *Bacteroides* เชื้อสายอื่น ๆ คือ 16 - 32 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ตาราง 20) เชื้อแอนแอโรบส์ที่ทดสอบไวต่อเพนิซิลลิน ซี 66.8 เปอร์เซ็นต์ ไวปานกลาง 13.2 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบการดื้อยาในกลุ่มที่ทดสอบ ยานี้ให้ผล 100 เปอร์เซ็นต์ต่อ *Fusobacterium* sp., *Peptostreptococcus* sp., *Veillonella* sp., *Propionibacterium* sp., *E. lentum* และ *Clostridium* ทุกเชื้อสายรวมทั้ง *C. perfringens* ส่วน *Peptococcus* sp. ไวต่อยา 95.1 เปอร์เซ็นต์ และ *B. fragilis* ไวต่อเพนิซิลลิน ซี เพียง 23.1 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 21)

เตตราไซคลีน เป็นยาที่ใช้ไม่ได้ผลกับแอนแอโรบส์ส่วนใหญ่ยกเว้น *Propionibacterium* ซึ่งมีค่า MIC₁₀₀ ที่ 0.5 - 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ค่า MIC₁₀₀ ของยานี้ต่อแอนแอโรบส์ส่วนใหญ่มีช่วงกว้างมาก คือ *Fusobacterium* sp. ตั้งแต่ 0.0625 - 4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร *Peptococcus* sp. ตั้งแต่ 0.5 - 128 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร *Clostridium* sp. ตั้งแต่ 0.0625 - 32 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ความเข้มข้นของยานี้ที่ยับยั้ง *Fusobacterium* sp. ได้คือ 0.0625 - 4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ *Veillonella* sp. คือ 32 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แอนแอโรบส์ 114 เชื้อ ไวต่อยานี้เพียง 46.5 เปอร์เซ็นต์ พวกที่ไวปานกลาง 15.8 เปอร์เซ็นต์ และที่ดื้อยามี 37.7 เปอร์เซ็นต์ *Propionibacterium* sp. ไวต่อยานี้ 100 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ *Fusobacterium* sp., *Peptostreptococcus* sp. และ

Peptococcus sp. วัต้อย่าง 66.7 เปอร์เซ็นต์ 60 เปอร์เซ็นต์ และ 34.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับเชื้อพวก *Bacteroides* นั้นพบว่า *B. fragilis* วัต้อย่างนี้เพียง 15.4 เปอร์เซ็นต์ *Bacteroides* เชื้อสายอื่น ๆ วัต้อย่างนี้ 50 เปอร์เซ็นต์ *C. perfringens* วัต้อย่างนี้ 61.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างจาก *Clostridium* เชื้อสายอื่น ๆ ที่วัต้อย่างนี้ เพียง 66.7 เปอร์เซ็นต์ *E. Lentum* เพียง 1 เชื้อสายที่ทดสอบคือวัต้อย่างนี้

จากการศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างค่า MIC ของยาต้านจุลชีพทั้ง 8 ชนิด ค่า Mode MIC ของแอมพิซิลลิน เชฟาลอซัน เพนิซิลลิน ซี 0.0625 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วนคลอแรมเฟนิคอลและอีริทโรรมัยซิน มีค่า Mode MIC 2 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร Mode MIC ของคลินดามัยซิน เมโทรไนดาโซล และเตตราซัยคลิน คือ 0.125, 0.4 และ 32 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ค่า Median MIC ของแอมพิซิลลินและคลอแรมเฟนิคอล คือ 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วนของเชฟาลอซัน อีริทโรรมัยซิน และเตตราซัยคลิน คือ 6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ขณะที่คลินดามัยซิน เพนิซิลลิน ซี และเมโทรไนดาโซล มีค่า Median MIC เป็น 0.5, 1.5 และ 3.1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตาราง 24)

สรุปความไวของแอนแอโรบส์ต่อยาต้านจุลชีพทั้ง 8 ชนิด (ตาราง 25) พบว่า เชื้อที่ทดสอบมีความไว 100 เปอร์เซ็นต์ต่อยาคลินดามัยซินและคลอแรมเฟนิคอล วัต้อย่างแอมพิซิลลิน 87.7 เปอร์เซ็นต์ มีความไว 86.8 เปอร์เซ็นต์ต่อยาเชฟาลอซัน เมโทรไนดาโซลและเพนิซิลลิน ซี มีความไวต่อยาอีริทโรรมัยซิน 82.5 เปอร์เซ็นต์ แต่มีความไวเพียง 46.5 เปอร์เซ็นต์ต่อยาเตตราซัยคลิน

แอมพิซิลลินให้ผลดี 100 เปอร์เซ็นต์ต่อ *Fusobacterium* แบซิลโลแกรมบวกที่สร้างและไม่สร้างสปอร์ รวมทั้งคอคโคแกรมลบ ให้ผล 90 - 98 เปอร์เซ็นต์ต่อคอคโคแกรมบวก และให้ผลเพียง 23 - 33 เปอร์เซ็นต์ต่อเชื้อพวก *Bacteroides*

เชฟาลอซันให้ผลดี (95 - 100 เปอร์เซ็นต์) ต่อเชื้อแอนแอโรบส์อื่น ๆ ยกเว้นเชื้อ *B. fragilis* (23 เปอร์เซ็นต์)

คลินดามัยซินและคลอแรมเฟนิคอล เป็นยาที่ให้ผลดีที่สุด โดยใช้โดส 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อแอนแอโรบส์ทั้ง 114 เชื้อ ที่ทดสอบ

อีริทโรไมซินให้ผล 100 เปอร์เซ็นต์ กับแบซิลโลแกรมบวกทั้งที่สร้างและไม่สร้างสปอร์ และให้ผล 66- 80 เปอร์เซ็นต์ต่อแอนแอโรบัสพวกอื่น ๆ

เมโทรไนดาโซลให้ได้ผลดี (89 - 100 เปอร์เซ็นต์) กับเชื้อที่ทดสอบ ยกเว้นเชื้อแบซิลโลแกรมบวกที่ไม่สร้างสปอร์ซึ่งได้ผลเพียง 8.3 เปอร์เซ็นต์

เพนิซิลลิน G ก็ให้ได้ผลดี (95 - 100 เปอร์เซ็นต์) กับแอนแอโรบัส ยกเว้นเชื้อในสกุล *Bacteroides* ซึ่งพบว่า *B. fragilis* เพียง 23.1 เปอร์เซ็นต์ ไวต่อยา

เตตราไซคลินเป็นยาที่ให้ผลน้อยที่สุดในจำนวนยาทั้ง 8 ชนิดที่ทดสอบกับเชื้อ 114 เชื้อ ยาให้ได้ผลดีกับแบซิลโลแกรมบวกที่สร้างสปอร์เท่านั้น (91.7 เปอร์เซ็นต์) สำหรับเชื้ออื่น ๆ ยาเตตราไซคลินให้ได้ผล 15.4 - 66.7 เปอร์เซ็นต์

เปอร์เซ็นต์ของแอนแอโรบัสที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพแสดงไว้ในตารางที่ 26 เชื้อ 114 เชื้อ ที่ทดสอบดื้อต่อยาเตตราไซคลิน (37.7 เปอร์เซ็นต์) คลอแรมเฟนิคอล (9.65 เปอร์เซ็นต์) และเมโทรไนดาโซล (9.65 เปอร์เซ็นต์) นอกจากนี้ยังพบว่า แอนแอโรบัสมีการดื้อต่อยาหลายชนิด (Multiple resistance) เชื้อที่มีการดื้อต่อยาหลายชนิด คือ *B. fragilis* ซึ่งดื้อต่อยา 3 ชนิด คือ เซฟาโลทิน (69.2 เปอร์เซ็นต์) เตตราไซคลิน (46.2 เปอร์เซ็นต์) และอีริทโรไมซิน (15.4 เปอร์เซ็นต์) *Peptococcus* sp. ดื้อต่อยาอีริทโรไมซิน (59.5 เปอร์เซ็นต์) และเตตราไซคลิน (12.2 เปอร์เซ็นต์) เช่นเดียวกับ *Peptostreptococcus* ซึ่งดื้อต่อยาทั้งสองนี้ 40 เปอร์เซ็นต์ และ 20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตาราง 5 จำนวนเชื้อแอนแอโรบส์ที่ใช้ในการทดลอง

ชนิด	จำนวน	เปอร์เซ็นต์
Gram negative nonsporeforming bacilli		
<i>Bacteroides fragilis</i>	13	11
<i>B. melaninogenicus</i>	1	1
<i>Bacteroides</i> sp.	2	2
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1	1
<i>Fusobacterium</i> sp.	2	2
รวม	19	17
Gram-positive cocci		
<i>Peptococcus asaccharolyticus</i>	5	4
<i>P. magnus</i>	22	19
<i>P. prevotii</i>	5	4
<i>P. productus</i>	2	2
<i>P. saccharolyticus</i>	2	2
<i>Peptococcus</i> sp.	5	4
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	8	7
<i>P. micros</i>	2	2
รวม	51	44
Gram-negative cocci		
<i>Veillonella parvula</i>	5	4
รวม	5	4

ตาราง 5 (ต่อ)

ชนิด	จำนวน	เปอร์เซ็นต์
Gram-positive nonsporeforming bacilli		
<i>Propionibacterium acnes</i>	10	9
<i>Propionibacterium</i> sp.	1	1
<i>Eubacterium lentum</i>	1	1
รวม	12	11
Gram-positive sporeforming bacilli		
<i>Clostridium botulinum</i>	1	1
<i>C. malenominatum</i>	1	1
<i>C. paraperfringens</i>	1	1
<i>C. perfringens</i>	18	16
<i>Clostridium</i> sp.	6	5
รวม	27	24
รวมทั้งพบ	114	100

ตาราง 6 แหล่งตัวอย่าง

แหล่งตัวอย่าง	จำนวน	เปอร์เซ็นต์
เลือด	15	13.16
หนอง	54	47.37
สิ่งปลดปล่อยจากร่างกาย	7	6.14
ไม้พินสาลึบ้ายเชื้อจากช่องคลอด	9	7.89
เนื้อเยื่อ	4	3.51
น้ำไขสันหลัง	3	2.63
บาดแผล	1	0.88
resection of aorta	1	0.88
น้ำจากท่อน	1	0.88
lymph node	1	0.88
ไม่ทราบแหล่ง	18	15.79
รวม	114	100.00

ตาราง 7 ค่า MICs ของเชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน

เชื้อ	ยาต้านจุลชีพ	จำนวน ครั้งที่ ทดสอบ	Mode MIC	จำนวน ครั้งที่ Mode	ช่วง	% MIC on Mode
<i>C. perfringens</i> ATCC 13124	แอมพิซิลลิน	11	0.125	4	0.0625 - 0.5	36.4
	เซฟตาโลทิม	16	2, 4	6	1 - 4	37.5
	คลินดามัยซิน	8	0.0625	5	0.0625 - 0.125	62.5
	คลอแรมเฟนิคอล	16	4	14	2 - 4	87.5
	อีริโทรมัยซิน	7	4	3	1 - 4	42.9
	เมโทรไนดาโซล	6	0.7	5	0.4 - 0.7	83.3
	เพนิซิลลิน ซี	13	0.25	9	0.125 - 1	69.2
	เตตราซัยคลีน	13	0.0625	6	0.0625 - 0.25	46.2
	รวม	90				
<i>B. fragilis</i> ATCC 25285	แอมพิซิลลิน	10	16	10	-	100.0
	เซฟตาโลทิม	10	64	5	1 - 64	50.0
	คลินดามัยซิน	5	0.25	2	0.0625 - 0.5	40.0
	คลอแรมเฟนิคอล	13	4	11	1 - 4	84.6
	อีริโทรมัยซิน	4	-	-	1 - 8	0.0
	เมโทรไนดาโซล	5	0.4	4	-	80.0
	เพนิซิลลิน ซี	8	16	6	8 - 16	75.0
	เตตราซัยคลีน	10	0.25	7	0.25 - 1	70.0
	รวม	65				

ตาราง 7 (ต่อ)

เชื้อ	ยาต้านจุลชีพ	จำนวน ครั้งที่ ทดสอบ	Mode MIC	จำนวน ครั้งที่ Mode	ช่วง	% MIC on Mode
<i>B. thetaiotaomicron</i> ATCC 29741	แอมพิซิลลิน	7	16	6	8 - 16	85.7
	เซฟาโลทิน	10	64	7	1 - 64	70.0
	คลินดามัยซิน	5	0.5, 1	2	0.25 - 1	40.0
	คลอแรมเฟนิคอล	11	4	9	2 - 4	81.8
	อีริทโรไมซิน	5	8	2	0.5 - 8	40.0
	เมโทรไนดาโซล	2	0.4	2	-	100.0
	เพนิซิลลิน G	9	16	7	8 - 32	77.8
	เตตราไซคลีน	11	16	9	8 - 16	81.8
	รวม	60				

ตาราง 8 ความเข้มข้นที่น้อยที่สุด (MIC) ของยาแอมพิจิลลินที่สามารถยับยั้งแอนแอโรบ์เชื้อสายต่าง ๆ

เชื้อ	จำนวน เชื้อสาย ที่ทดสอบ	Cumulative percent susceptible to indicated concentration (µg/ml)											
		0.0625	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128
<i>Bacteroides fragilis</i>	13					7.7	23.1	30.8	38.5	100			
<i>B. melaninogenicus</i>	1									100			
<i>Bacteroides</i> sp.	2			50						100			
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1	100											
<i>Fusobacterium</i> sp.	2	50				100							
<i>Peptococcus asaccharolyticus</i>	5	60		80						100			
<i>P. magnus</i>	22	59.1	72.7	95.5			100						
<i>P. prevotii</i>	5	60	100										
<i>P. productus</i>	2	50		100									
<i>P. saccharolyticus</i>	2		50		100								
<i>Peptococcus</i> sp.	5	60	100										
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	8	50		75	87.5			100					
<i>P. micros</i>	2	100											
<i>Veillonella parvula</i>	5	80	100										
<i>Propionibacterium acnes</i>	10	30	90			100							
<i>Propionibacterium</i> sp.	1	100											
<i>Eubacterium lentum</i>	1					100							
<i>Clostridium perfringens</i>	18	50	55.6	100									
<i>C. malenominatum</i>	1				100								
<i>C. paraperfringens</i>	1		100										
<i>C. botulinum</i>	1			100									
<i>Clostridium</i> sp.	6	50	66.7	83.3	100								
รวม	114	44.7	60.5	78.1	81.6	85.1	87.7	89.5	90.4	100			

ตาราง 9 ความไวของแอนแอโรบส์ชนิดต่าง ๆ ต่อแอมพิซิลิน

เชื้อ	จำนวน เชื้อสาย ที่ทดสอบ	ไวต่อยา (3 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร) %	ไวปานกลาง (6-25 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร) %	ไวต่อยา (50 หรือ มากกว่าไมโครกรัม/ มิลลิลิตร) %
<i>Bacteroides fragilis</i>	13	23.08	76.92	
<i>B. melaninogenicus</i>	1		100	
<i>Bacteroides</i> เชื้อสายอื่น ๆ	2	50	50	
<i>Fusobacterium</i> sp.	3	100		
<i>Peptococcus</i> sp.	41	97.56	2.44	
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	10	90	10	
<i>Veillonella</i> sp.	5	100		
<i>Propionibacterium</i> sp.	11	100		
<i>Eubacterium lentum</i>	1	100		
<i>Clostridium perfringens</i>	18	100		
<i>Clostridium</i> เชื้อสายอื่น ๆ	9	100		
รวม	114	87.72	12.28	

ตาราง 10 ความเข้มข้นที่น้อยที่สุด (MIC) ของยาเซฟาโลสปินที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียสายต่าง ๆ

เชื้อ	จำนวน เชื้อสาย ที่ทดสอบ	Cumulative percent susceptible to indicated concentration (µg/ml)											
		0.0625	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128
<i>Bacteroides fragilis</i>	13		7.8					23.1			30.8	69.2	100
<i>B. melaninogenicus</i>	1											100	
<i>Bacteroides</i> sp.	2										50	100	
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1	100											
<i>Fusobacterium</i> sp.	2		50				100						
<i>Peptococcus asaccharolyticus</i>	5	60							80	100			
<i>P. magnus</i>	22	50	63.6	77.3		81.8	95.5				100		
<i>P. prevotii</i>	5	60	100										
<i>P. productus</i>	2		50	100									
<i>P. saccharolyticus</i>	2	50			100								
<i>Peptococcus</i> sp.	5	20	40		100								
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	8	50	87.5				100						
<i>P. micros</i>	2		50		100								
<i>Veillonella parvula</i>	5	40		80	100								
<i>Propionibacterium acnes</i>	10	50	70	80	100								
<i>Propionibacterium</i> sp.	1	100											
<i>Eubacterium lentum</i>	1		100										
<i>Clostridium perfringens</i>	18	5.6		11.1	33.3	61.1	94.4	100					
<i>C. melenominatum</i>	1	100											
<i>C. paraperfringens</i>	1				100								
<i>C. botulinum</i>	1				100								
<i>Clostridium</i> sp.	6	16.7	33.3		66.7	83.3		100					
รวม	114	30.7	45.6	52.6	66.7	72.8	82.5	85.9	86.8	87.7	90.4	96.5	100

ตาราง 11 ความไวของแอนแอโรบส์ชนิดต่าง ๆ ต่อเซฟาโลซีน

เชื้อ	จำนวน เชื้อสาย ที่ทดสอบ	ไวต่อยา (8 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร) %	ไวปานกลาง (16-32 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร) %	ดื้อต่อยา (32-64 หรือ มากกว่าไมโครกรัม/ มิลลิลิตร) %
<i>Bacteroides fragilis</i>	13	23.07	7.69	69.23
<i>B. melaninogenicus</i>	1			100
<i>Bacteroides</i> เชื้อสายอื่น ๆ	2		50	50
<i>Fusobacterium</i> sp.	3	100		
<i>Peptococcus</i> sp.	41	95.12	1.75	
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	10	100		
<i>Veillonella</i> sp.	5	100		
<i>Propionibacterium</i> sp.	11	100		
<i>Eubacterium lentum</i>	1	100		
<i>Clostridium perfringens</i>	18	100		
<i>Clostridium</i> เชื้อสายอื่น ๆ	9	100		
	114	86.84	3.50	9.65

ตาราง 12 ความเข้มข้นที่น้อยที่สุด(MIC) ของยาคลินดามัยซินที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากผู้ป่วย

เชื้อ	จำนวน เชื้อสาย ที่ทดสอบ	Cumulative percent susceptible to indicated concentration (µg/ml)											
		0.0625	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128
<i>Bacteroides fragilis</i>	13	23.1	76.9		92.3	100							
<i>B. melaninogenicus</i>	1		100										
<i>Bacteroides sp.</i>	2	50		100									
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1		100										
<i>Fusobacterium sp.</i>	2	50	100										
<i>Peptococcus asaccharolyticus</i>	5	40	80		100								
<i>P. magnus</i>	22	45.5	72.7	86.4	90.9	100							
<i>P. prevotii</i>	5	40	80		100								
<i>P. productus</i>	2	50	100										
<i>P. saccharolyticus</i>	2		100										
<i>Peptococcus sp.</i>	5	20	40	60		100							
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	8	50	87.5	100									
<i>P. micros</i>	2	50	100										
<i>Veillonella parvula</i>	5	40	100										
<i>Propionibacterium acnes</i>	10	40	100										
<i>Propionibacterium sp.</i>	1	100											
<i>Eubacterium lentum</i>	1		100										
<i>Clostridium perfringens</i>	18	33.3	50		55.6		88.9	100					
<i>C. malenominatum</i>	1		100										
<i>C. paraperfringens</i>	1				100								
<i>C. botulinum</i>	18		100										
<i>Clostridium sp.</i>	6	16.7	50	83.3			100						
รวม	114	35.1	74.6	81.6	87.7	92.1	98.2	100					

ตาราง 13 ความไวของแอนแอโรบส์ชนิดต่าง ๆ ต่อคลินดามัยซิน

เชื้อ	จำนวน เชื้อสาย ที่ทดสอบ	ไวต่อยา (2-4 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร	ไวปานกลาง (4 ถึง 8 - 16 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร) %	ดื้อต่อยา (16-32 หรือมากกว่า ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร) %
<i>Bacteroides fragilis</i>	13	100		
<i>B. melaninogenicus</i>	1	100		
<i>Bacteroides</i> เชื้อสายอื่น ๆ	2	100		
<i>Fusobacterium</i> sp.	3	100		
<i>Peptococcus</i> sp.	41	100		
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	10	100		
<i>Veillonella</i> sp.	5	100		
<i>Propionibacterium</i> sp.	11	100		
<i>Eubacterium lentum</i>	1	100		
<i>Clostridium perfringens</i>	18	100		
<i>Clostridium</i> เชื้อสายอื่น ๆ	9	100		
รวม	114	100		

ตาราง 14 ความเข้มข้นที่น้อยที่สุด (MIC) ของยาคลอแรมเฟนิคอลที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียเชื้อสายต่าง ๆ

เชื้อ	จำนวน เชื้อสาย ที่ทดสอบ	Cumulative percent susceptible to indicated concentration (µg/ml)											
		0.0625	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128
<i>Bacteroides fragilis</i>	13			7.7	15.4	30.8	53.8	100					
<i>B. melaninogenicus</i>	1					100							
<i>Bacteroides</i> sp.	2						100						
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1							100					
<i>Fusobacterium</i> sp.	2				100								
<i>Peptococcus asaccharolyticus</i>	5						20	80	100				
<i>P. magnus</i>	22			9.1	13.6	31.8	77.3	86.4	100				
<i>P. prevotii</i>	5		20		40	60	80	100					
<i>P. productus</i>	2					50			100				
<i>P. saccharolyticus</i>	2	50					100						
<i>Peptococcus</i> sp.	5	20				40			60	100			
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	8	12.5	50		62.5		100						
<i>P. micros</i>	2						100						
<i>Veillonella parvula</i>	5					40	80	100					
<i>Propionibacterium acnes</i>	10	10		20	80	90			100				
<i>Propionibacterium</i> sp.	1			100									
<i>Eubacterium lentum</i>	1								100				
<i>Clostridium perfringens</i>	18						55.6	100					
<i>C. malenominatum</i>	1					100							
<i>C. paraperfringens</i>	1							100					
<i>C. botulinum</i>	1						100						
<i>Clostridium</i> sp.	6					16.7	66.7	100					
รวม	114	3.5	7.02	11.4	21.9	35.1	69.3	91.2	98.2	100			

ตาราง 15 ความไวของแอนแอโรบส์ชนิดต่าง ๆ ต่อคลอแรมเฟนิคอล

เชื้อ	จำนวน เชื้อสาย ที่ทดสอบ	ไวต่อยา (16 ไมโครกรัม/ มิลลิเมตร) %	ไวปานกลาง (32 ไมโครกรัม/ มิลลิเมตร) %	ไวต่อยา (64 หรือ มากกว่าไมโครกรัม/ มิลลิเมตร) %
<i>Bacteroides fragilis</i>	13	100		
<i>B. melaninogenicus</i>	1	100		
<i>Bacteroides</i> เชื้อสายอื่น ๆ	2	100		
<i>Fusobacterium</i> sp.	3	100		
<i>Peptococcus</i> sp.	41	100		
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	10	100		
<i>Veillonella</i> sp.	5	100		
<i>Propionibacterium</i> sp.	11	100		
<i>Eubacterium lentum</i>	1	100		
<i>Clostridium perfringens</i>	18	100		
<i>Clostridium</i> เชื้อสายอื่น ๆ	9	100		
รวม	114	100		

ตาราง 16 ความเข้มข้นที่น้อยที่สุด (MIC) ของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียในเชื้อสายต่าง ๆ

เชื้อ	จำนวน เชื้อสาย ที่ทดสอบ	Cumulative percent susceptible to indicated concentration (µg/ml)											
		0.0625	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128
<i>Bacteroides fragilis</i>	13	7.7			15.4	53.8	84.6	84.6	92.3	100			
<i>B. melaninogenicus</i>	1						100						
<i>Bacteroides</i> sp.	2		50					100					
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1									100			
<i>Fusobacterium</i> sp.	2	100											
<i>Peptococcus asaccharolyticus</i>	5	20				40	60	100					
<i>P. magnus</i>	22	4.5			18.2	27.3	63.6	86.4	100				
<i>P. prevotii</i>	5	20			40	60	80			100			
<i>P. productus</i>	2	50					100						
<i>P. saccharolyticus</i>	2						50	100					
<i>Peptococcus</i> sp.	5						80		100				
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	8	25			37.5	50	87.5		100				
<i>P. micros</i>	2	50											100
<i>Veillonella parvula</i>	5				20		80	100					
<i>Propionibacterium acnes</i>	10	70			100								
<i>Propionibacterium</i> sp.	1	100											
<i>Eubacterium lentum</i>	1	100											
<i>Clostridium perfringens</i>	18		5.6			72.2	100						
<i>C. malenominatum</i>	1						100						
<i>C. paraperfringens</i>	1					100							
<i>C. botulinum</i>	1		100										
<i>Clostridium</i> sp.	6	33.3	50	66.7		83.3	100						
รวม	114	18.4	21.9	22.8	31.6	52.6	82.5	91.2	96.5	99.1			100

ตาราง 17 ความไวของแอนแอโรบัสชนิดต่าง ๆ ต่อวิธีบีโรรมัยคิน

เชื้อ	จำนวน เชื้อสาย ที่ทดสอบ	ไวต่อยา (1-2 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร) %	ไวปานกลาง (2-4 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร) %	ดื้อต่อยา (8 หรือ มากกว่าไมโครกรัม/ มิลลิลิตร) %
<i>Bacteroides fragilis</i>	13	84.62		15.38
<i>B. melaninogenicus</i>	1	100		
<i>Bacteroides</i> เชื้อสายอื่น ๆ	2	50	50	
<i>Fusobacterium</i> sp.	3	66.67		33.33
<i>Peptococcus</i> sp.	41	68.29	19.51	12.19
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	10	80		20
<i>Veillonella</i> sp.	5	80	20	
<i>Propionibacterium</i> sp.	11	100		
<i>Eubacterium lentum</i>	1	100		
<i>Clostridium perfringens</i>	18	100		
<i>Clostridium</i> เชื้อสายอื่น ๆ	9	100		
รวม	114	82.46	8.77	8.77

ตาราง 18 ความเข้มข้นน้อยที่สุด (MIC) ของชาเบโทโรโนคาโซล ที่สามารถยับยั้งแอนแอโรบส์เชื้อสายต่าง ๆ

เชื้อ	จำนวน เชื้อสาย ที่ทดสอบ	Cumulative percent susceptible to indicated concentration ($\mu\text{g/ml}$)												
		0.05	0.1	0.2	0.4	0.8	1.6	3.1	6.25	12.5	25	50	100	>100
<i>Bacteroides fragilis</i>	13		30.8	38.5	100									
<i>B. melaninogenicus</i>	1				100									
<i>Bacteroides</i> sp.	2			50		100								
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1				100									
<i>Fusobacterium</i> sp.	2	50				100								
<i>Peptococcus asaccharolyticus</i>	5			20	40	80	100							
<i>P. magnus</i>	22	4.5	9.1	13.6	59.1	81.8	100							
<i>P. prevotii</i>	5				20	80						100		
<i>P. productus</i>	2		50		100									
<i>P. saccharolyticus</i>	2					100								
<i>Peptococcus</i> sp.	5	20			80	100								
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	8	12.5			75		87.5			100				
<i>P. micros</i>	2				50		100							
<i>Veillonella parvula</i>	5				100									
<i>Propionibacterium acnes</i>	10												20	100
<i>Propionibacterium</i> sp.	1													100
<i>Eubacterium lentum</i>	1			100										
<i>Clostridium perfringens</i>	18			27.8	72.2	94.4				100				
<i>C. malenominatum</i>	1				100									
<i>C. paraperfringens</i>	1									100				
<i>C. botulinum</i>	1								100					
<i>Clostridium</i> sp.	6			50	100									
รวม	114	3.5	8.8	20.2	63.2	79.8	85.9		86.8	89.5		90.4	92.1	100

ตาราง 19 ความไวของแอนแอโรบส์ชนิดต่าง ๆ ต่อเมโทรนิดาโซล

เชื้อ	จำนวน เชื้อสาย ที่ทดสอบ	ไวต่อยา (6.25 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร) %	ไวปานกลาง 12.5 - 50 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร) %	ไวต่อยา 50 - 100 หรือมากกว่าไมโครกรัม/ มิลลิลิตร) %
<i>Bacteroides fragilis</i>	13	100		
<i>B. melaninogenicus</i>	1	100		
<i>Bacteroides</i> เชื้อสายอื่น ๆ	2	100		
<i>Fusobacterium</i> sp.	3	100		
<i>Peptococcus</i> sp.	41	97.56	2.43	
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	10	90	10	
<i>Veillonella</i> sp.	5	100		
<i>Propionibacterium</i> sp.	11			100
<i>Eubacterium lentum</i>	1	100		
<i>Clostridium perfringens</i>	18	94.44	5.56	
<i>Clostridium</i> เชื้อสายอื่น ๆ	9	88.89	11.11	
รวม	114	86.84	3.51	9.65

ตาราง 20 ความเข้มข้นน้อยที่สุด (MIC) ของยาเพนิซิลลิน G ที่สามารถยับยั้งแอนแอโรบิคเชื้อสายต่าง ๆ

เชื้อ	จำนวน เชื้อสาย ที่ทดสอบ	Cumulative percent susceptible to indicated concentration (μg/ml)											
		0.0625	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128
<i>Bacteroides fragilis</i>	13	7.7				15.4	23.1		30.8	61.5	100		
<i>B. melaninogenicus</i>	1									100			
<i>Bacteroides</i> sp.	2								50		100		
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1	100											
<i>Fusobacterium</i> sp.	2	50					100						
<i>Peptococcus asaccharolyticus</i>	5	20	60		80					100			
<i>P. magnus</i>	22	40.9	59.1	77.3	86.4	90.9	100						
<i>P. prevotii</i>	5	80			100								
<i>P. productus</i>	2		50	100									
<i>P. saccharolyticus</i>	2	50				100							
<i>Peptococcus</i> sp.	5	40				80				100			
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	8	75	87.5		100								
<i>P. micros</i>	2	100											
<i>Veillonella parvula</i>	5	60	80		100								
<i>Propionibacterium acnes</i>	10	90		100									
<i>Propionibacterium</i> sp.	1			100									
<i>Eubacterium lentum</i>	1						100						
<i>Clostridium perfringens</i>	18	22.2	77.8	94.4	100								
<i>C. malenominatum</i>	1	100											
<i>C. paraperfringens</i>	1	100											
<i>C. botulinum</i>	1	100											
<i>Clostridium</i> sp.	6	33.3	50	100									
รวม	114	42.9	60.5	71.9	78.1	82.5	86.8		88.6	94.7	100		

ตาราง 21 ความไวของแอนแอโรบีย์ชนิดต่าง ๆ ต่อเพนิซิลลิน ซี

เชื้อ	จำนวน เชื้อสาย ที่ทดสอบ	ไวต่อยา (2 IU/มิลลิลิตร) %	ไวปานกลาง (4 ถึง 32 ถึง 64 IU/ มิลลิลิตร) %	ดื้อต่อยา (64-128 หรือมากกว่า IU/ มิลลิลิตร) %
<i>Bacteroides fragilis</i>	13	23.08	76.92	
<i>B. melaninogenicus</i>	1		100	
<i>Bacteroides</i> เชื้อสายอื่น ๆ	2		100	
<i>Fusobacterium</i> sp.	3	100		
<i>Peptococcus</i> sp.	41	95.12	4.88	
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	10	100		
<i>Veillonella</i> sp.	5	100		
<i>Propionibacterium</i> sp.	11	100		
<i>Fubacterium lentum</i>	1	100		
<i>Clostridium perfringens</i>	18	100		
<i>Clostridium</i> เชื้อสายอื่น ๆ	9	100		
รวม	114	66.84	13.16	

ตาราง 22 ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารเคตราซิคลินที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียสายต่าง ๆ

เชื้อ	จำนวน เชื้อสาย ที่ทดสอบ	Cumulative percent susceptible to indicated concentration (ug/ml)											
		0.0625	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128
<i>Bacteroides fragilis</i>	13				7.7		15.4		53.8	84.6	100		
<i>B. melaninogenicus</i>	1								100				
<i>Bacteroides</i> sp.	2				50				100				
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1	100											
<i>Fusobacterium</i> sp.	2			50				100					
<i>Peptococcus asaccharolyticus</i>	5					20					60	80	100
<i>P. magnus</i>	22			9.1	13.6	27.3	31.8	36.4		45.5	81.8	100	
<i>P. prevotii</i>	5	20		40			60		80	100			
<i>P. productus</i>	2				100								
<i>P. saccharolyticus</i>	2								50		100		
<i>Peptococcus</i> sp.	5				20					60	80	100	
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	8	12.5	25	50		62.5					87.5	100	
<i>P. micros</i>	2					50				100			
<i>Veillonella parvula</i>	5							20	40	60	100		
<i>Propionibacterium acnes</i>	10	10		70	90	100							
<i>Propionibacterium</i> sp.	1				100								
<i>Eubacterium lentum</i>	1										100		
<i>Clostridium perfringens</i>	18	16.7	27.8	38.9	50		61.1		83.3	88.9	100		
<i>C. malenominatum</i>	1									100			
<i>C. paraperfringens</i>	1										100		
<i>C. botulinum</i>	1	100											
<i>Clostridium</i> sp.	6	33.3	50	66.7	83.3				100				
รวม	114	7.9	11.4	24.6	35.9	42.1	46.5	49.1	62.2	73.7	92.9	99.1	100

ตาราง 23 ความไวของแอนแอโรบส์ชนิดต่าง ๆ ต่อเตตราไซคลีน

เชื้อ	จำนวน เชื้อสาย ที่ทดสอบ	ไวต่อยา (1-2 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร) %	ไวปานกลาง (4-8 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร) %	ดื้อยา (16 หรือ มากกว่าไมโครกรัม/ มิลลิลิตร) %
<i>Bacteroides fragilis</i>	13	15.38	38.46	46.15
<i>B. melaninogenicus</i>	1		100	
<i>Bacteroides</i> เชื้อสายอื่น ๆ	2	50	50	
<i>Fusobacterium</i> sp.	3	66.67	33.33	
<i>Peptococcus</i> sp.	41	34.15	7.32	58.54
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	10	60		40
<i>Veillonella</i> sp.	5		40	60
<i>Propionibacterium</i> sp.	11	100		
<i>Eubacterium lentum</i>	1			100
<i>Clostridium perfringens</i>	18	61.11	22.22	16.67
<i>Clostridium</i> เชื้อสายอื่น ๆ	9	66.67	11.11	22.22
รวม	114	46.49	15.79	37.72

ตาราง 24 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่า Mode MIC ของยาด้านจุลชีพ 8 ชนิด กับ
แอนแอโรบส์ทุกสายพันธุ์

ยาด้านจุลชีพ	จำนวน เชื้อที่ ทดสอบ	Mode MIC (μg หรือ IU/ml)	จำนวนเชื้อ Mode (สายพันธุ์)	ช่วง	Median MIC	% MIC on Mode
แอมพิซิลลิน	114	0.0625	51	0.0625 - 16	1	44.7
เซฟทาโลซิม	114	0.0625	35	0.0625 - 128	6	30.7
คลินดาไมซิน	114	0.125	45	0.0625 - 4	0.5	39.5
คลอแรมเฟนิคอล	114	2	39	0.0625 - 16	1	34.2
อีริโทรไมซิน	114	2	34	0.0625 - 128	6	29.8
เมโทรไนดาโซล	114	0.4	49	0.05 - $\leq$ 100	3.1	42.9
เฟนิซิลลิน ซี	114	0.0625	49	0.0625 - 32	1.5	42.9
เตตราซัยคลีน	114	32	22	0.0625 - 128	6	19.3

ตาราง 25 สรุปลักษณะความเป็นเปอร์เซ็นต์ของแอนแอโรบส์ 114 เชื้อ. ตัวอย่างานจุลชีพ 8 ชนิด

เชื้อ	จำนวนเชื้อสายที่ทดสอบ	แอมพิซิลลิน (3 ไมโครกรัม/มิลลิเมตร)	เซฟตาโลซัน (8 ไมโครกรัม/มิลลิเมตร)	คลินดามัยซิน (2-4 ไมโครกรัม/มิลลิเมตร)	คลอสแตรมเฟนิคอล (16 ไมโครกรัม/มิลลิเมตร)	อีริทโรไมซิน (1-2 ไมโครกรัม/มิลลิเมตร)	เมโทรไนดาโซล (8 ไมโครกรัม/มิลลิเมตร)	เพนิซิลลิน G (2 IU/มิลลิเมตร)	เตตราซัยคลิน (1-2 ไมโครกรัม/มิลลิเมตร)
Gram negative nonsporeforming bacilli									
<i>B. fragilis</i>	13	23.08	23.08	100	100	84.62	100	23.08	15.38
<i>Bacteroides</i> เชื้อสายอื่น ๆ	3	33.33	- ^a	100	100	66.67	100	- ^b	33.33
<i>Fusobacterium</i> sp.	3	100	100	100	100	66.67	100	100	66.67
Gram positive cocci									
<i>Peptococcus</i> sp.	41	97.56	95.12	100	100	68.29	97.56	95.12	34.15
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	10	90	100	100	100	80	90	100	60
Gram negative cocci	5	100	100	100	100	80	100	100	- ^c
Gram positive nonsporeforming bacilli									
<i>Propionibacterium</i> sp.	11	100	100	100	100	100	- ^d	100	100
<i>E. lentum</i>	1	100	100	100	100	100	100	100	- ^e
Gram positive sporeforming bacilli									
<i>C. perfringens</i>	18	100	100	100	100	100	94.44	100	61.11
<i>Clostridium</i> เชื้อสายอื่น ๆ	9	100	100	100	100	100	88.89	100	66.67
รวม	114	87.72	96.84	100	100	82.46	86.84	86.84	46.49

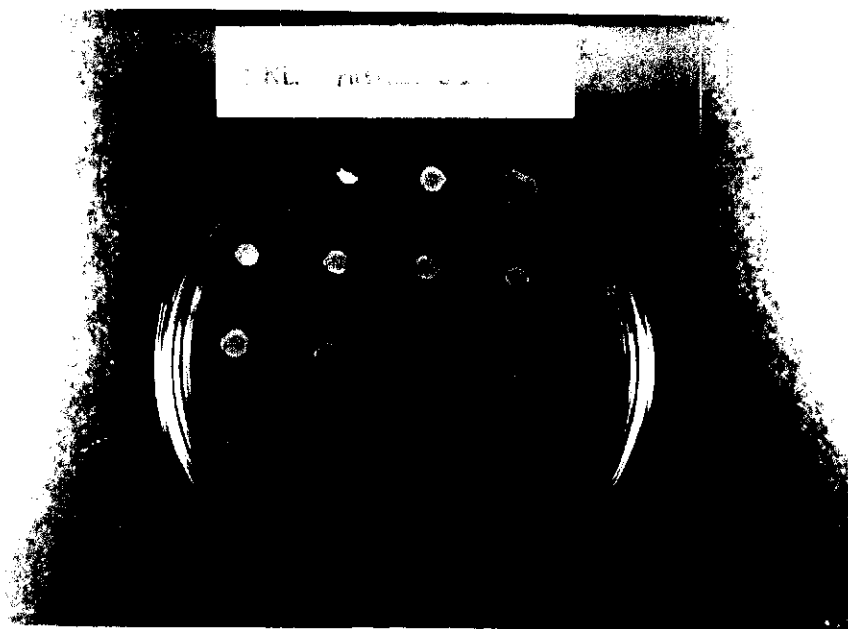
- หมายเหตุ
- Bacteroides* เชื้อสายอื่น ๆ ให้ผลไวปานกลางต่อเซฟตาโลซัน 33.33 เปอร์เซ็นต์
 - Bacteroides* เชื้อสายอื่น ๆ มีความไวปานกลาง 100 เปอร์เซ็นต์ต่อเพนิซิลลิน G
 - คอคโคแกรมลบ มีความไวปานกลาง 40 เปอร์เซ็นต์ต่อเตตราซัยคลิน
 - Propionibacterium* sp. ให้ผลดีต่อยาเมโทรไนดาโซล 100 เปอร์เซ็นต์
 - E. lentum* ตื้อยาเตตราซัยคลิน 100 เปอร์เซ็นต์

ตาราง 26 เปอร์เซ็นต์ของแอนแอโรบิกที่ติดต่อยาต้านจุลชีพ 8 ชนิด

เชื้อ	จำนวนเชื้อสายที่ทดสอบ	แอนแอโรบิก (50 หรือมากกว่าไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	เซฟโลซิม (32-64 หรือมากกว่าไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	คลินดามัยซิน (16-32 หรือมากกว่าไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	คลอแรมเฟนิคอล (64 หรือมากกว่าไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	อีริโทรรมัยซิน (8 หรือมากกว่าไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	เมโทรไนดาโซล (64-128 หรือมากกว่าไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	เพนิซิลลิน G (64-128 หรือมากกว่า IU/มิลลิลิตร)	เตตราไซคลีน (16 หรือมากกว่าไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
Gram negative nonsporeforming bacilli									
<i>B. fragilis</i>	13		69.2			15.4			46.2
<i>Bacteroides</i> เชื้อสายอื่น ๆ	3		66.7						
<i>Fusobacterium</i> sp.	3					33.3			
Gram positive cocci									
<i>Peptococcus</i> sp.	41					12.2			58.5
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	10					20			40
Gram negative cocci	5								60
Gram positive nonsporeforming bacilli									
<i>Propionibacterium</i> sp.	11						100		
<i>E. lentum</i>	1								100
Gram positive sporeforming bacilli									
<i>C. perfringens</i>	18								16.7
<i>Clostridium</i> เชื้อสายอื่น ๆ	9								22.2
รวม	114		9.65			8.77	9.65		38.6



ภาพประกอบ 5 จานเลี้ยงเชื้อควบคุมก่อนการทดลอง pre aerobe หลังจากบ่มไว้ที่ 37 องศา
เซลเซียส ในสภาวะที่มีออกซิเจนเป็นเวลา 48 ชั่วโมง



ภาพประกอบ 6 งานเลี้ยงเชื้อควบคุมก่อนการทดลอง pre anaerobe หลังจากบ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส ในโถแวนแอโรบิคเป็นเวลา 48 ชั่วโมง



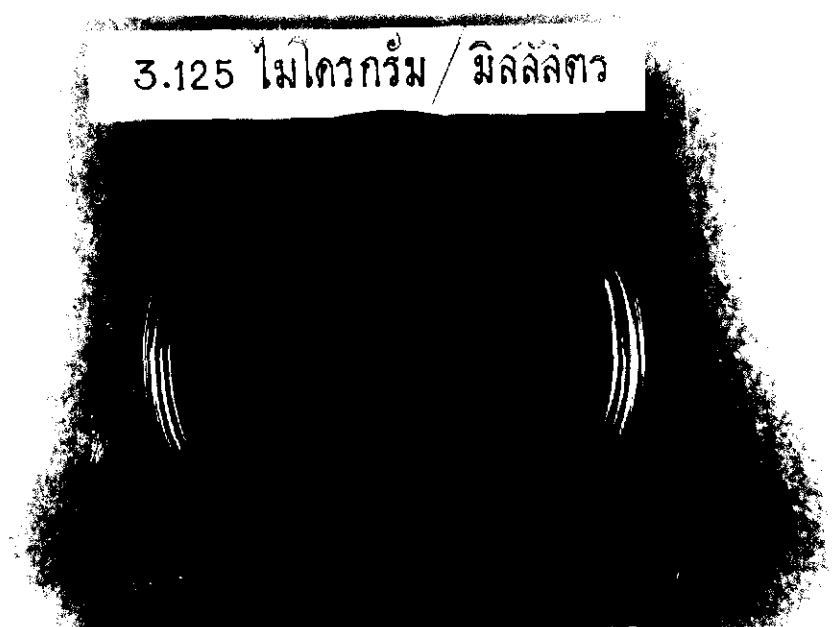
ภาพประกอบ 7 แสดง MIC ของเชื้อแอนแอโรบส์กับเมโทรไนดาโซลที่ความเข้มข้น 0.048 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม



ภาพประกอบ 8 แสดง MIC ของเชื้อแบคทีเรียโรสกับไมโครในตาโกลที่ความเข้มข้น 0.195 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพประกอบ 9 แสดง MIC ของเชื้อแอนแอโรบส์กับเมโทรนิดาโซลที่ความเข้มข้น 0.781 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



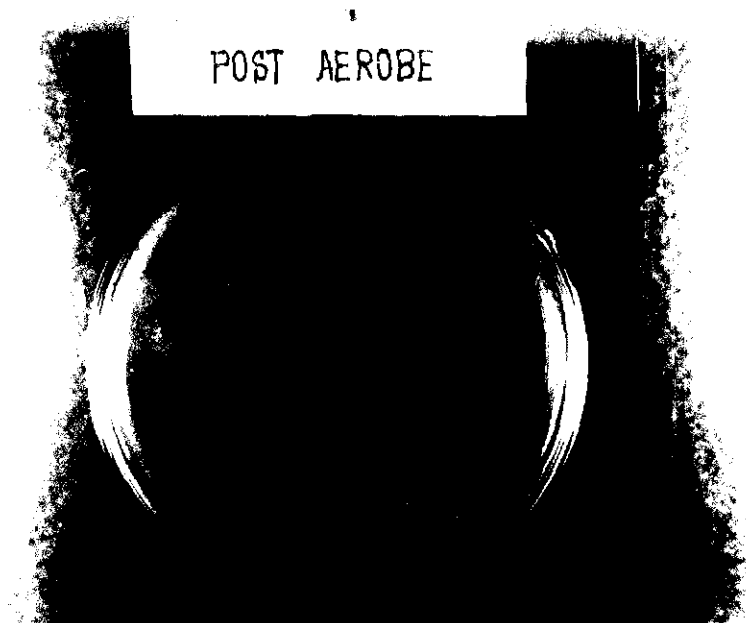
ภาพประกอบ 10 แสดง MIC ของเชื้อแบคทีเรียกับเพนิซิลลินที่ความเข้มข้น 3.125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



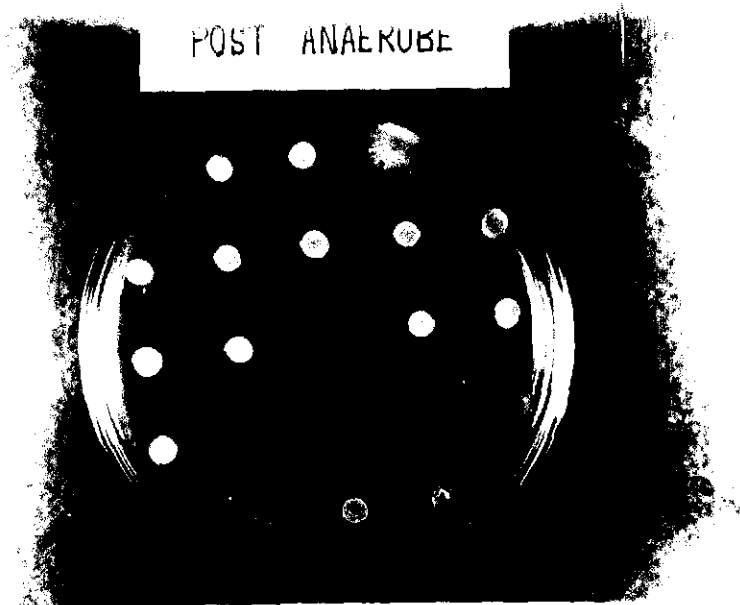
ภาพประกอบ 11 แสดง MIC ของเชื้อแอนแอโรบัสกับเมโทรไนดาโซลที่ความเข้มข้น 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพประกอบ 12 แสดง MIC ของเชื้อแอนแอโรบัสกับเมโทรไนดาโซลที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพประกอบ 13 จานเลี้ยงเชื้อควบคุมหลังทดลอง post aerobe หลังจากบ่มไว้ที่ 37 องศา
เซลเซียส ในสภาวะที่ปล่อยซิเจนเป็นเวลา 48 ชั่วโมง



ภาพประกอบ 14 งานเลี้ยงเชื้อควบคุมหลังทดลอง post anaerobe หลังจากบ่มไว้ที่ 37 องศา
เซลเซียส ในโถแอนแอโรบิกเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

บทที่ 5

บทย่อ สรุปผล อภิปรายและข้อเสนอแนะ

บทย่อ

ความมุ่งหมายในการค้นคว้า

เพื่อหาความไวของเชื้อแอนแอโรบส์ที่แยกได้จากผู้ป่วยต่อยาต้านจุลชีพ 8 ชนิด ซึ่งเป็นยาที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากแอนแอโรบส์

กลุ่มตัวอย่าง

เชื้อแอนแอโรบิคแบคทีเรียที่แยกได้จากห้องปฏิบัติการภาควิชาจุลชีววิทยาและอิมมูโนโลยี คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล จำนวน 114 เชื้อ ประกอบด้วย

1. Gram negative bacilli
 - 1.1 *Bacteroides* spp. 16 เชื้อ
 - 1.2 *Fusobacterium* spp. 3 เชื้อ
2. Gram positive bacilli
 - 2.1 *Clostridium* spp. 27 เชื้อ
 - 2.2 *Eubacterium* sp. 1 เชื้อ
 - 2.3 *Propionibacterium* spp. 11 เชื้อ
3. Gram positive cocci
 - 3.1 *Peptococcus* spp. 41 เชื้อ
 - 3.2 *Peptostreptococcus* spp. 10 เชื้อ
4. Gram negative cocci
 - 4.1 *Veillonella* sp. 5 เชื้อ

วิธีดำเนินการวิจัย

การทดสอบความไวของเชื้อแอนแอโรบิกแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพด้วยวิธี Agar Dilution MIC Method ของ Sutter และ Washington II (Sutter and Washington II. 1980 cited by Lennette. 1980 : 475 - 476) มีวิธีดำเนินการเป็นขั้น ๆ ดังต่อไปนี้

1. การเย็บเชื้อ ต้ม Thioglycollate ที่ไม่มีอินดิเคเตอร์ในน้ำเดือด 5 นาที ทำให้เป็นลงถึงอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เติมน้ำละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เย็บเชื้อใส่ลงไป 5 โคโลนี บ่มในสภาพไร้ออกซิเจนในโถแอนแอโรบิกที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 20 ชั่วโมงหรือนานกว่านี้ ถ้าต้องการให้ได้เชื้อจำนวนมาก หลังจากบ่มเชื้อแล้ว ปรับความขุ่นด้วยน้ำเกลืออนอร์มัลซึ่งปราศจากเชื้อให้มีความขุ่นเท่ากับ McFarland nephelometer barium sulfate standard เบอร์ 0.5 ซึ่งมีความขุ่นเทียบเท่ากับแบคทีเรีย 150 ล้านเซลล์ต่อมิลลิลิตร

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดสอบ เมื่อจะทดสอบเชื้อจากยาด้านจุลชีพ ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันตามวิธี Anhalt และ Washington II (Anhalt and Washington II. 1980 citing Lennette. 1980 : 495 - 496) แล้วผสมกับ Wilkins-Chalgren agar ที่เตรียมตามส่วนประกอบ Wilkins และ Chalgren (Wilkins and Chalgren. 1976 : 926 - 928)

3. วิธีทดสอบ ใช้ Steers' replicator สุ่มเชื้อที่เตรียมไว้ใน replicator block แล้วแตะลงบนจานเลี้ยงเชื้อ ทั้งให้แห้งนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในโถแอนแอโรบิกที่บรรจุจานเลี้ยงเชื้อ ดูดอากาศภายในโถออกให้เป็นสูญญากาศ เติมน้ำซอสหมักไนโตรเจน 85 เปอร์เซ็นต์ คาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ และไฮโดรเจน 10 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 42 - 48 ชั่วโมง อ่านผลความเข้มข้นที่ต่ำสุดของยาด้านจุลชีพที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของแอนแอโรบิกแบคทีเรียบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างสมบูรณ์หรือมีแบคทีเรียขึ้นไม่เกิน 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นค่า Minimal Inhibitory Concentration (MIC)

สรุปผล

คลอแรมเฟนิคอลและคลินดามัยซินใช้ได้ผลดีกับแอนแอโรบส์ทั้ง 114 เชื้อที่ทดสอบ เพนิซิลลิน แอมพิซิลลิน และเซฟาโลสปินใช้ได้ผลดีกับเชื้อส่วนใหญ่ ยกเว้น *B. fragilis* เมโทรไนดาโซลใช้ได้ผลกับเชื้อส่วนใหญ่ แต่ใช้ไม่ได้ผลกับ *Propionibacterium* sp. อิริยัโรรมัยซิน ใช้ได้ผลดีกับ *Clostridium* sp., *Propionibacterium* sp. และ *E. lentum* เชื้ออื่น ๆ ไวต่อยา 68 - 80 เปอร์เซ็นต์ เตตราซัยคลินใช้ได้ผลดีกับ *Clostridium* sp. แต่ให้ผล 15.4 - 66.7 เปอร์เซ็นต์ กับแอนแอโรบส์เชื้อสายอื่น ๆ แอนแอโรบส์บางเชื้อสายดื้อต่อยาหลายชนิด *B. fragilis* ดื้อต่อยาเซฟาโลสปิน เตตราซัยคลิน และอิริยัโรรมัยซิน *Peptococcus* sp. และ *Peptostreptococcus* sp. ดื้อต่อยาอิริยัโรรมัยซิน และเตตราซัยคลิน

อภิปรายผล

การหาความไวของแอนแอโรบส์ต่อยาต้านจุลชีพในอดีตนั้นถือว่า ไม่มีความจำเป็นยกเว้นในโรคที่รุนแรงหรือเมื่อการรักษาโดยยาอื่น ๆ แล้วไม่ได้ผล เพราะความไวของเชื้อมักจะคงที่ (Sutter and Washington II. 1980) ยาต้านจุลชีพที่ใช้ได้ผลดี คือ เตตราซัยคลิน อิริยัโรรมัยซิน ลินโคมัยซิน (lincomycin) คลินดามัยซิน คลอแรมเฟนิคอล เมโทรไนดาโซล เพนิซิลลิน และยาต้านจุลชีพที่มี β -lactam ring อื่น ๆ (Willis. 1978) แต่ในปัจจุบันมีรายงานที่แสดงถึงความล้มเหลวในการรักษาโรคติดเชื้อแอนแอโรบส์ด้วยยาที่นิยมใช้รักษาในอดีตค่อนข้างสูง (de Zerege and others. 1979, Thadepalli and others. 1973) แสดงว่า ความไวของแอนแอโรบส์ต่อยาต้านจุลชีพเปลี่ยนแปลงไป (Phillipe and Tally. 1981) การทดสอบความไวของแอนแอโรบส์ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจในห้องปฏิบัติการแต่ละแห่ง จึงเริ่มมีความจำเป็นและจะมีความสำคัญมากขึ้นในอนาคต (Rosenblatt and Gerdt. 1977)

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า คลินดามัยซินและคลอแรมเฟนิคอล เป็นยาที่ให้ผลดีต่อแอนแอโรบส์ ทั้ง 114 เชื้อ (ตาราง 12, 13, 14 และ 15) มีค่า median MIC 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตาราง 24) ไม่พบเชื้อที่ดื้อต่อยานี้เลย (ตาราง 26) คลินดามัยซินสามารถยับยั้งแอนแอโรบส์ทุกสายพันธุ์ที่ 4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ตาราง 12) ค่า median MIC ของยานี้ คือ 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ตาราง 24) Appelbaum และ Chatterson (1978) พบว่ายานี้สามารถยับยั้งแอนแอโรบส์ทุกสายพันธุ์ที่ทดสอบที่ค่า MIC 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เช่นเดียวกัน ยาคลินดามัยซิน ใช้ได้ผลดีต่อ *B. fragilis* ซึ่งเป็นเชื้อที่ตรวจพบได้บ่อยที่สุด (Gorbact and Bartlelt. 1974) ตั้งแต่ต้นทศวรรษ 1970 เป็นต้นมา มีรายงานว่า *B. fragilis* ดื้อต่อยานี้ Staneck และ Washington II (1974) รายงานว่ายานี้ให้ผล 99 เปอร์เซ็นต์ต่อ *B. fragilis* และให้ผลดีกับ *Fusobacterium*, *C. perfringens* ทุกตัวที่ทดสอบ แต่ *Clostridium* เชื้อสายอื่น ๆ นั้นมีเพียง 58 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น ที่ไวต่อยานี้ที่ความเข้มข้น 3.2 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร Sutter และ Finegold (1976) พบว่ายานี้ใช้ได้ผลดีกับแอนแอโรบส์ส่วนใหญ่ ยกเว้น *Bacteroides*, *Clostridium* และ *Peptococcus* บางเชื้อสาย Brown และ Waatti (1980) รายงานการทดสอบแอนแอโรบส์ 1,260 เชื้อ พบว่า 95 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อพวกนี้ไวต่อคลินดามัยซิน เชื้อที่ดื้อต่อยานี้ คือ เชื้อในสกุล *Bacteroides*, *Clostridium* และ *Peptococcus* บางสายพันธุ์ เช่นเดียวกับรายงานของ Sutter และ Finegold แต่รายงานโดย Rawdon และคนอื่น ๆ (1979) พบว่า *Bacteroides* sp. ดื้อต่อยานี้ถึง 15 - 20 เปอร์เซ็นต์ กลไกในการดื้อของ *B. fragilis* ต่อยาคลินดามัยซินนี้ Privitera และคนอื่น ๆ (1979), Tally และคนอื่น ๆ (1979) และ Welch และ Marina. (1981) พบว่าสามารถถ่ายทอดผ่านทางพลาสมิด นอกจากนี้ Privitera และคนอื่น ๆ (1981) ยังพบว่า แอนแอโรบส์ที่ดื้อต่อยาคลินดามัยซิน ยังดื้อต่อยาฮริย์โรรมัยซินและสเตรปโตแกรมิน (Streptogramin) ด้วย

คลอแรมเฟนิคอล เป็นยาที่ใช้ได้ผลดีกับแอนแอโรบส์เหมือนรายงานในต่างประเทศ (Levison. 1973, Finegold. 1974 cited by Willis. 1978, Sutter and

Finegold. 1976, Finegold. 1977, Henderson and others. 1977, Kaye and others. 1980, Marrie and others. 1981) Brown และ Waatti (1980) รายงานว่า คลอแรมเฟนิคอลให้ผลดีที่สุดโดยยับยั้งเชื้อที่ทดสอบได้ 98 เปอร์เซ็นต์ที่ MIC $\geq$ 16 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เชื้อจำนวน 2 เปอร์เซ็นต์ที่ดื้อต่อยานี้ คือ *B. fragilis* และ *C. perfringens* Sutter และ Finegold (1976) พบว่า ยานี้ให้ผล 100 เปอร์เซ็นต์ต่อแอนแอโรบส์อื่น ๆ และให้ผล 99 เปอร์เซ็นต์ต่อ *B. fragilis* รวมทั้ง *Bacteroides* อื่น ๆ และ *Selenomonas* การที่ยานี้ใช้ไม่ได้ผลกับ *Bacteroides* และ *Clostridium* บางสายพันธุ์นั้น Louie และ คนอื่น ๆ (1977) พบว่าเนื่องจากเชื้อพวกนี้สามารถรีดิวซ์ P-nitro group ของ benzene ring ในยาคลอแรมเฟนิคอลได้ กลไกในการดื้อยานี้ถืออย่างหนึ่ง คือ *B. fragilis* บางสายพันธุ์ สามารถผลิตเอนไซม์ Acetyltransferase ซึ่งจะ inactivate ยาคลอแรมเฟนิคอล (Britz and Wilkinson. 1978)

เพนิซิลลิน จี ให้ผลดีกับแอนแอโรบส์ในสกุลต่าง ๆ ยกเว้น *Bacteroides* เช่นเดียวกับ ที่รายงานในต่างประเทศ (Sutter and Finegold. 1975, Sutter and Finegold. 1976, Finegold. 1977, Schwartzman and others. 1977, Dubois and others. 1978, Jorgensen and others. 1980, Washington II. n.d., Dornbusch and others. 1979) *B. fragilis* จำนวน 13 เชื้อสายที่ทดสอบครั้งนี้มีเพียง 23.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ไวต่อยานี้ที่ความเข้มข้น 8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร อีกประมาณ 77 เปอร์เซ็นต์ ต้องใช้ยาในขนาด ความเข้มข้น 16 - 32 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จึงจะยับยั้งเชื้อพวกนี้ได้ อย่างไรก็ตามไม่มีเชื้อที่ ดื้อต่อยานี้เลย (ตาราง 20 และ 21) สำหรับ *Bacteroides* อื่น ๆ ต้องใช้ยาที่มีความเข้ม 8 - 32 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จึงจะยับยั้งเชื้อพวกนี้ได้ (ตาราง 20) Appelbaum และ Chatterton (1978) พบว่า *Bacteroides* ส่วนใหญ่ถูกยับยั้งด้วยเพนิซิลลินที่ MIC $\leq$ 16 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ยกเว้น *B. fragilis* 24 เปอร์เซ็นต์ *B. melaninogenicus* 12 เปอร์เซ็นต์ *Bacteroides* เชื้อสายอื่น ๆ 3 เปอร์เซ็นต์ และ *C. perfringens* 4 เปอร์เซ็นต์

การที่ *B. fragilis* ตี้อต่อยาปฏิชีวนะที่มี β -lactam ring นั้น เป็นที่รู้จักกันดีมาเป็นเวลานานแล้ว แต่การตี้อต่อยานี้ถือว่า "ตี้อปานกลาง" เพราะค่า MIC ของเพนิซิลลิน G อยู่ระหว่าง 8 - 32 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (Tally and Malamy. 1982) อย่างไรก็ตาม รายงานในระยะหลังนี้พบว่า เชื้อในกลุ่ม *Bacteroides* ตี้อต่อยาเพนิซิลลินและแอมพิซิลลินเพิ่มขึ้น โดยมีค่า MIC สูงกว่า 256 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (Dornbusch and Nord. 1978, Marrie and others. 1981, Staneck and Washington II. 1974, Tally and others. 1980) การศึกษาในห้องปฏิบัติการหลายแห่งพบ เบต้า-แลคแทมเมส อยู่ในเซลล์เมมเบรนของ *B. fragilis* และพบมากถึง 50 - 90 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อนี้ (Anderson and Sykes. 1973, Darland and Birnbaum. 1975, Olsson and others. 1976, Tally and others. 1979, Weinrich and Del Bene. 1976) มีรายงานจาก Mayo clinic ว่า *B. melaninogenicus* ประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ที่ตี้อยาปานกลางต่อเพนิซิลลิน (MIC 4 - 8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และตรวจพบ เบต้า แลคแทมเมส จากเชื้อพวกนี้ด้วย (Murray and Rosenblatt. 1977)

แอมพิซิลลินเป็นยาที่ยับยั้งเชื้อแอนแอโรบัสทุกสายพันธุ์ที่ MIC 16 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สอดคล้องกับรายงานของ Sutter และ Finegold และคนอื่น ๆ (Sutter and Finegold. 1976, Appelbaum and Chatterton. 1978) แต่ Kislak พบว่า *B. fragilis* เพียง 56 เปอร์เซ็นต์ ถูกยับยั้งที่ MIC ดังกล่าว (Kislak. 1972, Rotilie and others. 1975) ได้มีการทดลองในห้องปฏิบัติการหลายแห่ง เกี่ยวกับการถ่ายถอดการตี้อยาเพนิซิลลิน/แอมพิซิลลิน (amp^R) ในระหว่างเชื้อ *B. fragilis* แต่ไม่ได้ผล จากการทดลองในปี 1980 Butter และคนอื่น ๆ สามารถถ่ายถอดการตี้อต่อยาแอมพิซิลลินในระหว่างสายพันธุ์ของ *B. fragilis* ได้

เซฟาโลซิมเป็นยาเซฟาโลสปอรินตัวแรกที่มีมาใหม่ ผลดีกับแอนแอโรบัส ส่วนใหญ่ ยกเว้น *B. fragilis* (Dornbusch and others. 1979) จากการทดลองครั้งนี้พบว่า เซฟาโลซิมยับยั้งแอนแอโรบัสทุกสายพันธุ์ที่ MIC 32 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ยกเว้น *B. fragilis* ซึ่งสอดคล้องกับรายงานอื่น ๆ (Kislak. 1972, Dornbusch and others. 1975,

Sutter and Finegold. 1975, Blazevic. 1976, Sutter and Finegold. 1976, Darland and Birnbaum. 1977, Finegold. 1977, Chow and Bednorz. 1978, Appelbaum and Chatterton. 1980) แต่ใช้ได้ดีกับ *Clostridium* sp. อื่น ๆ ยกเว้น *C. perfringens* (Sutter and Finegold. 1976, Marrie and others. 1981) แอนแอโรบส์ที่ทดสอบ 90 เปอร์เซ็นต์ไวต่อยานี้ แอนแอโรบส์พวก *Bacteroides* sp. อื่น ๆ ต่อด้อยค่าเล็กน้อย 66.7 เปอร์เซ็นต์ โดยเฉพาะ *B. fragilis* ต่อด้อยค่าถึง 69.2 เปอร์เซ็นต์ Olsson และคนอื่น ๆ (1976) พบว่า *B. fragilis* ส่วนใหญ่จะผลิตเบต้า แลคแทมไมด์ ซึ่งสามารถ hydrolyze เชฟาลอซินได้ (Olsson and others. 1976)

เมโทรไนดาโซล เป็นยาที่ใช้ได้ผล 80 เปอร์เซ็นต์ กับแอนแอโรบส์ทุกสายพันธุ์ที่ MIC 1.6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ยกเว้น *Propionibacterium* sp. เช่นเดียวกับรายงานในต่างประเทศ (Nastro and Finegold. 1972, Whelan and others. 1973, Sutter and Finegold. 1975, Tally and others. 1975, Chow and others. 1975, Ralph and Kirby. 1975, Sutter and Finegold. 1976, Murray and Rosenbloett. 1977, Henderson and others. 1977, Wust. 1977, Ralph and Charke. 1978, Willis. 1978, Hanson. 1980, Tally and others. 1981, Marrie and others. 1981, Haller. 1982, Hof and others. 1982, O'Keefe and others. 1982, Rolfe and Finegold. 1982) สำหรับ *Propionibacterium* sp. ต้องใช้ยานี้ถึง ≤ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จึงจะยับยั้งได้ ส่วน *B. fragilis* ไวต่อยา 100 เปอร์เซ็นต์ที่ MIC 0.4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แต่ Chow และคนอื่น ๆ (1975) รายงานว่า *Bacteroides* sp., *Fusobacterium* sp., *Peptococcus* sp., *Peptostreptococcus* sp., *Veillonella* sp. และ *Clostridium* sp. บางสายพันธุ์ต่อด้อยค่าที่ MIC ≥ 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร การที่ยาเมโทรไนดาโซลใช้ไม่ได้ผลกับเชื้อ *Propionibacterium* sp. และพวกแอโรบส์นั้น Ralph และ Clarke (1978) พบว่าเนื่องจากเชื้อพวกนี้ไม่ "inactivate" ยานี้สำหรับเชื้อที่ไวต่อเมโทรไนดาโซลนั้นก็เพราะเชื้อเหล่านั้น "inactivate" ยานี้โดยเปลี่ยนยาเป็น "reactive intermediate" ซึ่งจะรบกวน DNA ทำให้เซลล์ถูกทำลายได้

อีริธโรรมัยซิน ยับยั้งแอนแอโรบส์ทุกสายพันธุ์ที่ 128 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แอนแอโรบส์เหล่านี้ไวต่อยา 91.2 เปอร์เซ็นต์ ที่ MIC 4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เชื้อที่พบว่าด้อยค่า ได้แก่

B. fragilis (15.4 %), *Fusobacterium* sp. (33 %), *Peptococcus* sp. (12.2 %) และ *Peptostreptococcus* sp. (20 %) (ตาราง 26) เช่นเดียวกับรายงานของคนอื่น ๆ (Sutter and Finegold. 1976, Schwartzman and others. 1977, Finegold. 1977, Appelbaum and Chatterton. 1978, Dornbusch and others. 1979)

ตั้งแต่ปี 1955 เป็นต้นมา เตตราไซคลินเป็นยาที่ใช้รักษาโรคติดเชื้อแอนแอโรบส์ได้ผลดี จากการศึกษาค้นคว้าของเชื้อแอนแอโรบส์ตัวยานี้ Garrod (1955) พบว่า *B. fragilis* ทุกสายพันธุ์ไวต่อยาเตตราไซคลิน จนกระทั่งในปี 1972 มีรายงานจากห้องปฏิบัติการ 7 แห่งว่า *B. fragilis* ที่แยกได้คือตัวยานี้ (Martin and others. 1972, Sutter and others. 1972) จากการศึกษาค้นคว้านี้พบว่า เตตราไซคลินยับยั้งแอนแอโรบส์ทั้งหมดที่ MIC 128 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ยับยั้ง *B. fragilis* 53.8 เปอร์เซ็นต์ที่ MIC 8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แต่ Sutter และ Finegold (Sutter and Finegold. 1976) และ Brown และ Waatti (Brown and Waatti. 1980) พบว่ายานี้ยับยั้งเชื้อ *B. fragilis* ได้ 46 เปอร์เซ็นต์ และ 36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับที่ MIC 8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร การศึกษาค้นคว้านี้พบ *B. fragilis* ตัวยานี้ถึง 46.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับแนวโน้มการติดเชื้อนี้ในต่างประเทศ และยังพบว่า *C. perfringens*, *Peptococcus* sp., *Veillonella* sp., *Eubacterium* sp., *Clostridium* sp. อื่น ๆ ตัวยานี้ก็ช่วย Wilkins และคนอื่น ๆ (1972) กับ Sutter และ Finegold พบว่า *Clostridium* และพวกคอคโคคิตัวตัวยานี้เช่นเดียวกัน ในสหรัฐอเมริกาพบว่า *B. fragilis* 60 เปอร์เซ็นต์ ตัวยานี้ ส่วนในฝรั่งเศสพบว่า แอนแอโรบส์คือตัวยานี้ 40 เปอร์เซ็นต์ (Privitera. 1979) เนื่องจากในปัจจุบันนี้พบว่าเชื้อแอนแอโรบส์คือตัวยานี้ เตตราไซคลินมากขึ้น จึงไม่ควรใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อแอนแอโรบส์โดยเฉพาะในโรคติดเชื้ออย่างรุนแรง (Nordbring and Nord. 1982)

ในการศึกษาค้นคว้านี้พบว่า *B. fragilis* และ *Bacteroides* เชื้อสายอื่น ๆ ตัวยานี้ช่วย เชื้อฟาโลสปอร์นค่อนข้างสูงแต่ไม่พบเชื้ออื่น ๆ ที่คือตัวยานี้เลย นอกจากนี้ยังพบว่า *B. fragilis* ที่คือต่อเชื้อฟาโลกันยังคือตัวยานี้ร้อยละยี่สิบและเตตราไซคลินอีกด้วย

มีรายงานว่า *B. fragilis* คือตัวยานี้ต้านจุลชีพหลายชนิด โดยเฉพาะคลินดามัยซิน แมคโครไลด์ส (macrolides) และเตตราไซคลิน (Dublanche and others. 1977,

Finegold. 1977, Okada and others. 1978, Salaki and others. 1976) และความต้านทานนี้สามารถถ่ายทอดในระหว่างเชื้อ *Bacteroides* โดยผ่านทางพลาสมิด ซึ่งอาจจะเกิดขึ้นโดยวิธี conjugation (Sébal and others. 1975) การติดต่อทางด้านจุลชีพหลายชนิดยังพบใน *C. perfringens* ซึ่งพบว่า สามารถถ่ายทอดผ่านทางพลาสมิดได้ เช่นเดียวกัน (Sébal and Brefort. 1975) ในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบ *C. perfringens* ที่ติดต่ออื่น ๆ นอกจากเตตราไซคลิน แต่พบว่า *Peptococcus* sp. และ *Peptostreptococcus* sp. ติดต่อยาอีริโทรไมซินและเตตราไซคลิน

โดยสรุป จากการเปรียบเทียบความไวของแอนแอโรบส์ 114 เชื้อ ต่อยา 8 ชนิดนี้ พบว่า ยาเตตราไซคลินให้ผลต่อแอนแอโรบส์ในสกุลต่าง ๆ แตกต่างกันตั้งแต่ 15.4 เปอร์เซ็นต์ - 91.7 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 25) และแบคทีเรียทุกสกุลยกเว้น *Fusobacterium* และ *Bacteroides* บางเชื้อสายเท่านั้นที่ไม่ติดต่อยานี้ (ตาราง 26) เตตราไซคลินจึงเป็นยาที่ไม่ควรเลือกใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากแอนแอโรบส์ ยาที่ควรเลือกใช้ คือ คลินดามัยซิน คลอแรมเฟนิคอล แอมพิซิลลิน เมโทรไนดาโซล เซฟาโลทิน เพนิซิลลิน ซี และ อีริโทรไมซิน

ข้อเสนอแนะ

1. เกี่ยวกับเทคนิคในการทดสอบ

1.1 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดสอบ ควรทำให้ผิวหน้าอาหารแห้งสนิท โดยเฉพาะการทดสอบ *Clostridium* spp. เพราะโคโลนีของ *Clostridium* spp. จะแผ่ปกคลุมผิวหน้าอาหาร ทำให้อ่านผลผิดไปหรืออ่านผลไม่ได้ การทำให้อาหารแห้งที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง

1.2 ยาด้านจุลชีพที่ใช้มีธรรมาณเป็นตัวยาละตายนั้น เมื่อละลายดีแล้วควรเจือจางด้วยตัวทำให้เจือจางที่เหมาะสม (บทที่ 3 ตาราง 2) ก่อนเก็บเป็น stock solution เพราะจะทำให้ยากคงตัวในระหว่างที่เก็บเอาไว้

1.3 หลังบ่มเชื้อไว้ 2 วันในโถแอนแอโรบคจะมีน้ำซึ่งเกิดจากการรวมตัวของก๊าซ ทำให้ผ่านผลยาก แก้วโดยใส่กระดาษเยื่อรองใต้จานเลี้ยง เชื้อหรือใส่ระหว่างที่วางภายในโถนั้น เพื่อดูดซับน้ำที่เกิดขึ้น

2. เกี่ยวกับการติดตามการดื้อยาของแอนแอโรบส์

2.1 ควรติดตาม susceptibility pattern ของยาต้านจุลชีพทั้ง 8 ชนิดต่อไป และควรให้ความสนใจเชื้อที่มี multiple resistance เป็นพิเศษ

2.2 ในจำนวนเชื้อทั้ง 114 เชื้อ มีแอนแอโรบส์บางสกุลที่พบมากทดสอบเพียง 1 จำนวนเล็กน้อย เช่น *B. melaninogenicus*, *F. nucleatum*, *E. lentum*, *C. melenominatum*, *C. paraperfringens* และ *C. botulinum* ซึ่งมีจำนวนที่ทดสอบเพียง 1 เชื้อสาย ทำให้การแปลผลอาจผิดพลาดได้มาก จึงควรรวบรวมเชื้อพวกนี้มาทำการทดสอบให้มากขึ้นอีกในอนาคต เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้องและสมบูรณ์

3. เกี่ยวกับการเลือกยาต้านจุลชีพกับโรคติดเชื้อแอนแอโรบส์

3.1 ควรมีการทดสอบความไวของแอนแอโรบส์กับยาต้านจุลชีพชนิดอื่น ๆ ตามรายงานในต่างประเทศหรือยาชนิดใหม่ เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกยาต่อไป

3.2 ยาเตตราไซคลีนให้ค่า MIC ที่ช่วงกว้างมาก แสดงว่า เชื้อมีความไวต่อยาที่แตกต่างกันมาก ฉะนั้นถ้าจะใช้ยาในการรักษาโรคติดเชื้อแอนแอโรบส์จึงควรทำการทดสอบหาความไวของเชื้อที่แยกได้ทุกสายพันธุ์กับยาเตตราไซคลีน

3.3 เชื้อแอนแอโรบส์ทั้ง 114 เชื้อที่ทดสอบยังไม่มี การดื้อต่อยาคลินดามัยซิน และคลอแรมเฟนิคอล ยาทั้งสองน่าจะเป็นยาที่ใช้รักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากแอนแอโรบส์ในประเทศไทยได้ดี โดยเฉพาะเมื่อใช้ยาอื่น ๆ แล้วไม่ได้ผล

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- กัญยลีย์ เลิศโกตะสมบัติ นลินรัตน์ พิมพ์เพิ่มเจริญกิจ และ นราธร ธรรมบุตร "การประดิษฐ์และการใช้ Anaerobic Chamber" เทคนิคการแพทย์สาร 9 : 8 - 23 มกราคม - ตุลาคม 2524
- บุรณะ ชวลิตธำรง และคนอื่น ๆ โรคติดเชื้อแอนแอโรบัส โดยการตำรา-ศิริราช 2523, 222 หน้า
- มาลัย วรจิตร์ และ พนิดา ชัยเนตร "ผลความไวของเชื้อแอนแอโรบัสต่อยาต้านจุลชีพ" รามาริปต์เวชสาร 3 : 10 - 13 มกราคม - มิถุนายน 2523
- พนิดา ชัยเนตร และ มาลัย วรจิตร์ การใช้ห้องปฏิบัติการในการเลือกยารักษาโรคติดเชื้อ โรจพิมพ์พิเศษ 2525, 216 หน้า
- จิณห์พันธุ์ เลียงพิบูลย์ และคนอื่น ๆ แบคทีเรียวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล 2523, 357 หน้า
- สุวณี สุกเวชัย และ สุวรัฐ ธาระวานิช "Susceptibility of Anaerobic Bacteria to Metronidazole," ใน รายงานประจำปีการศึกษา 2515 - 2522 คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล หน้า 239
- สุวณี สุกเวชัย "อุบัติการณ์ของแอนแอโรบัสที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาและอิมมูโนโลยี" ใน รายงานประจำปีการศึกษา 2526 คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล (กำลังตีพิมพ์)
- Allen, S.D. and J.A. Siders. "Procedures for Isolation and Characterization of Anaerobic Bacteria," In Lennette, E.H., A. Balows, W.J. Hausler JR., and J.P. Truant., editors. Manual of Clinical Microbiology. 3rd. ed., Washington, D.C., American Society for Microbiology, 1980. p. 495 - 496.
- Anhalt, J.P. and J.A. Washington II. "Appendix 1, Preparation and Storage of Antimicrobial Solutions," In Lennette, E.H., A. Balows, W.J. Hausler, Jr., and J.P. Truant., editors. Manual of Clinical Microbiology. 3rd. ed., Washington, D.C., American Society for Microbiology, 1980. p. 495 - 496.

- Anderson, J.D. and R.B. Sykes. "Characterization of β -lactamase obtained from a Strain of *Bacteroides fragilis* Resistant to β -lactam antibiotics," J. Med. Microbiol. 6 : 201, 1973.
- Appelbaum, P.C. and S.A. Chatterton. "Susceptibility of Anaerobic Bacteria to Ten Antimicrobial Agents," Antimicrob. Agents Chemother. 14 : 371 - 376, 1978.
- Blazevic, D.J. "Antibiotic Susceptibility of the Subspecies of *Bacteroides fragilis*," Antimicrob. Agents Chemother. 9 : 481 - 484, 1976.
- Britz, M.L. and R.G. Wilkinson. "Chloramphenicol Acetyltransferase of *Bacteroides fragilis*," Antimicrob. Agents Chemother. 14 : 105, 1978.
- Brown, D.F.J. and D. Kothari. "Comparison of Antibiotic Discs from Different Sources," J. Clin. Pathol. 28 : 779 - 783, 1975.
- Brown, K.R. "Diagnosis and Management of Anaerobic Infections," Tropical Doctor. 7 : 111 - 114, 1977.
- Brown, J.E., V.E. Del Bene, and C.D. Collins. "In Vitro Activity of N-Formimidoyl Thienamycin, Moxalactam, and Other New Beta-Lactam Agents Against *Bacteroides fragilis* : Contribution of Beta-Lactamase to Resistance," Antimicrob. Agents Chemother. 19 : 248 - 252, 1981.
- Brown, W.J. and P.E. Waatti. "Susceptibility Testing of Clinically Isolated Anaerobic Bacteria by an Agar Dilution Technique," Antimicrob. Agents Chemother. 17 : 629 - 635, 1980.
- Busch, D.F. and others. "Susceptibility of Respiratory Tract Anaerobes to Orally Administered Penicillins and Cephalosporins," Antimicrob. Agents Chemother. 10 : 713 - 720, 1976.
- Busch, D.F., V.L. Sutter and S.M. Finegold. "Activity of Combinations of Antimicrobial Agents Against *Bacteroides fragilis*," J. Infect. Dis. 133 : 321 - 328, 1976.
- Chow, A.W. and D. Bednorz. "Comparative in Vitro Activity of New Cephalosporins Against Anaerobic Bacteria," Antimicrob. Agents Chemother. 14 : 668 - 671, 1978.
- Chow, A.W., V.P. Patten and L.B. Guze. "Susceptibility of Anaerobic Bacteria to Metronidazole : Relative Resistance of Non-Spore-Forming Gram-Positive Bacilli," J. Infect Dis. 131 : 182 - 185, 1975.
- Darland, G. and J. Birnbaum. "Cefoxitin Resistance to Beta-Lactamase : a Major Factor for Susceptibility of *Bacteroides fragilis* to the Antibiotic," Antimicrob. Agents Chemother. 11 : 725 - 734, 1977.

- Dornbusch, K., A. Lindmark and C.E. Nord. "Evaluation of Microdilution Trays (Sensititre) for Antimicrobial Susceptibility Testing," Med. Microbiol Immunol. 165 : 147, 1978.
- Dornbusch, K., C.E. Nord and A. Dahlback. "Antibiotic Susceptibility of *Clostridium* Species Isolated from Human Infections," Scand. J. Infect. Dis. 7 : 127 - 134, 1975.
- Dornbusch, K., C.E. Nord and B. Olsson-Liljeqvist. "Antibiotic Susceptibility of Anaerobic Bacteria with Special Reference to *Bacteroides fragilis*," Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 19 : 17 - 25, 1979.
- Dubois, J., J.C. Pechere and C. Turgeon. "Activity of Ten Antimicrobial Agents Against Anaerobic Bacteria," In Marrie, T.J., E.V. Haldane, C.A. Swantee and E.A. Kerr. Antimicrob. Agents Chemother. 19 : 51 - 55, 1981.
- Dublanchet, A. and R. Durieux. "Isolement de *Bacteroides fragilis* résistant à la Clindamycin" Nouv. Presse Med. 6 : 464, 1977.
cited by Privitera, G., A. Dublanchet and Madeleine Sébald.
"Transfer of Multiple Antibiotic Resistance between Subspecies of *Bacteroides fragilis*," J. Infect Dis. 139 : 97 - 101, 1979.
- de Zerega, G. and others. "A Comparison of Clindamycin-gentamicin and Penicillin-gentamicin in the Treatment of Post-cesarean Section Endomyometritis," cited by Tally, F.P. and M.H. Marmy. "Mechanism of Antimicrobial Resistance and Resistance Transfer in Anaerobic Bacteria," Scand J. Infect. Dis. Suppl. 35 : 37 - 44, 1982.
- Evans, J.B. and L.J. Harrell. "Notes Agar Shake Tube Technique for Simultaneous Determination of Aerobic and Anaerobic Susceptibility to Antibiotics," Antimicrob. Agents Chemother. 12 : 534 - 536, 1977.
- Fass, R.J., R.B. Prior and C.A. Rottic. "Simplified Method for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria," Antimicrob. Agents Chemother. 8 : 444 - 452, 1975.
- Finegold, S.M., and others. "The Normal Flora of Ileostomy and Transverse Colostomy Effluents," J. Infect. Dis. 122 : 376, 1970.
- Finegold, S.M. Anaerobic Bacteria in Human Disease. New York, Academic Press, 1977. 710 p.
- Finegold, S.M. and others. Practical Anaerobic Bacteriology Cumitech 5. Washington, D.C., American Society for Microbiology, 1977. p. 14.

- Finegold, S.M. "Taxonomy, Enzymes, and Clinical Relevance of Anaerobic Bacteria," Rev. Infect. Dis. 1 : 248 - 252, 1979.
- _____. "The Role of Anaerobes in Human Infections," Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 26 : 9 - 13, 1981.
- _____. "Pathogenic Anaerobes," Arch. Intern. Med. 142 : 1988 - 1992, 1982.
- Goldstein, E.J.C. and others. "Effect of Carbon Dioxide on In Vitro Susceptibility of Anaerobic Bacteria to Erythromycin," Antimicrob. Agents Chemother. 20 : 705 - 708, 1981.
- Gorbach, S.L. "Anaerobes in Mixed Infections," J. Infect. Dis. 144 : 181 - 185, 1981.
- Griffith, R.S., G.L. Brier and J.D. Wolny. "Synergistic Action of Erythromycin and Cefamandole Against *Bacteroides fragilis* subsp. *fragilis*," Antimicrob. Agents Chemother. 11 : 813 - 916, 1977.
- Haller, I. "In Vitro Activity of the Two Principal Oxidative Metabolites of Metronidazole Against *Bacteroides fragilis* and Related Species," Antimicrob. Agents Chemother. 22 : 165 - 166, 1982.
- Hansen, S.L. "Variation in Susceptibility Patterns of Species Within the *Bacteroides fragilis* Group," Antimicrob. Agents Chemother. 17 : 686 - 690, 1980.
- Hansen, S.L., P. Swomley and G. Drusano. "Effect of Carbon Dioxide and pH on Susceptibility of *Bacteroides fragilis* Group, to Erythromycin," Antimicrob. Agents Chemother. 19 : 335 - 336, 1981.
- Hanson, C.W. and W.J. Martin. "Modified Agar Dilution Method for Rapid Antibiotic Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria," Antimicrob. Agents Chemother. 13 : 383 - 388, 1978.
- Henderson, D.K., A.W. Chow and L.B. Guze. "Comparative Susceptibility of Anaerobic Bacteria to Ticarcillin, Cefoxitin, Metronidazole, and Related Antimicrobial Agents," Antimicrob. Agents Chemother. 11 : 679 - 682, 1977.
- Hof, H., V. Sticht-Groh and Klaus-M. Müller. "Comparative In Vitro Activities of Niridazole and Metronidazole Against Anaerobic and Microaerophilic Bacteria," Antimicrob. Agents Chemother. 22 : 332 - 333, 1982.
- Holdeman, L.V., I.J. Good and W.E.C. Moore. "Human Fecal Flora: Variation in Bacterial Composition within Individuals and a Possible Effect of Emotional Stress," Appl. Environ. Microbiol. 31 : 359 - 375, 1976.

Holdeman, L.V., E.P. Cato and W.E.C. Moore. V.P.I. Anaerobic Laboratory Manual. 4th. ed., Blacksburg, Virginia Polytechnic Institute and State University, 1977. 152 p.

Ingham, H.R. and others. "The Effect of Carbon Dioxide on the Sensitivity of *Bacteroides fragilis* to certain antibiotics in Vitro," J. Clin. Pathol. 23 : 254 - 258, 1970.

_____. "A Study in Vitro of the Sensitivity to Antibiotics of *Bacteroides fragilis*," J. Clin. Microbiol. 21 : 432 - 436, 1968.

Joiner, K. and others. "Comparative Efficacy of 10 Antimicrobial Agents in Experimental Infections with *Bacteroides fragilis*," J. Infect. Dis. 145 : 561 - 568, 1982.

Jones, R. and P.C. Fuchs. "Identification and Antimicrobial Susceptibility of 250 *Bacteroides fragilis* Subspecies Tested by Broth Microdilution Methods," Antimicrob. Agents Chemother. 9 : 719 - 721, 1976.

Jorgensen, J.H., G.A. Alexander and J.E. Johnson. "Practical Anaerobic Broth-Disk Elution Susceptibility Test," Antimicrob. Agents Chemother. 17 : 740 - 742, 1980.

Jorgensen, J.H., S.A. Crawford and G.A. Alexander. "Comparison of Moxalactam (LY 127935) and Cefotaxime Against Anaerobic Bacteria," Antimicrob. Agents Chemother. 17 : 901 - 904, 1980.

Kasper, D.L. "Virulence Factors of Anaerobic Bacteria: An Overview," Rev. Infect. Dis. 1 : 246 - 247, 1979.

Kaye, D., W. Kobasa and K. Kaye. "Susceptibilities of Anaerobic Bacteria to Cefoperazone and other Antibiotics," Antimicrob. Agents Chemother. 17 : 957 - 960, 1980.

Kislak, J.W. "The Susceptibility of *Bacteroides fragilis* to 24 Antibiotics," J. Infect. Dis. 125 : 295 - 299, 1972.

Klastirsky, J. and M. Husson. "Bactericidal Activity of the Combinations of Gentamicin with Clindamycin or Chloramphenicol Against Species of *Escherichia coli* and *Bacteroides fragilis*," Antimicrob. Agents Chemother. 12 : 135 - 138, 1977.

Kurathong, S. and others. "Anaerobic Infections : Clinical, Bacteriological and Therapeutic Features of Thirty-Six Patients," J. Med. Ass. Thailand. 58 : 125 - 135, 1975.

Kurzynski, T.A. and others. "Aerobically Incubated Thioglycollate Broth Disk Method for Antibiotic Susceptibility Testing of Anaerobes," Antimicrob. Agents Chemother. 10 : 727 - 732, 1976.

- Leigh, D.A. and K. Simmons. "Identification of Non-sporing Anaerobic Bacteria," J. Clin. Pathol. 30 : 991 - 992, 1977.
- Lennette, E.H. and others. editors. Manual of Clinical Microbiology. 3rd. ed., Washington, D.C., American Society for Microbiology, 1980. 1044 p.
- Limsuwan, A. and others. "Anaerobic Organisms of the Vagina in Thai Pregnancy," J. Med. Ass. Thailand. 62 : 64 - 69, 1979.
- Louie, T.J. and others. "Failure of Chloramphenicol Therapy of Experimental Intraabdominal Abscess," cited by Tally, F.P. and M.H. Marmy. "Mechanism of Antimicrobial Resistance and Resistance Transfer in Anaerobic Bacteria," Scand. J. Infect Dis Suppl. 35 : 37 - 44, 1982.
- Mancini, C. and R.J. Behme. "Transfer of Multiple Antibiotic Resistance from *Bacteroides fragilis* to *Escherichia coli*," J. Infect. Dis. 136 : 567 - 600, 1977.
- Maki, D.G., T.A. Kurynski and W. Agger. "Carbenicillin for Treatment of *Bacteroides fragilis* Infections: Why Not Penicillin G?" J. Infect. Dis. 138 : 859 - 863, 1978.
- Marrie, T.J. and others. "Susceptibility of Anaerobic Bacteria to Nine Antimicrobial Agents and Demonstration of Decreased Susceptibility of *Clostridium perfringens* to Penicillin," Antimicrob. Agents Chemother. 19 : 51 - 55, 1981.
- Morgan, J.R., J.A. Smith and P. Liu. "Improving the Performance of Anaerobic Bacteriology in a Hospital Laboratory," J. Clin. Pathol. 30 : 157 - 159, 1977.
- Murray, P.R. and J.E. Rosenblatt. "Penicillin Resistance and Penicillinase Production in Clinical Isolates of *Bacteroides melaninogenicus*," Antimicrob. Agents Chemother. 11 : 605 - 608, 1977.
- Nastro, J.L. and S.M. Finegold. "Bactericidal Activity of Five Antimicrob. Agents against *Bacteroides fragilis*," J. Infect. Dis. 126 : 104 - 107, 1972.
- Nichols, R.L., B. Miller and J.W. Smith. "Septic Complications Following Gastric Surgery : Relationship to the Endogenous Gastric Microflora," In Finegold, S.M. Anaerobic Bacteria in Human Disease. New York, Academic Press, 1977. 710 p.
- Nordbring, F. and C.E. Nord. "Aspects on Antibacterial Treatment of Anaerobic Infections," Scand J. Infect. Dis. Suppl. 35 : 59 - 62, 1982.

- Okada, J., T. Oguri and N. Kosakai. "Drug Susceptibility of *Bacteroides* Species from Various Clinical Specimens," In W. Siegenthaler and R. Lüthy (ed.) "Proceedings of the 10th International Congress of Chemotherapy, Zurich, Switzerland, September 18 - 23, 1977." American Society for Microbiology. Washington, D.C., 1978. 222 p.
- O'Keefe, J.P., K.A. Troc and K.D. Thompson. "Activity of Metronidazole and its Hydroxy and Acid Metabolites Against Clinical Isolates of Anaerobic Bacteria," Antimicrob. Agents Chemother. 22 : 426 - 430, 1982.
- Olsson, B., C.E. Nord and T. Wadström. "Formation of β -lactam in *Bacteroides fragilis*: Cell-bound and Extracellular Activity," Antimicrob. Agents Chemother. 9 : 727, 1976.
- Phillips, I. and F.P. Tally. (eds.) "Resistance in Anaerobic Bacteria, Based on a Symposium Held at the 12th. International Congress of Chemotherapy, Florence," cited by Phillips, I. "Antibiotic Sensitivity Testing of Anaerobes," Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 35 : 31 - 36, 1982.
- Privitera, G., F. Fayolle and M. Sebald. "Resistance to Tetracycline, Erythromycin and Clindamycin in the *Bacteroides fragilis* Group : Inducible Versus Constitutive Tetracycline Resistance," Antimicrob. Agents Chemother. 20 : 314 - 320, 1981.
- Privitera, G., M. Sebald and F. Fayolle. "Common Regulatory Mechanism of Expression and Conjugative ability of a Tetracycline Resistance Plasmid in *Bacteroides fragilis*," Nature. 278 : 657, 1979.
- Ralph, E.D. and D.A. Clarke. "Inactivation of Metronidazole by Anaerobic and Aerobic Bacteria," Antimicrob. Agents Chemother. 14 : 377 - 383, 1978.
- Ralph, E.D. and W.M.M. Kirby. "Unique Bactericidal Action of Metronidazole Against *Bacteroides fragilis* and *Clostridium perfringens*," Antimicrob. Agents Chemother. 3 : 409 - 414, 1975.
- Ralph, E.D. and Y.E. Amatnieks. "Potentially Synergistic Antimicrobial Combinations with Metronidazole Against *Bacteroides fragilis*," Antimicrob. Agents Chemother. 17 : 379 - 382, 1980.
- Reese, R.E. and others. "In Vitro Susceptibility of Common Clinical Anaerobic and Aerobic Isolates Against Josamycin," Antimicrob. Agents Chemother. 10 : 253 - 257, 1976.
- Reilly, S. "The Carbon Dioxide Requirement of Anaerobic Bacteria," Medical Microbiology. 13 : 573 - 579, 1980.

- Rolfe, R.D. and S.M. Finegold. "Comparative in Vitro Activity of Ceftriaxone Against Anaerobic Bacteria," Antimicrob. Agents Chemother. 22 : 338 - 341, 1982.
- Rolfe, R.D. and S.M. Finegold. "Comparative in Vitro Activity of New Beta-Lactam Antibiotics Against Anaerobic," Antimicrob. Agents Chemother. 20 : 600 - 609, 1981.
- Rosenblatt, J.E. and A.M. Gerdts. "Activity of Spectinomycin Against Anaerobes," Antimicrob. Agents Chemother. 12 : 37, 1977.
- Rosenblatt, J.E. and F. Schoenknecht. "Effect of Several Components of Anaerobic Incubation on Antibiotic Susceptibility Test Results," Antimicrob. Agents Chemother. 1 : 433 - 440, 1972.
- Rosenblatt, J.E. and others. "Comparison of Anaerobic Susceptibility Results Obtained by Different Methods," Antimicrob. Agents Chemother. 15 : 351 - 355, 1979.
- Rotile, C.A. and others. "Microdilution Technique for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria," Antimicrob. Agents Chemother. 7 : 311 - 315, 1975.
- Salaki, J.S. and others. "Bacteroides fragilis Resistant to the Administration of Clindamycin," Am. J. Med. 60 : 426 - 428, 1976.
- Salyers, A.A., J. Wong and T.D. Wilkins. "Beta-lactamase Activity in Strains of Bacteroides melaninogenicus and Bacteroides oralis," Antimicrob. Agents Chemother. 11 : 142 - 146, 1977.
- Sanders, C.V., B.J. Hanna and A.C. Lewis. "Metronidazole in the Treatment of Anaerobic Infections," Amer. Rev. Resp. Dis. 120 : 337 - 343, 1979.
- Schwartzman, J.D., L.B. Reller and Wen-Lan L. Wang. "Susceptibility of Clostridium perfringens Isolated from Human Infections to Twenty Antibiotics," Antimicrob. Agents Chemother. 11 : 695 - 697, 1977.
- Sébald, M., D. Bouanchaud and G. Bieth. "Nature Plasmidique de la Résistance a Plusieurs Antibiotiques Chez Clostridium perfringens type A, Souche 659," cited by Brefort, G., M. Magot, H. Ionesco and Sébald. "Characterization and Transferability of Clostridium perfringens Plasmids," American Society for Microbiology. Washington, D.C., 1978. 242 p.

- Sébald, M. and G. Brefort. "Transfert du Plasmide Tétracycline-chloramphénicol Chez *Clostridium perfringens*. (C.R. Acad. Sci. Ser. p. 281 : 317 - 319, 1975) cited by Brefort, G., M. Magot, H. Ionesco and Sébald.
"Characterization and Transferability of *Clostridium perfringens* Plasmids," American Society for Microbiology. Washington, D.C., 1978. 242 p.
- Shadomy S., C.G. Mayhall and E. Apollo. "In Vitro Activity of Five Oral Cephalosporins Against Anaerobic Pathogenic Bacteria," J. Infect. Dis. 136 : 697 - 699, 1977.
- Smith, L.D. The Pathogenic Anaerobic Bacteria. 2nd. ed., Illinois, Charlee C. Thomas, 1975. 430 p.
- Socransky, S.S. and others. "The Microbiota of the Gingival Crevice Area of Man. I Total Microscopic and Viable Counts of Specific Organisms," in Tally, F.P. and S.L. Gorbach. Anaerobic Bacteriology for Clinical Laboratories. Massachusetts, Tufts University School of Medicine Boston, 1981. 63 p.
- Sosa A. and others. "Bacteroides fragilis Resistance to Clindamycin in Vitro," Antimicrob. Agents Chemother. 22 : 771 - 774, 1982.
- Steffen, E.K. and D.J. Hentges. "Hydrolytic Enzymes of Anaerobic Bacteria Isolated from Human Infections," J. Clin. Microbiol. 14 : 153 - 156, 1981.
- Staneck, J.L. and J.A. Washington II. "Antimicrobial Susceptibilities of Anaerobic Bacteria : Recent Clinical Isolates," Antimicrob. Agents Chemother. 6 : 311 - 315, 1974.
- Sukawatana, P., C. Duangmani and C.D. Phillips. "Anaerobic Bacteria Infection of Cervix (in Press) ใน บุรณะ ขวาลิตร์ราชู และคนอื่น ๆ โรคติดต่อแอนแอโรบส์ โครงการตำรา-ศิริราช 2523, 222 หน้า
- Sutter, V.L. and others. "Collaborative Evaluation of a Proposed Reference Dilution Method of Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria," Antimicrob. Agents Chemother. 16 : 495 - 502, 1979.
- Sutter, V.L. and J.A. Washington II. "Susceptibility Testing of Anaerobes," in Lennette, E.H., A. Balows, W.J. Hausler JR. and J.P. Truant., editors. Manual of Clinical Microbiology. 3rd. ed., Washington, D.C., American Society for Microbiology, 1980. p. 475 - 476.
- Sutter, V.L. and S.M. Finegold. "Susceptibility of Anaerobic Bacteria to Carbenicillin, Cefoxitin and Related Drugs," J. Infect Dis. 131 : 417 - 422, 1975.

- Sutter, V.L. and S.M. Finegold. "Susceptibility of Anaerobic Bacteria to 23 Antimicrobial Agents," Antimicrob. Agents Chemother. 10 : 736 - 752, 1976.
- Sutter, V.L., Y.Y. Kwok and S.M. Finegold. "Susceptibility of *Bacteroides fragilis* to Six Antibiotics Determined by Standardized Antimicrobial Disc Susceptibility Testing," Antimicrob. Agents Chemother. 3 : 188 - 193, 1973.
- _____. "Standardized Antimicrobial Disc Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria," Appl. Microbiol. 23 : 268 - 275, 1972.
- Tally, F.P., B.R. Goldin and N.E. Sullivan. "Nitroimidazoles: In Vitro Activity and Efficacy in Anaerobic Infections," Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 26 : 46 - 53, 1981.
- Tally, F.P. and others. "Antimicrobial Activity of Metronidazole in Anaerobic Bacteria," Antimicrob. Agents Chemother. 13 : 460 - 465, 1978.
- _____. "Plasmid-mediated, Transferable Resistance to Clindamycin and Erythromycin in *Bacteroides fragilis*," J. Infect Dis. 139 : 83, 1979.
- Tally, F.P. and M.H. Marmy. "Mechanism of Antimicrobial Resistance and Resistance Transfer in Anaerobic Bacteria," Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 35 : 37 - 44, 1982.
- Tally, F.P., N.V. Jacobus and S.L. Gorbach. "In Vitro Activity of N-formimidoyl Thienamycin (MK 0787)," Antimicrob. Agents Chemother. 18 : 642, 1980.
- Tally, F.P. and S.L. Gorbach. Anaerobic Bacteriology for Clinical Laboratories. Massachusetts, Tufts University School of Medicine Boston, 1981. 63 p.
- Tally, F.P., V.L. Sutter and S.M. Finegold. "Treatment of Anaerobic Infections with Metronidazole," Antimicrob. Agents Chemother. 7 : 672 - 675, 1975.
- Thadepalli, H. and others. "Abdominal Trauma, Anaerobes, and Antibiotics," cited by Tally, F.P. and M.H. Marmy. "Mechanism of Antimicrobial Resistance and Resistance Transfer in Anaerobic Bacteria," Scand. J. Infect Dis. Suppl. 35 : 37 - 44, 1982.
- Thomas, C.G.A. Medical Microbiology. 14th. ed., London, Baillier Tindall, 1979. 406 p.

- Watanabe, K. and others. "Comparison of the Activity of Ionophores with Other Antibacterial Agents Against Anaerobes," Antimicrob. Agents Chemother. 19 : 519 - 525, 1981.
- Washington II, J.A. "In Vitro Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria," from the Section of Clinical Microbiology, Mayo Clinic and Mayo Foundation Rochester, Minnesota 55901, U.S.A.
- Weinrich, A.E. and V.E. Del Bene. "Beta-Lactamase Activity in Anaerobic Bacteria," Antimicrob. Agents Chemother. 10 : 106 - 111, 1976.
- Whelan, J.P.F. and J.H. Hale. "Bactericidal Activity of Metronidazole Against *Bacteroides fragilis*," J. Clin. Pathol. 26 : 393 - 395, 1973.
- Wilkins, T.D. and others. "Standardized Single-Disk Method for Antibiotic Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria," Antimicrob. Agents Chemother. 1 : 451 - 459, 1972.
- Wilkins, T.D. and S. Chalgren. "Medium for Use in Antibiotic Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria," Antimicrob. Agents Chemother. 10 : 926 - 928, 1976.
- Wilkins, T.D. and T. Thiel. "Modified Broth-Disk Method for Testing the Antibiotic Susceptibility of Anaerobic Bacteria," Antimicrob. Agents Chemother. 3 : 350 - 356, 1973.
- Willis, A.T. "Treatment of Anaerobic Infections," Infections. 20 : 579 - 582, 1978.
- _____. Anaerobic Bacteriology Clinical and Laboratory Practice.
3rd. ed., London, 1979. 360 p.
- Wren, M.W.D., C.P. Eldon and G.H. Dakin. "Novobiocin and the Differentiation of Peptococci and Peptostreptococci," J. Clin. Pathol. 30 : 620 - 622, 1977.
- Wüst, J. and T.D. Wilkins. "Susceptibility of Anaerobic Bacteria to Sulfamethoxazole/Trimethoprim and Routine Susceptibility Testing," Antimicrob. Agents Chemother. 14 : 384 - 390, 1978.
- Wüst, J. "Susceptibility of Anaerobic Bacteria to Metronidazole, Ornidazole Tinidazole and Routine Susceptibility Testing by Standardized Methods," Antimicrob. Agents Chemother. 11 : 631 - 637, 1977.
- Zabransky, R.J. and K.J. Hauser. "Stability of Antibiotics in Wilkins-Chalgren Anaerobic Susceptibility Testing Medium After Prolonged Storage," Antimicrob. Agents and Chemother. 12 : 440 - 441, 1977.

การคำนวณ

ตาราง 1 แสดงการสัณฐานแอโรบิกแบคทีเรียที่มีความสำคัญทางการแพทย์ออกเป็นชนิดต่าง ๆ
ดังต่อไปนี้

I. รูปร่างเป็นท่อน

ก. สร้างสปอร์ (บางครั้งเห็นได้ยาก) ----- *Clostridium*

ข. ไม่สร้างสปอร์

1. เชลล์ติดสี่แกรมบวก ----- *Propionibacterium*

และ *Arachnia*

----- *Bifidobacterium*

----- *Lactobacillus*

----- *Actinomyces*

----- *Eubacterium* และ

Lachnospira

2. เชลล์ติดสี่แกรมลบ

2.1 แฟลกเจลลารอบ ๆ เชลล์

หรือไม่เคลื่อนที่

----- *Fusobacterium*

----- *Leptotrichia buccalis*

----- *Desulfomonas*

----- *Bacteroides*

2.2 แฟลกเจลลารอบ ๆ ที่ขั้วเชลล์

2.2.1 พกย่อยแยก

----- *Butyrivibrio*

----- *Succinivibrio*

----- *Succinimonas*

----- *Anaerovibrio*

2.2.2 พวกไม้อ้อยแยก

----- *Vibrio succinogenes*----- *Campylobacter*

ค. แฟลกเจลลัม เป็นกระดูกบนด้านข้างของ

เซลล์ที่มีลักษณะเป็นรูปเสี้ยวพระจันทร์

----- *Selenomonas*

ง. เซลล์เป็นรูปเกลียวและมีแฟลกเจลลัม

ตามแกนยาวของลำตัว

----- *Treponema* และ *Borrelia*

II. รูปร่างกลม

ก. เซลล์ติดสี่แกรมบวก

1. อยู่เป็นคู่หรือเป็นสาย อ้อยแยก

คาร์โบไฮเดรต

----- *Gemmiger*----- *Coprococcus*----- *Ruminococcus*

2. ไม้อ้อยแยกคาร์โบไฮเดรต

----- *Streptococcus*----- *Peptococcus* และ*Peptostreptococcus*

ข. เซลล์ติดสี่แกรมลบ

----- *Veillonella*----- *Acidaminococcus*----- *Megasphaera*

ตาราง 2 เปรียบเทียบคุณสมบัติของยาด้านจุลชีพที่ใช้กับแอนแอโรบส์ (Finegold. 1982 : 1991)

ยา	องค์การควบคุม อาหารและยา รับรองการใช้ กับโรคติดเชื้อ แอนแอโรบส์	ผลเสียที่เกิด จากการใช้ยา	การซึมแทรก เข้าสู่ น้ำไขสันหลัง	ผลต่อ แบคทีเรีย ประจำถิ่น	ยาที่ผลิตขึ้นอยู่ในรูป ที่จะใช้		ความสามารถ ในการ ทำลายเชื้อ
					ทางปาก	ทางอื่น ๆ	
เพนิซิลลิน	ใช้ได้	ต่ำ	ดี	น้อยที่สุด	✓ *	✓	ดีมาก
เซฟาโลสปอรินส์	ใช้ได้	ต่ำ	โดยปกติ มักไม่ดี	โดยปกติ มักจะน้อย	✓ *	✓	ดีมาก
คลินดามัยซิน	ใช้ได้	ต่ำ-ปานกลาง	ไม่ดี	มาก	✓	✓	ปานกลาง
เมโทรไนดาโซล	ใช้ได้	ต่ำ	ดีเลิศ	น้อยที่สุด	✓	✓	ดีเลิศ
คลอแรมเฟนิคอล	ใช้ได้	สูง	ดีเลิศ	น้อยที่สุด	✓	✓	ไม่ทำลายเชื้อ
เตตราไซคลิน	ใช้ได้	ต่ำ	ดี	น้อยที่สุด	✓	✓	ไม่ทำลายเชื้อ
ไฮโดรคลอไรด์							
อีริโทรมัยซิน	ใช้ไม่ได้	ต่ำ	ปานกลาง - ดี	น้อยที่สุด - ปานกลาง	✓	✓	ไม่ทำลายเชื้อ
แวนโคมัยซิน							
ไฮโดรคลอไรด์	ใช้ไม่ได้	ปานกลาง - สูง	ปานกลาง - ดี	น้อยที่สุด	x ⁺	✓	ดีมาก ⁺

* ยาที่ใช้ทางอื่นนอกจากการรับประทานมักจะ เป็นที่นิยมมากกว่าในการใช้กับโรคติดเชื้อแอนแอโรบส์

+ แวนโคมัยซิน ไฮโดรคลอไรด์ ดูดซึมได้ไม่ดีในลำไส้

† ไม่ได้ศึกษาเกี่ยวกับแอนแอโรบส์

ตาราง 3 ความไวของแอนาโรบัสต่อยาต้านจุลชีพ (Finegold. 1982 : 1991)

	ยาต้านจุลชีพ									
	เพนิซิลลิน + โปแตสเซียม	คาเบนิซิลลิน ไดไฮโดรไคลด์, Piperacillin Sodium และ Mezlocillin	เซฟาโลสปอรินส์ ⁺	เซฟไตรแอกซิม	คลินดาไมซิน	อีริทโรไมซิน	เมโททริน	คลอแรมเฟนิคอล	เตตราไซคลีน	แวนโคไมซินไฮโดรคลอไรด์
Microaerophilic and anaerobic cocci	1 - 2	2	2	2	2 - 3	2 - 3	3	2	3 - 4	2
<i>Bacteroides fragilis</i>	4	2 - 3	4	2 - 3	2	3 - 4	2	2	3 - 4	4
Other gram negative bacilli	2	2	2 - 3	2	2	2 - 3	2	2	2 - 3	4
Actinomycetes	1	2	2	2	2	2	4	2	2 - 3	2 - 3
<i>Clostridium perfringens</i>	1	2	2	2	2	2	2	2	3	2
Other clostridia	2	2	2 - 3	3 - 4	3	2 - 3	2	2	3	2 - 3

*1. ยาที่เลือกใช้เป็นอันดับแรก 2. ใช้ได้ผลดี 3. ใช้ได้ผลปานกลาง และ 4. ใช้ได้ผลไม่ดีหรือผลไม่แน่นอน

+ เพนิซิลลิน G โปแตสเซียม แอมพิซิลลิน และแอม็อกซิซิลลิน ให้ผลใกล้เคียงกัน เมริซิซิลลิน โซเดียม (methicillin sodium) เนฟซูลิน โซเดียม (nafcillin sodium) และไอโซซาไซลิล ให้ผลใกล้เคียงกัน

โซเดียม (nafcillin sodium) และไอโซซาไซลิล เนฟซูลิน (isoxazolyi penicillins) ให้ผลดีน้อยกว่า ดอกซีไซคลีน ไฮโดรคลอไรด์ (doxycycline hyclate) และมิโนไซคลีน ไฮโดรคลอไรด์ให้ผลดีกว่า แต่ต้องทดสอบความไวของเชื้ออย่างนี้

† เซฟไตรแอกซิม รุ่นที่ 3 ให้ผลดีกว่า

ตาราง 4 แหล่งที่พบแอนแอโรบส์เป็นปกติในร่างกาย^a (Finegold. 1977 : 29)

ส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย	แบคทีเรียไม่สร้างสปอร์									คอคโค	
	แกรมบวก						แกรมลบ				
	Clostridium	Actinomyces	Bifidobacterium	Eubacterium	Lactobacillus ^c	Propionibacterium	Bacteroides	Fusobacterium	Vibrio	แกรมบวก	แกรมลบ
ผิวหนัง	0	0	0	±	0	2	0	0	0	1	0
ทางเดินหายใจช่วงบน ^b	0	1	0	±	0	1	1	1	1	1	1
ปาก	±	1	1	1	1	±	2	2	1	2	2
ลำไส้	2	±	2	2	1	±	2	1	±	2	1
อวัยวะสืบพันธุ์ภายนอก	0	0	0	U	0	U	1	1	0	1	0
หลอดปัสสาวะ	±	0	0	U	±	0	1	1	±	±	U
ช่องคลอด	±	0	1	±	2	1	1	±	1	1	1

a เครื่องหมายของสัญลักษณ์ U, ไม่รู้; 0, ไม่พบหรือพบน้อยมาก; ± ไม่แน่นอน; 1, มักจะพบ; 2, มักพบเป็นกลุ่มใหญ่

b รวมทั้งในจมูก ส่วนที่เป็นจมูกร่วมคอหอย ส่วนที่เป็นปากร่วมคอหอยและทอลซิล

c รวมทั้งเชื้อที่เป็นแอนแอโรบิค ไมโครแอโรฟิลลิกและแฟคคัลเททีฟ

ตาราง 5 แหล่งที่พบเชื้อ *Bacteroides* sp. (บุรณะ ชวลิตธำรง และคนอื่น ๆ 2523 : 13)

	ลำไส้	ระบบปัสสาวะและการสืบพันธุ์	ช่องปาก	คลินิก
<i>B. biacutus</i>				+
<i>B. capillosus</i>	+			+
<i>B. clostridiiformis</i>	+			+
<i>B. coagulans</i>	+			+
<i>B. corrodens</i>	+			+
<i>B. fragilis</i>	+	+	+	+
<i>B. furcosus</i>	+			+
<i>B. melaninogenicus</i>	+	+	+	+
<i>B. ochraceus</i>			+	
<i>B. oralis</i>	+	+	+	+
<i>B. pneumosintes</i>	+			
<i>B. praeacutus</i>	+			+
<i>B. putrenidis</i>	+			
<i>B. ruminicola</i>	+			+

ตาราง 6 แหล่งที่พบเชื้อ *Fusobacterium* sp. (บุรณะ ชวลิตธำรง และคนอื่น ๆ 2523 : 19)

เชื้อ	ลำไส้	ระบบปัสสาวะและการสืบพันธุ์	ช่องปาก	ทางคลินิก
<i>F. mortiferum</i>	+	+	+	+
<i>F. naviforme</i>			+	+
<i>F. necrogenes</i>				+
<i>F. necrophorum</i>				+
<i>F. nucleatum</i> (<i>F. fus forme</i>)			+	+
<i>F. prausnitzii</i>		+		
<i>F. russii</i>	+			+
<i>F. symbiosum</i>	+			+
<i>F. varium</i>	+			+

ตาราง 7 แหล่งที่พบเชื้อ *Peptococcus* sp. (บุรณะ ชวลิตธำรง และคนอื่น ๆ 2523 : 5)

เชื้อ	ลำไส้	ระบบปัสสาวะและการสืบพันธุ์	ช่องปาก	ผิวหนัง	ทางคลินิก
<i>p. asaccharolyticus</i>	+	+	+		+
<i>p. constellatus</i>		+	+	+	+
<i>p. prevotii</i>		+			+
<i>p. variabilis</i>		+			+
<i>p. saccharolyticus</i>				+	
<i>p. magnus</i>					+

ตาราง 8 แหล่งที่พบเชื้อ *Peptostreptococcus* sp. (บุรณะ ชวลิตธำรง และคนอื่น ๆ
2523 : 6)

เชื้อ	ส่วไส้	ระบบปัสสาวะและการสืบพันธุ์	ช่องปาก	ทางคลินิก
<i>p. anaerobius</i>	+	+	+	+
<i>p. intermedius</i>	+	+		+
<i>p. micros</i>				+
<i>p. productus</i>	+			+

ตาราง 9 แหล่งที่พบเชื้อ *Propionibacterium* sp. (บุรณะ ชวลิตธำรง และคนอื่น ๆ
2523 : 26)

เชื้อ	ส่วไส้	ช่องปาก	ผิวหนัง	ทางคลินิก
<i>P. acnes</i>	+		+	+
<i>P. avidum</i>			+	+
<i>P. freudenreichii</i>				+
<i>P. granulosum</i>	+		+	+
<i>P. jensenii</i>		+		+
<i>P. lymphophilum</i>				+

ตาราง 10 แสดงอุบัติการณ์ของภาวะติดเชื้อแวนแวนโรบส์ (Sutter and others, 1980 : 6 - 7)

ภาวะติดเชื้อ	อุบัติการณ์ (%)	เชื้อแวนแวนโรบส์ชนิดเดียว
		เชื้อแวนแวนโรบส์หลายชนิด
การติดเชื้อในกระแสเลือด	20	$\frac{4}{5}$
ระบบประสาทส่วนกลาง		
เยื่อสมอง	89	$\frac{1}{2} - \frac{2}{3}$
หนองที่ขั้วไขสันหลังหรือใต้เยื่อหุ้มสมอง	10	
บริเวณศีรษะและลำคอ		
โพรงไซนัสอักเสบเรื้อรัง	52	$\frac{4}{5}$ ^a
หูชั้นกลางอักเสบเรื้อรัง	56	$\frac{1}{10}$
	33	0
การติดเชื้อบริเวณลำคอ	100	$\frac{3}{4}$
การติดเชื้อที่แผลผ่าตัดบริเวณศีรษะและลำคอ	95	0
บริเวณช่องปาก ฟัน และใบหน้า		
ช่องปากและฟัน		
บริเวณปากและใบหน้าที่มีต้นเหตุมาจากโรคฟัน	94	$\frac{4}{10}$
แผลที่เกิดจากการขบกัด	47	$\frac{1}{34}$
ทรวงอก		
ปอดอักเสบจากการสูดสำลัก	93	$\frac{1}{2}$ ^b
	62	$\frac{1}{3}$
	100	$\frac{1}{3}$

ตาราง 10 (ต่อ)

ภาวะติดเชื้อ	อุบัติการณ์ (%)	เชื้อแอนแอโรบส์ชนิดเดียว
		เชื้อแอนแอโรบส์หลายชนิด
ฝีในปอด	93	$\frac{1}{2} - \frac{2}{3}$
	85	$\frac{3}{4}$
โรคหลอดลมพอง		
หนองในทรวงอก (ซึ่งไม่เกิดจากการฆ่าสัตว์)	76	$\frac{1}{3}$
	62	$\frac{1}{2}$
ช่องท้อง		
การติดเชื้อในช่องท้อง (โดยทั่วไป)	86	$\frac{1}{10}$
	90	$\frac{1}{3}$
	81	$\frac{1}{3}$
	94	$\frac{1}{4}$
ไส้ติ่งอักเสบร่วมกับเยื่อช่องท้องอักเสบ	96	$\frac{1}{100}$
ฝีที่ตับ	52	$\frac{1}{3}$
การติดเชื้อในบริเวณช่องท้องอื่น ๆ (หลังผ่าตัด)	93	$\frac{1}{6}$
แผลติดเชื้อหลังผ่าตัดบริเวณลำไส้	45	0
การติดเชื้อหลอดน้ำดี	41	$\frac{2}{117}$
อูติ-นรีเวช		
	100	$\frac{1}{3}$
	74	$\frac{1}{3}$
	72	

ตาราง 10 (ต่อ)

ภาวะติดเชื้อ	อุบัติการณ์ (%)	เชื้อแอนแอโรบิคชนิดเดียว
		เชื้อแอนแอโรบิคหลายชนิด
ฝีที่อุ้งเชิงกราน	88	$\frac{1}{2}$
ฝีที่บริเวณที่แคมและช่องคลอด	75	$\frac{1}{4}$
ฝี Vaginal cuff	98	$\frac{1}{30}$
แท้งติดเชื้อ พยายามล้างคลอด	67	
	63	
การอักเสบของอุ้งเชิงกราน	25	$\frac{1}{4}$
	48	$\frac{1}{7}$
เนื้อเยื่ออ่อน ๆ และอื่น ๆ		
การอักเสบในตำแหน่งใดก็ตามที่ไม่ได้เกิดจากเชื้อ		
Clostridium	75	$\frac{1}{12}$
Pilonidal sinus	73 ⁺	
แผลเปื่อยเบาหวาน	95	$\frac{1}{20}$
ฝีที่เนื้ออ่อน	60	$\frac{1}{4}$
ฝีที่ผิวหนัง	62	$\frac{1}{5}$
แผลเปื่อยกดทับเนื่องจากคนไข่นอนบนเตียงร่วมกับ		
ภาวะเลือดมีแบคทีเรีย	63	
กระดูกพรุนอักเสบ	40	$\frac{1}{10}$
กาฬโรคกรีน (เส้นใยกล้ามเนื้อตายจาก แบคทีเรียที่สปีดอร์)		

ตาราง 10 (ต่อ)

ภาวะติดเชื้อ	อุบัติการณ์ (%)	เชื้อแอนแอโรบิคชนิดเดี่ยว
		เชื้อแอนแอโรบิคหลายชนิด
ฝีที่เต้านม		
ฝีรอบ ๆ ทวารหนัก		

a การเพาะเชื้อ 23 จาก 28 ครั้ง (82 เปอร์เซ็นต์) มีเชื้อขึ้นมาก ซึ่งเป็นแอนแอโรบิค
เชื้อเดี่ยวหรือหลายเชื้อ

b ปอดอักเสบจากการสูดสาส์กที่เกิดในชุมชนจนไม่ใช่ที่เกิดในโรงพยาบาล พบว่าแยกแอนแอโรบิค
ได้อย่างเดียว จากโพรงแอโรบิคและแฟคัลเททิฟถึง 2 ใน 3 ส่วน

ตาราง 11 โรคติดเชื้อที่เกิดจากแอนแอโรบิค (Tally and Gorbach. 1981 : 7)

บริเวณที่ติดเชื้อ	โรคติดเชื้อ	เชื้อแอนแอโรบิคที่แยกได้บ่อยที่สุด
ศีรษะ	โพรงไซนัสอักเสบเรื้อรัง ฝีหน้าผากเรื้อรัง	<i>Fusobacterium nucleatum</i> ,
	การติดเชื้อในโพรงต่าง ๆ Ludwig's angina หนองฝีที่เหงือกรอบฟัน	<i>Bacteroides melaninogenicus</i> anaerobic cocci
ระบบประสาท	ฝีที่สมองที่ไม่ได้เกิดจากแผลบาดเจ็บ	Anaerobic cocci,
ส่วนกลาง	หนองขังใต้เยื่อ dura	<i>fusobacteria</i> , <i>Bacteroides</i> sp.

ตาราง 11 (ต่อ)

บริเวณที่ติดเชื้อ	โรคติดเชื้อ	เชื้อแอนแอโรบิคที่แยกได้บ่อยที่สุด
ปอดและเยื่อหุ้มปอด	ปอดอักเสบจากการสูดสำลัก โพรงฝีเล็ก ๆ ในปอดแบบ necrotizing pneumonia, ฝีในปอด หนองซังในทรวงอกในผู้ใหญ่	<i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Bacteroides melaninogenicus</i> , anaerobic streptococci <i>Bacteroides fragilis</i> (ยังเป็นปัญหาว่าจะ เป็นตัวก่อโรคหรือไม่)
ช่องท้อง	เยื่อช่องท้องอักเสบและฝีที่ช่องท้อง ฝีที่ตับ	<i>B. fragilis</i> , clostridia, anaerobic cocci, fusobacteria 75 เปอร์เซ็นต์เป็นเชื้อแอนแอโรบิคที่ขึ้นได้ยาก fusobacteria, <i>Bacteroides</i> sp., anaerobic cocci
อุ้งเชิงกราน	ปีกมดลูกอักเสบและเยื่อช่องท้องในอุ้งเชิงกรานอักเสบ ฝีที่ท่อนำไข่และรังไข่ ฝีที่แคมและช่องคลอด แท้งติดเชื้อ เยื่อบุมดลูกอักเสบ	<i>B. fragilis</i> , <i>B. melaninogenicus</i> , anaerobic cocci, clostridia
ผิวหนังและเนื้อเยื่ออ่อน	เซลลูไลต์เยื่ออักเสบฝีกาฬ เส้นโยกล้ามเนื้อตาย ฟังฝีอักเสบที่เกิดจากเซลตาย synergistic cellulitis แผลเปื่อยกดทับเนื่องจากกดทับไขมันบนเตียง แผลเปื่อยเบาหวาน	

ตาราง 12 แสดงเปอร์เซ็นต์การกระจายของโรคติดเชื้อแอนแอโรบ์ในผู้ป่วย (Finegold, Shepherd and Spaulding. 1977 : 2)

แอนแอโรบ์	เปอร์เซ็นต์
Gram negative bacilli	33 - 45
<i>Bacteroides fragilis</i> group	12 - 23
<i>B. melaninogenicus</i>	6 - 10
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	2 - 3
Gram positive cocci	20 - 27
<i>Peptococcus asaccharolyticus</i>	9 - 10
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	8 - 9
<i>Streptococcus intermedius</i>	4 - 5
Nonsporulating gram positive bacilli	15 - 20
<i>Propionibacterium acnes</i>	5 - 20
<i>Eubacterium lentum</i>	3 - 5
Sporulating gram positive bacilli	5 - 15
<i>Clostridium perfringens</i>	5 - 9
Gram negative cocci	1 - 3

ตาราง 13 แสดงเปอร์เซ็นต์การกระจายของแอนแอโรบิกแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในโรคติดเชื้อ
ที่แยกได้ห้องปฏิบัติการของมหาวิทยาลัยอินเดียนาระหว่างปี 1975 - 1978 (Allen and
Siders. 1980 : 407)

ชนิด	จำนวน	เปอร์เซ็นต์
Gram-negative nonsporeforming bacilli	<u>2,187</u>	<u>43</u>
<i>Bacteroides fragilis</i> group ^(a)	1,150	23
<i>B. melaninogenicus</i> - <i>B. asaccharolyticus</i> group ^(b)	389	8
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	80	2
Gram-positive cocci	<u>1,062</u>	<u>21</u>
<i>Peptococcus magnus</i>	257	5
<i>P. asaccharolyticus</i>	187	4
<i>P. prevotii</i>	144	3
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	138	3
<i>Streptococcus intermedius</i>	53	1
Gram-negative cocci	<u>81</u>	<u>2</u>
<i>Veillonella parvula</i> ^(c)	68	1
Gram-positive nonsporeforming bacilli	<u>1,149</u>	<u>23</u>
<i>Propionibacterium acnes</i>	868	17
<i>Eubacterium lentum</i>	34	1
Other <i>Eubacterium</i> spp.	177	3
<i>Lactobacillus</i>	41	1
<i>Bifidobacterium</i>	24	1

ตาราง 13 (ต่อ)

ชนิด	จำนวน	เปอร์เซ็นต์
Gram-positive sporeforming bacilli	579	11
<i>Clostridium perfringens</i>	232	5
<i>C. ramosum</i>	92	2
<i>C. difficile</i> ^(d)	26	1
Total isolates	5,058	100

- (a) เชื้อในกลุ่ม *B. fragilis* ประกอบด้วย *B. fragilis* (67%) *B. thetaiotaomicron* (13%) *B. vulgatus* (6%) *B. distasonis* (4%) *B. ovatus* (3%) และ *Bacteroides* sp. (ที่คล้ายคลึงกับ *B. fragilis* 7%)
- (b) รวมทั้ง *B. melaninogenicus* subsp. *melaninogenicus*, *B. melaninogenicus* subsp. *intermedius* และ *B. asaccharolyticus*
- (c) รวมทั้งเชื้อสาย *V. alcalescens* ซึ่งปัจจุบันรวมอยู่ในเชื้อสาย *V. parvula*
- (d) ไม่รวมเชื้อแยกได้จากทางเดินอาหารหรืออุจจาระ

ตาราง 14 เปรียบเทียบอุบัติการณ์ของแอนาเอโรบส์จากสิ่งส่งตรวจทางคลินิกจากห้องปฏิบัติการต่าง ๆ (Pinogold. 1977 : 70)

	จำนวนเชื้อ แอนาเอโรบส์ ที่แยกได้	แบคทีเรียแกรมลบ (%)	คอคโคแกรมบวก (%)	คอคโคแกรมลบ (%)	แบคทีเรียแกรมบวก ในลาร้างสปีด (%)	Clostridia (%)
University College Hospital สหรัฐอเมริกา	643	41	47	7		5
Pasteur Institute Lille ฝรั่งเศส	464	37 (17%)	37	3	15	8
Juntendo University ญี่ปุ่น	599	37	34	5	20	4
VPI สหรัฐอเมริกา	144	39 (17%)	21	2	20	18
Mayo Clinic สหรัฐอเมริกา	482	54 (31%)	29	0	4	13
Mayo Clinic สหรัฐอเมริกา	5,029	44 (21%)	25	3	20	8
Gifu University ญี่ปุ่น	1,181	31	28	1	35	5
Temple University สหรัฐอเมริกา	750	47 (35%)	27	3	18	5
Mayo Clinic สหรัฐอเมริกา	10,998	39 (23%)	26	1	27	7
Wadsworth VA Hospital สหรัฐอเมริกา	890	44 (15%)	22	7	19	8

ตาราง 15 ดูบัติการณ์ของแอนแอโรบส์ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาและ
อิมมิวโนโลยี คณะเวชศาสตร์เขตร้อน (ผู้วิจัย สุ่มเวชัย 2526 : รายงานประจำปีของคณะ
ปี 2526)

ปี พ.ศ.	จำนวนเชื้อ แอนแอโรบส์ ที่แยกได้	แบซิลโล แกรมลบ (%)	คอคโค แกรมบวก (%)	คอคโค แกรมลบ (%)	แบซิลโลแกรมบวก ที่ไม่สร้างสปอร์ (%)	แบซิลโลแกรมบวก ที่สร้างสปอร์ (%)
2521	18	50.0	22.2	-	16.7	11.1
2522	33	36.4	36.4	6.1	6.1	15.7
2523	53	47.2	26.4	0	9.4	17.0
2524	89	46.1	27.0	2.2	6.7	18.0
รวม	193	45.0	28.0	2.1	8.3	16.6

ตาราง 16 อุบัติการณ์ของแอนแอโรบส์ที่แยกได้จากช่องคลอดและปากมดลูกของสตรีไทยในระหว่าง
 ฝักรรภ์ (Limsuwan A. and others. 1979 : 66)

ชนิดของเชื้อแอนแอโรบส์	จำนวนเชื้อที่แยกได้	พบร้อยละ
<i>Bacteroides</i> spp.	25	69.4
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	3	8.3
<i>Propionibacterium</i> sp..	2	5.6
<i>Fusobacterium</i> spp.	2	5.6
<i>Clostridium</i> spp.	1	2.7
<i>Peptococcus</i> spp.	1	2.7
<i>Actinomyces</i> spp.	1	2.7
<i>Neisseria</i> spp.	1	2.7
รวม	35	100

ตาราง 17 อุบัติการณ์แอนแอโรบส์ที่แยกได้จาก ผีเสื้อมอญ หน้าหนาวเรื้อรัง หนองขับนอกและ
ใต้เยื่ออุตรา การติดเชื้อที่พื้น หนองขังบริเวณทรงวงอก หนองผีที่เต้านม ผีที่ตับ เยื่อ
ช่องท้องอักเสบ ลำไส้อักเสบ และหนองฝีใต้กระบังลม ณ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (กัญชวลี เลิศโกยะสมบัติ นสินรัตน์ พันเพิ่มเจริญกิจ และ นราธร
ธรรมบุตร 2524 : 20)

เชื้อแอนแอโรบส์	จำนวนเชื้อที่แยกได้ (สายพันธุ์)
<i>Bacteroides fragilis</i>	36
<i>Clostridium</i> sp.	32
<i>Peptostreptococci</i> sp.	24
<i>Fusobacterium</i> sp.	5
Anaerobic <i>Corynebacterium</i> sp.	5
Unidentified	2
รวม	104

ตาราง 18 อุบัติการณ์แอนแอโรบส์ที่แยกได้จากคนไข้ 60 ราย ที่เป็นโรคติดเชื้อแอนแอโรบส์
 ณ โรงพยาบาลรามารับดี ระหว่าง 1 ตุลาคม 2514 ถึง 30 พฤศจิกายน 2516
 (S. Kurathong and others. 1975 : 128)

เชื้อแอนแอโรบส์	จำนวนที่แยกได้
Streptococci	14
<i>B. fragilis</i>	8
<i>C. perfringens</i>	6
<i>Clostridium</i> sp.	2
<i>C. tetani</i>	1
<i>C. septicum</i>	1
<i>Diphtheroides</i> sp.	4
<i>A. israelii</i>	2

ตาราง 19 อุบัติการณ์ของแอนแอโรบส์ที่แยกได้จากผู้ป่วยปากมดลูกอีกเล่ม 69 ราย (ประมวล
ผู้ขัฒนา และคนอื่น ๆ อ้างอิงมาจาก บุรณะ ช่วลิตธำรง และคนอื่น ๆ ม.ป.ป. : 115)

เชื้อแอนแอโรบส์	แยกได้ร้อยละ
<i>Peptococcus</i> spp.	50.7
<i>P. asaccharolyticus</i>	10.2
<i>P. magnus</i>	20.3
<i>P. prevotii</i>	18.8
<i>P. constellatus</i>	1.4
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	34.7
<i>P. intermedius</i>	24.6
<i>P. productus</i>	2.9
<i>p. anaerobius</i>	5.8
<i>P. parvulus</i>	1.4
<i>Bacteroides</i> spp.	21.8
<i>B. melaninogenicus</i>	11.6
<i>B. fragilis</i>	10.2
<i>Veillonella</i> spp.	10.1
<i>V. alcalescens</i>	4.3
<i>V. parvula</i>	5.8
<i>Clostridium</i> spp.	8.7
<i>C. perfringens</i>	7.3
<i>C. acetobutylicum</i>	1.4
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1.4
Unidentified	27.5

ตาราง 20 ความแตกต่างของค่า MICs เมื่อใช้ Wilkins-Chalgren Agar (Sutter and others. 1979)

ยาต้านจุลชีพ	ATCC สายพันธุ์หมายเลข	MIC ⁺	
		Mode	Acceptable range
เพนิซิลลิน จี	13124 [†]	0.125	0.062 - 0.25
	25285 [§]	32	16 - 64
	29741	32	16 - 64
คลาเวนิซิลลิน	13124	0.5	0.25 - 1
	25285	32	16 - 64
	29741	32	16 - 64
เซฟไตรแอกซิม	13124	0.5	0.25 - 1
	25285	8	4 - 16
	29741	16	8 - 32
คลอสแตรมเฟนิกออล	13124	4	2 - 8
	25285	4	2 - 8
	29741	8	4 - 16
กลินดาไมซิน	13124	0.062	0.031 - 0.125
	25285	1	0.5 - 2
	29741	4	2 - 8
เตตราไซคลีน	13124	0.062	0.031 - 0.125
	25285	0.25	0.125 - 0.5
	29741	16	8 - 32

+ ความเข้มข้นเป็นไมโครกรัมต่อมิลลิตร ยกเว้นเพนิซิลลิน จี เป็น หน่วยต่อมิลลิตร

† *C. perfringens*

§ *B. fragilis*

|| *B. thetaiotaomicron*

ตาราง 21 แสดงค่า MIC ของยาเมโทรไนดาโซลและไนริดาโซล (niridazole) ต่อ
 แอนแอโรบส์ (Hof and others. 1982 : 332 - 333)

สายพันธุ์หมายถึง	MIC	
	เมโทรไนดาโซล	ไนริดาโซล
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	0.25	0.0075
<i>B. fragilis</i> 3676	0.5	0.015
<i>B. fragilis</i> 6869	1.0	0.015
<i>B. thetaiotaomicron</i> NCTC 10852	0.5	0.015
<i>B. thetaiotaomicron</i> 039/80	1.0	0.03
<i>B. distasonis</i> ATCC 8503	1.0	0.03
<i>B. vulgatus</i> ATCC 8482	0.5	0.03
<i>Fusobacterium varium</i> Lille 172 ^(a)	0.25	0.0075
<i>F. mortiferum</i> ATCC 9817	0.125	≤ 0.0037
<i>Clostridium perfringens</i> ES 17a/80	ไม่ได้ทดสอบ	0.015
<i>C. perfringens</i> 08661/76	0.5	0.03
<i>C. difficile</i> 13720/71	0.5	0.015
<i>C. ramosum</i> 7622/71	0.06	0.0037
<i>Peptococcus asaccharolyticus</i> 4008/1	1.0	0.03

(a) สายพันธุ์ดั้งเดิมจาก Institute Pasteur Lille (ฝรั่งเศส)

ตาราง 22 แสดงการจัดจำแนกความไวของแอนแอโรบส์ต่อยาต้านจุลชีพต่าง ๆ ตามค่า MIC
(Finegold. 1977 : 523)

ยาต้านจุลชีพ	MIC (ไมโครกรัมหรือ IU ต่อมิลลิตร)		
	เชื้อไวต่อยา (susceptible)	ด้อยาปานกลาง (intermediate)	ดื้อยา (resistant)
เพนิซิลลิน 5	2	4 ถึง 32 - 64	64 - 128 หรือมากกว่า
แอมพิซิลลิน	3	6 - 25	50 หรือมากกว่า
เซฟาโลทิน	8	16 - 32	32 - 64 หรือมากกว่า
คลอแรมเฟนิคอล	16	32	64 หรือมากกว่า
คลินดามัยซิน	2 - 4	4 ถึง 8 - 16	16 - 32 หรือมากกว่า
เตตราไซคลีน	1 - 2	4 - 8	16 หรือมากกว่า
อีริโทรไมซิน	1 - 2	2 - 4	8 หรือมากกว่า
เมโทรไนดาโซล	8	16 ถึง 32 - 64	64 - 128 หรือมากกว่า

ตาราง 23 ความไวของแอนแอโรบิกต์ดสอบที่โรงพยาบาลรามารับดี ระหว่าง 1 มกราคม

2514 - 30 พฤศจิกายน 2516 (Sucha Kurathong and others. 1975 : 128)

ยาต้านจุลชีพ	ความไวของแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพโดยวิธี Disc diffusion คิดเป็นเปอร์เซ็นต์							
	<i>Bacteroides</i>		<i>Clostridium</i>		Anaerobic		Anaerobic	
	<i>fragilis</i>		<i>perfringens</i>		"Diphtheroides"		Streptococci	
	เปอร์เซ็นต์	จำนวน	เปอร์เซ็นต์	จำนวน	เปอร์เซ็นต์	จำนวน	เปอร์เซ็นต์	จำนวน
แอมพิซิลลิน 10	11.1	9	100	8	71.4	7	90.9	22
คาเพนนิซิลลิน 25	20	5	66.7	3	100	4	100	4
เซฟาลอริคติน 25	13	8	100	8	83.3	6	94.4	18
คลอแรมเฟนิคอล 50	78.6	14	100	6	71.4	7	85.7	21
โคลิไมซิน 10	0	6	20	5	0	2	100	2
อีริโทรไมซิน	66.7	3	80	5	62.5	8	90.4	21
เจนตามัยซิน 10	0	10	16.7	6	75	4	60.	5
คานามัยซิน 30	0	15	0	8	50	6	31.3	21
ลินโคไมซิน 2	25	4	50	6	50	4	84.2	19
เมริซิซิลลิน 10	33	3	100	8	57.1	7	73.7	19
นีโอมัยซิน 30	25	4	0	7	0	3	42.1	19
เพนิซิลลิน 10	22	9	100	5	0	2	50	18
สเตรพโตมัยซิน 10	0	15	14.3	7	25	8	28.5	21
ซิลฟิออนอะไมค 200	20	5	25	4	0	2	54.5	11
เตตราไซคลีน 25	77	13	57.1	7	62.5	8	47.8	23

ตาราง 24 ความไวของเชื้อแอนแอโรบส์ 338 เชื้อสายต่อยาต้านจุลชีพ 5 ชนิด (มาลัย วรสิทธิ์ และ พนิดา ชัยเนตร 2523 : 12)

แบคทีเรีย	จำนวน	อัตราร้อยละของความไวของเชื้อที่ไวต่อ ยาต้านจุลชีพ				
		คลอแรม	อีริโทร	เพนิ	เตตรา	คลินดา
		เฟนิคอล	มัยซิน	ซิลลิน	ชัยคลีน	มัยซิน
<i>Clostridium perfringens</i>	36	78	84	95	62	83
<i>Clostridium</i> sp.	16	75	96	67	67	100
<i>Bacteroides fragilis</i>	46	98	87	4	60	97
<i>Bacteroides</i> sp.	70	96	90	67	79	95
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	6	88	50	100	100	100
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	51	88	95	75	72	100
<i>Peptococcus</i> sp.	52	84	86	86	83	94
<i>Eubacterium lentum</i>	14	100	94	83	92	100
<i>Propionibacterium acnes</i>	45	95	94	91	99	100
<i>Bifidobacterium eriksonii</i>	2	100	100	100	100	100

ตาราง 25 ความไวของแอนแอโรบส์ 726 สายพันธุ์ต่อยาต้านจุลชีพต่าง ๆ ของโรงพยาบาล
รามาริบัติ ระหว่างมกราคม 2522 - ธันวาคม 2524 (พินดา ชัยเนตร และ มาสย
วรวิจิตร 2525 : 97)

แบคทีเรีย	จำนวนทดสอบ	อัตราร้อยละของความไวของแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ						
		คลอแรมเฟนิคอล	คลินดาไมซิน	อีริโทรไมซิน	เพนิซิลลิน	เตตราไซคลีน	เซฟไตรแอม็อกซิม*	เมโทรไนดาโซล
<i>Clostridium perfringens</i>	75	73	81	75	77	67	96	21
<i>Clostridium</i> sp.	54	87	74	87	67	72	84	39
<i>Bacteroides fragilis</i>	104	95	90	82	11	65	86	74
<i>Bacteroides</i> sp.	128	96	95	89	72	83	98	92
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	12	92	100	50	100	100	100	80
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	89	89	99	96	79	78	100	44
<i>Peptococcus</i> sp.	115	90	95	90	84	80	100	74
<i>Eubacterium lentum</i>	27	96	100	96	89	93	86	67
<i>Propionibacterium acnes</i>	117	97	95	94	93	96	98	20
<i>Bifidobacterium eriksonii</i>	5	100	100	100	100	100	100	100

*เซฟไตรแอม็อกซิม และเมโทรไนดาโซล ทำการทดสอบกับแบคทีเรียที่แยกได้ในปี 2524 เท่านั้น ซึ่งมี
จำนวนทั้งสิ้น 266 สายพันธุ์

ภาคผนวกอาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตร 1 อาหารเลี้ยงเชื้อ Basal Medium-PY-Peptide Yeast Extract

(Holdeman and others. 1974 : 144)

Peptone (Difco)	0.5 กรัม
Trypticase (Difco)	0.5 กรัม
Yeast extract (Difco)	1.0 กรัม
Resazurin solution (BDH)	0.4 มิลลิลิตร
Salt solution	4.0 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	100.0 มิลลิลิตร
สารละลายเอมีน	1.0 มิลลิลิตร
วิตามินเค หนึ่ง	0.02 มิลลิลิตร
L-Cysteine HCl. H ₂ O (Sigma)	0.05 กรัม

ต้มและเติมวิตามินเคหนึ่งและสารละลายเอมีน และ L-Cysteine HCl. H₂O ทำให้

ปราศจากเชื้อโดยเครื่องนิ่งอัตโนมัติ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

Salt Solution (Holdeman and others. 1974 : 147)

CaCl ₂ (anhydrous)	0.2 กรัม
MgSO ₄ (anhydrous)	0.2 กรัม
K ₂ HPO ₄	1.0 กรัม
KH ₂ PO ₄	1.0 กรัม
NaHCO ₃	10.0 กรัม
NaCl	2.0 กรัม

หลังจากละลาย CaCl₂ และ MgSO₄ ในน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น

ลงไปอีก 500 มิลลิลิตร เติมเกลือแร่ที่เหลือพร้อมกับคนไปด้วยจนละลายหมด เติมน้ำกลั่นอีก

200 มิลลิลิตรคนให้เป็นสารละลายเนื้อเดียวกัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

สูตร 2 อาหารเลี้ยงเชื้อ BHIA (Brain Heart Infusion Agar-Supplemented)
(Holdeman and others. 1974 : 144)

Brain Heart Infusion broth

(dehydrated) (Difco)	3.7 กรัม
Yeast extract (Difco)	0.5 กรัม
น้ำกลั่น	100.0 มิลลิลิตร
Resazurin solution	0.4 มิลลิลิตร

ต้มและทิ้งไว้ให้เป็น แล้วเติม L-Cysteine HCl. H₂O 0.05 กรัม สารละลาย
เอมิน 1 มิลลิลิตร วิตามินเคหนึ่ง 0.02 มิลลิลิตร แบ่งใส่หลอดแก้วฝาเกลียวที่ฝู้น 0.25 กรัม
ต่ออาหารที่เตรียม 10 มิลลิลิตร (ความเข้มข้นสุดท้ายของวัน 2.5 เปอร์เซ็นต์) แล้วทำให้
ปราศจากเชื้อโดยเครื่องนิ่งอัตโนมัติ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

BHIA ใช้เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเสริมเลือด โดยใส่เม็ดเลือดแดงแกะ (ที่เอาไฟ
บรินออก) 5 เปอร์เซ็นต์

สูตร 3 อาหารเลี้ยงเชื้อ Cooked Meat Medium

ชั่งอาหาร 12.5 กรัม เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที จนกระทั่ง
ชิ้นเนื้อเปื่อยน้ำโดยทั่วถึง เติม Resazurin solution 0.4 มิลลิลิตร สารละลายวิตามิน
เคหนึ่ง-เอมิน 1.0 มิลลิลิตร เติม L-Cysteine HCl. H₂O 0.05 กรัม แบ่งใส่หลอดแก้ว
ฝาเกลียวโดยให้มีชิ้นเนื้อ 1 ส่วน อาหารเหลว 4 - 5 ส่วน

สูตร 4 อาหารเลี้ยงเชื้อ Deep tube agar

Bacto Tryptone (Difco)	30 กรัม
Yeast extract (Difco)	20 กรัม
Glucose (Difco)	5 กรัม
Bacto agar (Difco)	7.5 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

ต้มแล้วทำให้เย็น เติม L-Cysteine HCl, H₂O 0.3 กรัม ปรับ pH ให้ได้ 7.4 เทใส่หลอดทดลองขนาด 10 × 150 มิลลิเมตร ประมาณ 2 ใน 3 ของความยาวของหลอดทดลอง แล้วทำให้ปราศจากเชื้อโดยเครื่องนิ่งอัตโนมัติ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

สูตร 5 อาหารเลี้ยงเชื้อ Fluid Thioglycollate Medium ของบริษัท Difco

ชั่งอาหาร 29.8 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มให้เดือด 1 นาที แล้วทำให้ปราศจากเชื้อโดยเครื่องนิ่งอัตโนมัติ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

สูตร 6 อาหารเลี้ยงเชื้อ Thioglycollate ที่ไม่มียีสต์เคเตอร์

ชั่งอาหาร 30 กรัม ละลายในน้ำกลั่นบริสุทธิ์ 1 ลิตร ต้มให้เดือด 1 นาทีเพื่อให้ละลาย ขณะที่ต้มคนสม่ำเสมอ แล้วเติมแคลเซียมคาร์บอเนตจำนวนเล็กน้อย เพื่อช่วยให้เชื้อที่เพาะเลี้ยงเจริญและเติบโต แบ่งอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งเติมสารละลายเฮมิน 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และวิตามินเคหนึ่ง 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อีกส่วนเติม Tween 80 ในอัตราส่วน 0.1 มิลลิลิตรลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 100 มิลลิลิตร แบ่งใส่หลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 10 × 100 มิลลิเมตร หลอดละ 5 มิลลิลิตร ทำให้ปราศจากเชื้อโดยเครื่องนิ่งอัตโนมัติ 118 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

ก่อนใช้ นำไปต้มในน้ำเดือด 5 นาที ทำให้เย็น แล้วเติมสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรก่อน จึงเชยเชื้อลงในอาหาร

สูตร 7 การเตรียมฟอสเฟตฟิเฟอรั ตามตาราง {WHO IMM/PRT/80.1(Page 37)}

pH ที่ต้องการ	ปริมาณของสารละลาย A (มิลลิลิตร)	ปริมาณของสารละลาย B (มิลลิลิตร)
5.4	96.9	3.1
5.6	95.0	5.0
5.8	92.0	8.0
6.0	89.0	11.0
6.2	81.5	18.5
6.4	73.8	26.2
6.6	64.0	36.0
6.8	50.0	50.0
7.0	39.0	61.0
7.2	28.0	72.0
7.4	19.2	80.8
7.6	13.0	87.0
7.8	8.5	91.5
8.0	5.5	94.5

A = $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 15.6 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร จะได้ความเข้มข้น 0.1 M

B = Na_2HPO_4 14.2 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร จะได้ความเข้มข้น 0.1 M

สูตร 8 การเตรียมฟอสเฟตฟิเฟอรั 1 เปอร์เซนต์ pH 8.0 สำหรับสารละลายยา

วิธีเตรียมขึ้นตาม Abbott Australia Internal Reference Standard

เตรียม Stock ฟอสเฟตฟฟเฟอรัส 20 เปอร์เซนต์ pH 8.0 โดยใช้

Dibasic potassium phosphate (anhydrous)	96.3	กรัม
Monobasic potassium phosphate (anhydrous)	38.5	กรัม
น้ำกลั่น	5	ลิตร

ละลายรวมกัน ทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองผ่าน millipore membrane

เตรียมฟอสเฟตฟฟเฟอรัส 1 เปอร์เซนต์ pH 8.0

เชื้อจาก Stock ฟอสเฟตฟฟเฟอรัส 20 เปอร์เซนต์ pH 8.0 ด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ
ในอัตราส่วน 1 : 20

สูตร 9 การเตรียมสารละลายเฮมิน (Holdeman and others. 1974 : 145)

ละลายเฮมิน 50 มิลลิกรัมใน NaOH 1 N จำนวน 1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ครบ
100 มิลลิลิตร ทำให้ปราศจากเชื้อโดยเครื่องนึ่งอัดที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสนาน 15 นาที
Stock solution มีความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ใช้ Stock solution 10 มิลลิลิตรต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1,000 มิลลิลิตร ความ
เข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 5.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สูตร 10 การเตรียมสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต (Sutter and others.
1980 : 106)

ละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต 2.0 กรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร และทำให้
ปราศจากเชื้อโดยการกรอง Stock solution มีความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้
สารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต 0.5 มิลลิลิตรต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร ความเข้มข้น
สุดท้ายในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สูตร 11 การเตรียม Resazurin solution (Sutter and others. 1980 :
105, Finegold. 1977 : 14)

ละลาย Resazurin 1 เม็ดในน้ำกลั่น 44 มิลลิลิตร เก็บ Stock solution
ไว้ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อใช้เป็นอินดิเคเตอร์แสดง Oxidation-reduction potential (Eh)
ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตร 12 น้ำเกลือฮอร์นัล

ซิงค์ไดอะมคลอไรด์ 8.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ทำให้ปราศจากเชื้อ
โดยเครื่องนิ่งอัตโนมัติ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

สูตร 13 การเตรียม McFarland nephelometer barium sulfate standard
เบอร์ 0.5 (Lennette. 1980 : 469, Sutter and others. 1980 : 103)

ใช้สารละลายเบเรียมคลอไรด์ 0.048 M (1.75% W/V $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) จำนวน
0.5 มิลลิลิตร เติมนลงในสารละลายกรดซัลฟูริก 0.18 M (1% V/V) จำนวน 99.5 มิลลิลิตร
แบ่งใส่หลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 10 × 150 มิลลิเมตร 10 มิลลิลิตร แบ่งใส่หลอดทดลอง
ขนาด 10 × 10 มิลลิเมตร จำนวน 5 มิลลิลิตร ปิดให้แน่นเก็บไว้ได้นาน 6 เดือน ก่อนใช้นำมา
เขย่าด้วยเครื่อง Vortex mixer

ตาราง 26 แสดงการเตรียมความเข้มข้นต่าง ๆ ของยาต้านจุลชีพ 2 ชนิด คือ คลินดามัยซิน และ
อีริโทรมัยซิน จาก Stock solution ที่มีความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร

การละลายของยาต้านจุลชีพ		น้ำกลั่นซึ่งมาเชื้อ หรือฟอสเฟต บัฟเฟอร์ pH 8.0 (มิลลิลิตร)	ความเข้มข้นของ ยาต้านจุลชีพ (ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้ายในจาน เลี้ยงเชื้อ อัตราส่วน 1 : 10 (ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร)
ความเข้มข้นที่ใช้ (ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร)	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิลิตร)			
1,000	6.4	3.2	640	64
640	2	2	320	32
640	1	3	160	16
640	1	7	80	8
80	2	2	40	4
80	1	3	20	2
80	1	7	10	1
10	2	2	5	0.5
10	1	3	2.5	0.25
10	1	7	1.25	0.125
1.25	2	2	0.625	0.0625
1.25	1	3	0.3125	0.0312

ตาราง 27 แสดงการเตรียมความเข้มข้นต่าง ๆ ของยาเมโทรไนด์ในดิลิวต์ Stock solution
1,250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สารละลายของยาต้านจุลชีพ		น้ำกลั่นซึ่งฆ่าเชื้อแล้ว	ความเข้มข้นของ ยาต้านจุลชีพ (ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้ายในจาน เลี้ยงเชื้อ อัตราส่วน 1 : 10 (ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร)
ความเข้มข้นที่ใช้	ปริมาณที่ใช้			
(ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร)	(มิลลิลิตร)	(มิลลิลิตร)	(มิลลิลิตร)	(มิลลิลิตร)
1,250	6	1.5	1,000	100
1,000	3	3	500	50
500	3	3	250	25
250	3	3	125	12.5
125	3	3	62.5	6.25
62.5	3	3	31.25	3.125
31.25	3	3	15.625	1.5625
15.625	3	3	7.8125	0.78125
7.8125	3	3	3.90625	0.390625
3.90625	3	3	1.953125	0.1953125
1.953125	3	3	0.9765625	0.09765625
0.9765625	3	3	0.4882812	0.04882812

การทดสอบความไวของแอนแอโรบิกแบคทีเรียต่อบาต้านจุลชีพ 8 ชนิด

บทคัดย่อ

ของ

ป๋อทิพย์ ลุ่มทุมทิพย์

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต

พฤษภาคม 2526

การหาความไวของแอนแอโรบส์ 114 เชื้อสายต่อยาต้านจุลชีพ 8 ชนิด โดยใช้ Agar dilution technique พบว่า แอนแอโรบส์ทั้งหมดมีความไวต่อคลอแรมเฟนิคอลและคลินดาไมซิน ที่ MIC 16 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ เพนิซิลลิน แอมพิซิลลิน และเซฟาโลสปินใช้ได้ผลดีกับเชื้อส่วนใหญ่ ยกเว้น *B. fragilis* เมโทรไนดาโซลยังยิ่งเชื้อที่ทดสอบได้ 89 - 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ใช้ไม่ได้ผลกับ *Propionibacterium* sp. อีริโทรรมัยซินใช้ได้ผลดีต่อ *Clostridium* sp., *Propionibacterium* sp., และ *E. lentum* ที่ MIC 2 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่ 66 - 80 เปอร์เซ็นต์ ของแอนแอโรบส์พวกอื่น ๆ มีความไวต่อยานี้ เตตราซัยคลินยังยิ่ง *Clostridium* sp. ได้ 91.7 เปอร์เซ็นต์ แต่ยั้งเชื้ออื่น ๆ ได้เพียง 15.4 - 66.7 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองครั้งนี้ยังพบเชื้อที่ดื้อต่อยาหลายชนิด *B. fragilis* ดื้อต่อยาเซฟาโลสปิน (69.2%) เตตราซัยคลิน (46.2%) และอีริโทรรมัยซิน (15.4%) เชื้อ *Peptococcus* และ *Peptostreptococcus* บางสายพันธุ์ดื้อต่อยาอีริโทรรมัยซินและเตตราซัยคลิน

SUSCEPTIBILITY TESTING OF ANAEROBIC BACTERIA TO
EIGHT ANTIMICROBIAL AGENTS

AN ABSTRACT

BY

CHAWTIP SUMTUMTIP

Presented in partial fulfillment of the requirements
for the Master of Education degree
at Srinakharinwirot University

May 1983

The susceptibility testing of 114 clinical isolates of anaerobic bacteria to 8 antimicrobial agents was determined by the agar dilution technique. All strains were inhibited by chloramphenicol and clindamycin at a concentration of 16 µg/ml and 4 µg/ml respectively. Penicillin, ampicillin and cephalothin were effective against most of the strains except *B. fragilis*. Metronidazole inhibited 89 - 100 % of the organisms tested but was ineffective against *Propionibacterium* sp. Erythromycin was active against *Clostridium* sp., *Propionibacterium* sp. and *E. lentum* at 2 µg/ml while 66 - 80 % of other anaerobic bacteria were sensitive to this drug. Tetracycline inhibited 91.7 % of *Clostridium* sp. but this drug was effective to only 15.4 - 66.7 % of other anaerobes. Multiple resistance was found in some isolates tested. *B. fragilis* was multiply resistant to cephalothin (69.2 %), tetracycline (46.2 %) and erythromycin (15.4 %). Some strains of *Peptococcus* and *Peptostreptococcus* were also multiply resistant to erythromycin and tetracycline.