

บทฟื้นฟูวิชาการ

# ความสำคัญของแอนแอโรบิก แบคทีเรียดิส สปีชีส ในทางแพทย์

นราทร ธรรมบุตร \*

สมใจ เหมัญประยูร \* อรุณลักษณ์ นาวานิรัตติชัย \*

**Dhamabutra N, Reinprayoon S, Navanirathsai A. The medical significance of anaerobic bacteroides species. Chula Med J 1986 Dec; 30(12) : 1245 - 1257**

*All Bacteroides species are obligately anaerobic Gram-negative pleomorphic bacilli and are normally human in habitat. Many of them possess the degradative enzyme Beta-lactamase that is the major problem in Beta-lactam antibiotic therapy, in serious anaerobic infections. The bacteriology of Bacteroides fragilis, B. melaninogenicus, and B. corrodens are described. The problems of antibiotic resistance by the bacteroides are also covered in this article.*

---

\* ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แอนแอโรบัสที่สำคัญในกลุ่มนี้คือ Family *Bacteroidaceae* และยีสที่สำคัญ คือ ยีส *Bacteroides* และ *Fusobacterium* แอนแอโรบัสเหล่านี้เป็นจุลินทรีย์ประจำในปากและทางเดินหายใจส่วนบน ตลอดจนภายในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ นอกจากนี้เป็นนอร์มัลฟลอราใน urogenital tract ของสตรี

แอนแอโรบัสที่อยู่ในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติพิเศษที่เรียกว่า pleomorphism คือมีจุลสัณฐานได้ทั้งเป็นบาซิลโลทรงแท่ง เป็น coccal form หรือเป็น filamentous form ลักษณะ pleomorphism บางพันธุ์มีมากบางพันธุ์มีน้อย แอนแอโรบิก *Bacteroides* species ต่าง ๆ มีรายงานก่อโรคติดเชื้อได้บ่อย เพราะเป็นแอนแอโรบัสที่มีเอ็นไซม์ Beta lactamase ทำให้แอนแอโรบัสนี้ต่อต้านปฏิชีวนะประเภท เบต้า แล็คแตม (Beta lactam antibiotics) คือกลุ่มเพนิซิลลิน และ ยาต้านบักเทรี cephalosporin แอนแอโรบัสกลุ่มนี้ก่อปัญหาที่สำคัญทางแพทย์มาก

แอนแอโรบัสยีส *Bacteroides* และ *Fusobacterium* ก่อโรคที่สำคัญ ต่อมนุษย์มากกว่าแอนแอโรบัสกลุ่มอื่น ตามปกติ ในมิกต์ อินเฟกชันส์ ย่อมมีบักเทรีรวมกัน หลายพันธุ์ เช่นแบคทีเรียเครซท์ ได้ บักเทรีถึง 10-20 สายพันธุ์เป็นอย่างน้อยจากไส้ติ่งแตกเข้าช่องท้อง อย่างไรก็ดี แม้ว่าในมิกต์ อินเฟกชันจะประกอบด้วย แอโรบัสและกลุ่มแอโรบัสหลายทียป์ (aerobic และ anaerobic components) แอนแอโรบัสที่แยกได้จาก มิกต์ อินเฟกชัน มิได้เป็นปาโรเจนัสทุกทียป์\*(1)

การนับจำนวนแอนแอโรบัสในลำไส้ใหญ่, สภาวะปกติปรากฏว่า แบคทีเรียดีส ที่พบมาก (numerically dominant) ในนอร์มัล ฟลอรา

ของอุจจาระคือ

- *B. distasonis*, - *B. vulgatus*, - *B. thetaiotaomicron*.

ที่พบน้อยราว ๆ ร้อยละ 5 ของ bacteroides microflora คือ *B. fragilis*. ในแนวทางกลับกัน สภาวะ clinical sepsis แบคทีเรียดีส พราจิลลิส กลับเป็นตัวปาโรเจนัสและแยกได้ (dominant) บ่อย เป็น 4 เท่าที่แบคทีเรียดีส อื่น ๆ รวมกัน และก่อโรคได้สัก 1 ครั้ง

ด้วยเหตุนี้ S L Gorbach จึงรายงานว่า "Certain anaerobes, very prevalent in the flora, are rarely found in infected material" และปัจจุบันมีรายงานจากนักวิจัยหลายท่านที่แสดงผลงานสนับสนุน Gorbach(2)

ใน Genus *Bacteroides* นี้ประกอบด้วยแอนแอโรบัสที่สำคัญทางแพทย์คือ *Bacteroides fragilis*\* *Bacteroides melaninogenicus* และ *Bacteroides corrodens*.

ในยีสนี้จะเรียงเรียงเฉพาะแอนแอโรบัสที่มีความสำคัญทางแพทย์ ทั้ง 3 สปีชีส์พร้อม ๆ กันไป

### 1. นิเวศวิทยา(3,4,5,6,6ก,7,8)

โดยปกติเป็นแอโรบัสอยู่ในลำไส้ตอนล่างเป็นส่วนมาก นอกจากนั้นพบได้ในช่องปาก และ upper respiratory tract แยกได้จากช่องท้อง ช่องปอด จากผู้ป่วยโรคทางระบบ genito-urinary tract และ brain abscess(1,2)

เมื่อไม่นานมานี้มีรายงานการพบ urethritis เนื่องจากแอนแอโรบัส *B. melaninogenicus* หลังจากรวมเพศสัมพันธ์แบบใหม่ (oral sexually behavior) อนึ่ง *Bacteroides corrodens* มีผู้พบทำให้เกิดการอักเสบในอวัยวะของสตรี

\* แอนแอโรบัส ประจำในลำไส้มีถึง 400 สปีชีส์.

\* ชื่อพ้องอื่น ๆ *Bacillus fragillis* และ *Fusiformis fragilis*.

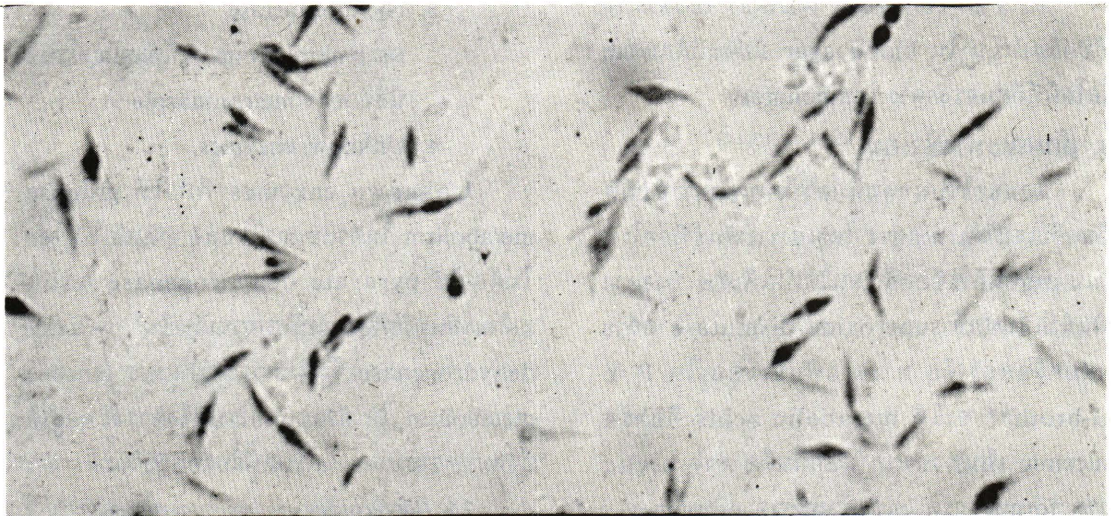
(pelvic inflammatory disease) และ *B. melaninogenicus* พบใน oropharynx นอกจากนี้ แอนแอโรบัสตัสนี้ยังพบใน mixed infection ในที่ต่าง ๆ เช่น ฝีในปอด ฝีในตับ ฝีที่ mastoid แผลในเหงือก และแผลในปาก ในธรรมชาติพบปนเปื้อนในน้ำทะเล กลุ่ม *Bacteroides* มีอยู่ร้อยละ 95 ใน normal fecal flora.

## 2. สันฐานวิทยา

### 2.1 จุดสันฐาน<sup>(9)</sup>

แอนแอโรบัสแกรมลบ ทรงแท่ง, non

motile มีรูปร่าง pleomorphism ปานกลาง เช่น อาจเป็น filamentous form, bacillary form หรือเป็น coccal form ในบางโอกาส แอนแอโรบัสตัสนี้เมื่อย้อมจาก broth จะเห็น vacuoles ทำให้ตัวจุลินทรีย์พองขึ้นดูคล้ายมีสปอร์ (รูปที่ 1) เมื่อย้อม Gram's stain จากสปีชีเมนต์ทางแพทย์โดยตรงจะเห็นลักษณะพองคล้ายสปอร์ได้เช่นกัน บางทีแอนแอโรบัสตัสนี้มีขนาดโตจนคล้ายกับ coliform bacilli



**Figure 1** Anaerobic *B. fragilis* showing bulging vacuoles (pleomorphic form) from trypticase blood (menadione) agar after 48 hrs. culture (Gram 1 × 1000).

*B. fragilis* บางสายพันธุ์มี capsules เป็น polysaccharide ซึ่งเชื่อกันว่าเป็นส่วนที่ทำให้ก่อโรคได้รุนแรงกว่าพันธุ์ที่ไม่มีแคปซูล ขนาดของ *B. fragilis* ประมาณ  $(1-2) \times 0.5$  ไมโครเมตร *B. melaninogenicus* มีรูปพรรณทรงแท่ง ติดสีเข้มตอนปลาย บางทีรูปทรงแท่งสั้นจนดูเหมือนค็อคไค และมีขนาด  $(1-3) \times 0.8$  ไมโครเมตร

*B. corrodens* มักจะเรียงตัวเป็นสาย ขนาด

0.4-2.0 ไมโครเมตร แอนแอโรบัสต์เหล่านี้ไม่เคลื่อนที่ ไม่มีสปอร์

### 2.2 มหสันฐาน<sup>(10,11)</sup>

2.2.1 *B. fragilis* ใน fresh blood agar หลัง 48 ชั่วโมง จะเห็นโคโลนี มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2-3 มิลลิเมตร ขอบโคโลนีกลมเรียบ ส่วน consistency ของโคโลนีมักจะขาวขุ่นและสะท้อนแสง Deep colonies มีลักษณะเหมือน

เลนซ์ใส (lenticular)

2.2.2 *B. melaninogenicus*\* เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงใน media ที่มีเลือดผสมอยู่ (blood agar), หลัง 48 ชั่วโมง โคลินีสีดำ เนื่องจากแอนแอโรบส์นี้สามารถใช้ hemin derivative, ฉะนั้นหลัง 24 ชั่วโมงโคลินีจะเป็นสีน้ำตาลอ่อนก่อน (light tan), หลัง 48 ชั่วโมงโคลินีจะเป็นสีดำ (shiny black) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคลินี 1-3 มิลลิเมตร กลม เรียบ convex Deep colonies ใน agar ที่มีเลือดโคลินีมีสีดำและเป็นจุดเล็ก (punctiform)

2.2.3 *B. corrodens* เติบโตช้า ไม่ผลิตก๊าซที่มีกลิ่นเหม็น ใน blood agar มักจะมีลักษณะโคลินีที่มีตุ่มตรงกลาง (umbonate)

### 3. ลักษณะทางชีวเคมี<sup>(10,11,12,13,14)</sup>

แอนแอโรบส์กลุ่มนี้มีความทนต่อการสัมผัสออกซิจีนได้ปานกลาง โดยเฉพาะพันธุ์ที่ก่อโรคในมนุษย์ทนก๊าซออกซิจีนได้เป็นพิเศษ บางสายพันธุ์มีเอนไซม์ superoxide dismutase คล้ายกลุ่มคลอสทริเดียม บางสายพันธุ์เมื่ออยู่ใน P Y G-broth\*\* จะให้ metabolic acids คือกรด succinic เป็นส่วนมาก นอกนั้นคือ กรด acetic กรด formic กรด lactic และกรด propionic

#### 3.1 *Bacteroides fragilis*

สามารถ hydrolyse esculin และ grow ได้ดีในอาหารปรุง (media) ที่มี bile อยู่ถึงร้อยละ 20 หนึ่ง *B. fragilis* ยัง “ดื้อ” ต่อปฏิชีวนะกลุ่ม amino-glycosides. โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คานามัยซิน ฉะนั้น คุณสมบัติที่ hydrolyse esculin, ทน bile ร้อยละ 20 และดื้อต่อ kanamycin จึงใช้เป็นหลักเพื่อแยกวิเคราะห์แอนแอโรบส์กลุ่มนี้ แอนแอโรบส์นี้ต้องการ menadione ขนาด 0.1 mcg./มิลลิลิตร

ช่วยเร่งการเจริญ (growth factor) เติบโต *Growth factor* ใช้วิตามินเคแทนได้

#### *Bacteroides fragilis*

— สามารถขับ

เอนไซม์หลายชนิด เช่น

##### 1. Beta lactamase

ทำให้แอนแอโรบส์นี้ “ดื้อ” ต่อยาต้านจุลินทรีย์ชนิด Beta lactams.

##### 2. Acetyl transferase

ทำให้แอนแอโรบส์นี้ “ดื้อ” ต่อ chloramphenicol ได้

##### 3. Nitro-reductase

ลด p-nitro group ทำให้แอนแอโรบส์นี้ดื้อต่อยา metronidazole

##### 4. Unknown enzymes.

Unknown enzymes ที่ทำให้ glucose metabolism ในตัวแอนแอโรบส์ดำเนินต่อไป โดยไม่ต้องใช้ pyruvate dehydrogenase ฉะนั้น ยาด้านจุลินทรีย์ที่ออกฤทธิ์รบกวนเอนไซม์ pyruvate dehydrogenase จึงไม่สามารถผันแปร glucose metabolism ได้ ตัวแอนแอโรบส์จึงดำรงชีพอยู่ได้ ซึ่งหมายความว่าแอนแอโรบส์นี้ดื้อต่อปฏิชีวนะดังกล่าว

#### 3.2 *Bacteroides melaninogenicus*<sup>(14,15,17)</sup>

แอนแอโรบส์นี้ต้องการ hemin และ menadione sulfate ช่วยเร่งให้ grow ดี นอกจากนั้น ต้องการ growth factor อื่น ซึ่งเห็นได้จากการที่แอนแอโรบส์นี้ร่วมกับแบคทีเรียแอโรบส์ใน mixed infection ก่อโรคแผลริมอ่อน แอนแอโรบส์นี้ได้อาศัยสาร naphthaquinone จากแอโรบิค diphtheroids ที่ขับออกมาให้

#### *B. melaninogenicus* - *B. asaccharolyticus*

เดิมประกอบด้วยแอนแอโรบส์หลายสายพันธุ์ โดย

\* ชื่อพ้องอีกคือ *B. nigrescens*, *Hemophilus melaninogenicus* และ *Fusiformis nigrescens*.

\*\* Peptone yeast extract glucose broth.

อาศัยคุณสมบัติของการสลายคาร์โบไฮเดรตและ  
สลายโปรตีน คือ subspecies *melaninogenicus*,

*intermedius*, *asaccharolyticus* (ตารางที่ 1)

**Table 1** General Characteristics of *Bacteroides melaninogenicus*.<sup>(16)</sup>

Various bacterial characteristics	<i>B. melaninogenicus</i> <i>ss. melaninogenicus</i>	<i>B. melaninogenicus</i> <i>ss. asaccharolyticus</i>	<i>B. niger</i>
1. Black colonies on laked blood	+	+	+
2. Indole production	-	±	-
3. H <sub>2</sub> S production	-	±	+
4. Nitrate reduction	-	±	-
5. Gas production	±	±	-
6. Bile survival	±	±	-
7. Motility	-	-	-
8. Acid produced from glucose	+	-	-
9. Saccharolytic property	Highly saccharolytic	Moderately saccharolytic	-
10. Proteolytic property	Non proteolytic	Moderately proteolytic	-
11. Black pigment in gelatin culture after several days incubation	-	-	+

3.3 *Bacteroides corrodens* เป็น obligate anaerobes ที่ชื่อและลักษณะมหสังฐานพ้องกับ *Eikenella corrodens*\* ซึ่งเป็น facultative anaerobes อย่างไม่เคร่งครัด แอนแอโรบัสทั้งสองพันธุ์มีมหสังฐาน (โคโลนี) ลักษณะเป็น "pitous" หรือ "corrode" (คล้ายแมลงสาบแทะ) บนผิวของ media เหมือนกัน

ในปัจจุบันแอนแอโรบัสทั้ง 2 มีลักษณะแตก

ต่างกันทางชีวเคมีและทางน้ำเหลือง (serology) แอนแอโรบัสนี้ไม่ liquified gelatin, ไม่มี การ fermentation คาร์โบไฮเดรตแต่สามารถ reduce-nitrate และผลิตก๊าซ H<sub>2</sub>S ได้

#### 4. Biological products<sup>(18,19,20,21)</sup>

4.1 *Bacteroides fragilis* สายพันธุ์ที่มี capsules สามารถยับยั้ง phagocytosis และยัง interfere ต่อเม็ดเลือดขาวที่จะทำลายจุลินทรีย์แอนแอโรบัสได้อีก

\* ชื่อพ้องจุลินทรีย์นี้คือ บัคเตรี HB-1 และ *B. ureolyticus*.

ด้วย (aerobic phagocytosis)

ตามปกติเม็ดเลือดขาวจะฆ่าปาโรเจนส์ได้ดีก็ต่อเมื่อปาโรเจนส์นั้นถูก opsonization โดย opsonin\* ก่อน *B. fragilis* มี unknown enzyme ที่ยับยั้งการจับ opsonin ทำให้แอนแอโรบัสต์นี้อยู่รอดในร่างกายได้ เพราะเม็ดเลือดขาว Neutrophils ฆ่า *B. fragilis* ไม่ได้ (non-opsonophagocytic killing neutrophil)

4.2 *Bacteroides melaninogenicus* มี toxin คล้าย endotoxin ของ aerobic gram negative bacilli และก่อเกิด Schwartzman phenomenon\*\* ได้

การฉีด toxin นี้เข้าใต้ผิวหนังสัตว์ทดลอง, วันรุ่งขึ้นฉีด toxin นี้เข้าหลอดเลือดสัตว์นั้น. ถ้าบริเวณที่ฉีดใต้ผิวหนังเกิด "necrosis" ใน 3-4 ชั่วโมง และถ้าฉีดต่ออีก 2 วันติดกันจะเกิด disseminated intravascular coagulation (DIC) แสดงให้เห็นการเกิดสภาวะ "endotoxemia"

4.3 *B. corrodens* ในขณะนี้ยังไม่ทราบแน่ชัดว่า ซ้ำสารพิษอะไรได้บ้าง

## 5. พยาธิกำเนิด<sup>(3,15,22,23,24)</sup>

กลวิธานก่อโรควังไม่ทราบแน่นอน การเกิดโรคมักเป็นในแบบร่วมจุลินทรีย์แอโรบัสต์ที่เรียกว่า mixed infection ฉะนั้น การที่แอนแอโรบัสต์นี้ถูกนำ (induced) ไปอยู่ผิดที่ที่เคยเป็นนอร์มัล ฟลอรา ย่อมเกิดการอักเสบรุนแรง

5.1 *B. fragilis* พันธุ์ที่มีแคปซูล เคยมีรายงานเกิดโรคอักเสบรุนแรง โดยแอนแอโรบัสต์กลุ่มนี้เกิดได้ทุกแห่งในร่างกาย เช่น เป็นฝีตามอวัยวะต่างๆ ในช่องปอด ช่องท้อง แผลในปาก ก๊าซแกงกรีน

อู้งเชิงกรานสตรีอักเสบ ฝีในสมอง ตลอดจนจนเกิดสภาวะเส้พติสีเมีย (*Bacteroides septicemia*).

*B. fragilis* ทำให้ช่องท้องอักเสบได้ร้อยละ 93 มากกว่าแอนแอโรบัสต์อื่น ๆ *B. fragilis* นี้เป็นส่วนสำคัญอย่างยิ่งในส่วนของ "late phase" ของ Biphasic nature ของ intra pelvic และ abdominal infections.

ในกรณีที่ผู้ป่วยสตรีเป็นโรคอู้งเชิงกรานอักเสบ pelvic inflammatory disease) แอโรบัสต์ที่เป็นปาโรเจนส์สำคัญในการเกิด "acute phase" คือ *Escherichia coli*

5.2 *B. melaninogenicus* มีรายงานให้เห็นว่าเมื่ออยู่ร่วมกับจุลินทรีย์อื่นใน mixed infection เช่น ในแผลริมอ่อน (male soft chancre) *B. melaninogenicus* เกื้อกูลจุลชีพอื่นและรับ growth factor\*\*\* จากแอโรบิก diphtheroids และ mixed infection นี้ทำให้เกิด soft chancre (potential pathogens) ที่หายได้ช้ากว่าที่เกิดจาก specific pathogen (*Hemophilus ducreyi*)

*B. melaninogenicus* เป็นเหตุของ non specific urethritis ในเพศชายสืบเนื่องจากเพศสัมพันธ์แนใหม่ (oral sexually behavior) หนองที่เกิดจาก *B. melaninogenicus* มักจะมีสีดำปนเนื่องจากแอนแอโรบัสต์นี้สร้าง pigment ได้ และหนองมักมีกลิ่นเหม็น

5.3 *B. corrodens* เป็นแอนแอโรบัสต์ประจำในช่องปาก ผู้ที่รักษาสุขภาพในช่องปากไม่ดี มักจะพบแอนแอโรบัสต์นี้เพิ่มจำนวนมากขึ้น แต่ก็ยังพิสูจน์ไม่ได้ว่า แอนแอโรบัสต์นี้ เป็นตัวก่อโรคปริทันต์โดยตรง

\* natural defensive substance ของ host.

\*\* นับได้ว่าเป็น specialized model ของ DIC precipitated โดย endotoxin.

\*\*\* naphthaquinone.

## 6. การวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการ<sup>(11,12,13, 14,16,25,26)</sup>

ในกลุ่ม anaerobic gram negative non sporeforming bacilli นั้น *B. fragilis* group นับว่าเป็นแอนแอโรบัสที่แยกได้มากที่สุด จาก clinical specimens

### 6.1 Gram's stain

ถ้าดูจาก clinical specimen โดยเฉพาะอย่างยิ่งจาก ascitic fluid, หรือจาก pleural fluid จะเห็น spore-like vacuoles ได้ชัดเจน (ภาพที่ 1) หรือถ้าเป็น *B. melaninogenicus* จะเห็นจุลสัณฐานแบบ coccobacillary form ได้ชัดเจน

### 6.2 UV-light-examination

โคโลนีที่สงสัยว่าจะเป็น *B. melaninogenicus* อาจใช้รังสี ultra-violet ในห้องมืด, ถ้า young colonies เป็น *B. melaninogenicus* จะเรืองแสงสีแดงอิฐ (red pigment)

### 6.3 Gas-liquid chromatography (GLC)

หนองหรือ body fluid สด ๆ นำมาดู volatile fatty acids โดยเครื่องมือ GLC เพื่อดู curve pattern ของ metabolic acids ที่ *Bacteroides* spp. ผลิตขึ้นโดยตรง หรือจะใช้การเพาะเลี้ยงแอนแอโรบัสใน PYG-broth\* ก่อน แล้วศึกษา metabolic acids โดยเครื่องมือ GLC ก็ได้ (indirect-method) ลักษณะ curve pattern จะเห็นได้ชัดเจนในเครื่องมือ GLC ถ้าแอนแอโรบัสที่สงสัยเป็น *Bacteroides* species จะเห็น "peaks" ของกรด butyric, กรด isobutyric, กรด isovaleric, และกรด succinic ชัดเจน

### 6.4 Dark field microscopy

ช่วยในการดูแอนแอโรบัสที่ย้อมติดสีไม่ดี ช่วยให้เห็นว่าแอนแอโรบัส motile หรือ non-motile และยังช่วยดูสัณฐานคล้ายสปอร์อีกด้วย

## 6.5 Direct หรือ indirect immuno-fluorescent-antibody test (F A)

ช่วย detect แอนแอโรบิก *B. fragilis* group และกลุ่มแอนแอโรบิก *B. melaninogenicus-B. ascharolyticus* ซึ่งเอา clinical specimens สดจากผู้ป่วยมาใช้โดยตรง วิธีนี้ใช้เวลาเพียง 1-2 ชั่วโมง แต่ก็ต้องอาศัยบุคลากรที่มีความชำนาญและการดูกล้อง fluorescence นาน ๆ อาจผิดพลาดได้ (tiring)

การวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการนี้ เป็น direct examination ซึ่งมีประโยชน์ต่อผู้ป่วยที่สงสัยว่าจะมี infection จากแอนแอโรบัสกลุ่มนี้ เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปประกอบกับ clinical features ของผู้ป่วย ทำให้ทราบได้เป็นเลา ๆ ว่าน่าจะเป็น *Bacteroides* spp. ตัวใด

## 6.6 การเพาะเลี้ยง Bacteroides

6.6.1 ใช้อาหารปรุง (media) ที่มี esculin และมี bile ผสมอยู่ด้วย นอกจากนั้นอาจเติม kanamycin เพื่อจะ inhibit growth ของจุลินทรีย์อื่น และทำให้ *Bacteroides* species grow ได้ดี อาหารปรุงควรใส่ menadione หรือวิตามินเค ซึ่งเป็น growth factor ลงไป ใน blood agar มี hemin ทำให้เห็น pigment ในโคโลนีของ *B. melaninogenicus* ได้ดี เมื่อได้โคโลนีของ suspected *Bacteroides* ควรทดสอบทาง fermentation ด้วย อย่างไรก็ตาม ข้อเสียของการเพาะเลี้ยง ต้องใช้เวลาถึง 4 วัน

6.6.2 อาหารปรุง enriched blood agar plate ที่มี kanamycin, vancomycin laked blood agar (ใช้ laked blood เพื่อให้ *B. melaninogenicus*-grows ได้ดีด้วย) media นี้เหมาะสำหรับ *Bacteroides* species

6.6.3 Phenyl ethyl alcohol blood agar

\* Peptone yeast extract glucose broth

เป็น media เพื่อให้ได้ผลเร็วขึ้นในการเร่งให้กลุ่ม *B. melaninogenicus* สร้าง pigment เร็วขึ้น

6.6.4 การทดสอบชีวเคมีอื่น ๆ อาจทดสอบ แอนแอโรบัสที่ให้กับ indole test, catalase test, esculin hydrolysis และการ grow ใน bile ร้อยละ 20, gelatin liquefaction, motility และ formate-fumarate stimulation

6.6.5 Immunologic methods เนื่องจากมีรายงานการ detect หา specific antibodies ชนิด Ig G ใน serum คนปกติ ฉะนั้น การหา specific antibodies titer จะมีประโยชน์ในทางวินิจฉัยโรคที่เกิดจาก *Bacteroides* infection

อนึ่ง *Bacteroides* species แบ่งเป็น 2 กลุ่ม โดยใช้ bile-resistant และ bile-sensitive เป็นหลักดังนี้

I Bile-resistant saccharolytic *Bacteroides* species

a. *B. fragilis* group

- ประกอบด้วย
- B. distasonis*,
- B. fragilis*
- B. ovatus*.
- B. thetaiotaomicron*,
- B. uniformis*,
- B. vulgatus*.

b. Non-*B. fragilis* group

- ประกอบด้วย
- B. egerthii*
- B. splanchnicus*.

II. Bile sensitive non pigmented and pigmented *Bacteroides* species ประกอบด้วย *B. bivius*, *B. copillosus*, *B. disiens*, *B. oralis*, *B. praeacutus*, *B. putredinis*, *B. rutredinicola* sub-species *brevis*, *B. ru-*

*minicola* subspecies *rutredinicola*, *B. corrodens*, *B. ascharolyticus*, *B. melaninogenicus* subspecies *melaninogenicus*.

ฉะนั้น การใช้อาหารปรุงที่มี bile ร้อยละ 20 จึงช่วยจำแนกแบคทีเรียยีส ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือกลุ่มที่ “ไว” และ “ดื้อ” ต่อ bile

ตามปกติเม็ดเลือดขาวจะฆ่าปาโรเจนส์ได้ดี ก็ต่อเมื่อปาโรเจนส์นั้นถูก opsonization โดย opsonin\* ก่อน *B. fragilis* มี unknown enzyme ที่ยับยั้งการจับ opsonin ทำให้แอนแอโรบัสนี้อยู่รอดในร่างกายได้ เพราะเม็ดเลือดขาว Neutrophils ฆ่า *B. fragilis* ไม่ได้ (non-opsonophagocytic killing neutrophil)

4.2 *Bacteroides melaninogenicus* มี toxin คล้าย endotoxin ของ aerobic gram negative bacilli และก่อเกิด Schwartzman phenomenon\*\* ได้

## 7. อาการแสดงทางคลินิก<sup>(3,22,27)</sup>

อาการแสดงขึ้นอยู่กับการติดเชื้อในเนื้อเยื่อที่ใดในร่างกายร่วมกับแบคทีเรียแอนแอโรบัส เช่น ปวดท้อง เมื่อมีโรค pelvic inflammatory diseases โรคทางปอดอักเสบ ทำให้ผู้ป่วยไอเรื้อรัง โรคเพศสัมพันธ์แบบใหม่ ทำให้ปัสสาวะแสบ หลังทำ oral sexually behaviors และมี black-dot-tint เบื้อง underwear

นอกจากนั้น มีรายงานการพบ *B. melaninogenicus* ก่อโรคต่อมไทรอยด์อักเสบ

## 8. วิจารณ์

จากการประชุมเรื่อง แอนแอโรบิก อินเฟกชันส์ แห่งภาคพื้นตะวันออกไกล ครั้งที่ 1 ณ เซอูล ประเทศเกาหลี เมื่อ 8-10 เมษายน 2527 สรุป

\* natural defensive substance ของ host.

\*\* นับได้ว่าเป็น specialized model ของ DIC precipitated โดย endotoxin.



ได้ว่า ของแอนแอโรบิก ปาโรเจนส์ มิได้เป็น *Clostridium* spp. เหมือนแต่เก่าก่อน *Bacteroides* spp. กลับแยกได้จากสปีชีส์ทางแพทย์ได้บ่อย และมีความสำคัญมากขึ้นทุกที ในบรรดา *Bacteroides* spp. นั้น *B. fragilis* นับว่ามีบทบาทสำคัญและเป็นแบบฉบับ (model) ถึงความพยายามในการ “ดื้อ” ยาต้านจุลชีพที่มีใช้กันในขณะนี้ ซึ่งจะเห็นได้จากการที่แอนแอโรบิสนี้มีกลวิธีหลาย ๆ อย่างที่สมบูรณ์แบบในการ ดื้อ ปฏิชีวนะ<sup>(1)</sup> (ซึ่งได้อธิบายไว้บ้างแล้วในหัวข้อพยาธิกำเนิด) ดังนี้ คือ ;

8.1 แอนแอโรบิสดื้อต่อยาโดยยับเอนไซม์ Betalactamase ทำลายยาเบต้า แล็คแตมทั้งกลุ่ม penicillin และกลุ่ม cephalosporins.

8.2 ทำลายยาเบต้า แล็คแตม unknown carrier ที่ไม่ใช่เอนไซม์ เบต้า แล็คตาเมส.

8.3 ทำลายยาเบต้า แล็คแตม โดยการลด nitro group ซึ่งเป็นส่วนสำคัญของ benzene ring ของ chloramphenicol.

8.4 ทำลายยาเบต้า แล็คแตม สร้างเอนไซม์ acetyl transferase ที่ทำลายยา chloramphenicol.

8.5 แอนแอโรบิสดื้อต่อยาโดยการผลิตเอนไซม์ nitro-reductase ทำให้ดื้อต่อยา metronidazole.

8.6 แอนแอโรบิส เปลี่ยน “เป้า” ที่ปฏิชีวนะ clindamycin เข้ามาทำลาย เมื่อลักษณะ “เป้า” เปลี่ยนไป, ปฏิชีวนะที่เข้ามาอีกหา “เป้า” จำเพาะไม่พบ แอนแอโรบิสก็ไม่ถูกทำลาย

นอกจากนี้ แอนแอโรบิสนี้ยังมีกลไกที่ “ดื้อ” ต่อยา aminoglycosides ได้อีกด้วย กลุ่ม aminoglycosides เช่น streptomycin หรือ gentamycin นั้น การออกฤทธิ์ทำลายจุลินทรีย์ facultative ได้ดีก็ต่ออาศัย energy-dependent-transport-system ซึ่งเป็น “electron transport” ยาเข้าไปในตัวแบคทีเรีย และต้องอาศัยก๊าซออกซิจีเจน หรือไนเตรทเป็นตัวรับรองสุดท้าย (terminal electron acceptor) ฉะนั้น ในสภาวะไร้ออกซิจีเจนรอบ ๆ ตัว *B. fragilis* หรือ คลีสสเตรียมเพอร์ฟรินเจนส์ ยาดังกล่าวไม่มีประสิทธิภาพที่จะเข้าไปในตัวแอนแอโรบิสดังกล่าวได้เลย ก็เท่ากับแอนแอโรบิสนั้นดื้อต่อยากลุ่ม aminogly โดยปริยาย แสดงให้เห็นว่า *B. fragilis* ดื้อยาในกลุ่ม Betalactam antibiotics เช่น ปฏิชีวนะ cefoxitin มีเปอร์เซ็นต์ต่ำมาก ปฏิชีวนะ piperacillin และ moxalactam ดื้อรองจาก cefoxitin ส่วนแอนติไบโอติก cefoperazone และ cefotaxime นับว่าไม่ดี (ตารางที่ 2)

Table 2 Resistant - *Bacteroides fragilis* from multicenter study.

Antimicrobial Agents	Percentage of Resistance	Drug concentration (>) mg/l.
Cefoxitin	6	(16)
Piperacillin	8	(64)
Moxalactam	19	(16)
Cefoperazone	51	(16)
Cefotaxime	45	(16)
Clindamycin	7	(4)
Tetracycline	60	(2)
Metronidazole	0	(8)
Chloramphenicol	0	(16)

\* Nord EE and Phillips I (eds.). Anaerobic infections. The role of tinidazole. Antimicro Chemother 1982; 10 : Supple A, p. 17.

Clindamycin นับว่าดี เพราะแอนแอโรบัส  
นี้ มีเปอร์เซ็นต์ที่น้อย

Tetracycline เคยนับว่าเป็นมาตรฐานใน  
การใช้รักษาโรค (standard treatment) ที่ก่อ  
โรคโดยแอนแอโรบัส ในปัจจุบันปรากฏว่ามี เฮอร์-  
เซ็นต์ที่แอนแอโรบัสนี้ตั้งสูงขึ้นมา ในปัจจุบัน  
เท่าที่ได้สำเร็จแอนตีไบโอติกเปปไซด์ เอเอ็นดี ที่ใช้  
กับกลุ่มจุลินทรีย์แอนแอโรบิก (โดยเฉพาะอย่างยิ่ง  
แอนแอโรบิก แบคทีเรียดีส ฟราจิลลิส) มีอยู่  
ด้วยกัน 5 กลุ่ม (รายงานข้อมูล)

ส่วนใหญ่ได้จากการทดสอบ แอนแอโรบัส  
ที่ได้จาก อินเฟกชัน บริเวณช่องท้องและอุ้งเชิง-  
กราน) คือ

- ก. กลุ่ม clindamycin-lincomycin.
- ข. กลุ่ม chloramphenicol.
- ค. กลุ่ม carbenicillin-ticarillin-pipera-

cillin.

ง. กลุ่ม cefoxitin-moxalactam.

จ. กลุ่ม nitroimidazole-metronidazole,  
onidazole และ linidazole.

*B. fragilis* ยังมี plasmid ที่รับและถ่าย  
ทอด “Resistance (R) factor” โดย con-  
jugation หรือ recombination R factor สู  
แอนแอโรบัสอื่นได้ ฉะนั้น แอนแอโรบัสนี้จะสามารถ  
“ดื้อ” ต่อ tetracycline หรือปฏิชีวนะใดก็ได้  
หนึ่ง ยาด้านจุลินทรีย์ประเภท co-trimoxazole  
(sulfamethoxazole + trimethoprim) มี ac-  
tivity ในการทำลายแอนแอโรบัสกลุ่มนี้น้อยมาก

จากตารางที่ 3 แสดงให้เห็นว่า penicillin G  
มี activity ดีกว่า penicillin V ampicillin  
และ amoxicillin

**Table 3** Susceptibility of non-sporeforming anaerobic Gram negative bacilli to various  
intensive antibiotics.<sup>(11)</sup>

Bacterium	Chloram- phenicol	Clinda- mycin	Erythro- mycin <sup>d</sup>	Metronid- azole	Cefox- itin	Ureido, carboxy, and piperazine penicillins <sup>b</sup>	Penicillin G and ampicillin	Tetra- cyclines <sup>e</sup>	Vanco- mycin <sup>d</sup>
<i>B. fragilis</i> group	S	I-S	R-I	S	I-S	I-S	R	R-I	R
Other <i>Bacteroides</i> spp.	S	S	I-S	S	S <sup>e</sup>	S <sup>e</sup>	I-S	I	R
<i>F. varium</i>	S	R-I	R	S	S <sup>e</sup>	S <sup>e</sup>	S <sup>e</sup>	I	R
Other <i>Fusobacterium</i> spp.	S	S	R	S	S <sup>f</sup>	S <sup>f</sup>	S	S	R

<sup>a</sup> R, Poor or inconsistent activity; I, moderate activity; S, good activity.

<sup>b</sup> Piperacillin, mezlocillin, azlocillin, carbenicillin, and ticarcillin.

<sup>c</sup> Doxycycline and minocycline are more active than tetracycline.

<sup>d</sup> Not approved by the Food and Drug Administration for anaerobic infections.

<sup>e</sup> A few strains are resistant.

<sup>f</sup> Rare strains are resistant.

Table 4 Susceptibility of the *B. fragilis* group to other beta-lactam antibiotics.<sup>(11)</sup>

Drug	% Susceptible at breakpoint
Imipenem (thienamycin) <sup>a</sup> .....	100
Cefotetan.....	90
Cefoperazone, moxalactam, apalcillin <sup>a</sup> .....	~ 70
Cefotaxime, cefmenoxime <sup>a</sup> , ceftazidime <sup>a</sup> .....	~ 50
Ceftizoxime, ceftriaxone <sup>a</sup> , cefpiramide <sup>a</sup> .....	~ 30
Cefuroxime.....	15

<sup>a</sup>Investigational drugs at present.

Penicillins อื่น ๆ เช่น methicillin, nafcillin, oxacillin, cloxacillin และ dicloxacillin มี activity น้อยต่อแอนแอโรบิกกลุ่มนี้ ในกลุ่ม cephalosporin, cefamandole ได้ผลต่อแอนแอโรบิกกลุ่มนี้มากกว่า cephalothin อย่างไรก็ดี erythromycin และ metromidazole นั้น องค์การอาหารและยา F.D.A.\* - ของอเมริกายังไม่รับรองว่าควรใช้กับ anaerobic infections

ยาด้านจุลินทรีย์ doxycycline และ minocycline ดีกว่า tetracycline ยาในกลุ่มนี้มีแนวโน้มไปในทางที่แอนแอโรบิกมีการ "ดื้อ" เพิ่มมากขึ้นทุกที

สำหรับประเทศไทย มีรายงานการศึกษาเอ็นซีเอ็ม เบต้าแล็คตาเมสในแอนแอโรบิกแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ ซึ่งในอนาคต เอ็นซีเอ็มที่แอนแอโรบิกนี้ขับออกมาจะก่อปัญหาอย่างยิ่ง<sup>(28)</sup> หน่วย แอนแอโรบิก ภาควิชาจุลชีววิทยา เห็นความสำคัญนี้และกำลังศึกษา\*\* คุณสมบัติของ *Beta lactamase plasmid* ที่สกัดได้ว่า มี isoelectric point เหมือนกันทุกสายพันธุ์หรือไม่? และ plasmid ที่พบนั้นจะถ่ายทอดข้ามเผ่าพันธุ์หรือไม่? ฉะนั้น ยิ่งศึกษาคิดค้นปฏิชีวนะชนิดใหม่เพียงใด ปัญหาเรื่อง "แอนแอโรบิกดื้อยา" ย่อมมีมากขึ้นเป็นปฏิกิริยาตรงตลอดไป

\* Food and Drug Administration, USA.

\*\* Project : A study of Isolated *B. fragilis* plasmid related *B* - lactamase from the Infectious Gynecologic Patients. Financial support by Rajdapisaksompoj Fund 1986.

## อ้างอิง

1. Narathorn D. Anaerobes of Medical Importance. 2 ed. (revised 1986). Bangkok : Unity Progress Publication, 1986. 133-173
2. Gorbach SL, Onderdonk AB, Bartlett JG, Louie T, Sallivan SN. Microbial synergy in experimental intra-abdominal abscess. *Infect Immun* 1976 Jan; 13(1) : 22-26
3. Narathorn D, Pirom K. Anaerobic *Bacteroides melaninogenicus* oral sexually urethritis : - the report case. *J Med Assoc Thai* 1984 Jul; 67 (7) : 427-431
4. Gorbach SL, Bartlett JB. Anaerobic infections (first of three parts). *N Engl J Med* 1974 May 23 ; 290 (21) : 1177-1183
5. Narathorn D. Anaerobic infection of intra and extra oropharyngeal cavity. *Chula Med J* 1985 Oct; 29 (10) : 1057-1067
6. นราทร ธรรมบุตร, พันิจ ทวีสิน, สุดาลักษณ์ ธีัญญาหาร. การศึกษาเปรียบเทียบจุลชีพในช่องปากและคอ ของนิสิตที่หลับ้าปากหรือหุบปาก. *จุฬาลงกรณ์เวชสาร* 2525 มกราคม ; 26 (1) : 5
6. Duerden BI. The isolation and identification of *Bacteroides* spp. from the normal human gingival flora. *J Med Microbiol* 1980 Feb; 13 (1) : 79-87
7. Narathorn D. Sripayak B, Tanyahan S. Bacterial flora of healthy and infected woman's vaginal and cervical areas. *Chula Med J* 1982 Nov ; 26 (6) : 529-542
8. Narathorn D, Pirom K. Bacteriology of penile lesions in the male Thai patients. *Chula Med J* 1984 Jul; 28 (7) : 745-768
9. Prévot AR. Manual for the Classification and Determination of the Anaerobic bacteria. 1 ed. Translated by Fretette V. Philadelphia : Lea and Febiger, 1966. 99, 100
10. Holdeman LV, Carto EP, Moore WEC. eds. Anaerobe Laboratory Manual, 4 ed. Blacksbery : Virginia Polytechnic Institute and State University, 1977. 33, 80
11. Lennette EH, Balows A, William JH Jr., Truant JP, eds. Manual of Clinical Microbiology. 4 ed. Washington : American Society for Microbiology, 1985. 458, 459
12. Phillips KD, Tearle PJ, Willis AT. Rapid diagnosis of anaerobic infection by gas-liquid chromatography of clinical material. *J Clin Pathol* 1976 May ; 29 (5) : 428-432
13. Chan PCK, Porschen RK. Evaluation of kanamycin-bile-esculin agar for isolation and identification of *Bacteroides fragilis* group. *J Clin Microbiol* 1971 ; 50 : 528-533
14. Gibbons RJ, Macdonal JB. Hemin and vitamin K compounds as required factors for the cultivation of certain strains of *Bacteroides melaninogenicus*. *J Bacteriol* 1960 Aug; 80 (2) : 164-170
15. Narathorn D, Pirom K. Isolation of *H. ducreyi* from the male chancroid. *Chula Med J* 1985 Aug ; 29 (8) : 915-922
16. Buchanan RE, Gibbons NE. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8 ed. Baltimore : Williams and Willkins, 1974. 400,410
17. Narathorn D. A pathogenic Anaerobic Bacterium : - *Eikenella corrodens*. *J Infect Dis Antimicrob* 1981 Jul-Aug; 4 (4) : 242-246
18. Onderdonk AB, Kasper DL, Cisneros RL, Bartlett JG. The capsular polysaccharide of *Bacteroides fragilis* as a virulence factor : com-

- parison of the pathogenic potential of encapsulated and unencapsulated strains. *J Infect Dis* 1977 Jul; 136 (1) : 82-89
19. Hofstad T. Antibodies reacting with lipopolysaccharide from *Bacteroides melaninogenicus*, *Bacteroides fragilis* and *fusobacterium nucleatum* from normal human subjects. *J Infect Dis* 1974 Mar ; 129 (3) : 349-352
20. Tofte RW, Peterson PK, Schmeling D, Bracke J, Kim Y. Opsonization of four *Bacteroides* species : role of the classical complement pathway and immunoglobulin. *Infect Immun* -1980 Mar; 27 (3) : 784-792
21. Casiato DA, Rosenblatt JE, Goldberg LS, Bluestone RB. In vitro interaction of *Bacteroides fragilis* with polymorphonuclear 1 leucocytes and serum factors. *Infect Immun* 1975 Feb; 11 (2) : 337-342
22. McGowan K, Gorbach SL. Anaerobes in mixed infections. *J Infect Dis* 1981 Aug ; 144 (2) : 181-186
23. Bartlett JG, Gorbach SL, Finegold SM. The bacteriology of aspiration pneumonia. *Am J Med* 1974 Feb; 56 (2) : 202-207
24. Narathorn D. Biphasic nature of intra abdominal and pelvic infections. *Bull Infect Dis Assoc Thai* 1982 Jul-Aug; 5 (4) : 208-216
25. Livingston SJ, Kominos SD, Yee RB. New medium for selection and presumptive identification of the *Bacteroides fragilis* group. *J Clin Microbiol* 1978 May; 7 (5) : 448-453
26. Gorbach SL, Mayhew JW, Bartlett JG, Thadepalli H, Onderdonk AB. Rapid diagnosis of anaerobic infections by direct gas-liquid chromatography of clinical specimens. *J Clin Invest* 1976 Feb ; 57 (2) : 478-484
27. Sharma RK, Rapkin RH. Acute suppurative thyroiditis caused by *Bacteroides melaninogenicus*. *JAMA* 1974 Sep 9 ; 229 (11) : 1470
28. Boonlaw S, Narathorn D, Pirom K, Boontiam P, David JM, Evaluation of beta-lactamase-producing anaerobes from healthy and diseased subjects. *Chula Med J* 1985 Oct; 29 (10) : 1105-1114