การสร้างแบบจำลองทางเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ เพื่อประเมินฤทธิ์ทางห้องปฏิบัติการของฟอสโฟมัยซิน ต่อเชื้อเอสเชอริเชีย โคไล ที่มีการสร้างเอนไซม์เบต้าแลคทาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย

นายประสิทธิชัย พูลผล

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเภสัชกรรมคลินิก ภาควิชาเภสัชกรรมปฏิบัติ
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2558
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PHARMACOKINETIC/PHARMACODYNAMIC MODELING TO EVALUATE IN VITRO ACTIVITY OF FOSFOMYCIN AGAINST EXTENDED-SPECTRUM ß-LACTAMASE-PRODUCING *ESCHERICHIA COLI*

Mr. Prasittichai Poonphol

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy Program in Clinical Pharmacy
Department of Pharmacy Practice
Faculty of Pharmaceutical Sciences
Chulalongkorn University
Academic Year 2015

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การสร้างแบบจำลองทางเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ เพื่อประเมินฤทธิ์ทางห้องปฏิบัติการของฟอสโฟมัยซิน ต่อเชื้อเอสเชอริเชีย โคไล ที่มีการสร้างเอนไซม์เบต้าแลคทาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย
โดย	นายประสิทธิชัย พูลผล
สาขาวิชา	เภสัชกรรมคลินิก
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เภสัชกร ดร.วันชัย ตรียะประเสริฐ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	อาจารย์ ดร.ธนิษฐา ฉัตรสุวรรณ

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะเภสัชศาสตร์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ดร.รุ่งเพ็ชร สกุลบำรุงศิลป์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ดร.ธิติมา เพ็งสุภาพ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เภสัชกร ดร.วันชัย ตรียะประเสริฐ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์ ดร.ธนิษฐา ฉัตรสุวรรณ)

.....กรรมการ

(อาจารย์ เภสัชกรหญิง ดร.ธิติมา วัฒนวิจิตรกุล)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เภสัชกร ดร.วิชัย สันติมาลีวรกุล)

ประสิทธิชัย พูลผล : การสร้างแบบจำลองทางเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ เพื่อประเมินฤทธิ์ทางห้องปฏิบัติการของฟอสโฟมัยซิน ต่อเชื้อเอสเชอริเชีย โคไล ที่มีการสร้างเอนไซม์เบต้าแลคทาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย (PHARMACOKINETIC/PHARMACODYNAMIC MODELING TO EVALUATE IN VITRO ACTIVITY OF FOSFOMYCIN AGAINST EXTENDED-SPECTRUM β-LACTAMASE-PRODUCING *ESCHERICHIA COLI*) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. ภก. ดร.วันชัย ตรียะประเสริฐ, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: อ. ดร.ธนิษฐา ฉัตรสุวรรณ, 103 หน้า.

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ทางห้องปฏิบัติการของฟอสโฟมัยซินต่อเชื้อ เอสเชอริเชีย โคไล ที่มีการสร้างเอนไซม์เบต้าแลคทาเมสชนิดขยาย (*E. coli* producing ESBL) จากกราฟการฆ่าเชื้อและวิเคราะห์หาแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ (PK/PD model) ในการสร้างกราฟการฆ่าเชื้อนั้น ใช้เชื้อ *E. coli* ESBL (L2EN49) ที่ผ่านการหาค่า MIC ว่ามีความไวต่อยาฟอสโฟมัยซิน (MIC=32 มคก./มล.) ความเข้มข้นของยาฟอสโฟมัยซินที่ใช้คือ 0.25-16 เท่าของค่า MIC (8-512 มคก./มล.) ทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12 และ 24 ชั่วโมง ผลที่ได้พบว่าที่ความเข้มข้นที่ต่ำกว่าค่า MIC (0.25x-1xMIC) ยามีความสามารถในการฆ่าเชื้อที่เวลา 2-4 ชั่วโมงแต่พบการเพิ่มขึ้นของเชื้ออีกครั้ง สำหรับที่ความเข้มข้นที่มากกว่าค่า MIC (2x-16xMIC) พบว่ายาสามารถฆ่าเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ภายใน 1 ชั่วโมงและไม่พบการเพิ่มจำนวนขึ้นของเชื้ออีก ในการวิเคราะห์หาแบบจำลอง PK/PD นั้นพบว่ารูปแบบสมการที่จะให้ความสอดคล้องพอดีของรูปกราฟจะต้องประกอบด้วยตัวแปรในสมการคือ จำนวนเชื้อสูงสุด (N_{max}), ระยะปรับการเข้าสู่เจริญ (Exp^{yt}), ระยะเริ่มของการเพิ่มจำนวน (Exp^{-zt}) และระยะเริ่มของการฆ่าเชื้อ ($1-Exp^{-zt}$) จากการศึกษาพบว่าแบบจำลอง PK/PD ที่ได้จากกราฟการฆ่าเชื้อกับเวลาเป็นอีกวิธีหนึ่งที่เหมาะสมสำหรับใช้ประเมินฤทธิ์ทางห้องปฏิบัติการของยาฟอสโฟมัยซินต่อเชื้อ *E. coli* ESBL

ภาควิชา เภสัชกรรมปฏิบัติ ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา เภสัชกรรมคลินิก ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

ปีการศึกษา 2558 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....

5576212133 : MAJOR CLINICAL PHARMACY
KEYWORDS: FOSFOMYCIN / TIME-KILL STUDY / ESCHERICHAI COLI / EXTENDED-SPECTRUM B-LACTAMASE

PRASITTICHAI POONPHOL: PHARMACOKINETIC/PHARMACODYNAMIC MODELING TO EVALUATE IN VITRO ACTIVITY OF FOSFOMYCIN AGAINST EXTENDED-SPECTRUM β-LACTAMASE-PRODUCING *ESCHERICHIA COLI*. ADVISOR: ASST. PROF. WANCHAI TREYAPRASERT, Ph.D., CO-ADVISOR: TANITTHA CHATSUWAN, Ph.D., 103 pp.

The aim of this study was to evaluate the *in vitro* antimicrobial activity of fosfomycin against clinical isolate of extended-spectrum beta-Lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* strains from time-kill curves and to develop PK/PD modeling. The *E. coli* ESBL (L2EN49) which was a susceptible strain with MIC breakpoint for fosfomycin of 32 µg/mL was selected in time–kill study. The range of fosfomycin concentrations from 0.25 to 16 times of the MIC (8 to 512 µg/mL) were tested in the time-kill study. The patterns of antimicrobial activity of fosfomycin against *E. coli* ESBL were evaluated at 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12 and 24 hr. At the concentrations of minimum inhibition of bacterial growth (0.25 x to 1 × MIC), fosfomycin exhibited the bactericidal effect for 2-4 h and then regrowth. For the concentrations of bacterial killing (2 x to 16 x MIC), fosfomycin exhibited completely bactericidal effect within 1 h, without regrowth. PK/PD models showed that appropriate models that gave good curve fits to describe the growth and killing effects included additional terms for saturation of the number of bacteria (N_{max}), the delay in bacterial growth phase (exp^{yt}), the onset in bacterial regrowth phase (exp^{-zt}), and the onset of killing activity ($1-exp^{-zt}$). Time-kill curve and PK/PD model approach could be used to evaluate *in vitro* antimicrobial activity of fosfomycin against *E. coli* ESBL.

Department:	Pharmacy Practice	Student's Signature .....
Field of Study:	Clinical Pharmacy	Advisor's Signature .....
Academic Year:	2015	Co-Advisor's Signature .....

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วันชัย ตรียะประเสริฐ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลักที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำ วิธีแก้ไขปัญหาต่างๆที่เกิดขึ้น ตลอดจนให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดีในการจัดทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. ธนิษฐา ฉัตรสุวรรณ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้ คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือรวมถึงประสานงานในการใช้ห้องปฏิบัติการ จัดหาตัวอย่างเชื้อและอุปกรณ์ต่างๆ และขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย พี่ๆน้องๆนิสิตบัณฑิตศึกษาของภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่มีส่วนให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ และเป็นกำลังใจตลอดการดำเนินการวิจัย

ขอขอบพระคุณกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่าน ที่กรุณาให้คำแนะนำที่มีประโยชน์ในการทำวิทยานิพนธ์ ตรวจแก้วิทยานิพนธ์รวมถึงให้กำลังใจแก่ผู้วิจัย

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย ที่สนับสนุนเงินทุนในการทำวิจัยในครั้งนี้ ภายใต้ชื่อ “ทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์สำหรับนิสิต”

ท้ายสุดผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ครอบครัวของข้าพเจ้า คณาจารย์ทุกๆท่านในภาควิชาเภสัชกรรมปฏิบัติ เพื่อนๆร่วมรุ่น รวมไปถึงทุกท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้องที่ให้คำแนะนำและให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยมาโดยตลอด จนทำให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จได้ด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญรูปภาพ ..... ญ

บทที่ 1 บทนำ 1

วัตถุประสงค์ 2

สมมติฐานการวิจัย 2

ขอบเขตการวิจัย 3

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

นิยามศัพท์เฉพาะของงานวิจัย 3

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

แบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์สำหรับยาต้านจุลชีพ 4

ข้อมูลยาฟอสโฟมัยซิน 11

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย 17

บทที่ 4 ผลการวิจัย 31

การศึกษากราฟฆ่าเชื้อกับเวลา 31

การสร้างแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ 47

บทที่ 5 อภิปรายผล 89

บทที่ 6 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 93

สรุปผลการวิจัย 93

หน้า

การนำไปประยุกต์ใช้ทางคลินิก 95
ข้อเสนอแนะ 95
รายการอ้างอิง 96
ภาคผนวก 100
ภาคผนวก ก แบบบันทึกข้อมูลทั่วไปของเชื้อแบคทีเรีย 101
ภาคผนวก ข แบบบันทึกข้อมูลจำนวนเชื้อแบคทีเรีย ณ เวลาใดๆ (Time-kill curves) 102
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 103

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 จุดตัดความไวของยาฟอสโฟมัยซิน ต่อเชื้อ *E. coli* ตามเกณฑ์ของ CLSI 13

ตารางที่ 2 ค่า Pharmacokinetics ของยา fosfomycin 14

ตารางที่ 3 เชื้อแบคทีเรีย สายพันธุ์ และค่า MIC จากวิธี Agar dilution 31

ตารางที่ 4 เชื้อแบคทีเรีย สายพันธุ์ และค่า MIC จากวิธี broth dilution 32

ตารางที่ 5 จำนวนเชื้อแบคทีเรียกับเวลาของชุดควบคุมและที่ความเข้มข้นของ
สารละลายยาฟอสโฟมัยซิน 0.25MIC, 0.5MIC และ 1MIC 35

ตารางที่ 6 จำนวนเชื้อแบคทีเรียกับเวลาที่ความเข้มข้นของสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน
2MIC และ 4MIC 37

ตารางที่ 7 จำนวนเชื้อแบคทีเรียกับเวลาที่ความเข้มข้นของสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน
4MIC หลังเพิ่มเวลาเก็บตัวอย่าง 39

ตารางที่ 8 จำนวนเชื้อแบคทีเรียกับเวลาที่ความเข้มข้นของสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน
8MIC และ 16MIC 41

ตารางที่ 9 รูปแบบสมการที่ใช้หาค่า k_0 47

ตารางที่ 10 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์และค่าสถิติที่ได้จากแบบจำลอง
ของสมการที่ 17-32 49

ตารางที่ 11 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์และค่าสถิติที่ได้จากแบบจำลอง
ของสมการที่ 1-16 58

ตารางที่ 12 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์และค่าสถิติที่ได้จากสมการแบบจำลอง
เภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ 68

ตารางที่ 13 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์และค่าสถิติที่ได้จากแบบจำลองของสมการที่ 33 79

ตารางที่ 14 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์และค่าสถิติที่ได้จากแบบจำลองของสมการที่ 7-1 .. 80

ตารางที่ 15 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์และค่าสถิติที่ได้จากแบบจำลองของสมการที่ 34 82

ตารางที่ 16 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์และค่าสถิติที่ได้จากแบบจำลองของสมการที่ 35 86

สารบัญรูปภาพ

ภาพที่ 1 แสดงการบูรณาการกราฟระหว่างความเข้มข้นของยากับเวลา (PK) และกราฟระหว่างฤทธิ์ทางเภสัชวิทยากับความเข้มข้นของยา (PD)..... 4

ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของยาฟอสโฟมัยซิน 11

ภาพที่ 3 แสดงการเตรียมสารละลายฟอสโฟมัยซินให้มีความเข้มข้นในช่วง 0.15-2,560 µg/ml 22

ภาพที่ 4 แสดงการลักษณะของ tube ใส่สารละลายเชื้อที่จะทำการ inoculum..... 23

ภาพที่ 5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเชื้อแบคทีเรียกับเวลาที่ความเข้มข้นของสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน 0.25MIC , 0.5MIC และ 1MIC..... 36

ภาพที่ 6 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเชื้อแบคทีเรียกับเวลาที่ความเข้มข้นของสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน 2MIC และ 4MIC..... 38

ภาพที่ 7 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเชื้อแบคทีเรียกับเวลาที่ความเข้มข้นของสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน 2MIC และ 4MIC หลังเพิ่มเวลาเก็บตัวอย่าง 40

ภาพที่ 8 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเชื้อแบคทีเรียกับเวลาที่ความเข้มข้นของสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน 8MIC และ 16MIC..... 42

ภาพที่ 9 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเชื้อแบคทีเรียกับเวลาที่ความเข้มข้นของสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน0.25MIC, 0.5MIC, 1MIC, 2MIC, 4MIC, 8MIC และ 16MIC 43

ภาพที่ 10 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 17..... 50

ภาพที่ 11 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 18..... 50

ภาพที่ 12 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 19..... 51

ภาพที่ 13 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 20..... 51

ภาพที่ 14 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 21..... 52

ภาพที่ 15 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 22..... 52

ภาพที่ 16 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 23..... 53

ภาพที่ 17 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 24..... 53

ภาพที่ 18 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 25..... 54

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาพที่ 19 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 26 54
ภาพที่ 20 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 27 55
ภาพที่ 21 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 28 55
ภาพที่ 22 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 29 56
ภาพที่ 23 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 30 56
ภาพที่ 24 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 31 57
ภาพที่ 25 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 32 57
ภาพที่ 26 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 1 60
ภาพที่ 27 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 2 60
ภาพที่ 28 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 3 61
ภาพที่ 29 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 4 61
ภาพที่ 30 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 5 62
ภาพที่ 31 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 6 62
ภาพที่ 32 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 7 63
ภาพที่ 33 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 8 63
ภาพที่ 34 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 9 64
ภาพที่ 35 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 10 64
ภาพที่ 36 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 11 65
ภาพที่ 37 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 12 65
ภาพที่ 38 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 13 66
ภาพที่ 39 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 14 66
ภาพที่ 40 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 15 67
ภาพที่ 41 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 16 67
ภาพที่ 42 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 1 70

ภาพที่ 43 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 2 70
ภาพที่ 44 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 3 71
ภาพที่ 45 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 4 71
ภาพที่ 46 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 5 72
ภาพที่ 47 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 6 72
ภาพที่ 48 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 7 73
ภาพที่ 49 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 8 73
ภาพที่ 50 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 9 74
ภาพที่ 51 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 10 74
ภาพที่ 52 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 11 75
ภาพที่ 53 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 12 75
ภาพที่ 54 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 13 76
ภาพที่ 55 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 14 76
ภาพที่ 56 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 15 77
ภาพที่ 57 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 16 77
ภาพที่ 58 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 33 79
ภาพที่ 59 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 33 และสมการที่ 7-1 81
ภาพที่ 60 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 34 ที่ความเข้มข้นของยา 0.25MIC 83
ภาพที่ 61 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 34 ที่ความเข้มข้นของยา 0.5MIC 83
ภาพที่ 62 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 34 ที่ความเข้มข้นของยา 1MIC 84

ภาพที่ 63 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 34
ที่ความเข้มข้นของยา 0.25MIC, 0.5MIC และ 1MIC 84

ภาพที่ 64 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 34
ที่ความเข้มข้นของยา 2MIC, 4MIC และ 8MIC 85

ภาพที่ 65 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์สมการที่ 35
ที่ความเข้มข้นของยา 2MIC 86

ภาพที่ 66 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 35
ที่ความเข้มข้นของยา 4MIC 87

ภาพที่ 67 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 35
ที่ความเข้มข้นของยา 8MIC 87

ภาพที่ 68 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 35
ที่ความเข้มข้นของยา 2MIC, 4MIC และ 8MIC 88

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1
บทนำ

แบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ (Pharmacokinetic/Pharmacodynamic modeling :PK/PD model) เป็นเครื่องมือที่ช่วยในการอธิบายฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ใช้ตัดสินใจในการเลือกใช้ยาต้านจุลชีพให้ถูกชนิด ถูกขนาด ถูกช่วงเวลา และประเมินผลการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพ [1] แบบจำลองที่นิยมใช้ในการประเมินฤทธิ์การฆ่าเชื้อของยาต้านจุลชีพ ได้แก่ แบบจำลองทางเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์โดยอาศัยค่าความเข้มข้นของยาต้านจุลชีพต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (PK/PD base on MIC) และแบบจำลองทางเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ที่อาศัยข้อมูลจากกราฟการฆ่าเชื้อ (PK/PD base on time-kill curve) [2, 3]

PK/PD base on time-kill curve เป็นแบบจำลองที่สามารถใช้อธิบายอัตราการฆ่าเชื้อด้วยความเข้มข้นของระดับยาที่แตกต่างกัน ณ เวลาต่าง ๆ จึงถูกนำมาใช้เพื่อทำนายฤทธิ์การฆ่าเชื้อของยาต้านจุลชีพในหลายๆกลุ่ม เช่น β -lactams, fluoroquinolones, macrolides [4]

ปัจจุบันเชื้อจุลชีพก่อโรคในคน มีแนวโน้มการดื้อยาต้านจุลชีพมากขึ้น จนเป็นปัญหาที่สำคัญของหลายประเทศ จากรายงานสถานการณ์เชื้อดื้อยาในประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2543–2555 พบว่าเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดในประเทศไทย มีแนวโน้มดื้อยาเพิ่มขึ้น ได้แก่ เชื้ออะซีนีโตแบคเตอร์ บอแมนนิอาย (*Acinetobacter baumannii*) เชื้อสเตรปโตค็อกคัส นิวโมเนีย (*Streptococcus pneumoniae*) เชื้อเอสเชอริเชีย โคไล (*Escherichia coli*) และเชื้อสูโดโมแนส แอรูจิโนซา (*Pseudomonas aeruginosa*) และจากรายงานการดื้อยาของเชื้อ *E. coli* พบว่าเกิดจากการที่เชื้อจุลชีพมีการสร้างเอนไซม์ Extended spectrum β lactamase (ESBL) ร้อยละ 28-69% [1, 5] เป็นผลทำให้เชื้อ *E. coli* ดื้อยาในกลุ่ม oxyimino-cephalosporins เช่น ceftriaxone, ceftazidime, cefepime เป็นต้น [6] ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลของศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาแห่งชาติ กระทรวงสาธารณสุข ที่พบว่าในปี พ.ศ. 2554 เชื้อ *E. coli* ดื้อต่อยา ceftriaxone ร้อยละ 25.95 [1] และคาดว่าจะมีแนวโน้มสูงขึ้นลำดับ จากสถานการณ์เชื้อดื้อยาข้างต้นได้สะท้อนถึงปัญหาเชื้อดื้อยาของประเทศไทยที่มีความรุนแรงยิ่งขึ้น ทำให้มียาต้านจุลชีพที่สามารถเลือกใช้ได้น้อยลงและการพัฒนายาใหม่เพื่อการรักษาอาจไม่ทันการณ์ในการควบคุมเชื้อดื้อยาที่แพร่กระจายอย่างรวดเร็ว [1] จึงมีการนำเอายาต้านจุลชีพชนิดเก่ากลับมาใช้เพื่อเป็นอีกทางเลือกในการรักษา เช่น โคลิสติน (colistin) และฟอสโฟมัยซิน (fosfomycin) เป็นต้น นอกจากนี้ยังต้องนำความรู้ทางด้านจุลชีววิทยา เภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์และผลการศึกษาทางคลินิกมาประยุกต์ใช้เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพและความปลอดภัยสูงสุด

ฟอสโฟมัยซิน เดิมชื่อ phosphonomycin ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย เป็นยาที่ออกฤทธิ์กว้างต่อเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ โดยเฉพาะสามารถทำลายเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*, เชื้อ *Staphylococcus aureus* ชนิดที่ไวและดื้อต่อยา methicillin (methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA), methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), เชื้อกลุ่ม *Streptococcus* spp. ทั้งชนิดที่ไวและดื้อต่อยา penicillin (penicillin-sensitive *Streptococcus pneumoniae* (PSSP), penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* (PRSP) , เชื้อ *Escherichia coli*, เชื้อ *Klebsiella pneumoniae*, เชื้อกลุ่ม Enterobacter spp. เป็นต้น [7] โดยรูปแบบของยามี 2 รูปแบบคือ แบบรับประทาน ซึ่งยาอยู่ในรูปของ ฟอสโฟมัยซิน โทรมิทามีน (Fosfomycin tromethamine) และรูปแบบฉีดเข้าหลอดเลือดดำซึ่งยาอยู่ในรูปของ ฟอสโฟมัยซิน ไดโซเดียม (Fosfomycin disodium) เนื่องจากยานี้สามารถใช้ได้กับเชื้อหลายชนิดและมีรายงานการศึกษาทางคลินิกใช้รักษาการติดเชื้อแบคทีเรียชนิดดื้อยา เช่น Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), เชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่สร้างเอนไซม์ β-lactamases ชนิด extended spectrum β-lactamases (ESBLs) เป็นต้น รวมถึงเป็นยาที่มีรายงานการเกิดอาการไม่พึงประสงค์น้อย จึงเป็นยาทางเลือกที่มีการสั่งใช้ในการใช้รักษาผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ *E. coli* ชนิดที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL เพิ่มมากขึ้น [8]

อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาข้อมูลกราฟการฆ่าเชื้อ (time-kill curve) ของฟอสโฟมัยซินต่อเชื้อ *E. coli* ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ของฟอสโฟมัยซิน ในการต้านเชื้อ *E. coli* ชนิดที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL โดยอาศัยกราฟการฆ่าเชื้อและสร้างแบบจำลองทางเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ เพื่อใช้ประเมินฤทธิ์ทางห้องปฏิบัติการของฟอสโฟมัยซิน ในการฆ่าเชื้อ *E. coli* ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL

วัตถุประสงค์

ศึกษาฤทธิ์ของฟอสโฟมัยซิน ในการต้านเชื้อ *E. coli* ชนิดที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL และสร้างแบบจำลองทางเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ เพื่อใช้ประเมินฤทธิ์ทางห้องปฏิบัติการของฟอสโฟมัยซิน ในการฆ่าเชื้อ *E. coli* ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL

สมมติฐานการวิจัย

แบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์โดยอาศัยกราฟการฆ่าเชื้อ สามารถใช้ประเมินฤทธิ์ฟอสโฟมัยซิน ในการฆ่าเชื้อ *E. coli* ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL ในหลอดทดลองได้

ขอบเขตการวิจัย

ในการศึกษาครั้งนี้ทำการศึกษาเฉพาะในเชื้อ *E. coli* ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL สายพันธุ์ที่มีการเพาะเชื้อเก็บไว้ที่ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ทราบฤทธิ์ของฟอสโฟมัยซินในการต้านเชื้อ *E. coli* ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL ในหลอดทดลอง
2. ได้สมการแบบจำลองทางเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ที่ใช้ประเมินฤทธิ์ของยาฟอสโฟมัยซิน
3. ได้แนวทางในการเลือกใช้ยาฟอสโฟมัยซินในการต้านเชื้อ *E. coli* ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL

นิยามศัพท์เฉพาะของงานวิจัย

1. พารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์

หมายถึง ปัจจัยที่อธิบายถึงกระบวนการดูดซึม กระบวนการกระจายของยาไปตามเนื้อเยื่อต่าง ๆ กระบวนการเมตาบอลิซึมของยาในร่างกายและกระบวนการกำจัดยาออกจากร่างกาย ซึ่งส่งผลต่อการทำนายระดับยาในกระแสเลือด ได้แก่ ค่าคงที่ของการดูดซึมยา ค่าคงที่ของการกำจัดยา [9]

2. พารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์

หมายถึง ปัจจัยที่อธิบายถึงความสามารถในการฆ่าเชื้อจากความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของระดับยาในกระแสเลือดกับเวลา ได้แก่ ระดับยาในกระแสเลือด ความเข้มข้นของยาที่ให้ผลฆ่าเชื้อร้อยละ 50 อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อขณะไม่สัมผัสยาต้านจุลชีพ และอัตราการฆ่าเชื้อสูงสุด [9]

3. แบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์

หมายถึง สมการทางคณิตศาสตร์ที่สามารถทำนายฤทธิ์การต้านเชื้อของยาต้านจุลชีพโดยการนำพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์และพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์มาใช้อธิบายฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพและแสดงผลออกมารูปของขนาดยาที่ให้และจำนวนเชื้อที่เปลี่ยนแปลง ณ เวลาต่าง ๆ [3, 9]

4. เชื้อ *Escherichia coli* ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL

หมายถึง เชื้อ *Escherichia coli* ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL ในการศึกษานี้ กำหนดให้เป็นเชื้อที่ได้ ผ่านการตรวจสอบการด้วยวิธี combination discs method ว่ามีการสร้างเอนไซม์ ESBL และมีการเพาะเก็บไว้ที่ภาควิชาจุลชีววิทยาคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

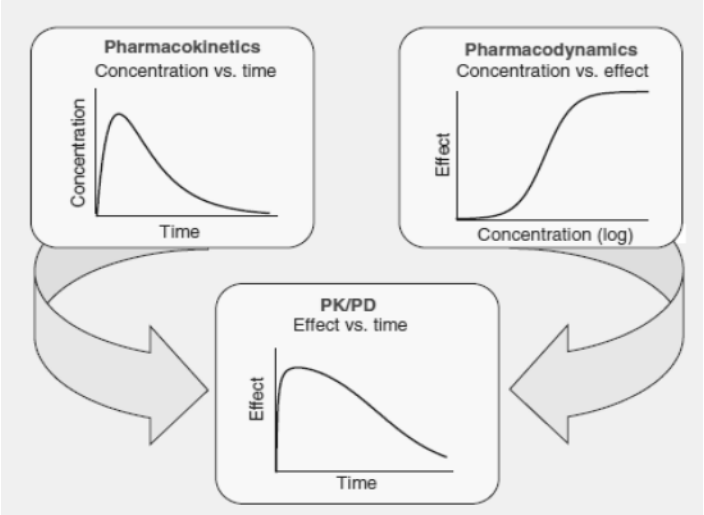
แนวคิด ทฤษฎีและข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

เรียงลำดับตามหัวข้อต่อไปนี้

1. แบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์สำหรับยาต้านจุลชีพ
2. ข้อมูลยาฟอสโฟมัยซิน

แบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์สำหรับยาต้านจุลชีพ

เภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ (PK/PD) เป็นการเชื่อมโยงเภสัชจลนศาสตร์และเภสัช-พลศาสตร์ เข้าด้วยกัน สามารถอธิบายได้โดยการนำกราฟระหว่างความเข้มข้นของยาในเลือดกับเวลา (PK) และกราฟระหว่างความเข้มข้นของยาในเลือดกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (PD) มาบูรณาการเข้าด้วยกัน[2] ได้กราฟระหว่างฤทธิ์ทางเภสัชวิทยากับเวลา ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 แสดงการบูรณาการกราฟระหว่างความเข้มข้นของยากับเวลา(PK) และกราฟระหว่างฤทธิ์ทางเภสัชวิทยากับความเข้มข้นของยา(PD) [3]

สำหรับยาต้านจุลชีพมีการใช้แบบจำลองทางเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์อยู่ 2 รูปแบบหลักโดยมีรายละเอียด ดังนี้

1.1 แบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์โดยอาศัยค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาต้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (PK/PD based on MIC)

Minimum inhibitory concentration (MIC) เป็นค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์ที่นิยมนำมาใช้ในการประเมินประสิทธิภาพ และความแรงของยาต้านจุลชีพ โดย MIC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาต้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อจุลชีพจำนวน 10^5- 10^6 CFU/ml ได้อย่างสมบูรณ์ จนไม่สามารถมองเห็นการเติบโตของเชื้อด้วยตาเปล่าภายหลังจากบ่มเชื้อนาน 18-24 ชั่วโมง [8-10] สำหรับวิธีการหาค่า MIC สามารถหาได้จากวิธีต่างๆ เช่น broth dilution method, agar dilution method , epsilometer test (E test) และ Automated antimicrobial susceptibility testing system เป็นต้น

สำหรับค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ที่ใช้บ่งชี้ถึงความสำเร็จในการรักษาทางคลินิกและการฆ่าเชื้อจุลชีพโดยใช้แบบจำลองนี้ [3] มีดังนี้

1) ระยะเวลาที่เชื้อสัมผัสกับยา ณ ความเข้มข้นของยาที่สูงกว่า MIC (T>MIC)
2) อัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นสูงสุดของระดับยาในเลือดกับค่า MIC (C_{max}/MIC)
3) อัตราส่วนระหว่าง AUC_{24}กับค่า MIC (AUC_{24}/MIC)

ข้อดีของ PK/PD based on MIC [3, 9]

เป็นวิธีที่นิยมนำมาใช้เป็นแนวทางในการเลือกใช้ยาต้านจุลชีพในทางปฏิบัติกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากสามารถทำได้ง่ายในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลต่าง ๆ เสียค่าใช้จ่ายน้อย สะดวกและรวดเร็วในการหาค่า MIC

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข้อจำกัดของ PK/PD based on MIC [3, 9]

เนื่องจาก ค่า MIC เป็นค่าที่ได้จากความเข้มข้นของยาที่คงที่ (static concentration) จึงไม่สามารถสะท้อนผลการฆ่าเชื้อในร่างกายได้ดีเนื่องจากความเข้มข้นของยาในร่างกายไม่คงที่อาจเปลี่ยนแปลงตามระยะเวลาที่อยู่ในร่างกาย (dynamic concentration) นอกจากนี้ค่า MIC ยังถูกนำมาเป็นค่าเกณฑ์เสมือนว่าเป็นความเข้มข้นที่อาจฆ่าเชื้อได้ทั้งหมดหรือไม่สามารถฆ่าเชื้อได้เลย (all or none) จึงทำให้ไม่สามารถบอกความแตกต่างในการฆ่าเชื้อระหว่างความเข้มข้นของยาที่ต่ำกว่าหรือสูงกว่าค่า MIC อีกทั้งยังไม่ได้ให้ข้อมูลอัตราการเติบโตของเชื้อและอัตราการฆ่าเชื้อ ณ เวลาต่าง ๆ

1.2 แบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์โดยอาศัยกราฟการฆ่าเชื้อ (PK/PD based on time-kill curve)

Time-kill curve เป็นค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์หนึ่ง ที่ใช้บอกลักษณะของการฆ่าเชื้อที่เวลาต่าง ๆ ของยาต้านจุลชีพด้วยความเข้มข้นของยาเป็นจำนวนเท่าของค่า MIC โดยดูจากการเจริญของเชื้อเทียบกับเวลา

PK/PD based on time-kill curve เป็นแบบจำลองที่นำข้อมูลกราฟการฆ่าเชื้อมาสร้างสมการทางคณิตศาสตร์เพื่อใช้อธิบายการฆ่าเชื้อที่เวลาต่าง ๆ และประเมินฤทธิ์ของยา

แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของ Time-kill curves

สมการทางคณิตศาสตร์ที่ใช้สร้างแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์โดยอาศัยกราฟการฆ่าเชื้อ พัฒนามาจากสมการ E_{max} model ซึ่งสามารถนำไปใช้อธิบายฤทธิ์การต้านเชื้อของยาต้านจุลชีพ โดยมีรูปแบบสมการแสดงดังนี้

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0 - \left(\frac{k_{\max} \cdot C}{EC_{50} + C} \right) \right] \cdot N \qquad \text{สมการที่ 1}$$

โดยที่ dN/dt คือ จำนวนเชื้อที่เปลี่ยนแปลงในรูปฟังก์ชันของเวลา k_0 คือ อัตราคงที่ของการเจริญเติบโตของเชื้อที่ไม่มียาต้านจุลชีพ (หน่วย h^{-1}) k_{max} คือ อัตราคงที่ของการฆ่าเชื้อสูงสุด (หน่วย h^{-1}) C คือ ความเข้มข้นของยา EC_{50} คือ ความเข้มข้นของยาที่ให้ผลฆ่าเชื้อร้อยละ 50 (หน่วย µg/mL) และ N คือจำนวนเชื้อ (หน่วย CFU/ml)

Chulalongkorn University

จากการทบทวนวรรณกรรม พบว่ามีการศึกษาสมการทางคณิตศาสตร์ที่ใช้สร้างแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์โดยอาศัยกราฟการฆ่า ของยาต้านจุลชีพหลายกลุ่มดังนี้

1.2.1 แบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับยาต้านจุลชีพกลุ่มเบต้าแลคแทม

จาก Time-kill curves ของยาต้านจุลชีพหลายๆตัวในกลุ่ม เบต้าแลคแทม สามารถพัฒนาแบบจำลองทางด้านคณิตศาสตร์(PK/PD model) โดยการประยุกต์ E_{max} model [3, 9, 11] แบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ในการอธิบายการเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อแบคทีเรียในรูปของความเข้มข้นของยากับเวลาสำหรับยากลุ่มเบต้าแลคแทม [12-15] รูปแบบสมการแสดงดังสมการที่ 2

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0 - \left(\frac{k_{\max} \cdot C^h}{EC_{50} + C^h} \right) \right] \cdot N \qquad \text{สมการที่ 2}$$

dN/dt คือ จำนวนเชื้อที่เปลี่ยนแปลงในรูปฟังก์ชันของเวลา, k_0 คือ อัตราคงที่ของการเจริญเติบโตของเชื้อขณะที่ไม่มียา, k_{max} คือ อัตราคงที่ของการฆ่าเชื้อสูงสุด, EC_{50} คือ ความเข้มข้นของยาที่ให้ผลฆ่าเชื้อร้อยละ 50, C คือ ความเข้มข้นของยา, N คือ จำนวนเชื้อ และ h คือ hill/shape factor

แต่ถ้าหากเชื้อจุลชีพไม่ได้มีการเจริญหรือเพิ่มจำนวนแบบลอกการิทึ่ม (logarithmic growth phase) จะมีการเพิ่มพจน์ที่เข้ามาคูณ คือ $(1 - e^{-zt})$ ในสมการ โดย z คือ ระยะเพิ่มจำนวน (log growth phase) มีค่าระหว่าง 1-5 ซึ่งมีการปรับเปลี่ยนไปตามชนิดของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด ตัวอย่าง

ตัวอย่างของการศึกษาที่ศึกษาหาแบบจำลองในการออกฤทธิ์ของยาต้านจุลชีพในกลุ่มเบต้า-แลคแทม ได้แก่

- de la Pena และคณะที่ศึกษาแบบจำลองในการฆ่าเชื้อ *E. coli, M. catarrhalis, H. influenza*e และ *S. pneumonia*e ของยา cefaclor [15]

- การศึกษาของ Nolting A และคณะ ที่ทำการศึกษาแบบจำลองในการกำจัดเชื้อ *E. coli* ของยา piperacillin [12]

นอกจากนี้ยังมีการนำสมการดังกล่าวมาใช้ในแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์เพื่อจำลองการฆ่าเชื้อของยากลุ่มเบต้าแลคแทม อื่นๆ เช่น cefpodoxime [14], cefixime [14], ceftazidime [16] และ tazobactam [13]

1.2.2 แบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ของยากลุ่มฟลูออโรควิโนโลน

สมการทางคณิตศาสตร์ที่ใช้ในแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ มีการพัฒนามาจาก E_{max} model เช่นกัน แต่มีความแตกต่างที่ยาในกลุ่มฟลูออโรควิโนโลน มีรูปแบบการฆ่าเชื้อในหลอดทดลองเป็น 2 ระยะ (biphasic killing pattern) กล่าวคือ อัตราการฆ่าเชื้อเกิดขึ้นรวดเร็วในช่วงแรก แต่หลังจากนั้นเมื่อเชื้อเริ่มดื้อยาจะทำให้อัตราการฆ่าเชื้อลดลงในระยะหลัง [17]

Schuck และ Derendorf ร่วมกันพัฒนาแบบจำลองสำหรับยาต้านจุลชีพกลุ่มฟลูออโรควิโนโลน โดยใช้ ciprofloxacin เป็นต้นแบบในการพัฒนา [3] โดยแบบจำลองที่พัฒนาขึ้นเป็นการอธิบายการเปลี่ยนแปลงจำนวนของเชื้อ *E. coli* เมื่อสัมผัสกับยา ciprofloxacin เมื่อเวลาใด ๆ ในกรณีที่เชื้อมีการดื้อยาต้านจุลชีพเกิดขึ้น (resistance compartment; Cr) รูปแบบสมการแสดงดังสมการที่ 3 [17]

$$\frac{dN}{dt}=\left(k-\frac{\left(k_1\cdot\left(1-\frac{C_r}{IC_{50}+C_r}\right)+k_2\right)\cdot C}{EC_{50}+C}\right)\cdot N\cdot(1-e^{-z\cdot t})$$ สมการที่ 3

dN/dt คือ จำนวนเชื้อที่เปลี่ยนแปลงในรูปฟังก์ชันของเวลา, N คือ จำนวนเชื้อจุลชีพ (CFU), k คือ ค่าคงที่ของอัตราการเจริญของเชื้อขณะที่ไม่สัมผัสยาต้านจุลชีพ, k_1 คือ อัตราการฆ่าเชื้อสูงสุดในระยะแรก, k_2 คือ ค่าคงที่ของอัตราการฆ่าเชื้อที่สูงสุดในระยะหลัง C_r คือ ระดับยาในกระแสเลือดที่ทำให้เชื้อเกิดการดื้อยา, IC_{50} คือ ความเข้มข้นของยาที่ทำให้เชื้อดื้อยาร้อยละ 50, EC_{50} คือ ความเข้มข้นของยาที่ให้ผลฆ่าเชื้อร้อยละ 50 (µg/mL), C คือ ความเข้มข้นของยาต้านจุลชีพ, z คือ ระยะเพิ่มจำนวน (log growth phase)

แบบจำลองนี้ถูกนำมาใช้ในการเปรียบเทียบฤทธิ์ของยา ciprofloxacin [17] ในการต้านเชื้อ *E. coli* แสดงเป็นกราฟการฆ่าเชื้อกับเวลา ด้วยขนาดยาและวิธีการบริหารยาที่แตกต่างกัน ได้แก่ ciprofloxacin 500 มก. ชนิดออกฤทธิ์ทันที โดยให้วันละ 2 ครั้ง และ ciprofloxacin 1,000 มก. ชนิดออกฤทธิ์เนิ่น โดยให้วันละ 1 ครั้ง

1.2.3 แบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ของยากลุ่มแมคโครไลด์

สมการทางคณิตศาสตร์ที่ใช้ในแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์เพื่ออธิบายการเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อแบคทีเรียในรูปของความเข้มข้นของยากับเวลาสำหรับยากลุ่มแมคโครไลด์อาจมีความซับซ้อนและแตกต่างไปจากยากลุ่มเบต้าแลคแทมและกลุ่มฟลูออโรควิโนโลนโดยมีการปรับเปลี่ยนไปตามสภาวะต่าง ๆ แสดงดังสมการที่ 4

$$\frac{\mathrm{d}N}{\mathrm{d}t}=\left[k_0\left(1-\frac{N}{N_{\max}}\right)-\left(\frac{k_{\max}C}{\mathrm{EC}_{50}+C}\right)\right](1-\exp^{-zt})N$$ สมการที่ 4

dN/dt คือ จำนวนเชื้อที่เปลี่ยนแปลงในรูปฟังก์ชันของเวลา k_0 คือ อัตราคงที่ของการเจริญเติบโตของเชื้อขณะที่ไม่มียา, k_{max} คืออัตราคงที่การฆ่าเชื้อสูงสุด, EC_{50} คือความเข้มข้นของยาที่ให้ผลฆ่าเชื้อร้อยละ 50, C คือ ความเข้มข้นของยา, N คือ จำนวนเชื้อ, N_{max} คือ จำนวนเชื้อที่เจริญสูงสุด และ z คือ ระยะเพิ่มจำนวน (log growth phase)

โดย correction factor ที่นำเข้ามาในสมการแตกต่างไปตามชนิดของเชื้อแบคทีเรียและสภาวะต่าง ๆ ดังนี้

- $(1-e^{-zt})$ ใช้เมื่อเชื้อเจริญเติบโตช้า ไม่มีการเจริญแบบ log growth phase ซึ่งอาจมีผลในระยะที่เชื้อเจริญ หรือระยะที่เชื้อถูกฆ่า หรืออาจมีผลต่อทั้งสองระยะ
- $(1-N/N_{max})$ ใช้เมื่อต้องการพิจารณาผลของพื้นที่และอาหารเลี้ยงเชื้อที่จำกัดในหลอดทดลอง

จากการศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพของยา azithromycin [4] ต่อเชื้อจุลชีพ 4 ชนิด คือ *S. pneumoniae* (ชนิด penicillin-sensitive และpenicillin-intermediate), *M. catarrhalis* และ *H. influenzae* พบว่ายา azithromycin มีรูปแบบของการฆ่าเชื้อทั้ง 4 ชนิดที่แตกต่างกัน โดยสมการทางคณิตศาสตร์ที่พัฒนาแล้วสามารถอธิบายรูปแบบการฆ่าเชื้อได้ดีแสดงดังสมการด้านล่าง

1) แบบจำลองที่อธิบายข้อมูลของยา azithromycin ต่อเชื้อ penicillin-sensitive และ penicillin-intermediate *S. pneumonia* แสดงดังสมการที่ 4
2) แบบจำลองที่อธิบายข้อมูลของยา azithromycin ต่อเชื้อ *M. catarrhalis* แสดงดังสมการที่ 5 [4]

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0 - \frac{k_{max} C}{EC_{50} + C}\right] N \qquad \text{สมการที่ 5}$$

3) แบบจำลองที่อธิบายข้อมูลของยา Azithromycin ต่อเชื้อ *H. influenzae* แสดงดังสมการที่ 6 [4]

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0 - \left(\frac{k_{max} C}{EC_{50} + C}\right)(1 - \exp^{-yt})\right] N \qquad \text{สมการที่ 6}$$

1.2.4 แบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ของยากลุ่มอะมิโนกลัยโคไซด์

สมการที่ใช้ในแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์เพื่ออธิบายการเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อแบคทีเรียในรูปของความเข้มข้นของยากับเวลาสำหรับยากลุ่มอะมิโนกลัยโคไซด์ อาจมีความคล้ายคลึงกับยาในกลุ่มแมคโครไลด์ แต่อาจปรับเปลี่ยนไปตามสภาวะต่าง ๆ โดยสมการทั่วไปแสดงดังสมการที่ 7

$$\frac{dN}{dt} = \{\lambda \bullet (1 - \frac{N}{N_{max}}) - \varepsilon \bullet \frac{C^{\gamma}}{C^{\gamma} + EC_{50}^{\gamma}}\} \bullet N$$ สมการที่ 7

dN/dt คือ จำนวนเชื้อที่เปลี่ยนแปลงในรูปฟังก์ชันของเวลา λ คือ อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อขณะไม่สัมผัสยาต้านจุลชีพ ε คือ อัตราการฆ่าเชื้อสูงสุด C คือ ความเข้มข้นของยา EC_{50} คือ ความเข้มข้นของยาที่ให้ผลฆ่าเชื้อร้อยละ 50 N คือ จำนวนเชื้อ N_{max} คือ จำนวนเชื้อสูงสุด และ γ คือ hill shape factor

โดยแบบจำลองนี้ถูกนำมาใช้ในการศึกษาฤทธิ์ของยา tobramycin [16] ในการต้านเชื้อ *P. aeruginosa*

1.2.5 พารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์ที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ของยาต้านจุลชีพโดยอาศัยกราฟการฆ่าเชื้อ พบว่าแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ของยาแต่ละกลุ่มประกอบด้วยพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์ที่แตกต่างกัน โดยพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์หลักที่ใช้ในแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ ควรประกอบด้วยอย่างน้อย 3 พารามิเตอร์ คือ

1) อัตราคงที่ของการเจริญเติบโตของเชื้อขณะที่ไม่มียา (growth rate constant of the bacteria ; k_0)
2) อัตราคงที่ของการฆ่าเชื้อสูงสุด (maximum kill rate constant ; k_{max})
3) ค่าความเข้มข้นของยาที่ให้ผลฆ่าเชื้อร้อยละ 50 (EC_{50})

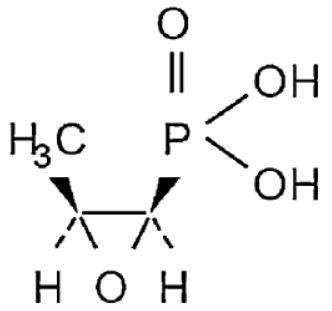
นอกจากนี้ ยังมีพารามิเตอร์อื่นๆ เช่น ระยะเพิ่มจำนวน (log growth phase, z) และจำนวนเชื้อสูงสุด (N_{max})

ข้อมูลยาฟอสโฟมัยซิน

ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับยาฟอสโฟมัยซิน (Fosfomycin) [7, 18-22] สามารถสรุปเป็นข้อๆ ได้ดังนี้

2.1 คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ

ฟอสโฟมัยซิน (FOM) มีชื่อเดิมว่า ฟอสโฟโนมัยซิน (phosphonomycin) เป็นอนุพันธ์ของกรดฟอสโฟนิก (phosphonic acid) เป็นยาต้านจุลชีพที่มีโครงสร้างทางเคมีไม่เหมือนกับยาต้านจุลชีพกลุ่มอื่นๆ มีสูตรทางเคมี (chemical formula) คือ $C_3H_7O_4P.C_4H_{11}NO_3$ น้ำหนักโมเลกุล 138.06 กรัม/โมล สูตรโครงสร้างทางเคมี แสดงดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของยาฟอสโฟมัยซิน [7]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.2 รูปแบบยา

ยามีรูปแบบที่ใช้กัน 2 รูปแบบคือ

- รูปแบบยารับประทาน โดยยามี 2 สูตร คือ ฟอสโฟมัยซิน โทรเมทามีน (fosfomycin tromethamine) และ ฟอสโฟมัยซิน แคลเซียม (fosfomycin calcium) สำหรับในประเทศไทยนั้นมีเฉพาะรูปแบบของฟอสโฟมัยซิน โทรเมทามีน เนื่องจาก ถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดได้เร็วกว่าฟอสโฟมัยซิน แคลเซียม
- รูปแบบยาฉีดเข้าหลอดเลือดดำ ตัวยาคือ ฟอสโฟมัยซิน ไดโซเดียม (fosfomycin disodium)

2.3 ข้อบ่งใช้ในการรักษา

ฟอสโฟมัยซินเป็นยาที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (bactericidal effect) จากการรบกวนกระบวนการสร้างผนังเซลล์ของเชื้อจุลชีพทั้งแกรมบวกและแกรมลบ โดยยาจะผ่านเข้าเซลล์โดย 2 วิธี คือ ผ่าน L-a-glycerophosphate transport (GlpT) และ hexose–phosphate uptake system (UhpT) จากนั้นมีผลไปยับยั้งเอนไซม์ enolpyruvate transferase ในกระบวนการเติม phosphoenolpyruvate เข้าสู่ UDP-NAG ซึ่งเป็นขั้นตอนแรกของการสร้าง UDP-NAM ซึ่ง UDP-NAM มีบทบาทในการเป็นสารตั้งต้น (precursor) ของ N-acetyl-muramic acid (NAM) ซึ่งใช้ในกระบวนการสร้างเปปติโดไกลแคน ที่เป็นส่วนประกอบในผนังเซลล์ของเชื้อจุลชีพ

ยาฟอสโฟมัยซิน ออกฤทธิ์กว้างต่อเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ เนื่องจากมีโครงสร้างที่ไม่เกี่ยวข้องกับยาต้านจุลชีพในกลุ่มอื่น ๆ ทำให้มีกลไกในการออกฤทธิ์ที่ต่างจากยาต้านจุลชีพตัวอื่น ๆ ด้วย จึงสามารถเสริมฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อจุลชีพเมื่อใช้ร่วมกับยาต้านจุลชีพในกลุ่มบีต้า แลคแตม, กลุ่มอะมิโนกลัยโคไซด์ และกลุ่มฟลูออโรควิโนโลน

2.4 ขอบเขตการคลอบคลุมเชื้อจุลชีพ

ยาออกฤทธิ์กว้างในการฆ่าเชื้อจุลชีพ โดยคลอบคลุมเชื้อจุลชีพดังนี้

เชื้อจุลชีพแกรมบวกรูปกลม (Gram-positive cocci) ได้แก่ methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA), cephalosporin- และ penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) และ *Enterococcus species*, รวมถึงสายพันธุ์ที่ดื้อต่อ vancomycin (vancomycin-resistant strains)

เชื้อจุลชีพแกรมลบ (Gram-negative bacteria) ได้แก่ *E. coli, Proteus mirabilis, K. pneumoniae, Enterobacter species, Citrobacter spp, Serratia marcescens, Neisseria meningitidis, Shigella spp, Salmonella typhi*, multidrug-resistant Enterobacteriaceae, เชื้อที่สร้างเอนไซม์ extended spectrum β-lactamase (*E. coli, K. pneumoniae*)

2.5 ข้อมูลทางคลินิก

การให้ยาในรูปแบบรับประทาน พบว่า การให้ fosfomycin tromethamine ในขนาด 3 กรัมครั้งเดียว ในผู้ป่วย uncomplicated UTI ให้ประสิทธิภาพที่ดีกว่าการใช้ trimethoprim (200 mg TID x 5 วัน), norfloxacin (400 mg BID x 7วัน), cephalexin (500 mg QID x 5 วัน)

การใช้ยารูปแบบฉีดเข้าหลอดเลือดในทางคลินิก พบว่า มักมีการใช้ร่วมกับยาในกลุ่ม บีต้า-แลคแตม, กลุ่มอะมิโนกลัยโคไซด์ และกลุ่มฟลูออโรควิโนโลน ในการรักษาการติดเชื้อแกรมบวกและ

แกรมลบ รวมไปถึงในโรค ในระบบทางเดินหายใจ pneumonia, osteomyelitis, meningitis, ear, nose, throat และ typhoid fever

2.6 ค่าจุดตัดความไวของยาฟอสโฟมัยซินต่อเชื้อ *Escherichia coli*

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ระบุค่าจุดตัดความไวของเชื้อ เมื่อทดสอบด้วยวิธี disk diffusion ดังแสดงในตารางที่ 1 สำหรับค่า MIC นั้น CLSI และ European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) ระบุดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 จุดตัดความไวของยาฟอสโฟมัยซิน ต่อเชื้อ E. coli ตามเกณฑ์ของ CLSI [23] และ EUCAST [24]

เชื้อจุลชีพ	Disk content	เส้นผ่านศูนย์กลาง (มม.) (CLSI)			MIC (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)				
					CLSI *E. coli* UTI only			EUCAST	
		ไว	ไวปานกลาง	ดื้อ	ไว (S)	ไวปานกลาง	ดื้อ (R)	ไว (S)	ดื้อ (R)
Enterobacteriaceae	200 µg	≥16	13-15	≤12	≤64	128	≥256	≤32	> 32

2.7 เภสัชจลนศาสตร์ [7, 18, 22]

2.7.1 การดูดซึมยา

ยาถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็ก โดยค่าชีวอนุเคราะห์ (bioavailability) ของยาในรูปแบบรับประทานมีค่าแตกต่างกันในแต่ละรูปแบบของเกลือ โดยกลือโทรเมทามีน เท่ากับ 34-58 % และเกลือแคลเซียม เท่ากับ 10-30% สำหรับรูปแบบยาฉีดทางหลอดเลือดดำ(เกลือไดโซเดียม) มีค่าชีวอนุเคราะห์ 100%

2.7.2 การกระจายยา

ยาจับกับโปรตีนในเลือดเล็กน้อย (น้อยกว่า 3%) จึงสามารถกระจายเข้าสู่เนื้อเยื่อหรือบริเวณที่ออกฤทธิ์ได้ดี เช่น ไต กระเพาะปัสสาวะและผนังกระเพาะปัสสาวะ ต่อมลูกหมาก ปอด กระดูก เนื้อเยื่อที่มีการอักเสบ น้ำไขสันหลังและลิ้นหัวใจ

ค่าปริมาตรการกระจาย (volume of distribution) ของรูปแบบยารับประทานมีการรายงานค่อนข้างกว้างคือ 40-136 L สำหรับรูปแบบยาฉีดมีค่า 0.34±0.8 L/kg

2.7.3 เมตาบอลิซึม

ฟอสโฟมัยซิน ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในร่างกาย

2.7.4 การกำจัดยา

ฟอสโฟมัยซินมีการกำจัดออกโดยการกรองที่ไต (glomerular filtration) เป็นหลักในรูปที่ไม่เปลี่ยนแปลง นอกจากนี้ยายังอาจมีการขับออกทางอุจจาระได้ 18% และขับออกทางน้ำดีได้เช่นกัน แต่น้อยกว่า 0.5%

2.7.5 ค่าครึ่งชีวิตของยา

ค่าครึ่งชีวิตในการสลายของยาฟอสโฟมัยซิน โทรเมทามีน ฟอสโฟมัยซิน แคลเซียม มีค่าครึ่งชีวิตอยู่ที่ 2.4-7.3 ชั่วโมง และ 3-5 ชั่วโมง ตามลำดับ สำหรับฟอสโฟมัยซิน ไดโซเดียม มีค่าครึ่งชีวิต 2-3 ชั่วโมง แต่สำหรับในผู้สูงอายุ ค่าการสลายตัวของยาอาจเพิ่มขึ้นได้ถึง 8 ชั่วโมง

ตารางที่ 2 ค่า Pharmacokinetics ของยา fosfomycin [18, 22]

	ยารูปแบบรับประทาน	**ยารูปแบบฉีดเข้ากระแสเลือด**
Dosage	3 g oral (fosfomycin trometatamol)	4 g (fosfomycin disodium)
Bioavailability	tromethamine salt : 34-58% calcium salt : 10-30%	100%
C_{max} (mg/L)	22-32 (serum) 4,415 (urine)	132
C_{min}(mg/L)	-	4.1
Total body clearance (L/h)	7.2	-
Half-life (h)	2.4-7.3	2.25
AUC_{24h} (mg.h/L)	145-228	167.9-290.8
Fraction unbound(%)	> 97%	> 95%
Vd	136.1±44.1 L	0.32-0.38 L/kg

2.8 ขนาดยา

รูปแบบรับประทาน :	ขนาดยาทั่วไป	**:**	3 กรัม/ วัน
	ขนาดยาสูงสุด	:	3 กรัม/ วัน
รูปแบบฉีดเข้าหลอดเลือด :	ขนาดยาทั่วไป	: 3-4 กรัม/ วัน	โดยให้วันละ 3 ครั้ง
	ขนาดยาสูงสุด	: 24 กรัม/ วัน	โดยให้วันละ 3 ครั้ง

2.9 อาการไม่พึงประสงค์ (Adverse drug reactions)

อาการไม่พึงประสงค์ที่พบบ่อย ได้แก่ ปวดท้อง 2.2%, ท้องเสีย 9-10.4%, คลื่นไส้ 4-5%, ปวดหลัง 3%, ปวดศีรษะ 3.9-10.3%, วิงเวียน 1.3-2.3%, ผื่น 1.4%, ช่องคลอดอักเสบ 5.5-7.6%, คอหอยอักเสบ 2.5%, โซเดียมในเลือดสูง (จากยาฟอสโฟมัยซิน ไดโซเดียม)

อาการไม่พึงประสงค์ที่พบได้น้อย ได้แก่ aplastic anemia, cholestatic jaundice, hepatic necrosis, hearing loss, angioedema

2.10 กลไกการดื้อยา

การดื้อยาของฟอสโฟมัยซิน มี 2 กลไก คือ

1. การดื้อยาจากยีนที่อยู่บนโครโมโซม (chromosome) การดื้อยาในรูปแบบนี้เกิดจากการ mutation ของยีนที่ควบคุม transport system ซึ่งมีหน้าที่ในการนำฟอสโฟมัยซินเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรีย ได้แก่ ยีนที่ควบคุมการแสดงออกของ transporter 2 ชนิด คือ facultative hexose-monophosphate transport system (uhpT) และ L-α-glycerophosphate transport system (glpT)

2. การดื้อยาจากยีนบน plasmid การดื้อยาผ่านกลไกนี้จะมีการสร้างเอนไซม์ fosfomycin-modifying enzyme มาทำลายยา โดยเมื่อเอนไซม์จับกับยาฟอสโฟมัยซิน ทำให้ได้สารที่ไม่มีฤทธิ์ สำหรับชนิดของ fosfomycin-modifying enzyme นั้นมี 4 ชนิด คือ glutathione-fosfomycin (FosA), L-cysteine-fosfomycin (FosB), ATP-fosfomycin (FosC) และ water-fosfomycin (FosX) ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าว จะเติม glutathione, L-cysteine, ATP หรือ hydroxyl group ที่ oxirane ring ของยาฟอสโฟมัยซิน ตามลำดับ ตัวอย่างเชื้อที่พบว่ามีการดื้อยาด้วยกลไกนี้ ได้แก่ Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Staphylococcus* spp., *Bacillus* spp. และ *Serratia* marcescens.

Chulalongkorn University

Falagus และ คณะได้สรุปว่าเชื้อแบคทีเรียมักดื้อยาฟอสโฟมัยซิน ผ่านกลไกการ mutation ของยีนบนโครโมโซม มากกว่าการดื้อยาผ่าน plasmid และจากการที่ฟอสโฟมัยซินไม่ได้เป็น substrate ของ efflux pumps ซึ่งเป็นกลไกที่พบได้บ่อยในเชื้อที่ดื้อยาหลายขนาน ทำให้ยาฟอสโฟมัยซินมีโอการเกิด cross resistance กับยาต้านจุลชีพอื่นได้น้อย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

วิธีดำเนินการวิจัย แบ่งเป็น 4 ขั้นตอน คือ

1. การวางแผนและเตรียมการก่อนการวิจัย
2. การเตรียมสารเคมี อุปกรณ์ เครื่องมือและดำเนินการวิจัย
3. ขั้นตอนดำเนินการวิจัย
4. สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

1. การวางแผนและเตรียมการก่อนการวิจัย

1.1 ศึกษาข้อมูลพื้นฐานและข้อมูลทางเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ของยาฟอสโฟมัยซิน

1.2 ศึกษาข้อมูลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ โดยอาศัยกราฟการฆ่าเชื้อ

1.3 สำรวจข้อมูลเชื้อ *E. coli* ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL ที่ผ่านการตรวจสอบการด้วย วิธี combination discs ที่มีการเก็บไว้ที่ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.4 คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียเข้าสู่งานวิจัยตามเกณฑ์ต่อไปนี้

1.4.1 เกณฑ์คัดเชื้อเข้าสู่การวิจัย (Inclusion criteria)

- *E. coli* ที่มีการสร้างเอ็นไซม์ ESBL
- *E. coli* ที่มีการสร้างเอ็นไซม์ ESBL ที่มีความไว (susceptible) ต่อยาฟอสโฟมัยซิน โดยทดสอบจากการหา MIC ด้วยวิธี Agar Dilution Methods

1.4.2 เกณฑ์คัดเชื้อออกจากการวิจัย (Exclusion criteria)

- *E. coli* ที่มีการสร้างเอ็นไซม์ ESBL ที่ดื้อ (resistant) ต่อยาฟอสโฟมัยซิน โดยทดสอบจากการหา MIC ด้วยวิธี Agar Dilution Methods

1.5 การแบ่งแหล่งที่มาของเชื้อ *E. coli* ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL ว่ามาจากสิ่งส่งตรวจชนิดใด โดยเลือกใช้เชื้อที่มาจากสิ่งส่งตรวจ คือ เลือด เท่านั้น

1.6 จัดเตรียมเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

- แบบบันทึกข้อมูลของเชื้อแบคทีเรีย ดังแสดงในภาคผนวก ก
- แบบบันทึกข้อมูลจำนวนเชื้อแบคทีเรีย ดังแสดงในภาคผนวก ข

2. การเตรียมสารเคมี อุปกรณ์ เครื่องมือและดำเนินการวิจัย

สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือ

ก. สารเคมี

1. ผงยาฟอสโฟมัยซิน (Fosfomycin sodium powder)
(Wako Pure Chemical Industries, Ltd. Japan)
2. นอร์มัลซาไลน์สำหรับฉีด (0.9% Sodium Chloride for injection)
(Thai Nakorn Patana co., Ltd. Thailand)
3. น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ (Sterile water for injection)
(Pharma Innova, Thailand)
5. Mueller Hinton Agar
4. Cation-Adjusted Mueller Hinton Broth
(Fluka, Switzerland)
(Oxid Ltd, England)
6. D-Glucose-6 Phosphate sodium
(Sigma-Aldrich, USA)

ข. อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ถาดหลุมเลี้ยงเชื้อขนาด 24 หลุม (Tissue culture plate 24 well)
(Corning Incorporated, USA)
2. ถาดหลุมเลี้ยงเชื้อขนาด 96 หลุม (Tissue culture plate 96 well)
(Corning Incorporated, USA)
3. จานเพาะเชื้อแบบปราศจากเชื้อ ขนาด 10 เซนติเมตร (Sterile petri dish)
(Greiner Bio One, Germany)
4. ไม้พันสำลีแบบปราศจากเชื้อ (Sterile Cotton swab)
(Thai gauze, Thailand)
5. ขวดเพาะเลี้ยงเชื้อ (Tissue culture flask)
(Corning Incorporated, USA)
6. ปิเปตต์อัตโนมัติ (Automatic pipette)
(Gilson, France)

7. ปิเปตต์อัตโนมัติชนิดหลายช่อง (Multichannel automatic pipette)
(Sartorius, Finland)
8. เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixture)
(Finevortex, FinePCR®, Korea)
9. เครื่องชั่งสารดิจิตอล (Digital analytical balance)
(รุ่น Sartorius PT 310, GMBH, Germany)
10. เครื่องชั่งวิเคราะห์สาร (Analytical balance)
(รุ่น XR205SM-DR, Precisa Gravimetrics AG, Switzerland)
11. เครื่องแก้ว (Glassware)
(Pyrex, USA)
12. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
(รุ่น ULE 700, Oven memmert, Germany)
13. หม้อนึ่งความดันสูง (Autoclave)
(รุ่น HVE-50, Hirayama manufacturing corp., Japan)
14. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow cabinet)
(รุ่น NU-440SPEC, NuaireTM biological safety cabinets Class II, USA)
15. ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator)
(รุ่น MINI/50/SS/DIG, Genlab, UK)
16. ตู้บ่มเพาะเชื้อแบบเขย่า (Constant temperature incubator shaker)
(รุ่น 211C, Optic Ivymen® system, Spain)
17. อุปกรณ์เขย่าแบบวงกลม (midi shaker with universal platform)
(รุ่น Orbital shaker OS-20, Biosan, Latvia)
18. เครื่อง McFarland Densitometer
(รุ่น DEN-1B, Biosan SIA, Latvia)
19. ที่ดูดจ่ายสารละลาย (Dispenser)
(FORTUNA®Optifix®,bottle-top dispenser 6-30 mL, Poulten & Graf Ltd.)
20. ตู้แช่แข็งอุณหภูมิติดลบ (Freezer)
(รุ่น A700-87C, Froilabo®, France)
21. ตู้เย็น (Lab refrigerator, Pharmaceutical refrigerator)
(รุ่น P700, Accupplus, Thailand)

3. ขั้นตอนดำเนินการวิจัย

ก. การศึกษากราฟการฆ่าเชื้อกับเวลา

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง (Agar)

1.1 ชั่งผง Mueller Hinton Agar (MHA) จำนวน 38 กรัม แล้วเทใส่ขวดแก้วปริมาตร 2,000 มิลลิลิตร

1.2 เติมน้ำกลั่นเพื่อละลายอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร แล้วปิดฝาขวดเขย่าจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายจนหมด

1.3 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันสูง ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที

1.4 ใช้ที่ดูดจ่ายสารละลาย ดูดอาหารเลี้ยงเชื้อจำนวน 20 มิลลิลิตร ใส่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ปิดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วรอจนอาหารแข็งตัว คว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วนำไปเก็บในตู้เย็น ที่อุณหภูมิ 2-5 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนำไปใช้งานต่อไป

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (Broth)

2.1 ชั่งผง Cation-Adjusted Mueller Hinton Broth (CaMHB) จำนวน 22 กรัม แล้วเทใส่ขวดแก้วปริมาตร 2,000 มิลลิลิตร

2.2 เติมน้ำกลั่นเพื่อละลายอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร แล้วปิดฝาขวดเขย่าจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายจนหมด

2.3 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันสูง ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที

2.4 รอจนอาหารเลี้ยงเชื้อเย็นตัว นำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 2-5 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนำไปใช้งานต่อไป

3. การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลชีพ

3.1 นำ stock culture ของเชื้อ *E. coli* ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL ที่มีการเก็บไว้ออกจากตู้แช่แข็ง (Freezer) และวางให้ stock culture ละลาย

3.2 นำ loop เผาไฟให้ร้อนแดงแล้วรอให้เย็น ใช้ loop จุ่มใน stock culture แล้วนำมาขีดบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งจนครบ 4 ด้าน เพื่อให้ได้เชื้อที่มีลักษณะเป็นโคโลนีเดี่ยว

3.3 ปิดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อ คว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 16-18 ชั่วโมง

3.4 เมื่อครบ 16-18 ชั่วโมง นำออกจากตู้ incubate แล้วพักไว้ เพื่อรอการนำไปใช้ต่อไป

4. การเตรียมเชื้อ working inoculum

4.1 ปิเปตต์อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวจำนวน 3 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด

4.2 นำ sterile cotton swab ป้ายเชื้อที่มีลักษณะเป็นโคโลนีเดี่ยว จากเชื้อที่เพาะเลี้ยงไว้ในข้อ 3 จำนวน 1-2 โคโลนี นำสำลีไปจุ่มในหลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว ในลักษณะขึ้น-ลง ประมาณ 4-5 ครั้ง จากนั้นนำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-4 ชั่วโมง

4.3 นำออกจากตู้ incubate แล้วนำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex

4.4 ปรับความขุ่นของเชื้อด้วย 0.9% Normal Saline (0.9%NSS) ให้มีความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland standard scale (มีปริมาณเชื้อเท่ากับ $1.5x10^8$ CFU/ml)

5. การเตรียมสารละลาย glucose 6-phosphate stock solution

5.1 ในการวิจัยครั้งนี้ ต้องการเตรียม glucose 6-phosphate stock solution ที่มีความเข้มข้น 5,000 µg/ml จำนวน 2 มิลลิลิตร

5.2 ชั่ง glucose 6-phosphate จำนวน 0.0100 กรัม

5.3 ปิเปตต์ sterile water for injection จำนวน 2 มิลลิลิตร

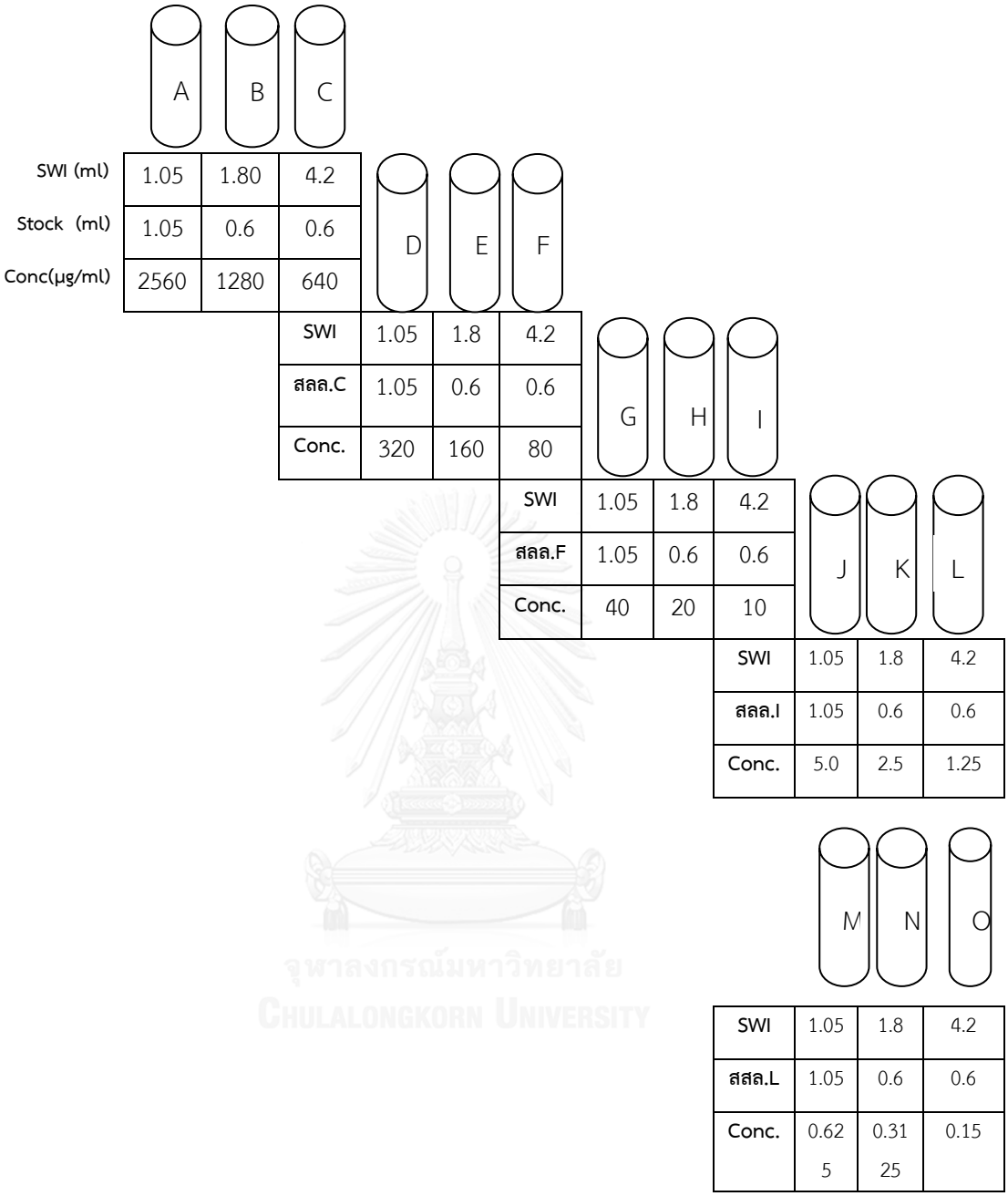
5.4 เติม sterile water for injection ลงใน Glucose 6-Phosphate ที่ชั่งไว้แล้ว นำไปผสมให้เข้ากันด้วย vortex จนละลายเข้ากัน

6. การคัดเลือกเชื้อด้วยการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) โดยวิธี Agar dilution มีขั้นตอนดังนี้

6.1 เตรียมสารละลายยาฟอสโฟมัยซินในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งที่มีความเข้มข้นของยาในช่วง 0.15-2,560 µg/ml

a. เตรียมสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน ความเข้มข้น 5,120 µg/ml

b. ปิเปตต์สารละลายยาฟอสโฟมัยซิน ความเข้มข้น 5,120 µg/ml ตามปริมาณที่กำหนดตามภาพที่ 3 นำมาผสมกับ sterile water ตามแผนภาพ จะได้สารละลายในหลอด A ถึง O ที่มีความเข้มข้นในช่วง 0.15-2,560 µg/ml



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาพที่ 3 แสดงการเตรียมสารละลายฟอสโฟมัยซินให้มีความเข้มข้นในช่วง 0.15-2,560 µg/ml

c. เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง

- ระบุค่า MIC ของยาในแต่ละความเข้มข้นที่ด้านหลังของจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ตั้งแต่ 0.015 ถึง 256 µg/ml และ control

- ปิเปตต์ สารละลายฟอสโฟมัยซิน ที่เจือจางแล้วในข้อ b (หลอด A ถึง O) ในแต่ละความเข้มข้น ใส่ในแต่ละ sterile petri dish จำนวน 2 มิลลิลิตร ยกเว้นจาน control

- ปิเปตต์สารละลาย glucose 6-phosphate stock solution (จากข้อ 4) จำนวน 100 ไมโครลิตร ใส่ในแต่ละ sterile petri dish จนครบทุกความเข้มข้น ยกเว้นจาน control

- เทอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งที่ยังมีอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส ลงใน sterile petri dish จำนวน 18 มิลลิลิตร โดยทำทีละความเข้มข้น แล้วหมุนวน (Swirl) จานอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้สารละลายยาและอาหารเลี้ยงเชื้อผสมเข้ากัน

- ปล่อยไว้จนอาหารแข็งตัว แล้วนำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 2-5 องศาเซลเซียส

6.2 นำสารละลายฟอสโฟมัยซินในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง มาผึ่งให้ผิวหน้าแห้ง

6.3 นำสารละลายเชื้อที่มีความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland standard scale (จากข้อ4) มาเจือจางอีกครั้งด้วย sterile water for injection ในอัตราส่วน 1:10 (โดยใช้สารละลายเชื้อ 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับ SWI 4.5 มิลลิลิตร)

6.4 ทำการ inoculum เชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อในแต่ละความเข้มข้น มีวิธีดังนี้

a. ปิเปตต์สารละลายเชื้อที่เจือจางแล้วจากข้อ 6.3 จำนวน 1-2 มิลลิลิตร ใส่ลงใน tube ที่เตรียมไว้ตามลำดับ ดังภาพที่ 4 (ในแต่ละหลุมคือสารละลายเชื้อแต่ละสายพันธุ์กัน)

	Isolate 1	**Isolate 2**	**Isolate 3**	
	Isolate 4	**Isolate 5**	**Isolate 6**	
	Isolate 7	**Isolate 8**	**Isolate 9**	

ภาพที่ 4 แสดงการลักษณะของ tube ใส่สารละลายเชื้อที่จะทำการ inoculum

b. จุ่ม replicator (ที่ผ่านการอบ sterile ที่ 160 องศาเซลเซียสมาแล้ว) ลงใน tube (ข้อ a)

c. แตะ replicator ที่สัมผัสสารละลายเชื้อลงบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง (จากข้อ 6.2) เป็นเวลานาน 2-4 วินาที (สังเกตว่ามีสารละลายของเชื้อติดบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ)

d. ทำเช่นนี้จนครบทุกความเข้มข้น ปล่อยไว้สักครู่จนสังเกตได้ว่าผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแห้งดีแล้วจึงคว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

6.5 นำไปบ่มเพาะ ที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 16-20 ชั่วโมง

6.6 อ่านค่า MIC และบันทึกผลในแบบบันทึกค่า MIC (ภาคผนวก ก)

7. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) ของเชื้อที่คัดเลือกมาได้จากข้อ 6 ด้วยวิธี Broth microdilution

7.1 เตรียมสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน ความเข้มข้น 128 µg/ml ใน Cation-Mueller Hinton Broth (CAMHB) โดย ปิเปตต์สารละลายยาฟอสโฟมัยซินความเข้มข้น 1,000 µg/ml จำนวน 256 ไมโครลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวจำนวน 1,744 ไมโครลิตร แล้วผสมให้เข้ากัน

7.2 เตรียมสารละลายเชื้อ (working inoculum) ให้มีจำนวนเชื้อ $5x10^5$ CFU/ml โดยนำสารละลายในข้อ 4 จำนวน 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว จำนวน 30 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย

7.3 เตรียมถาดเลี้ยงเชื้อขนาด 24 หลุม โดยแบ่งเป็น 2 ฝั่ง ฝั่งละ 12 หลุม

7.4 เติมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวจำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในหลุมที่ 2 – หลุมที่ 11 และ 2 มิลลิลิตร ลงในหลุมที่ 12

7.5 เติมสารละลายในข้อ 7.1 จำนวน 2 มิลลิลิตร ลงในหลุมที่ 1

7.6 ใช้ปิเปตต์อัตโนมัติดูดสารละลายในหลุมที่ 1 จำนวน 1,000 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลุม ที่ 2 แล้วผสมสารละลายให้เข้ากัน โดยดูด-ปล่อย สารละลายลงในหลุม 5 ครั้ง

7.7 ทำซ้ำในข้อ 7.6 ไปจนถึงหลุมที่ 10 เมื่อผสมสารละลายดีแล้ว ให้ดูดสารละลายในหลุมที่ 10 จำนวน 1,000 ไมโครลิตร (1 มิลลิลิตร) ทิ้งไป

7.8 เติมสารละลายในข้อ 7.2 ลงในหลุมที่ 1 ถึงหลุมที่ 10 จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้นดังนี้ หลุมแรกมีความเข้มข้น 128 µg/ml หลุมถัดไปมีความเข้มข้น 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5 และ 0.25 µg/ml ตามลำดับ ชุดควบคุมผลบวก (positive control) คือ หลุมที่ 11 ซึ่งมีเชื้อแบคทีเรียและไม่มีสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน ชุดควบคุมผลลบ (negative control) คือ หลุมที่ 12 ซึ่งไม่มีเชื้อแบคทีเรียและไม่มีสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน

7.9 เติมสารละลาย glucose 6-phosphate จำนวน 10 ไมโครลิตร (จากข้อ5) ลงในหลุม ที่ 1 ถึงหลุมที่ 10

7.10 ปิดฝาครอบถาดเพาะเลี้ยงเชื้อ เขย่าเบาๆอีกครั้ง และนำไปบ่มเพาะเชื้อ ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-20 ชั่วโมง

7.11 อ่านและแปลผล โดยตรวจสอบการเกิดความขุ่นของเชื้อทดสอบในจานเพาะเชื้อด้วยตาเปล่าเทียบกับชุดควบคุม โดย ค่า MIC คือ หลุมแรกของค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารละลายยาฟอสโฟมัยซินที่ไม่เกิดความขุ่นขึ้นเมื่อพิจารณาจากความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด พร้อมบันทึกในแบบบันทึกข้อมูลทั่วไปของเชื้อแบคทีเรีย

8. การหากราฟการฆ่าเชื้อกับเวลา (time kill curve)

โดยใช้เชื้อ *E. coli* ESBL ที่มีค่า MIC ที่สูงที่สุดแต่ไม่เกิน 32 µg/ml มาทำการศึกษา ดังนี้

8.1 เตรียมสารละลายเชื้อ ให้มีจำนวนเชื้อ $1.5x10^8$ CFU/ml ดังวิธีในข้อ 4

8.2 บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (CAMHB) ลงในขวดเพาะเลี้ยงเชื้อจำนวน 8 ขวด ขวดละ 30 มิลลิลิตร

8.3 เติมสารละลายเชื้อในข้อ 8.1 จำนวน 100 ไมโครลิตร ลงในขวดเพาะเลี้ยงเชื้อในข้อ 8.2 ทุกขวด เพื่อให้มีจำนวนเชื้อเริ่มต้น $5x10^5$ CFU/ml แล้วนำไปบ่มเพาะในตู้บ่มเพาะเชื้อแบบเขย่า ที่ 35-37 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง

8.4 เมื่อครบ 2 ชั่วโมงแรก ของการบ่มเพาะเชื้อ ให้เก็บตัวอย่างของอาหารเลี้ยงเชื้อจำนวน 20 ไมโครลิตร และเริ่มต้นนับเวลาเป็นชั่วโมงที่ 0

8.5 เติมสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน ทั้งหมด 7 ความเข้มข้นลงในแต่ละขวดตามที่ระบุไว้ โดยกำหนดความเข้มข้นของยาเป็นจำนวนเท่าของ MIC เพื่อให้ครอบคลุมฤทธิ์การยับยั้งเชื้อต่ำสุด (minimum inhibition) ได้แก่ 0.25 x MIC, 0.5 x MIC, 1 x MIC ฤทธิ์ที่มีประสิทธิผลต่อการฆ่าเชื้อ (efficient bacterial killing) ได้แก่ 2 x MIC, 4 x MIC และฤทธิ์

การฆ่าเชื้อสูงสุด (maximum bacterial killing) ได้แก่ 8 x MIC, 16 x MIC ให้ขวดที่ 8 เป็นชุดควบคุม(ไม่เติมสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน)

8.6 เติมสารละลาย glucose 6-phosphate จำนวน 150 ไมโครลิตร (จากข้อ5) ลงในขวดเพาะเลี้ยงเชื้อทั้ง 8 ขวด ยกเว้นขวดที่เป็นชุดควบคุม

8.7 เก็บตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อจำนวน 20 ไมโครลิตร ที่เวลา 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12, และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ และที่ความเข้มข้นของยา 4 x MIC, 8 x MIC, 16 x MIC มีการเก็บตัวอย่างเพิ่มที่เวลา 15 นาที และ 30 นาที

8.8 ทำการศึกษาหากราฟการฆ่าเชื้อกับเวลา (ข้อ 8.1 ถึง 8.8) ทั้งหมด 3 ครั้ง

9. การนับจำนวนเชื้อ

9.1 เตรียมถาดหลุมเพาะเลี้ยงเชื้อขนาด 96 หลุม เขียนหมายเลขกำกับไว้ที่ถาด ให้แนวตั้ง คือ ลำดับ dilution ของสารละลาย และแนวนอน คือ ลำดับของความเข้มข้นของยาฟอสโฟมัยซิน

9.2 เติม sterile normal saline 0.9% จำนวน 180 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม ยกเว้นหลุมในแถวที่ 1

9.3 เติมตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวน 20 ไมโครลิตร ที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง ลงในหลุมแรก (dilution = 0) ของทุกความเข้มข้น

9.4 เจือจางตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อให้ความเข้มข้นลดลงทีละ 10 เท่าตามลำดับ (serial 10-fold dilution) โดยใช้ปิเปตต์อัตโนมัติชนิดหลายช่อง ดูดสารละลายหลุมละ 20 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลุมถัดไป (dilution ที่ 1) ผสมสารละลายให้เข้ากัน โดยการดูด-ปล่อย สารละลาย ขึ้น-ลง ในหลุม 5 ครั้ง

9.5 ทำซ้ำในข้อ 9.4 จนถึง หลุมที่ 8 (dilution ที่ 7) แล้วดูดสารละลายในหลุมที่ 8 จำนวน 20 ไมโครลิตร ทิ้งไป

9.6 แบ่งจานอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง (MHA) เป็น 4 ส่วน เท่าๆ กัน หยดสารละลายในข้อ 9.4 และ 9.5 ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละส่วน จำนวน 5 หยด หยดละ 10 ไมโครลิตร ปิดฝาและรอให้แห้งคว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส นาน 16-18 ชั่วโมง โดยทำการหยดสารละลายแต่ละหลุมจำนวน 2 ครั้ง (2 ฝั่งของจานอาหารเลี้ยงเชื้อ)

9.7 นับจำนวนโคโลนีที่ขึ้นในแต่ละส่วน และบันทึกลงในแบบบันทึกจำนวนเชื้อแบคทีเรีย ณ เวลาใด ๆ (ภาคผนวก ข)

9.8 สร้างกราฟการฆ่าเชื้อ ณ เวลาใด ๆ โดยนำจำนวนเชื้อ, เวลาและความเข้มข้นของยาฟอสโฟมัยซิน มาพล็อตเป็นกราฟการฆ่าเชื้อ

ข. การสร้างแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์

1. การวิเคราะห์หาแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ของฟอสโฟมัยซิน

ข้อมูลของกราฟการฆ่าเชื้อที่ได้จากการทดลองถูกนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบความสอดคล้องกับสมการแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ โดยใช้โปรแกรม Scientist® (Micromath, Salt Lake City, UT, USA) สำหรับรูปแบบสมการที่นำมาวิเคราะห์ประกอบด้วยรูปแบบของสมการที่พัฒนาสร้างขึ้นจำนวน 16 รูปแบบ ดังนี้

สมการที่ 1 เป็นรูปแบบสมการพื้นฐานที่พัฒนามาจากสมการ E_{max} model

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0 - \left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right)\right].N \qquad \text{สมการที่ 1}$$

โดยที่ dN/dt คือ จำนวนเชื้อที่เปลี่ยนแปลงในรูปฟังก์ชันของเวลา k_0 คือ อัตราคงที่ของการเจริญเติบโตของเชื้อขณะที่ไม่มียา k_{max} คือ อัตราคงที่ของการฆ่าเชื้อสูงสุด C คือ ความเข้มข้นของยา EC_{50} คือ ความเข้มข้นของยาที่ให้ผลฆ่าเชื้อร้อยละ 50 และ N คือจำนวนเชื้อแบคทีเรีย

กรณีมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย เช่น ระยะเพิ่มจำนวน (log growth phase, $1-e^{-zt}$) สมการที่ 1 ถูกเปลี่ยนให้เป็นสมการที่ 2, 3 และ 4

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0 - \left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right)\right].\left(1-e^{-zt}\right).N \qquad \text{สมการที่ 2}$$

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0.\left(1-e^{-zt}\right) - \left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right)\right].N \qquad \text{สมการที่ 3}$$

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0 - \left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right).\left(1-e^{-zt}\right)\right].N \qquad \text{สมการที่ 4}$$

กรณีที่มีการเพาะเลี้ยงเชื้อในขวดทำให้มีอาหารเลี้ยงเชื้อและพื้นที่ในการเจริญเติบโตจำกัด สมการที่ 1 จะมีปัจจัยเกี่ยวกับจำนวนเชื้อสูงสุด (N_{max}) เข้ามาเกี่ยวข้อง เกิดรูปแบบสมการที่ 5

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0\left(1-\frac{N}{N_{max}}\right)-\left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right)\right].N \qquad \text{สมการที่ 5}$$

เมื่อนำจำนวนเชื้อสูงสุด (N_{max}) และระยะเพิ่มจำนวน (z) ในสมการที่ 2-4 มาพิจารณาร่วมกัน ทำให้เกิดรูปแบบสมการที่ 6-8

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0\left(1-\frac{N}{N_{max}}\right)-\left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right)\right].\left(1-e^{-zt}\right).N \qquad \text{สมการที่ 6}$$

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0\left(1-\frac{N}{N_{max}}\right).\left(1-e^{-zt}\right)-\left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right)\right].N \qquad \text{สมการที่ 7}$$

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0\left(1-\frac{N}{N_{max}}\right)-\left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right).\left(1-e^{-zt}\right)\right].N \qquad \text{สมการที่ 8}$$

นอกจากนี้ ยังมีค่า hill factor (h) ที่อาจนำมาพิจารณาเพื่อปรับความชันของ concentration effect ในสมการที่ 1-8 ทำให้เกิดรูปแบบสมการที่ 9-16

Chulalongkorn University

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0-\left(\frac{k_{max}.C^h}{EC^h{}_{50}+C^h}\right)\right].N \qquad \text{สมการที่ 9}$$

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0-\left(\frac{k_{max}.C^h}{EC^h{}_{50}+C^h}\right)\right].\left(1-e^{-zt}\right).N \qquad \text{สมการที่ 10}$$

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0.\left(1-e^{-zt}\right)-\left(\frac{k_{max}.C^h}{EC^h{}_{50}+C^h}\right)\right].N \qquad \text{สมการที่ 11}$$

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0-\left(\frac{k_{max}.C^h}{EC^h{}_{50}+C^h}\right).\left(1-e^{-zt}\right)\right].N \qquad \text{สมการที่ 12}$$

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0 \left(1 - \frac{N}{N_{max}} \right) - \left(\frac{k_{max}.C^h}{EC^h{}_{50} + C^h} \right) \right] .N \qquad \text{สมการที่ 13}$$

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0 \left(1 - \frac{N}{N_{max}} \right) - \left(\frac{k_{max}.C^h}{EC^h{}_{50} + C^h} \right) \right] . \left(1 - e^{-zt} \right) .N \qquad \text{สมการที่ 14}$$

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0 \left(1 - \frac{N}{N_{max}} \right) . \left(1 - e^{-zt} \right) - \left(\frac{k_{max}.C^h}{EC^h{}_{50} + C^h} \right) \right] .N \qquad \text{สมการที่ 15}$$

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0 \left(1 - \frac{N}{N_{max}} \right) - \left(\frac{k_{max}.C^h}{EC^h{}_{50} + C^h} \right) . \left(1 - e^{-zt} \right) \right] .N \qquad \text{สมการที่ 16}$$

ขั้นตอนการวิเคราะห์หาค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์จากสมการทางคณิตศาสตร์

1. การหาอัตราคงที่ของการเจริญของเชื้อจุลชีพขณะที่ไม่ได้สัมผัสกับยาต้านจุลชีพ (k_0)

การวิเคราะห์หาค่า k_0 นี้ใช้ข้อมูลจากชุดควบคุม กล่าวคือ เมื่อไม่เติมสารละลายฟอสโฟมัยซินเชื้อ *E. coli* ESBL สามารถเจริญได้อย่างอิสระ และไม่มีอัตราการฆ่าเชื้อสูงสุด ดังนั้นจึงทำให้พจน์ $(k_{max} \times C)/(EC_{50}+C)$ จึงมีค่าเป็นศูนย์ สมการจึงลดรูปเป็น $dN/dt = k_0 \times N$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2. หาค่าคงที่ของอัตราการฆ่าเชื้อสูงสุด (k_{max})

การหาค่า k_{max} ใช้ข้อมูลเชื้อจากความเข้มข้นของฟอสโฟมัยซิน ที่ให้ฤทธิ์การฆ่าเชื้อสูงสุด กล่าวคือ ที่ความเข้มข้นของฟอสโฟมัยซินที่ให้ฤทธิ์การฆ่าเชื้อสูงสุด ค่าความเข้มข้นของยา (C) จะมีค่าสูงกว่า EC_{50} มาก ทำให้สมการลดรูปเป็น $dN/dt = (k_0 - k_{max}) \times N$

3. การวิเคราะห์หาสมการแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์

ในการหาสมการแบบจำลองนั้นใช้ข้อมูล ค่า k_0 และ k_{max} ที่ได้จากข้อ 1 และ 2 มาเป็นค่าเริ่มต้นในการหาค่า EC_{50}, N_{max}, z และ h

2. เกณฑ์การประเมินสมการแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์

ใช้เกณฑ์ประเมินความสอดคล้องพอดี (goodness of fit) ซึ่งพิจารณาจากรูปกราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองซึ่งสอดคล้อง (fit) กับข้อมูล และค่าสถิติที่ได้จากโปรแกรม Scientist® ได้แก่

1) ค่า model selection criteria (MSC)
2) ค่า coefficient of determination (r^2)
3) ค่า correlation ระหว่างค่าคำนวณจากแบบจำลองกับค่าจริง

MSC ของโปรแกรม Scientist® แสดง information content ของจำนวนพารามิเตอร์ด้วยการเชื่อมค่า r^2 กับจำนวนพารามิเตอร์ที่ต้องใช้เพื่อหาความสอดคล้องพอดี โดยการเพิ่มขึ้นของค่า MSC ชี้ให้เห็นความเหมาะสมของแบบจำลองซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลมากขึ้น

4. สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 4
ผลการวิจัย

ผลการวิจัยประกอบไปด้วย 2 ส่วน คือ

ส่วนที่ 1 การศึกษากราฟฆ่าเชื้อกับเวลา

ส่วนที่ 2 การสร้างแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์

การศึกษากราฟฆ่าเชื้อกับเวลา

1. ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) ด้วยวิธี Agar dilution

จากการคัดเลือกเชื้อ *E. coli* สายพันธุ์ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL ที่มีการเก็บไว้ที่ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย แล้วนำมาหาค่า MIC ด้วยวิธี Agar dilution เพื่อทดสอบความไวของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ต่อยาฟอสโฟมัยซินนั้น พบว่าสายพันธุ์ที่นำมาทดสอบทั้ง 3 สายพันธุ์คือ L2EN49, L2EN228 และ L2EN486 นั้นมีความไวเป็น S (susceptible) ต่อยาฟอสโฟมัยซิน เนื่องจากพิจารณาจากค่า MIC ที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธี agar dilution นั้นมีค่าน้อยกว่า 32 มคก./มล. (เกณฑ์ค่า MIC ≤32 มคก./มล., >32 มคก./มล. การแปลผลว่า S (susceptible) และ R (resistant) ตามลำดับ) จึงสามารถสรุปผลการทดสอบความไวของเชื้อโดยใช้ค่า MIC ได้ดังตารางที่ 3

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 3 เชื้อแบคทีเรีย สายพันธุ์ และค่า MIC (มคก./มล.) จากวิธี Agar dilution

เชื้อแบคทีเรีย	**สายพันธุ์**	**MIC (มคก./มล.) วิธี agar dilution (n=3)**	**แปลผลความไวของเชื้อ**
E. coli ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL	L2EN49	0.25 - 0.5	S
	L2EN228	0.25 - 1	S
	L2EN486	0.25 - 1	S
E. coli	ATCC 25922	0.5 - 1	S

2. ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) ด้วยวิธี Broth dilution

เมื่อทดสอบความไวของเชื้อสายพันธุ์ที่ต้องการด้วยการพิจารณาจากค่า MIC ได้แล้วนั้น ก่อนนำเชื้อสายพันธุ์ที่ต้องการไปหากราฟการฆ่าเชื้อกับเวลานั้นต้องมีการหาค่า MIC อีกครั้งเนื่องจากในขั้นตอนการทดสอบหาค่า MIC เชื้อแต่ละสายพันธุ์ต่อยาฟอสโฟมัยซินนั้นใช้วิธี Agar dilution แต่ในการศึกษากราฟการฆ่าเชื้อนั้นทำการศึกษาในอาหารเหลว (Broth) จึงต้องนำเชื้อสายพันธุ์ที่ผ่านการทดสอบในครั้งแรกมาหาค่า MIC ด้วยวิธี Broth dilution (two-fold serial dilution) อีกครั้ง ซึ่งผลการทดสอบพบว่า เชื้อ *E. coli* ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL สายพันธุ์ L2EN49 มีค่าMIC 32 มคก./มล. สายพันธุ์ L2EN228 มีค่า MIC 16 มคก./มล. และ L2EN486 มีค่า MIC 8 มคก./มล. แสดงดังตารางที่ 4

จากผลการหาค่า MIC ของเชื้อ *E. coli* ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL จำนวน 3 สายพันธุ์ ตามตารางที่ 4 พบว่าทั้ง 3 สายพันธุ์นั้นมีค่า MIC ที่แตกต่างกัน (ทั้ง 3 สายพันธุ์นั้นไวต่อยา) จึงพิจารณาเลือกเชื้อ 1 สายพันธุ์ คือ L2EN49 ที่มีค่า MIC 32 มคก./มล. เป็นตัวแทนที่จะถูกนำไปศึกษาหากราฟการฆ่าเชื้อต่อไป เนื่องจาก ค่า MIC 32 มคก./มล. นั้นสามารถเป็นตัวแทนในการหากราฟการฆ่าเชื้อของอีก 2 สายพันธุ์ (L2EN228, L2EN486) ได้

ตารางที่ 4 เชื้อแบคทีเรีย สายพันธุ์ และค่า MIC (มคก./มล.) จากวิธี broth dilution

เชื้อแบคทีเรีย	**สายพันธุ์**	**MIC (มคก./มล.)** **<u>วิธี broth dilution</u>** **(n=3)**
E. coli ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL	L2EN49	32
	L2EN228	16
	L2EN486	8
E. coli	ATCC 25922	32

3. กราฟการฆ่าเชื้อกับเวลา

นำเชื้อ *E. coli* ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL (สายพันธุ์ L2EN49) ซึ่งมีค่า MIC 32 มคก./มล. มาทำการศึกษากราฟฆ่าเชื้อกับเวลา โดยหาจำนวนเชื้อแบคทีเรีย (CFU/ml) ที่สัมผัสกับยาฟอสโฟมัยซินที่ความเข้มข้นของยาต่างๆ เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง โดยความเข้มข้นของฟอสโฟมัยซิน

ที่ใช้นั้นมีค่า 0.25-16 เท่าของค่า MIC ดังนั้นความเข้มข้นของยาฟอสโฟมัยซินที่ใช้ในการศึกษากราฟการฆ่าเชื้อกับเวลามีค่า 8, 16, 32, 64, 128, 256 และ 512 มคก./มล.

เพื่อทำให้เชื้อแบคทีเรียเข้าสู่ระยะปรับตัว (log-growth phase) ก่อนทำการเติมสารละลายยาฟอสโฟมัยซินที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในแต่ละขวดที่บรรจุเชื้อแบคทีเรียและCAMHB แล้วนั้นจะทำการบ่มเพาะเชื้อแบคทีเรียที่มีปริมาณตั้งต้นเท่ากับ $5x10^5$ CFU/ml ณ อุณหภูมิ 36-38 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง จึงทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 ชั่วโมง และนำไปหาจำนวนเชื้อแบคทีเรียพบว่าจำนวนเชื้อแบคทีเรีย ที่เวลา 0 ชั่วโมงของแต่ละขวด มีค่าใกล้เคียงกับจำนวนเชื้อของชุดควบคุม (control) ดังแสดงในภาพที่ 5-9

ผลของกราฟการฆ่าเชื้อกับเวลา เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารละลายยาฟอสโฟมัยซินที่มีฤทธิ์ครอบคลุมการยับยั้งเชื้อต่ำสุด(minimum inhibition) คือ 0.25MIC, 0.5MIC และ 1MIC (ความเข้มข้นของยาฟอสโฟมัยซินเท่ากับ 8, 16 และ 32 มคก./มล. ตามลำดับ) พบว่าจำนวนเชื้อแบคทีเรียและผลกราฟการฆ่าเชื้อแสดงดังตารางที่ 5 และภาพที่ 5 จากกราฟการฆ่าเชื้อนั้นแสดงให้เห็นว่ายาฟอสโฟมัยซินสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อต่ำสุดได้ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 8, 16 และ 32 มคก./มล. โดยสำหรับที่ความเข้มข้น 0.25MIC (8 มคก./มล.) และ 0.5MIC (16 มคก./มล.) นั้น สามารถลดจำนวนของเชื้อแบคทีเรียได้อย่างน้อย 3 log ภายในเวลา 1-2 ชั่วโมง จากจำนวนเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นและพบการเพิ่มขึ้นของเชื้อแบคทีเรียอีกครั้ง (regrowth) ในชั่วโมงที่ 2 และสำหรับที่ความเข้มข้น 1MIC (32 มคก./มล.) นั้นสามารถลดจำนวนของเชื้อได้ > 3 log อย่างรวดเร็วภายใน 1 ชั่วโมงแรก แต่พบการเพิ่มขึ้นของเชื้ออีกครั้ง (regrowth) ในชั่วโมงที่ 6

ผลของกราฟการฆ่าเชื้อกับเวลาเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารละลายยาฟอสโฟมัยซินในช่วงที่มีประสิทธิภาพต่อการฆ่าเชื้อ คือ 2MIC และ 4MIC (ความเข้มข้นของยาฟอสโฟมัยซิน 64 และ 128 มคก./มล. ตามลำดับ) จากข้อมูลในจำนวนเชื้อแบคทีเรียกับเวลาตามตารางที่ 6 พบว่าจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นของยาเท่ากับ 4MIC ณ เวลาที่ 1 ชั่วโมงนั้นมีค่า 0 CFU/ml แสดงให้เห็นว่าที่เวลา 1 ชั่วโมงนั้นเชื้อถูกฆ่าจนหมดแล้ว ดังนั้นเพื่อให้เห็นรูปแบบการฆ่าเชื้อของฟอสโฟมัยซินที่ความเข้มข้น 4MIC ก่อนที่เชื้อจะถูกฆ่าจนหมดนั้น จึงมีการออกแบบการเก็บข้อมูลเพิ่มเติมสำหรับความเข้มข้นของยาฟอสโฟมัยซินที่ 4MIC, 8MIC และ 16MIC โดยจะในการเก็บตัวอย่างนั้นจะทำการเก็บตัวอย่างเพิ่มเติมที่เวลา 0.25 (15นาที) และ 0.5 (30นาที) ชั่วโมง ตามลำดับ

เมื่อทำการเก็บข้อมูลใหม่ที่เวลา 0.25 (15นาที) และ 0.5 (30นาที) ชั่วโมง พบว่าจำนวนเชื้อแบคทีเรียและกราฟการฆ่าเชื้อแสดงดังตารางที่ 7 และภาพที่ 7 จากกราฟการฆ่าเชื้อแสดงให้เห็นว่าที่ความเข้มข้น 2MIC (64 มคก./มล.) และ 4MIC (128 มคก./มล.) มีความสามารถในการฆ่าเชื้อได้อย่างรวดเร็ว (Rapid bactericidal effect) โดยที่ความเข้มข้น 2MIC (64 มคก./มล.) แสดงฤทธิ์ในการลดจำนวนเชื้อเชื้อได้ > 3 log ภายใน 1 ชั่วโมงและไม่พบการเพิ่มขึ้นของเชื้อแบคทีเรียอีกครั้งหลังสัมผัสยา 2 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 4MIC (128 มคก./มล.) แสดงฤทธิ์การฆ่าเชื้อได้อย่างรวดเร็วภายใน 15 นาที และไม่พบการเพิ่มขึ้นของเชื้อแบคทีเรียอีกครั้งหลังสัมผัสยานาน 30 นาที

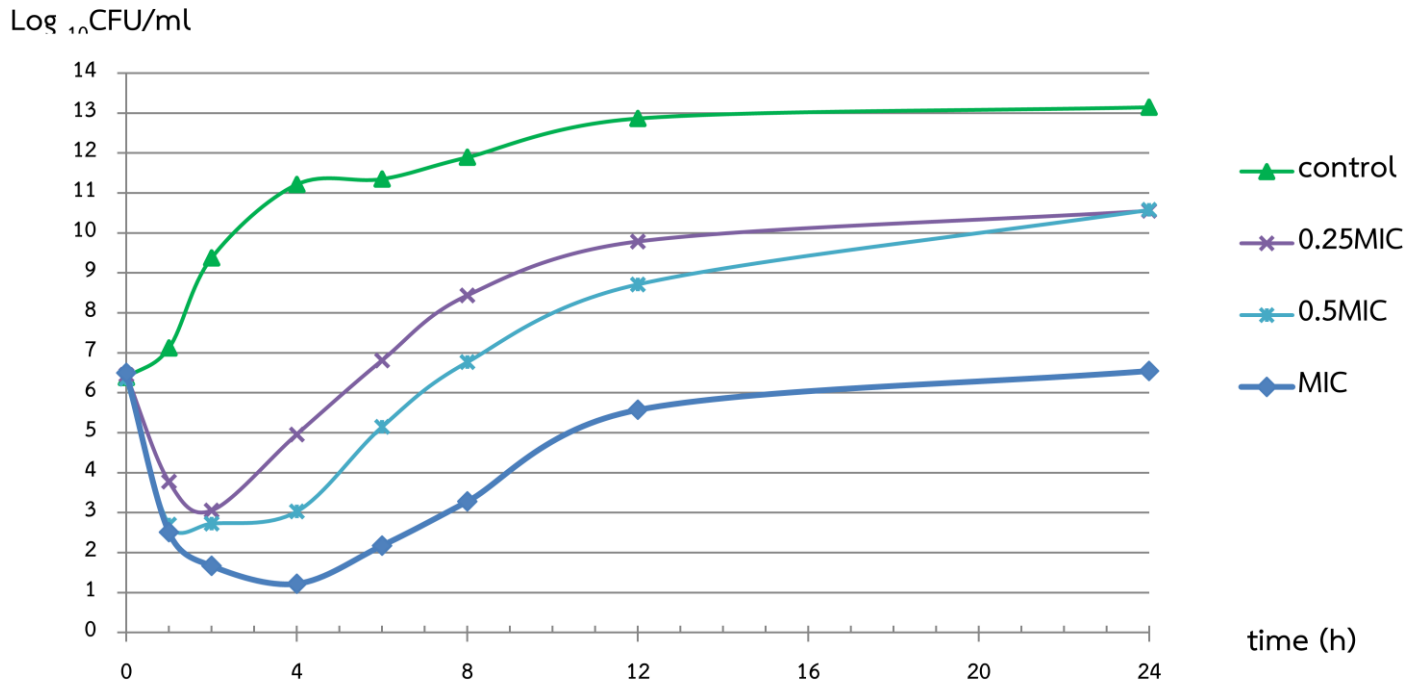
สำหรับที่ช่วงความเข้มข้นของสารละลายยาฟอสโฟมัยซินที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อสูงสุด คือ 8MIC และ 16MIC (ความเข้มข้น 256 และ 512 มคก./มล. ตามลำดับ) พบว่าจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่เวลา 1 ชั่วโมง มีค่า 0 CFU/ml เช่นเดียวกับที่ความเข้มข้น 4MIC แต่เมื่อทำการเก็บตัวอย่างเพิ่มที่เวลา 15 นาทีและ 30 นาทีนั้น ผลของข้อมูลจำนวนเชื้อหลังจากเชื้อสัมผัสกับยาพบว่ามีข้อมูลจำนวนเชื้อที่เวลา 15 นาที แต่ที่เวลา 30 นาทีนั้นจำนวนเชื้อมีค่าเท่ากับ 0 CFU/ml จำนวนของเชื้อแบคทีเรียกับเวลาแสดงดังตารางที่ 8 และจากกราฟการฆ่าเชื้อแสดงตามภาพที่ 8 จากการวิเคราะห์กราฟการฆ่าเชื้อแสดงให้เห็นว่ายาฟอสโฟมัยซินสามารถแสดงฤทธิ์ฆ่าเชื้อ (bactericidal effect) ที่ความเข้มข้นของยาเท่ากับ 8MIC และ 16MIC ได้อย่างรวดเร็วตั้งแต่ 15 นาที ภายหลังเชื้อสัมผัสกับยาและไม่พบการเพิ่มจำนวนขึ้นของเชื้อแบคทีเรียอีกครั้ง สำหรับฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อสูงสุด ของยาฟอสโฟมัยซินต่อเชื้อ *E. coli* ESBL สายพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษานี้นั้นมีค่าเท่ากับ 8 MIC (256 มคก./มล.) เนื่องจากที่ความเข้มข้นของยา 8MIC และ 16MIC นั้น แสดงฤทธิ์ ในการฆ่าเชื้อ *E. coli* ESBL ได้ไม่แตกต่างกัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ 5 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย (10^6 CFU/ml) กับเวลา (ชั่วโมง) ของชุดควบคุมและที่ความเข้มข้นของสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน 0.25MIC (8 มคก./มล.), 0.5MIC (16มคก./มล.) และ 1MIC (32 มคก./มล.) (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

เวลา (ชม.)	ชุดควบคุม (control) n=3	0.25MIC (8 มคก./มล.) n=3	0.5MIC (16 มคก./มล.) n=3	1MIC (32 มคก./มล.) n=3
0	2.43±0.38	2.82±0.39	2.24±0.6773	3.133±0.7767
1	13.17±3.01	0.0060±0.00086	0.0005±0.000458	0.00032±0.00041
2	2,366.66±2.03	0.0011±0.00015	0.000533±0.000404	0.000046±0.000046
4	163,666.66±215,360.9373	0.0913±0.1032	0.00106±0.00167	0.0000167±0.0000058
6	223,666.66±239,374.8803	6.5±1.732	0.140±0.1178	0.00015±0.000217
8	780,000±640,936.8143	274.00±7,200.280	5.833±5.0639	0.0019±0.001014
12	7,333,333.33±3,118,225.9913	6,136.67±7,200.28	516.67±305.3413	0.3733±0.0642
24	14,000,000±9,165,151.3899	35,933.33±17,100.0974	37,800.00±21,824.7565	3.53±1.367

ภาพที่ 5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเชื้อแบคทีเรีย (Log_{10}CFU/ml) กับเวลา(ชั่วโมง) ที่ความเข้มข้นของสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน 0.25MIC (8 มคก./มล.), 0.5MIC (16มคก./มล.) และ 1MIC (32 มคก./มล.)

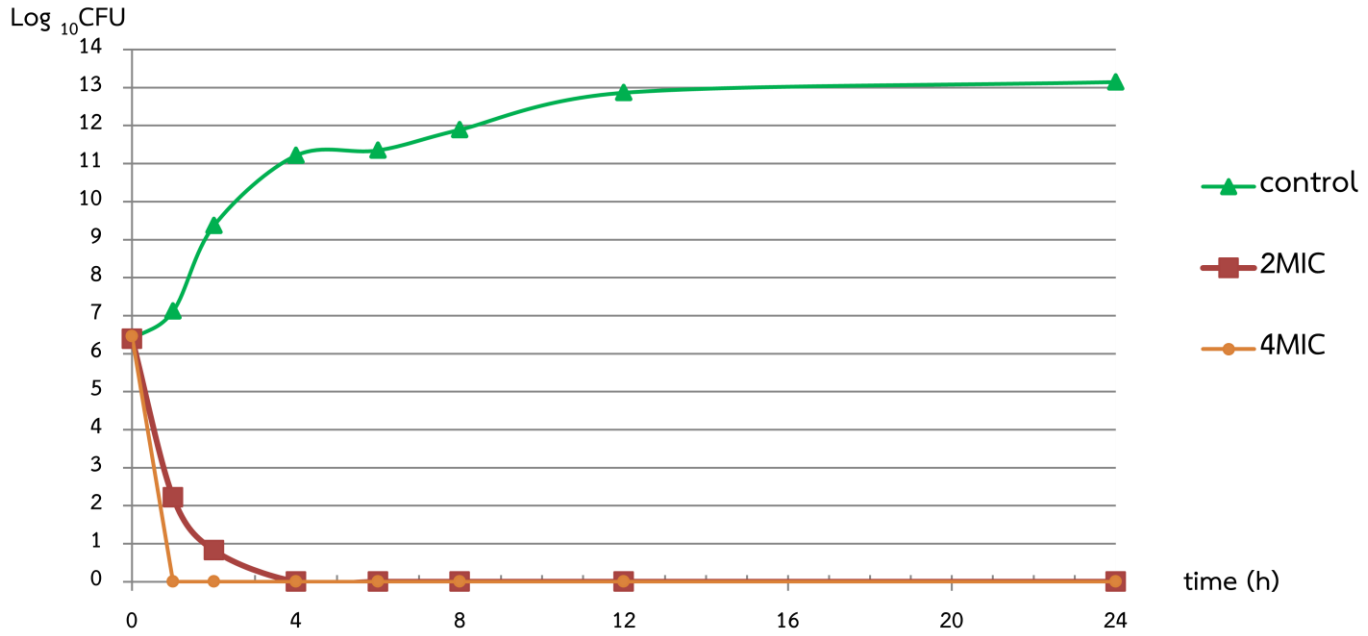


ตารางที่ 6 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย (10^6 CFU/ml) กับเวลา (ชั่วโมง) ที่ความเข้มข้นของสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน 2MIC (64 มคก./มล.) และ 4MIC (128 มคก./มล.) (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

เวลา (ชั่วโมง)	**2MIC (64 มคก./มล.) n=3**	**4MIC (128 มคก./มล.) n=3**
0	2.466±0.9237	2.866±0.5131
1	0.000167±0.000115	0
2	0.0000067±0.0000115	0
4	0	0
6	0	0
8	0	0
12	0	0
24	0	0

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาพที่ 6 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเชื้อแบคทีเรีย (Log_{10}CFU/ml) กับเวลา (ชั่วโมง) ที่ความเข้มข้นของสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน2MIC (64 มคก./มล.) และ 4MIC (128 มคก./มล.)

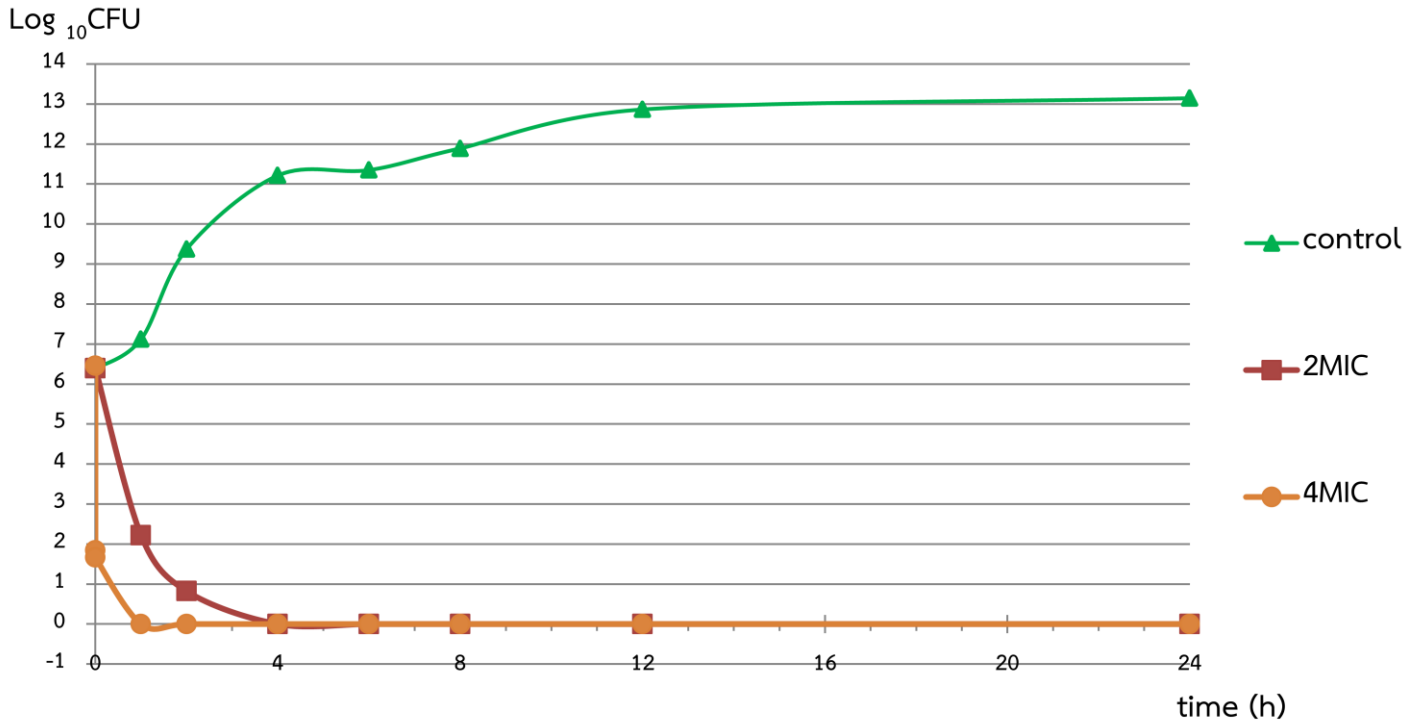


ตารางที่ 7 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย (10^6 CFU/ml) กับเวลา (ชั่วโมง) ที่ความเข้มข้นของสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน 4MIC (128 มคก./มล.) หลังเพิ่มเวลาเก็บตัวอย่าง (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

เวลา (ชั่วโมง)	**4MIC (128 มคก./มล.) n=3**
0	2.866±0.5131
0.25	0.000070±0.000026
0.5	0.0000467±0.0000305
1	0
2	0
4	0
6	0
8	0
12	0
24	0

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาพที่ 7 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเชื้อแบคทีเรีย (Log_{10}CFU/ml) กับเวลา(ชั่วโมง) ที่ความเข้มข้นของสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน 2MIC (64 มคก./มล.) และ 4MIC (128 มคก./มล.)

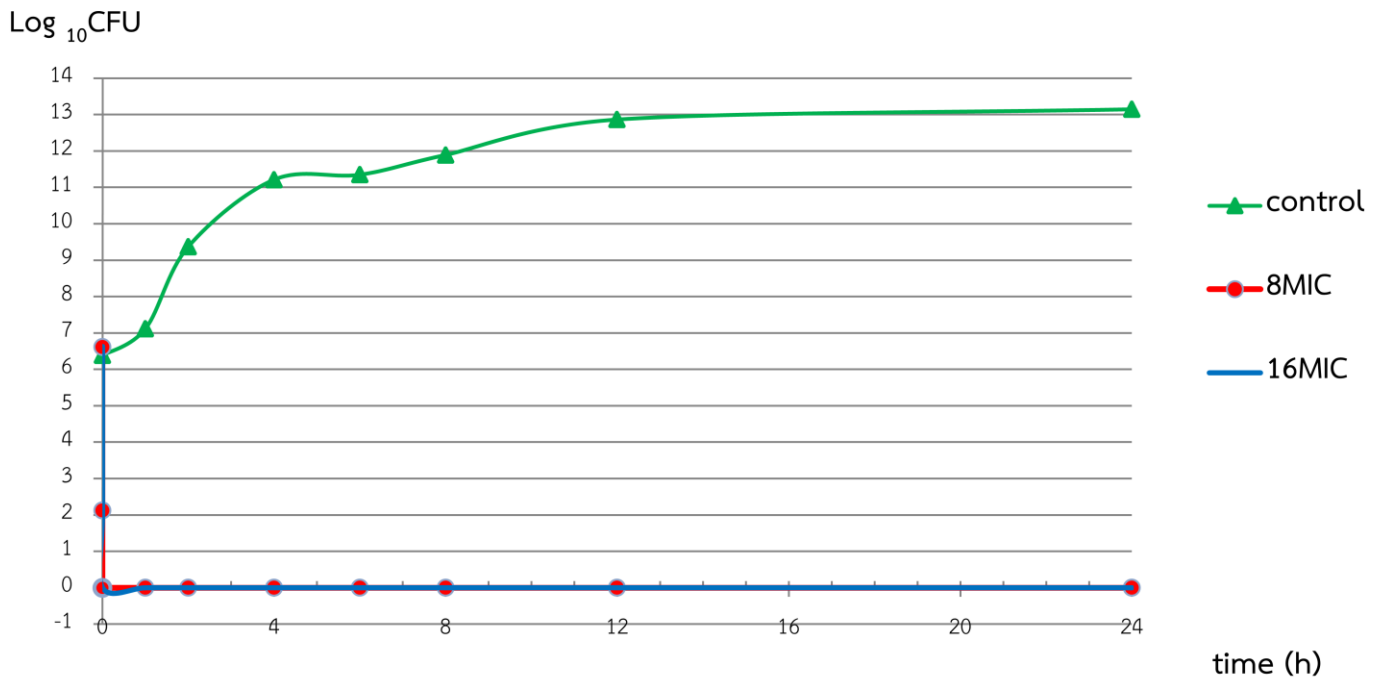


ตารางที่ 8 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย (10^6 CFU/ml) กับเวลา (ชั่วโมง) ที่ความเข้มข้นของสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน 8MIC (256 มคก./มล.) และ 16MIC (512 มคก./มล.) (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

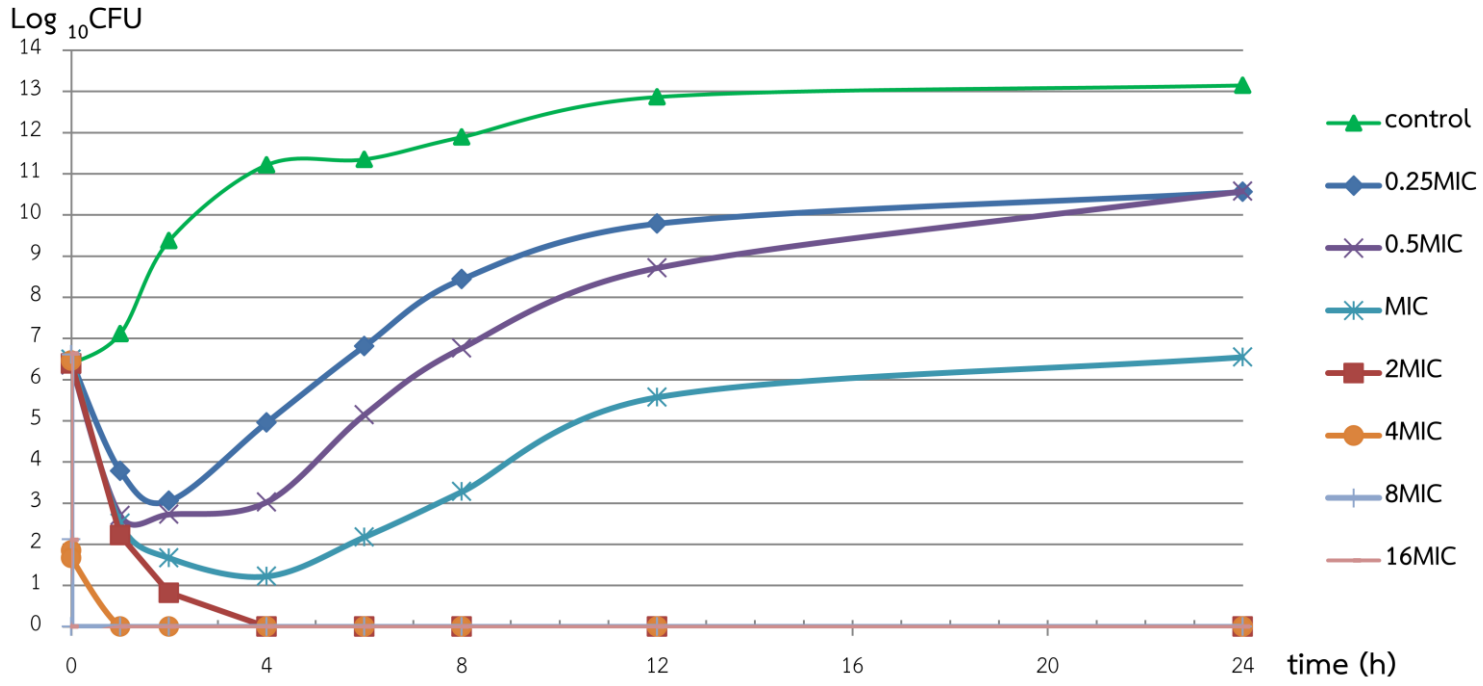
เวลา (ชั่วโมง)	**8MIC (256 มคก./มล.) n=3**	**16MIC (512 มคก./มล.) n=3**
0	4.10±2.5119	4.267±0.2309
0.25	0.000133±0.0000577	0.0001267±0.0000643
0.5	0	0
1	0	0
2	0	0
4	0	0
6	0	0
8	0	0
12	0	0
24	0	0

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาพที่ 8 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเชื้อแบคทีเรีย (Log_{10}CFU/ml) กับเวลา (ชั่วโมง) ที่ความเข้มข้นของสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน 8MIC (256 มคก./มล.) และ 16MIC (512 มคก./มล.)



ภาพที่ 9 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเชื้อแบคทีเรีย (Log10CFU/ml) กับเวลา (ชั่วโมง) ที่ความเข้มข้นของสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน 0.25MIC (8มคก./มล.), 0.5MIC (16มคก./มล.), 1MIC (32มคก./มล.), 2MIC (64มคก./มล.), 4MIC (128มคก./มล.), 8MIC (256มคก./มล.)และ 16MIC (512 มคก./มล.)



การสร้างแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์

จากข้อมูลของกราฟการฆ่าเชื้อ ประกอบไปด้วย จำนวนของเชื้อแบคทีเรีย เวลา และความเข้มข้นของยาฟอสโฟมัยซิน โดยข้อมูลที่ได้จากการทดลองจะถูกนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบกับสมการแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ โดยใช้โปรแกรม Scientist® ดังนี้

1) ผลการวิเคราะห์หาอัตราคงที่การเจริญเติบโตของเชื้อขณะที่ไม่มียา (k_0)

การวิเคราะห์หาค่า k_0 ใช้ข้อมูลของเชื้อจากชุดควบคุม (control) เมื่อไม่มีการเติมสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน ทำให้เชื้อ *E. coli* ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL สามารถเจริญได้อย่างอิสระ เมื่อนำรูปสมการที่ 1-16 มาวิเคราะห์ พบว่าสมการที่ใช้เพื่อหาค่า k_0 ถูกเปลี่ยนเป็นสมการที่ 17-32 ตามลำดับ ดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 รูปแบบสมการที่ใช้หาค่า k_0

สมการที่	รูปสมการ	สมการที่	รูปแบบสมการที่ใช้หาค่า k_0
1	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0-\left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right)\right].N$	17	$\frac{dN}{dt}=[k_0].N$
2	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0-\left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right)\right].(1-e^{-zt}).N$	18	$\frac{dN}{dt}=[k_0].(1-e^{-zt}).N$
3	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0(1-e^{-zt})-\left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right)\right].N$	19	$\frac{dN}{dt}=[k_0.(1-e^{-zt})].N$
4	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0-\left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right).(1-e^{-zt})\right].N$	20	$\frac{dN}{dt}=[k_0].N$
5	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0\left(1-\frac{N}{N_{max}}\right)-\left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right)\right].N$	21	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0\left(1-\frac{N}{N_{max}}\right)-\right].N$
6	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0\left(1-\frac{N}{N_{max}}\right)-\left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right)\right].(1-e^{-zt}).N$	22	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0\left(1-\frac{N}{N_{max}}\right)\right].(1-e^{-zt}).N$
7	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0\left(1-\frac{N}{N_{max}}\right).(1-e^{-zt})-\left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right)\right].N$	23	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0\left(1-\frac{N}{N_{max}}\right).(1-e^{-zt})\right].N$

8	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0\left(1-\frac{N}{N_{max}}\right)-\left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right).(1-e^{-zt})\right].N$	24	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0\left(1-\frac{N}{N_{max}}\right)\right].N$
9	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0-\left(\frac{k_{max}.C^h}{EC^h{}_{50}+C^h}\right)\right].N$	25	$\frac{dN}{dt}=[k_0].N$
10	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0-\left(\frac{k_{max}.C^h}{EC^h{}_{50}+C^h}\right)\right].(1-e^{-zt}).N$	26	$\frac{dN}{dt}=[k_0].(1-e^{-zt}).N$
11	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0(1-e^{-zt})-\left(\frac{k_{max}.C^h}{EC^h{}_{50}+C^h}\right)\right].N$	27	$\frac{dN}{dt}=[k_0.(1-e^{-zt})].N$
12	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0-\left(\frac{k_{max}.C^h}{EC^h{}_{50}+C^h}\right).(1-e^{-zt})\right].N$	28	$\frac{dN}{dt}=[k_0].N$
13	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0\left(1-\frac{N}{N_{max}}\right)-\left(\frac{k_{max}.C^h}{EC^h{}_{50}+C^h}\right)\right].N$	29	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0\left(1-\frac{N}{N_{max}}\right)\right].N$
14	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0\left(1-\frac{N}{N_{max}}\right)-\left(\frac{k_{max}.C^h}{EC^h{}_{50}+C^h}\right)\right].(1-e^{-zt}).N$	30	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0\left(1-\frac{N}{N_{max}}\right)\right].(1-e^{-zt}).N$
15	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0\left(1-\frac{N}{N_{max}}\right).(1-e^{-zt})-\left(\frac{k_{max}.C^h}{EC^h{}_{50}+C^h}\right)\right].N$	31	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0\left(1-\frac{N}{N_{max}}\right).(1-e^{-zt})\right].N$
16	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0\left(1-\frac{N}{N_{max}}\right)-\left(\frac{k_{max}.C^h}{EC^h{}_{50}+C^h}\right).(1-e^{-zt})\right].N$	32	$\frac{dN}{dt}=\left[k_0\left(1-\frac{N}{N_{max}}\right)\right].N$

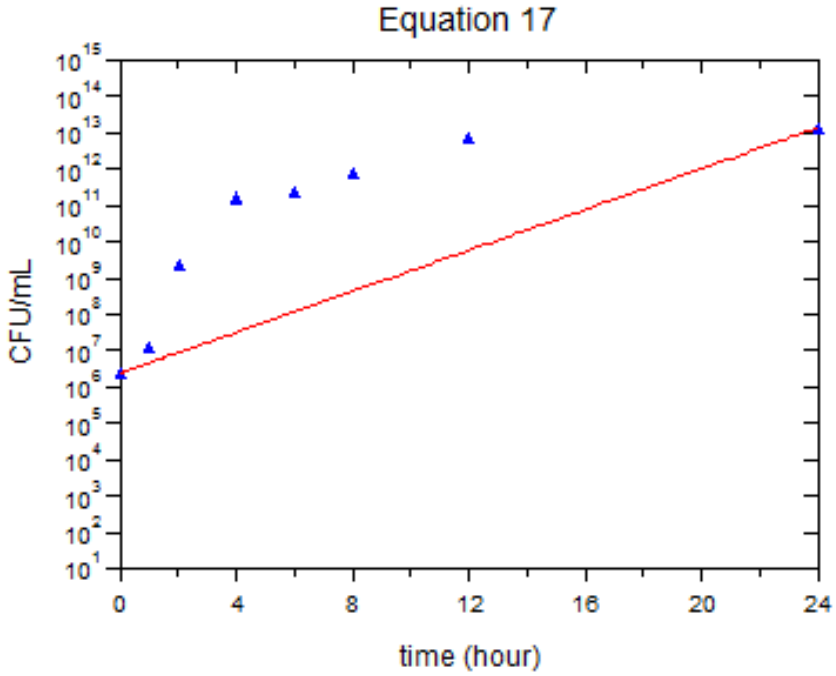
ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์ ได้แก่ k_0, z, N_{max} และค่าสถิติที่ได้จากแบบจำลองของสมการที่ 17 ถึง 32 แสดงในตารางที่ 10 และกราฟที่ได้จากการสร้างแบบจำลองของสมการที่ 17 ถึง 32 แสดงในภาพที่ 10 ถึง 25

ตารางที่ 10 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์และค่าสถิติที่ได้จากแบบจำลองของสมการที่ 17-32

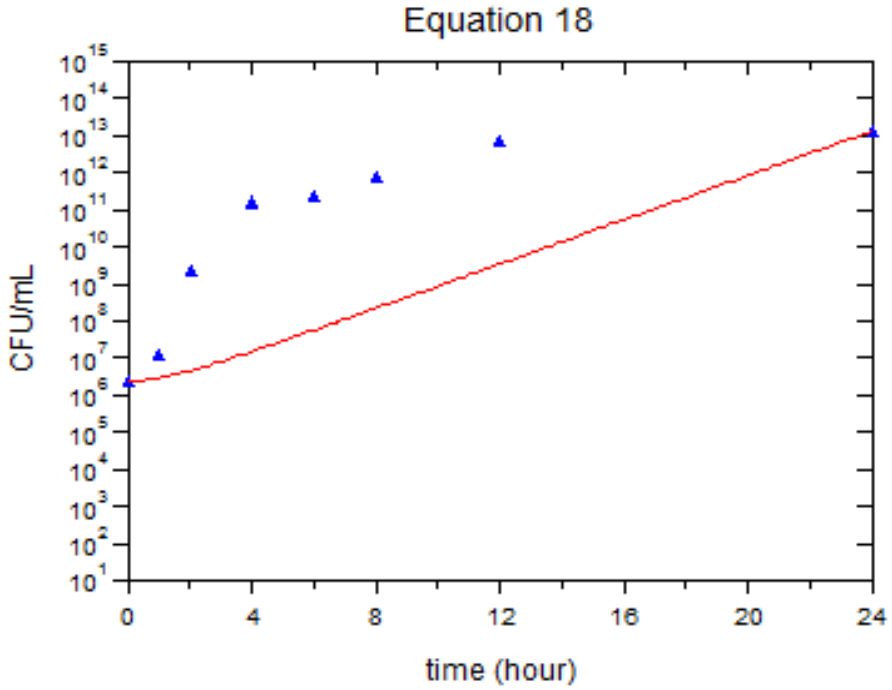
สมการที่	K_0 (ชั่วโมง$^{-1}$)	Z (ชั่วโมง$^{-1}$)	N_{max} (x10^{13}CFU/ml)	MSC	r^2
17	0.65	-	-	0.99	0.78
18	0.69	0.71	-	0.72	0.78
19	0.69	0.71	-	0.72	0.78
20	0.65	-	-	0.99	0.78
21	1.32	-	1.33	4.69	0.99
22	1.34	2.78	1.41	4.86	0.99
23	1.36	1.86	1.42	4.93	0.99
24	1.30	-	1.43	5.04	0.99
25	0.65	-	-	0.99	0.78
26	0.67	1.36	-	0.73	0.78
27	0.68	1.06	-	0.74	0.78
28	0.65	-	-	0.99	0.78
29	1.31	-	1.45	4.71	0.99
30	1.33	2.64	1.42	4.58	0.99
31	1.31	6.67	1.42	4.86	0.99
32	1.31	-	1.45	4.60	0.99

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

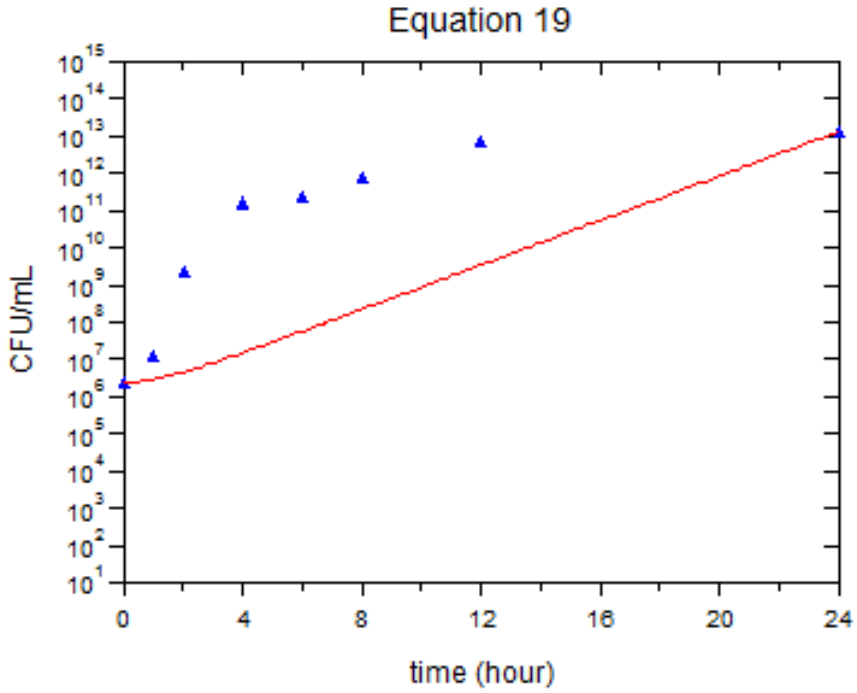
ภาพที่ 10 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 17



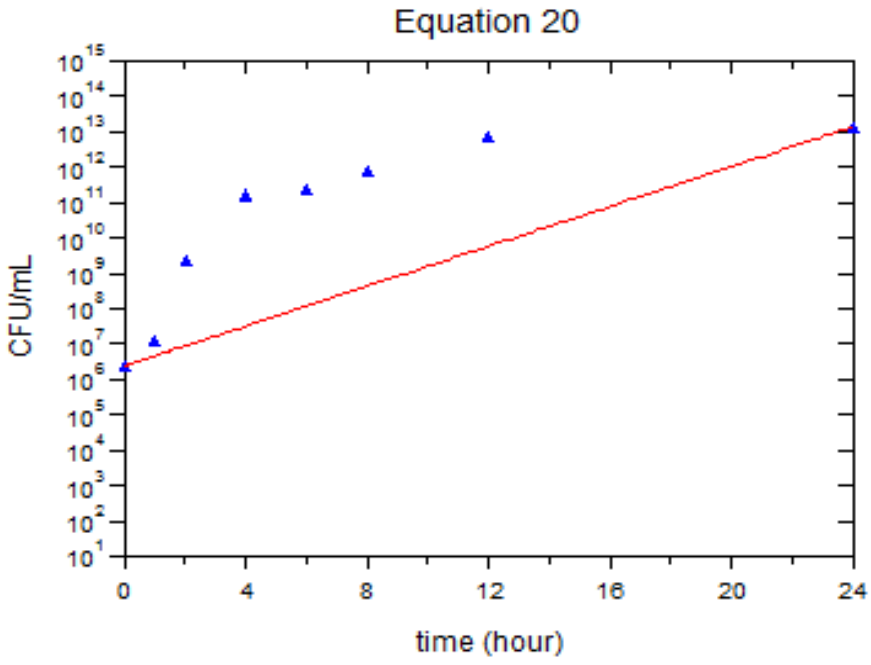
ภาพที่ 11 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 18



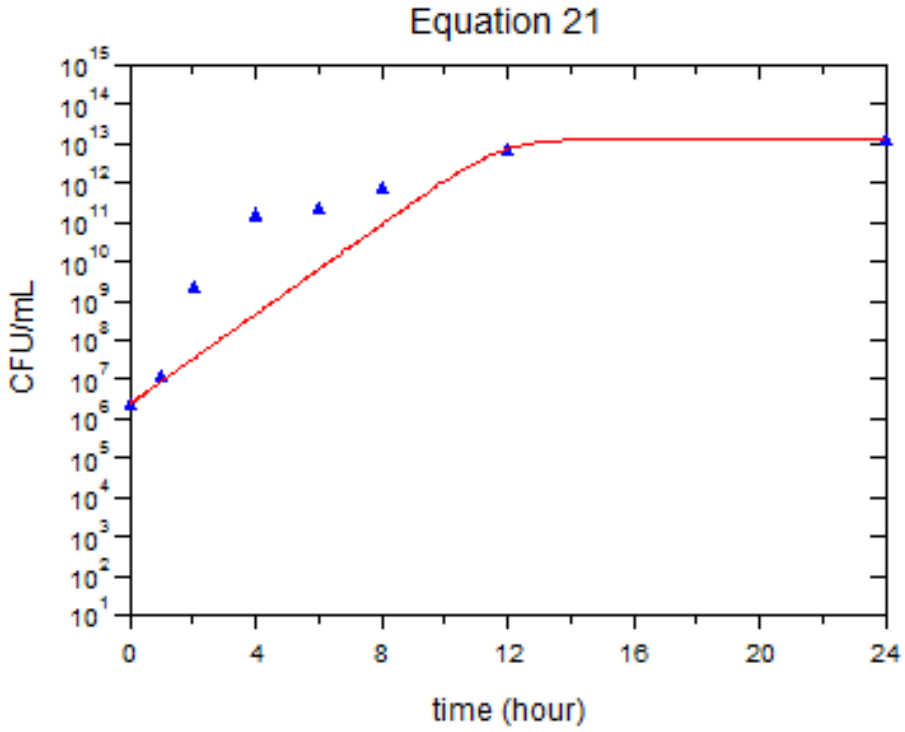
ภาพที่ 12 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 19



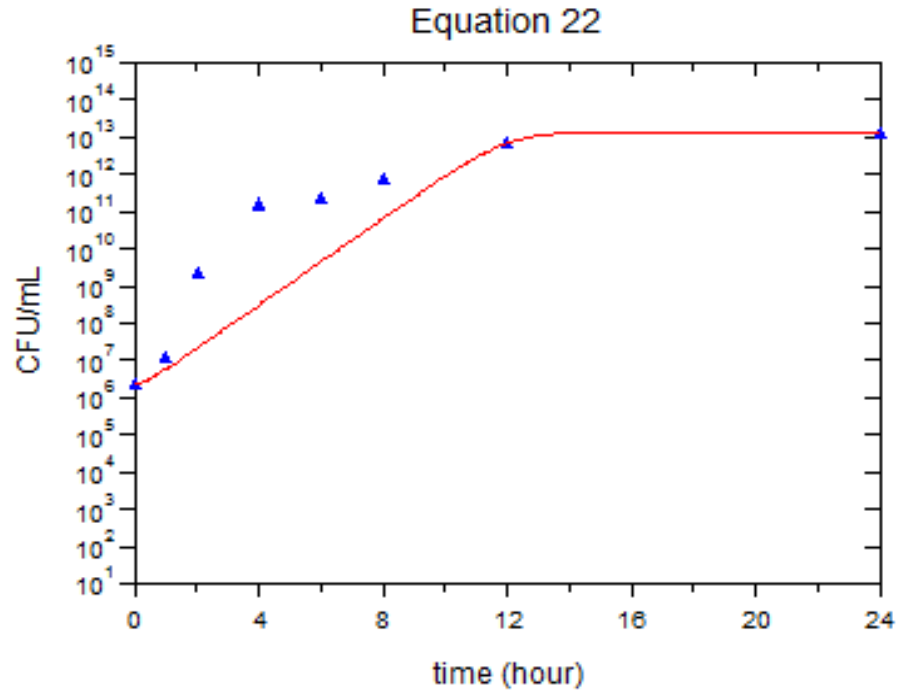
ภาพที่ 13 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 20



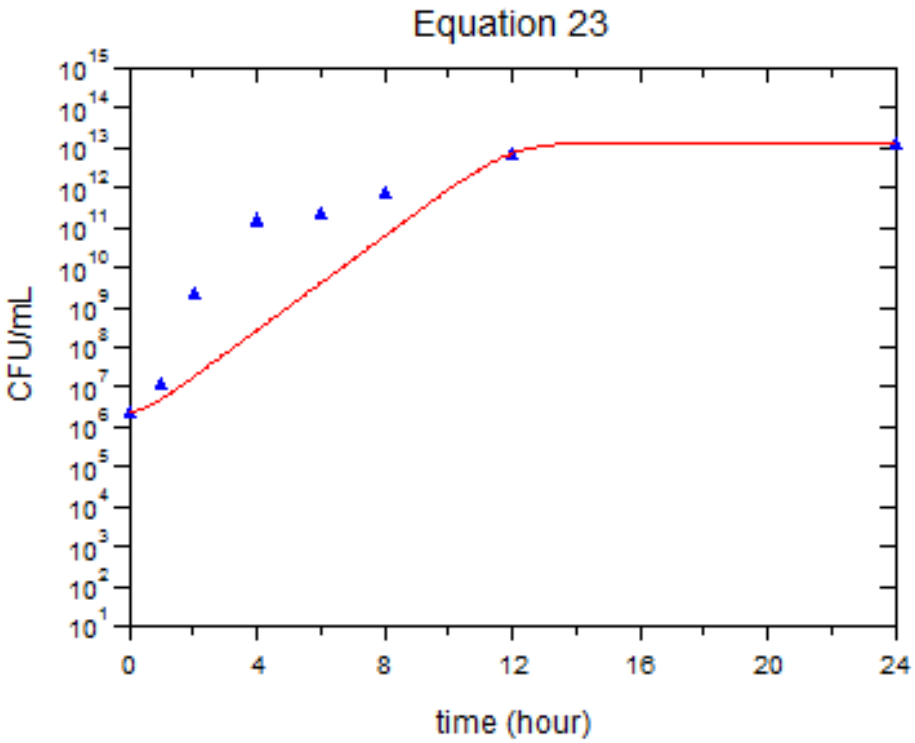
ภาพที่ 14 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 21



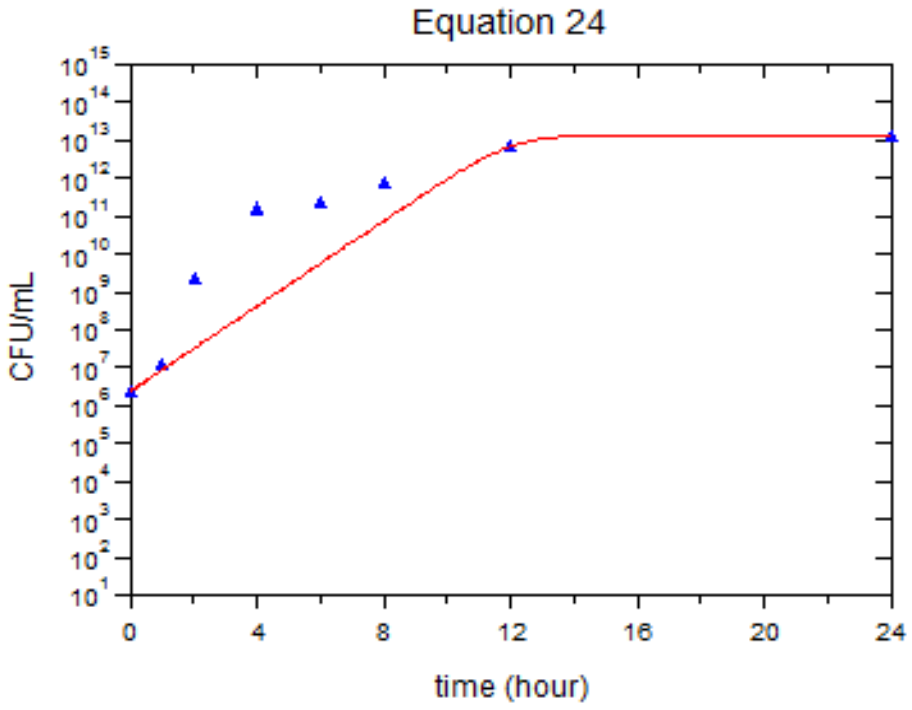
ภาพที่ 15 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 22



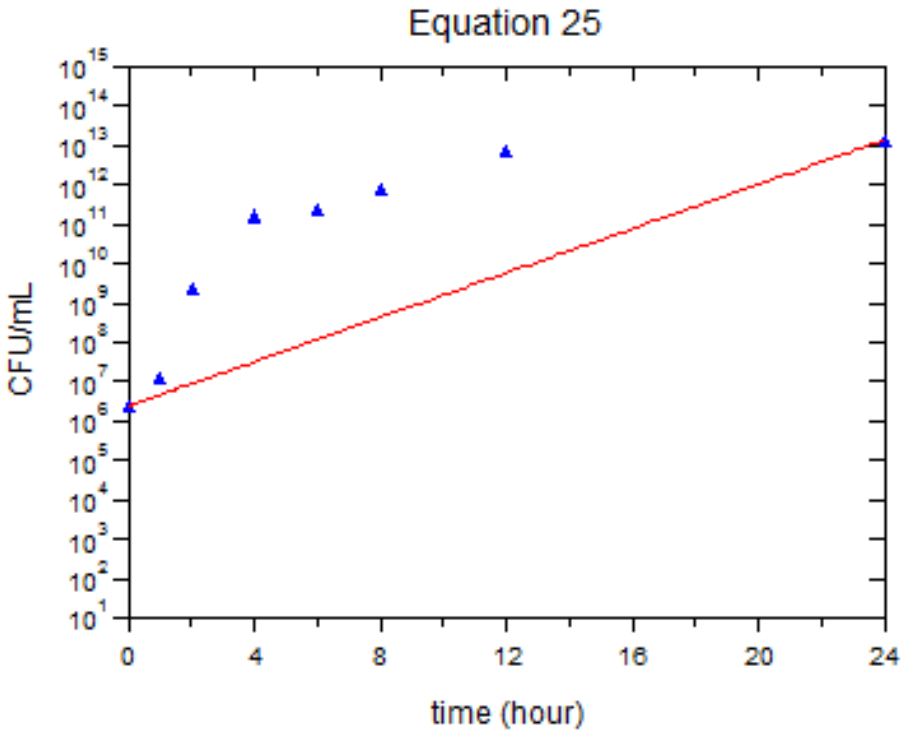
ภาพที่ 16 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 23



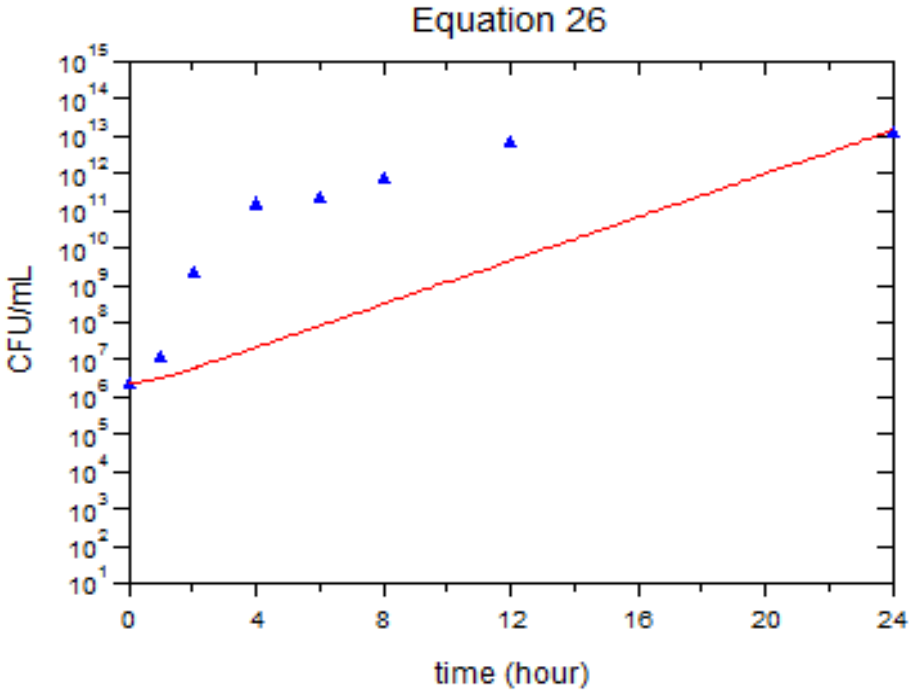
ภาพที่ 17 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 24



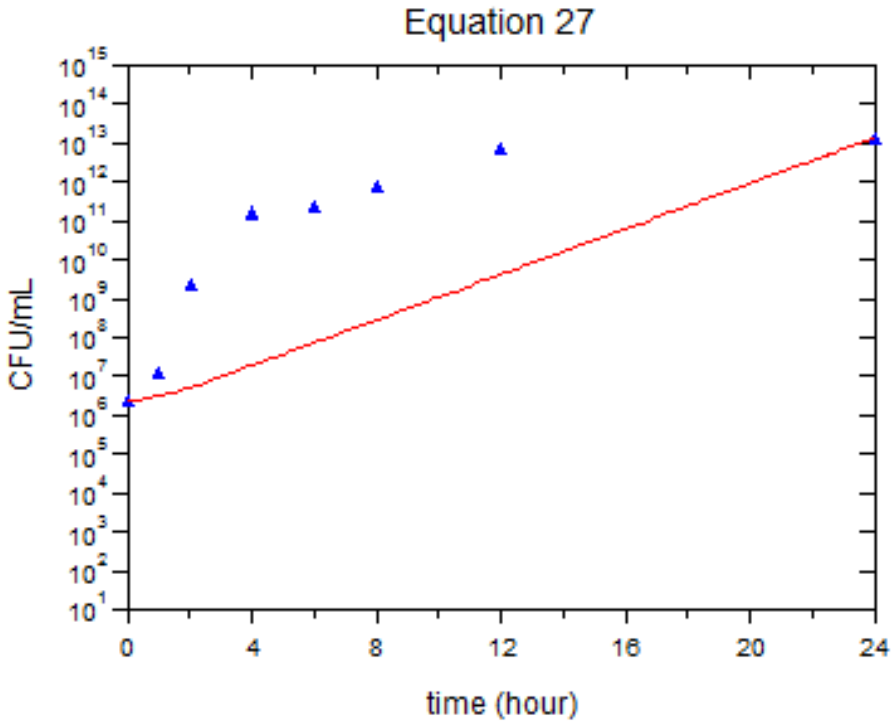
ภาพที่ 18 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 25



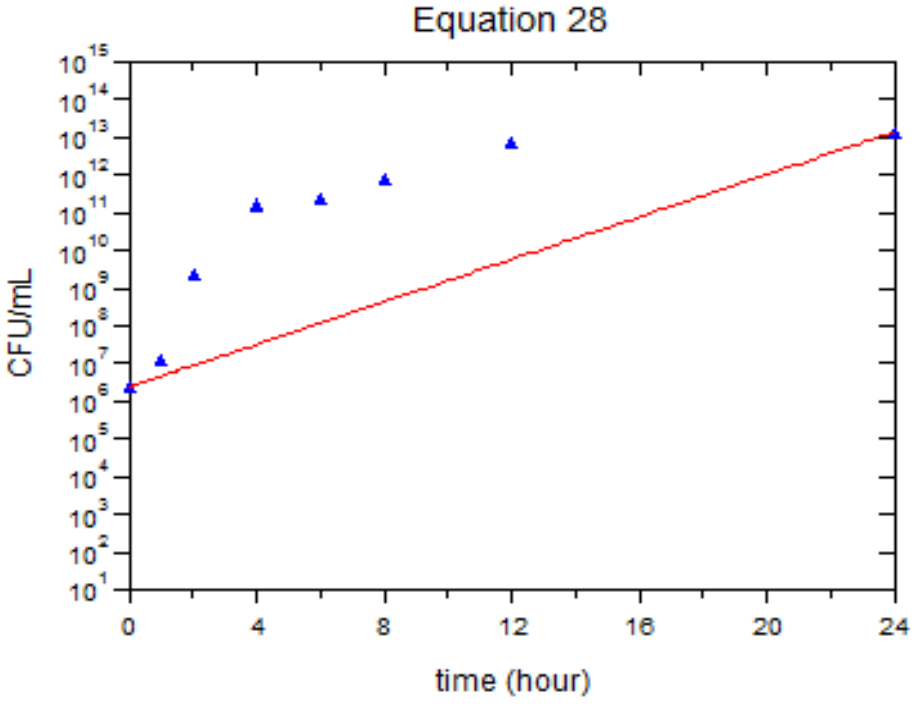
ภาพที่ 19 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 26



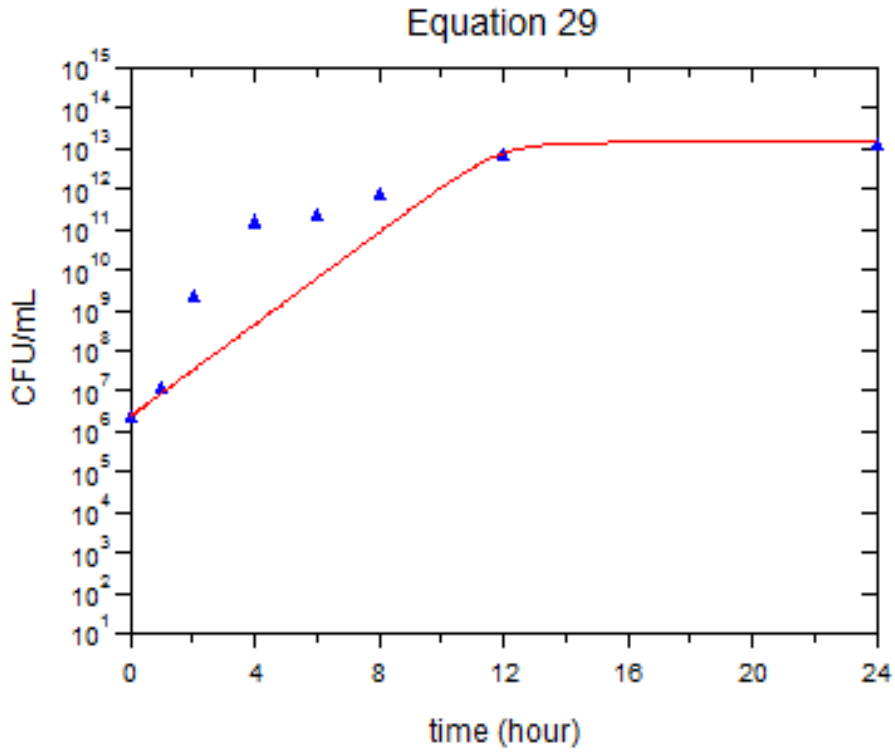
ภาพที่ 20 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 27



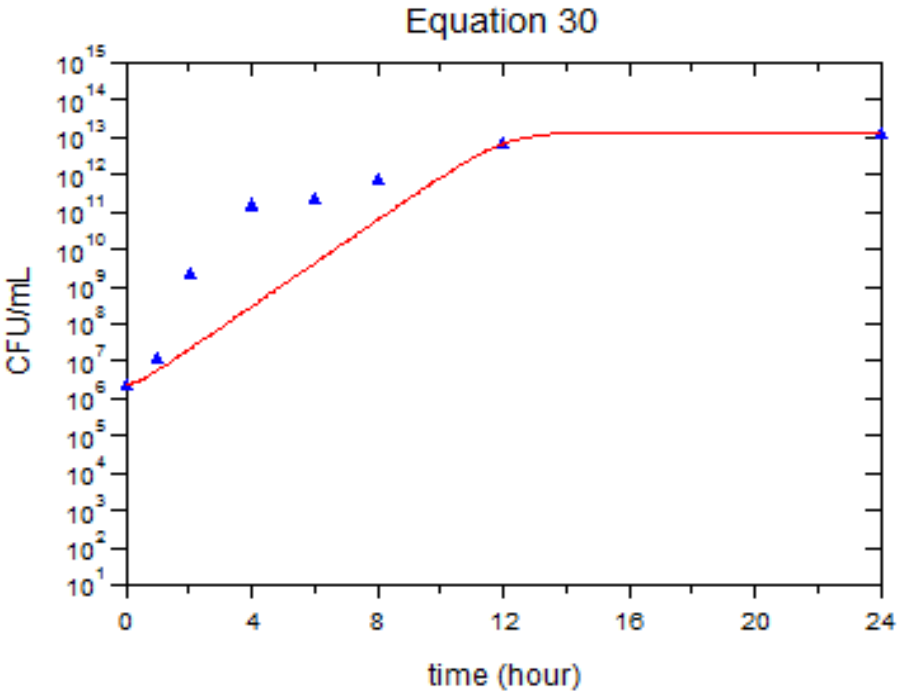
ภาพที่ 21 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 28



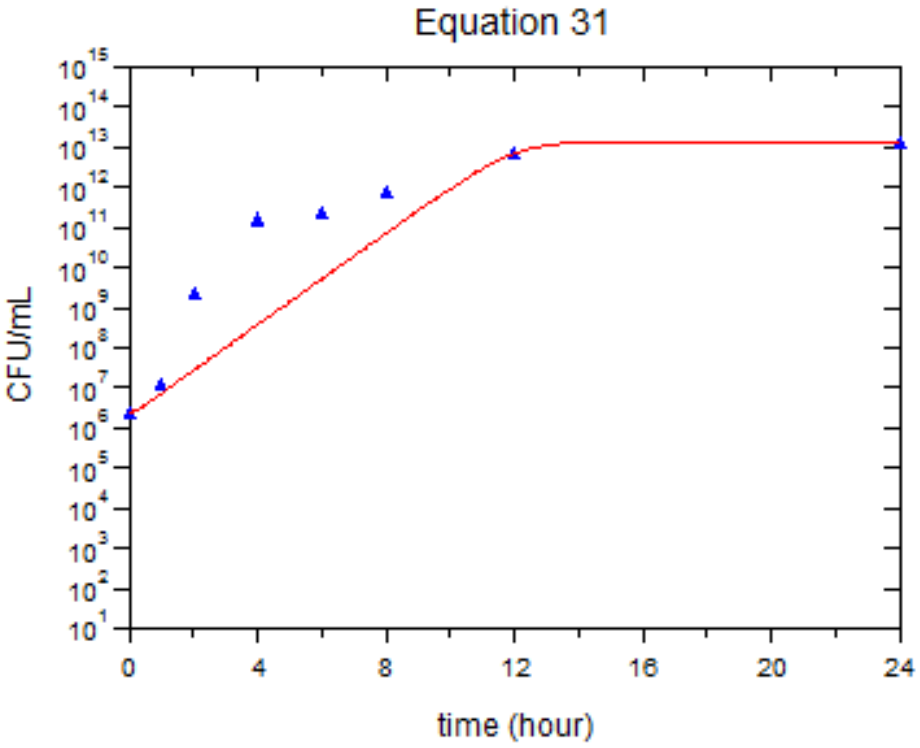
ภาพที่ 22 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 29



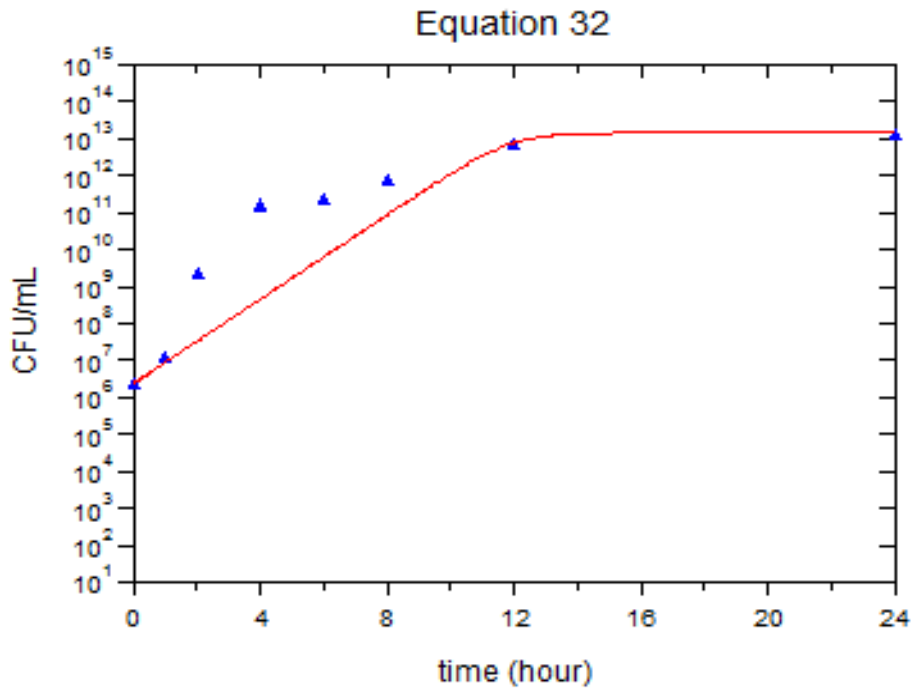
ภาพที่ 23 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 30



ภาพที่ 24 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 31



ภาพที่ 25 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 32



ผลการประเมินความสอดคล้องพอดี (Goodness of fit) เมื่อพิจารณารูปกราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองซึ่งสอดคล้อง (fit) กับข้อมูลจากภาพที่ 10-25 และค่าสถิติที่ได้จากแบบจำลองในตารางที่ 10 พบว่าแบบจำลองที่สร้างขึ้นจากรูปแบบสมการที่ 17-20 และรูปแบบสมการที่ 25-28 ให้รูปกราฟที่ไม่สอดคล้องกับข้อมูลจริง ในขณะที่แบบจำลองที่สร้างขึ้นจากสมการที่ 21-24 และสมการที่ 29-32 นั้นให้รูปกราฟที่มีความสอดคล้องพอดีกับข้อมูลจริง จากรูปกราฟและข้อมูลในตารางที่ 10 พบว่าสมการที่ 24 มีความเหมาะสมในการประเมินอัตราคงที่ของการเจริญเติบโตของเชื้อขณะที่ไม่มียาได้ ค่าพารามิเตอร์ที่ได้ คือ k_0=1.30 ชั่วโมง$^{-1}$ และ N_{max}= 1.43x10^{13} CFU/ml สำหรับค่า MSC และ r^2 นั้นเท่ากับ 5.04 และ 0.99 ตามลำดับ

2) การวิเคราะห์หาค่าคงที่ของอัตราการฆ่าเชื้อสูงสุด (k_{max})

ในการหาค่า k_{max} ใช้ข้อมูลเชื้อจากชุดควบคุม (control) และจากความเข้มข้นของสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน ที่ให้ฤทธิ์การฆ่าเชื้อสูงสุดคือ 8MIC (256 มคก./มล.) ดังนั้น เมื่อนำรูปแบบของสมการที่ 1-16 มาวิเคราะห์ พบว่าค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์ ได้แก่ อัตราคงที่ของการเจริญเติบโตของเชื้อขณะที่ไม่มียา (k_0) , อัตราคงที่ของการฆ่าเชื้อสูงสุด (k_{max}), ค่าความเข้มข้นของยาที่ให้ผลการต้านเชื้อครึ่งหนึ่งของผลการต้านเชื้อสูงสุด (EC_{50}), อัตราคงที่ระยะเพิ่มจำนวน (z), จำนวนเชื้อสูงสุด (N_{max}), hill factor (*h*) และค่าสถิติ แสดงดังตารางที่ 11 รูปกราฟที่สร้างจากแบบสมการที่ 1-16 แสดงดังภาพที่ 26-41

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

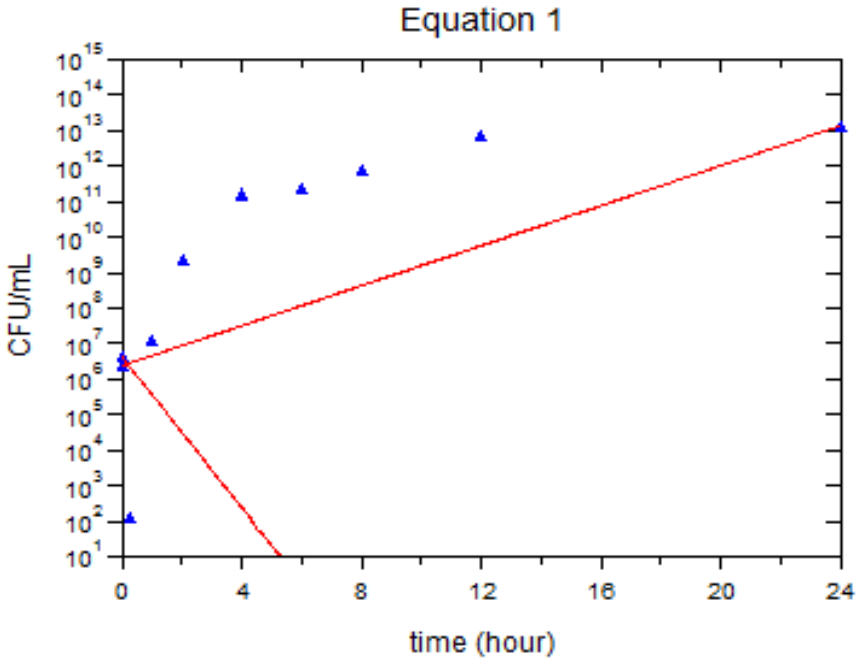
ตารางที่ 11 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์และค่าสถิติที่ได้จากแบบจำลองของสมการที่ 1-16

สมการที่	K_0 (ชั่วโมง$^{-1}$)	K_{max} (ชั่วโมง$^{-1}$)	EC_{50} (มคก/มล.)	Z (ชั่วโมง$^{-1}$)	N_{max} (x10^{13} CFU/ ml)	*h*	MSC	r^2
1	0.66	1.93	138.39	-	-	-	0.84	0.73
2	0.66	1.88	178.39	4.62	-	-	0.92	0.78
3	0.66	3.57	181.07	4.03	-	-	0.59	0.78

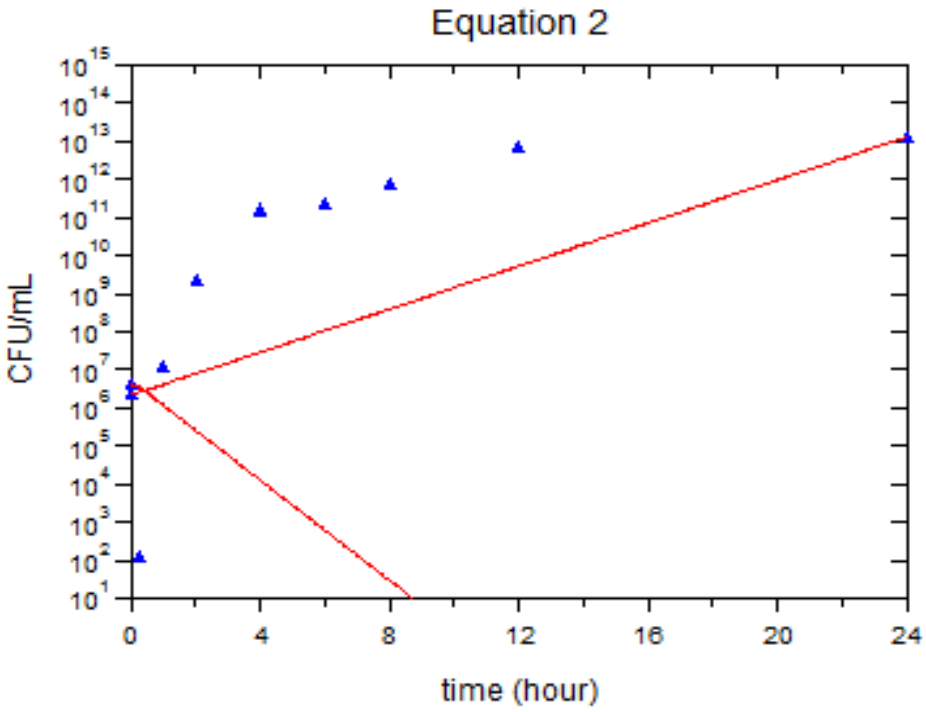
สมการที่	K_0 (ชั่วโมง$^{-1}$)	K_{max} (ชั่วโมง$^{-1}$)	EC_{50} (มคก/มล.)	Z (ชั่วโมง$^{-1}$)	N_{max} (x10^{13} CFU/ ml)	h	MSC	r^2
4	0.65	7.56	147.12	10.12	-	-	0.58	0.78
5	1.31	4.03	138.13	-	1.44	-	4.74	0.99
6	1.33	4.63	152.08	4.01	1.38	-	4.83	0.99
7	1.32	4.53	139.77	6.71	1.39	-	4.88	0.99
8	1.30	4.28	131.74	6.74	1.39	-	4.81	0.99
9	0.65	3.96	163.23	-	-	6.75	0.60	0.78
10	0.67	3.91	157.36	1.10	-	9.58	0.41	0.78
11	0.67	3.58	168.21	1.46	-	8.02	0.41	0.78
12	0.65	3.53	165.68	2.17	-	10.42	0.41	0.78
13	1.30	3.98	164.46	-	1.39	22.01	4.87	0.99
14	1.32	8.21	196.58	6.67	1.39	21.55	4.72	0.99
15	1.32	6.63	191.97	9.62	1.39	21.55	4.77	0.99
16	1.30	8.72	162.23	9.48	1.40	20.82	4.80	0.99

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

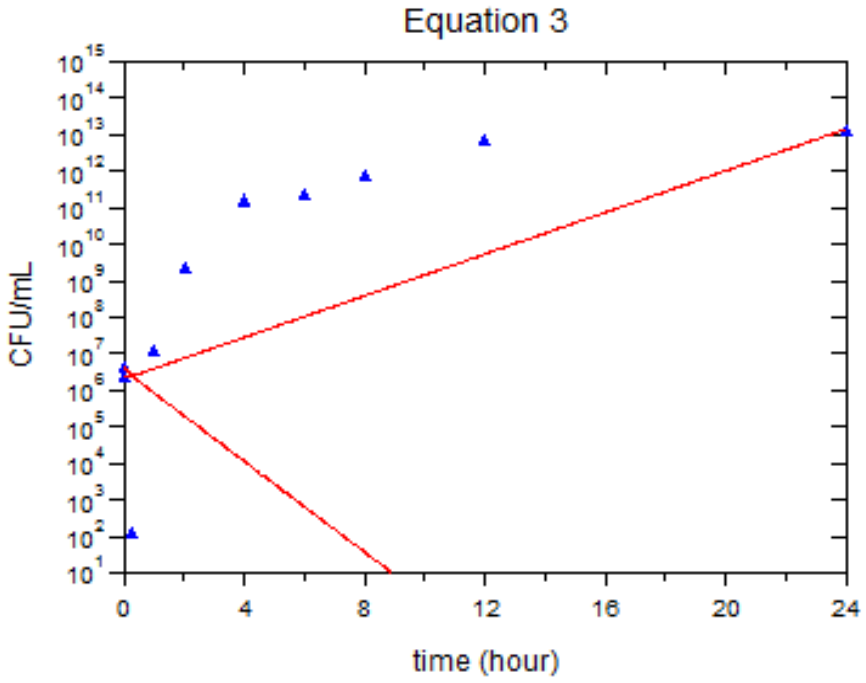
ภาพที่ 26 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 1



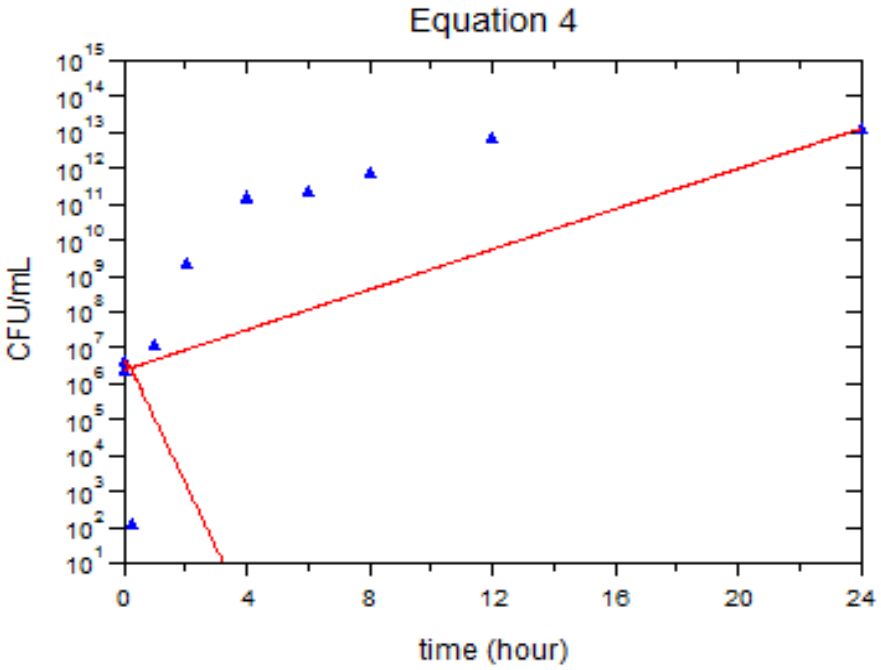
ภาพที่ 27 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 2



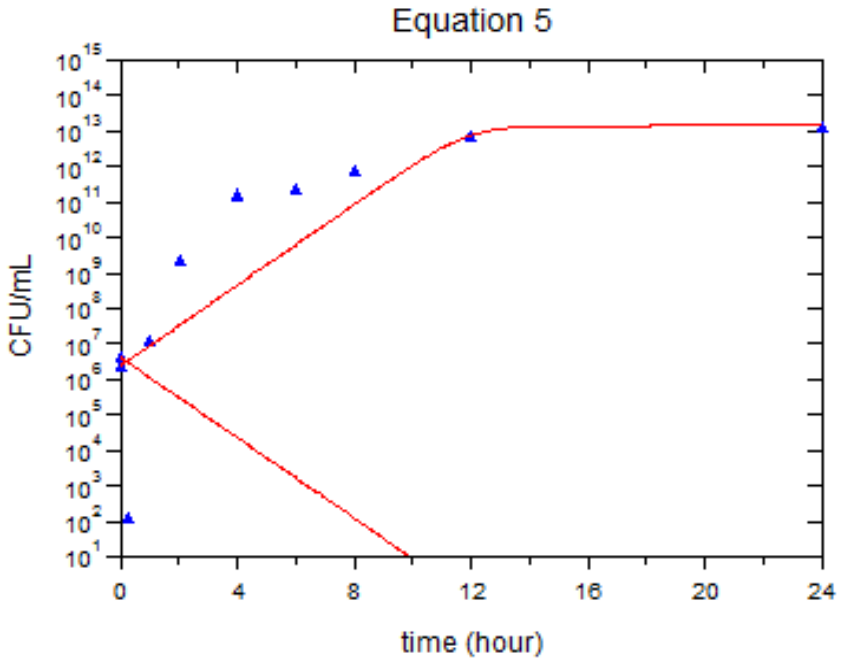
ภาพที่ 28 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 3



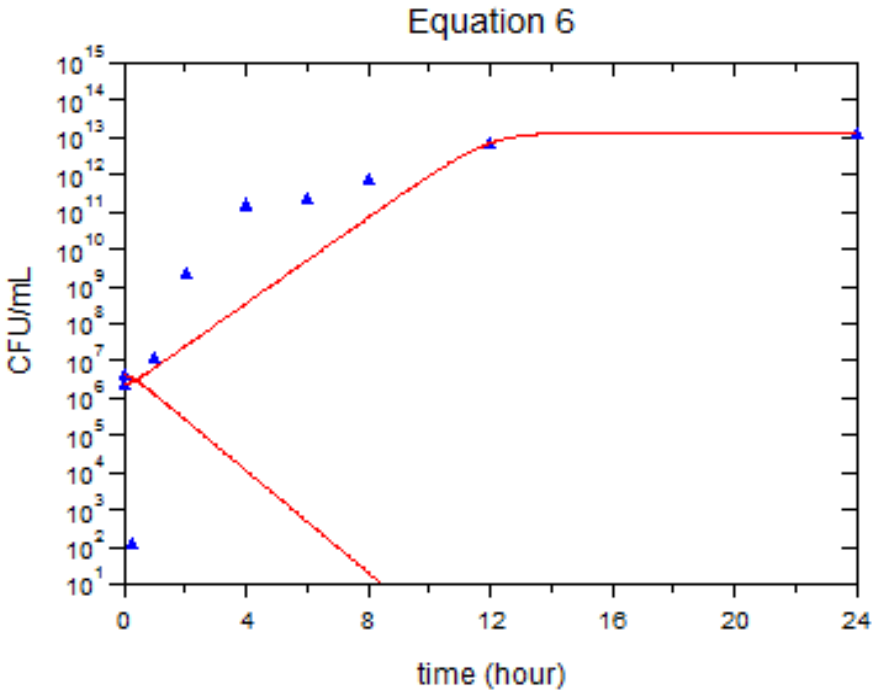
ภาพที่ 29 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 4



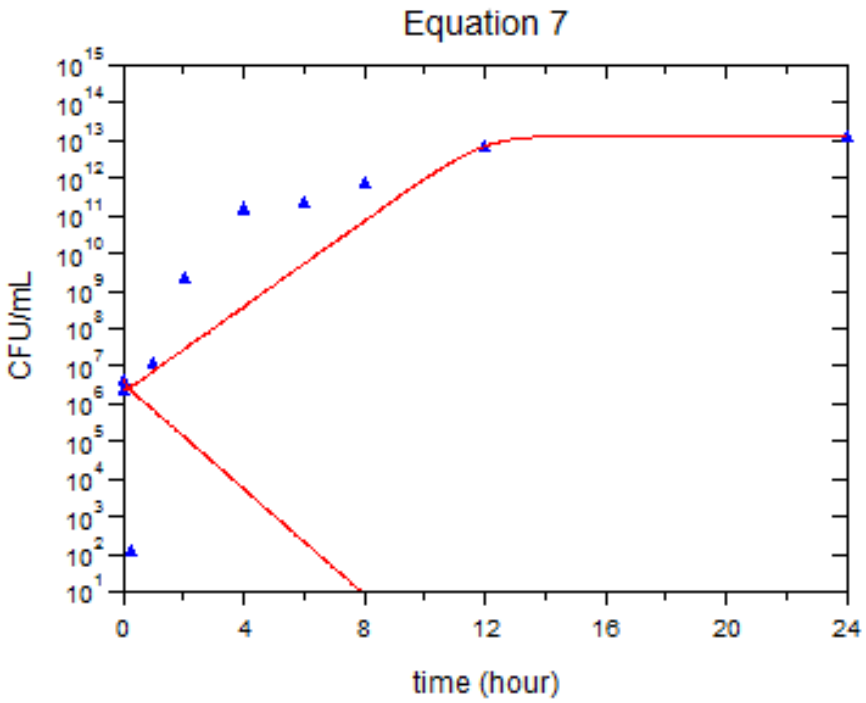
ภาพที่ 30 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 5



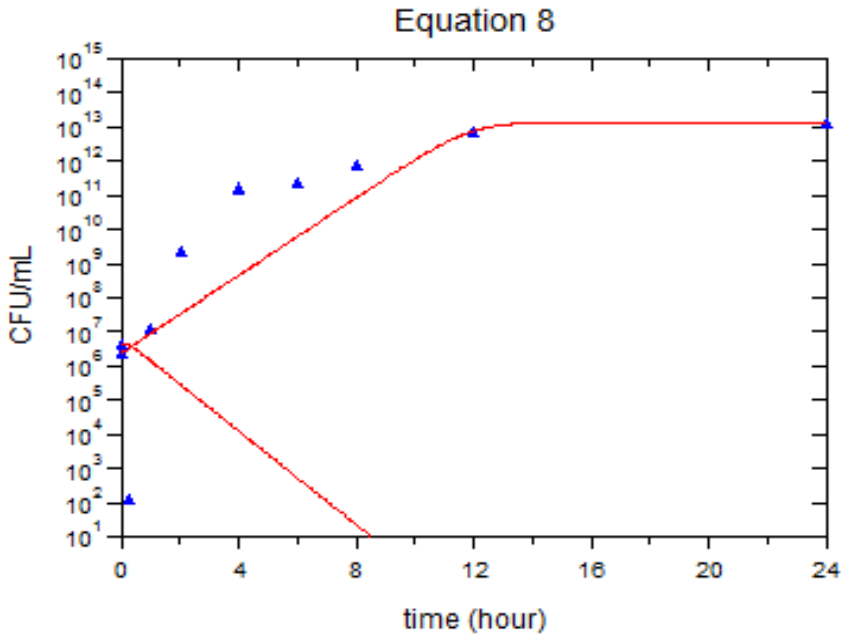
ภาพที่ 31 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 6



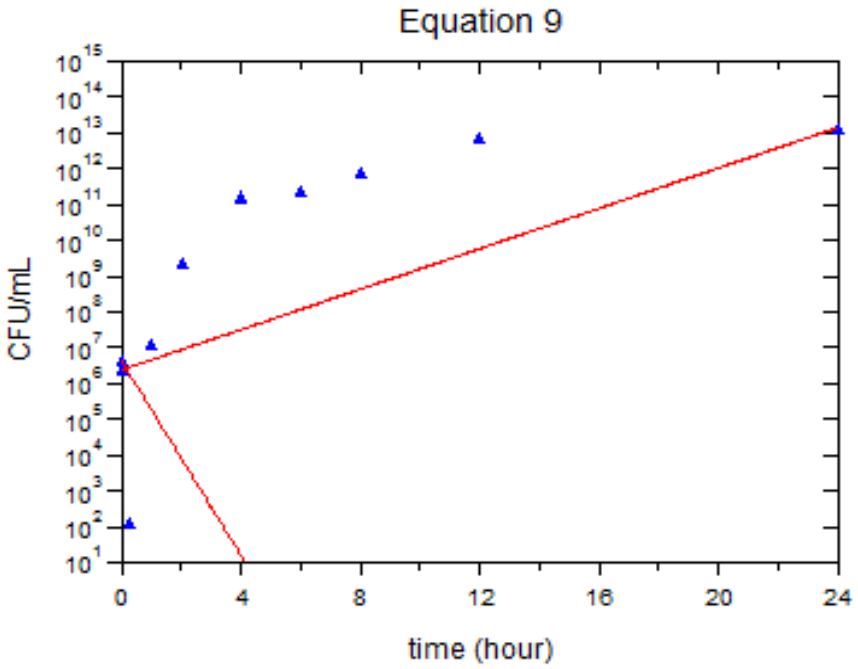
ภาพที่ 32 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 7



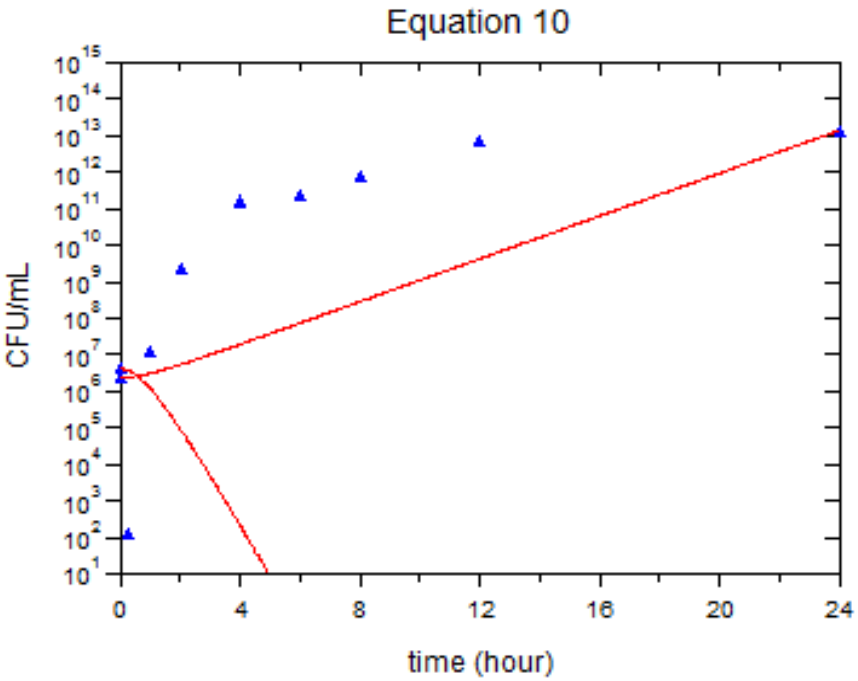
ภาพที่ 33 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 8



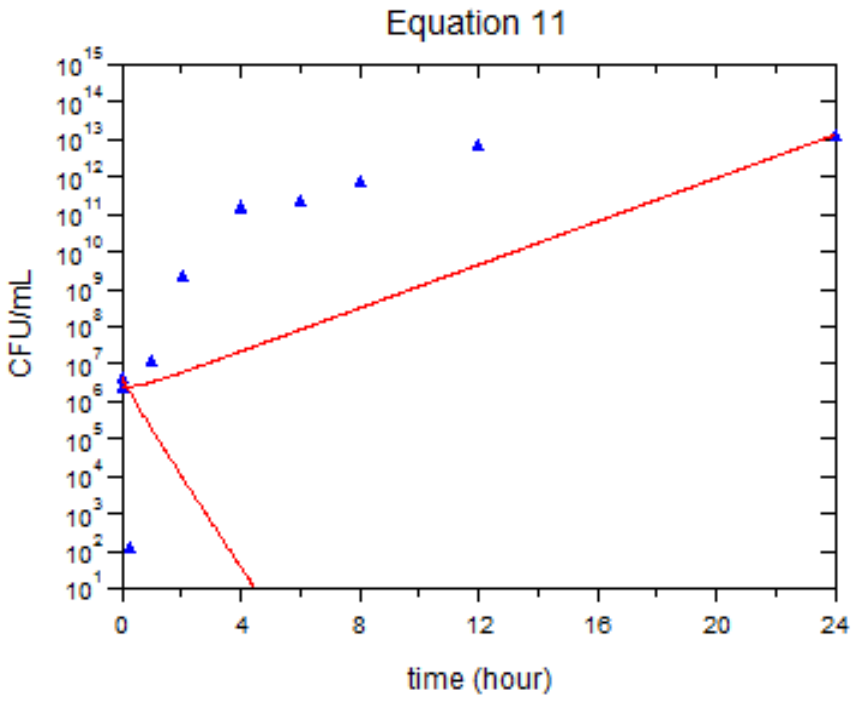
ภาพที่ 34 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 9



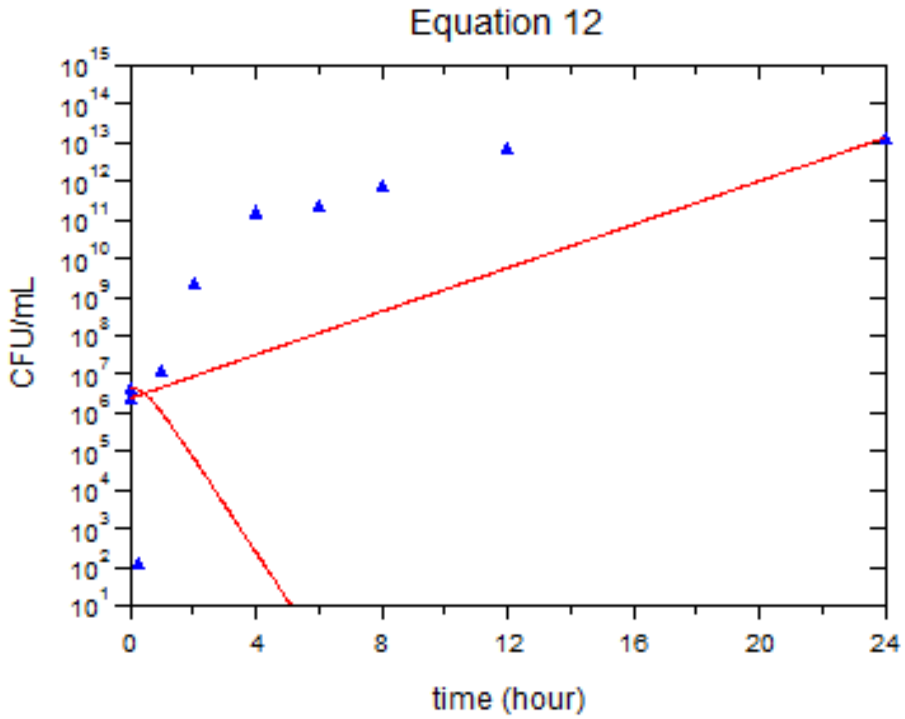
ภาพที่ 35 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 10



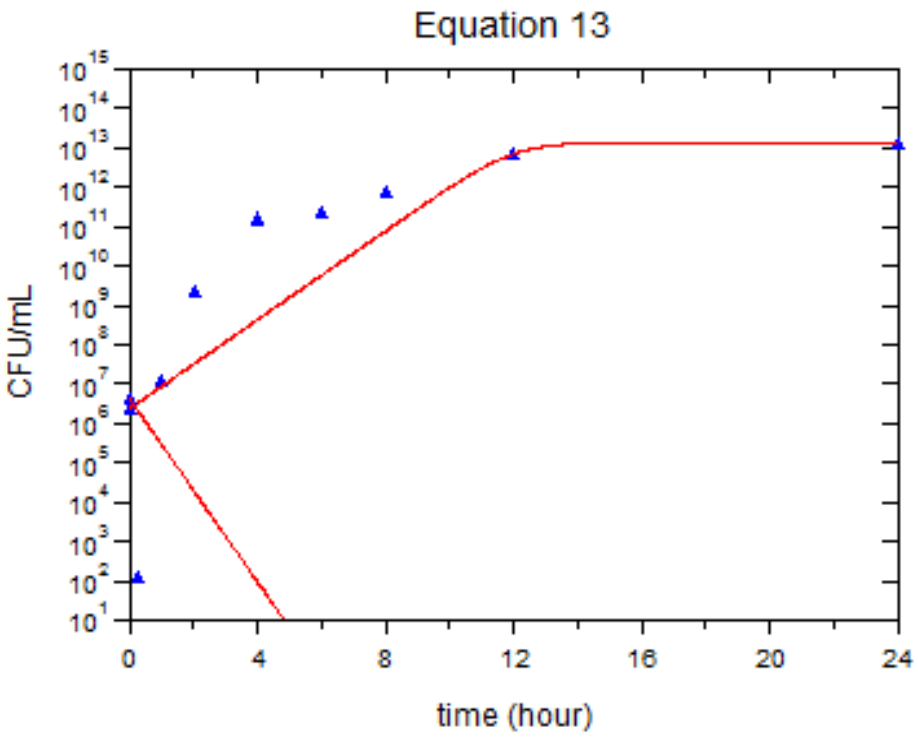
ภาพที่ 36 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 11



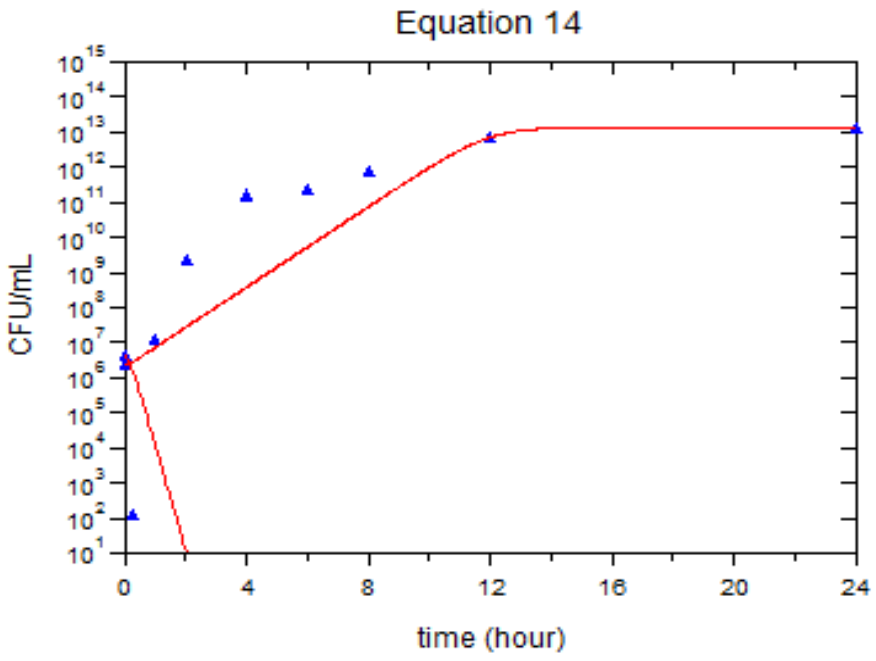
ภาพที่ 37 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 12



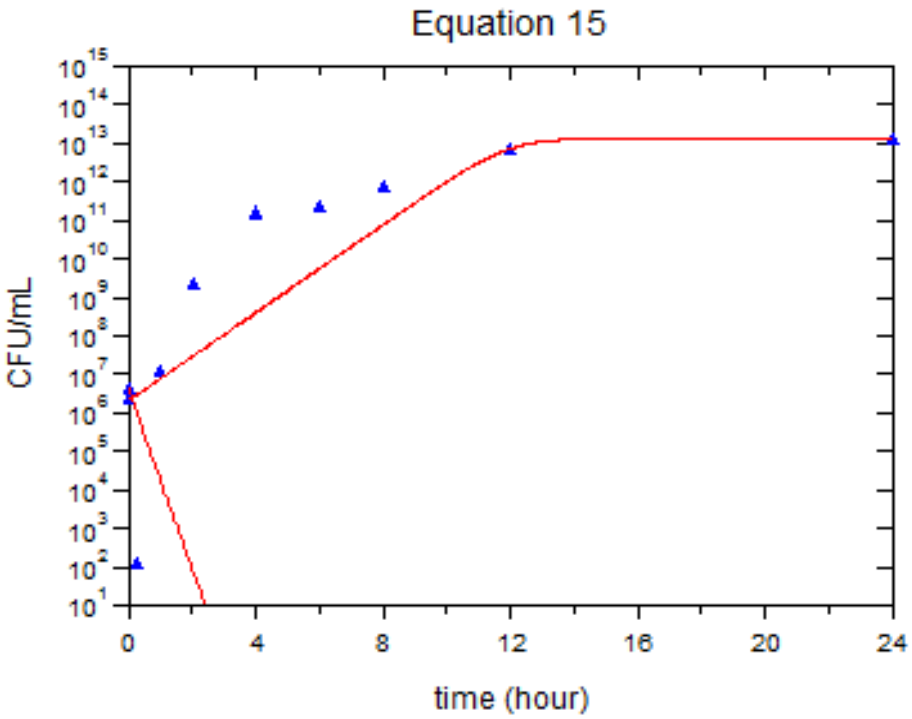
ภาพที่ 38 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 13



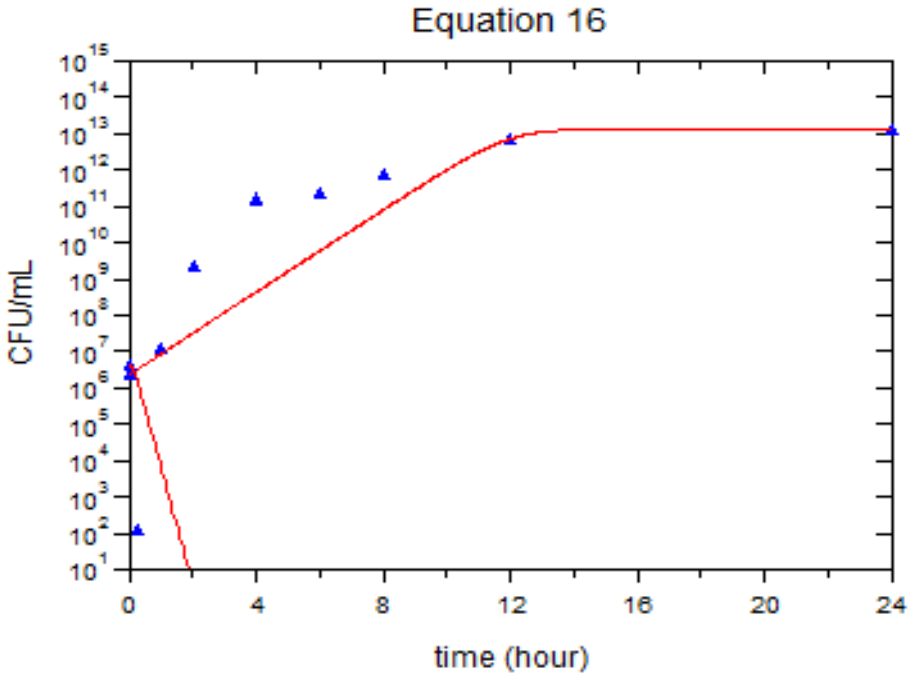
ภาพที่ 39 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 14



ภาพที่ 40 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 15



ภาพที่ 41 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 16



ผลการประเมินความสอดคล้องพอดี (Goodness of fit) พบว่าเมื่อพิจารณารูปกราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองซึ่งสอดคล้อง (fit) กับข้อมูล จากภาพที่ 26-41 และค่าสถิติที่ได้จากแบบจำลองในตารางที่ 11 พบว่าแบบจำลองที่สร้างขึ้นจากรูปแบบสมการที่ 1-4 และสมการที่ 9-12 ให้รูปกราฟที่ไม่สอดคล้องกับข้อมูลจริง ในขณะที่แบบจำลองที่สร้างขึ้นจากรูปแบบสมการที่ 5-8 และสมการที่ 13-16 ให้รูปกราฟที่สอดคล้องพอดีกับข้อมูลจริงได้ดี เมื่อพิจารณาความสอดคล้องพอดีของรูปกราฟและข้อมูลต่างๆจากตารางที่ 11 พบว่าสมการที่มีความเหมาะสมที่ใช้ในการประเมินอัตราคงที่ของการฆ่าเชื้อสูงสุด (k_{max}) คือสมการที่ 7 โดยให้ค่า MSC 4.88, ค่า r^2 0.99 และสำหรับค่า k_0 เท่ากับ 1.32 ชั่วโมง$^{-1}$, ค่า $_{kmax}$ = 4.53 ชั่วโมง$^{-1}$, ค่า EC_{50} = 139.77 มคก./มล., ค่า N_{max}= 1.39x10^{13} CFU/ml และค่า z เท่ากับ 6.71 ชั่วโมง$^{-1}$

3) ผลการวิเคราะห์หาสมการแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์

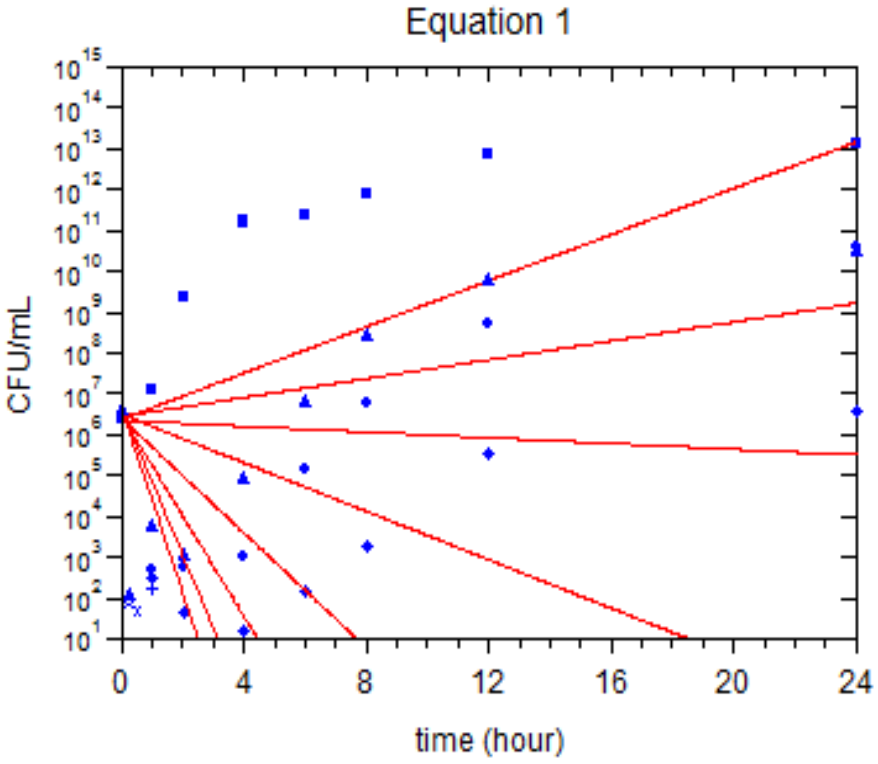
การวิเคราะห์หาสมการแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ใช้ข้อมูลของกราฟการฆ่าเชื้อจากทุกชุดความเข้มข้นของสารละลายยาฟอสโฟมัยซิน คือ 8, 16, 32, 64, 128, 256 และ 512 มคก./มล. รวมถึงข้อมูลชุดควบคุม (control) ดังนั้น เมื่อนำรูปแบบของสมการที่ 1-16 มาวิเคราะห์ พบว่าค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์ ได้แก่ อัตราคงที่ของการเจริญเติบโตของเชื้อขณะที่ไม่มียา (k_0) , อัตราคงที่ของการฆ่าเชื้อสูงสุด (k_{max}), ค่าความเข้มข้นของยาที่ให้ผลครึ่งหนึ่งของผลการต้านเชื้อสูงสุด (EC_{50}), อัตราคงที่ระยะเพิ่มจำนวน (z), จำนวนเชื้อที่เจริญสูงสุด (N_{max}), hill factor (*h*) และค่าสถิติที่ได้ แสดงในดังตารางที่ 14 รูปกราฟที่สร้างจากแบบจำลองสมการที่ 1-16 แสดงดังภาพที่ 42-57

ตารางที่ 12 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์และค่าสถิติที่ได้จากสมการแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์

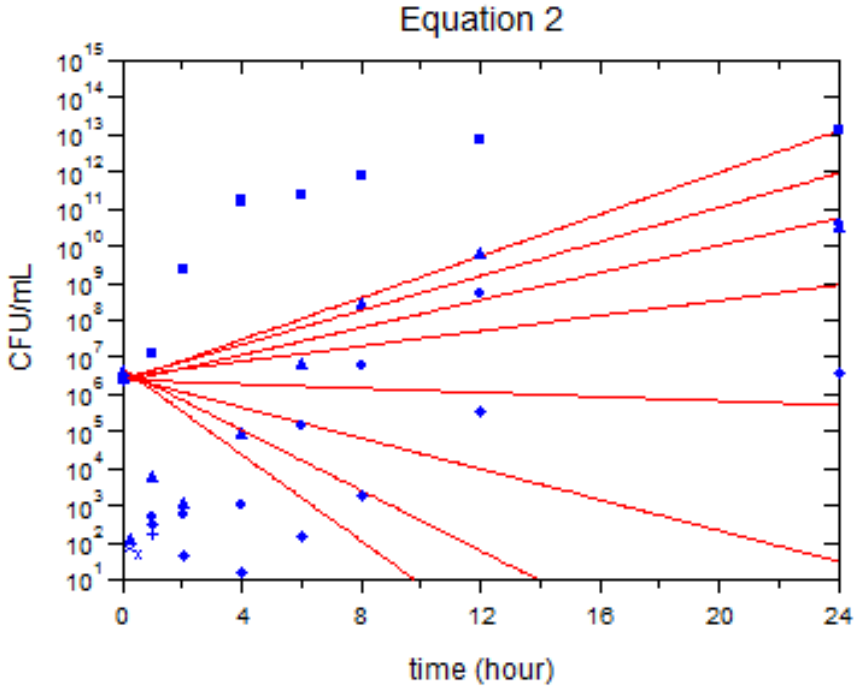
สมการที่	K_0 (ชั่วโมง$^{-1}$)	K_{max} (ชั่วโมง$^{-1}$)	EC_{50} (มคก/มล.)	Z (ชั่วโมง$^{-1}$)	N_{max} (x10^{13} CFU/ml)	*h*	MSC	r^2
1	0.65	7.52	148.42	-	-	-	1.40	0.78

สมการที่	K_0 (ชั่วโมง$^{-1}$)	K_{max} (ชั่วโมง$^{-1}$)	EC_{50} (มคก/มล.)	Z (ชั่วโมง$^{-1}$)	N_{max} (x10^{13} CFU/ml)	*h*	MSC	r^2
2	0.65	2.67	175.03	9.32	-	-	1.35	0.78
3	0.65	4.45	193.11	4.39	-	-	1.38	0.78
4	0.65	8.03	185.68	6.60	-	-	1.37	0.78
5	1.30	4.41	183.01	-	1.38	-	4.95	0.99
6	1.33	5.54	191.84	5.54	1.38	-	5.27	0.99
7	1.32	8.59	194.04	7.33	1.39	-	5.81	0.99
8	1.30	17.32	151.45	8.84	1.38	-	5.80	0.99
9	0.65	4.36	175.63	-	-	1.09	1.37	0.78
10	0.65	4.53	192.01	13.38	-	1.12	1.34	0.78
11	0.65	3.25	224.49	11.49	-	0.92	1.35	0.78
12	0.65	3.82	214.86	10.88	-	0.99	1.35	0.78
13	1.30	12.22	194.81	-	1.39	0.98	5.81	0.99
14	1.31	11.51	194.53	10.67	1.38	1.01	5.82	0.99
15	1.31	11.92	208.80	9.71	1.40	1.04	5.859	0.99
16	1.30	13.40	203.16	14.79	1.41	1.02	5.857	0.99

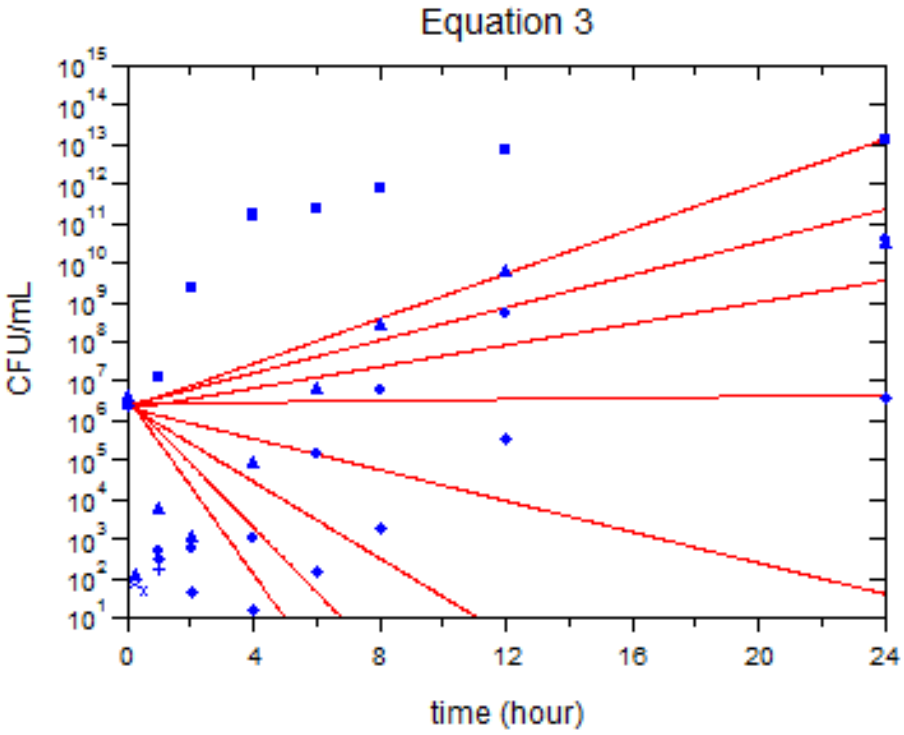
ภาพที่ 42 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 1



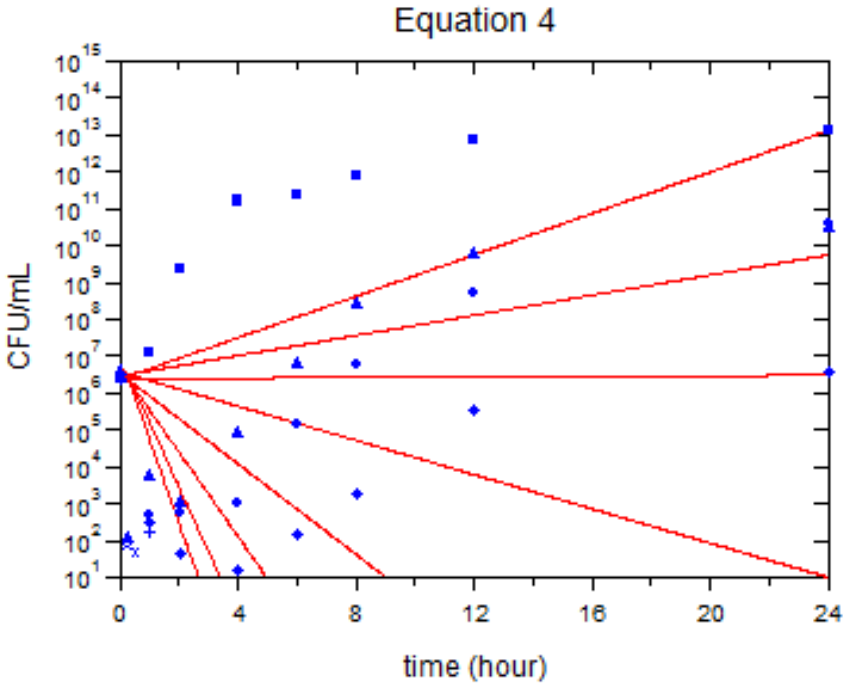
ภาพที่ 43 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 2



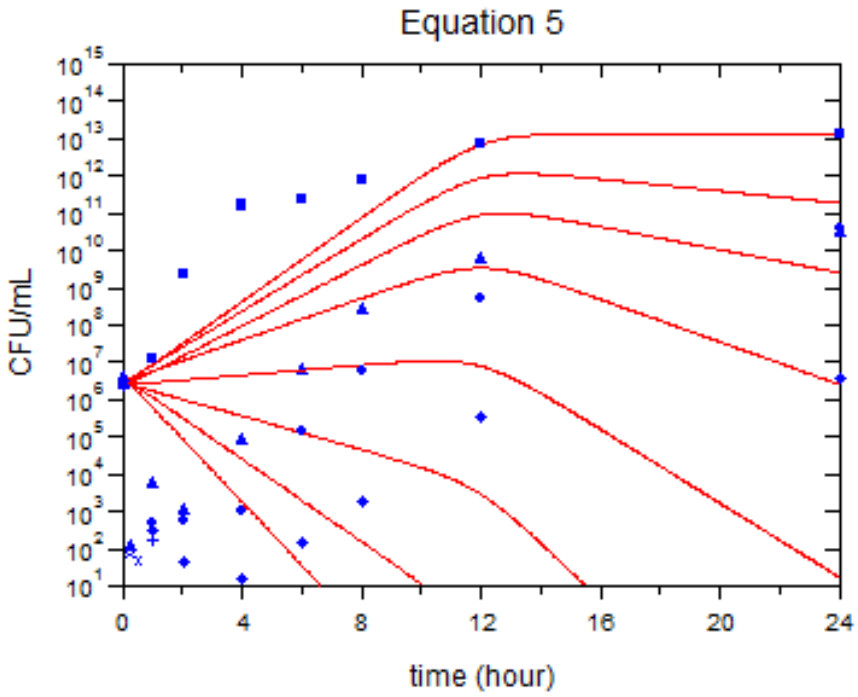
ภาพที่ 44 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 3



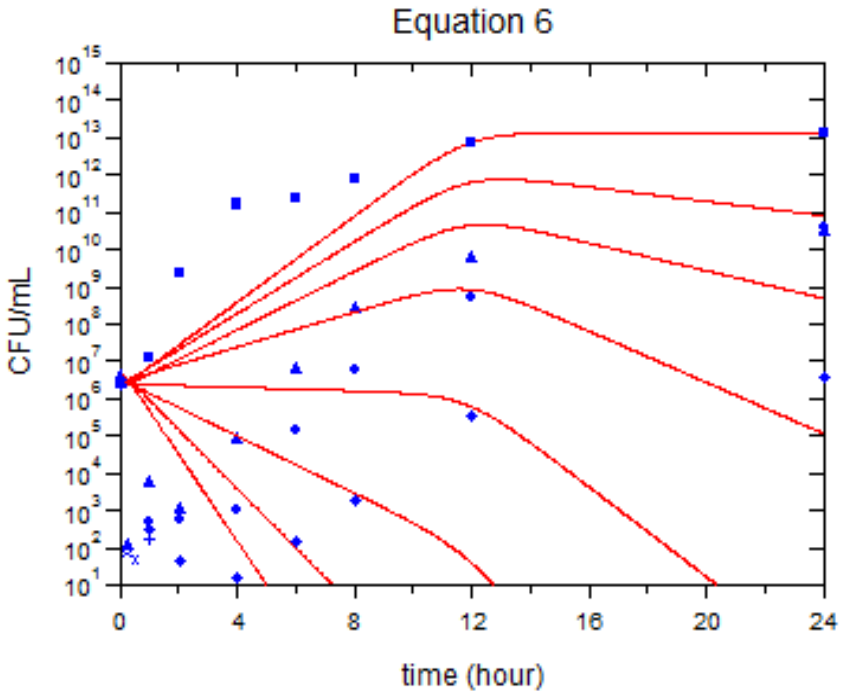
ภาพที่ 45 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 4



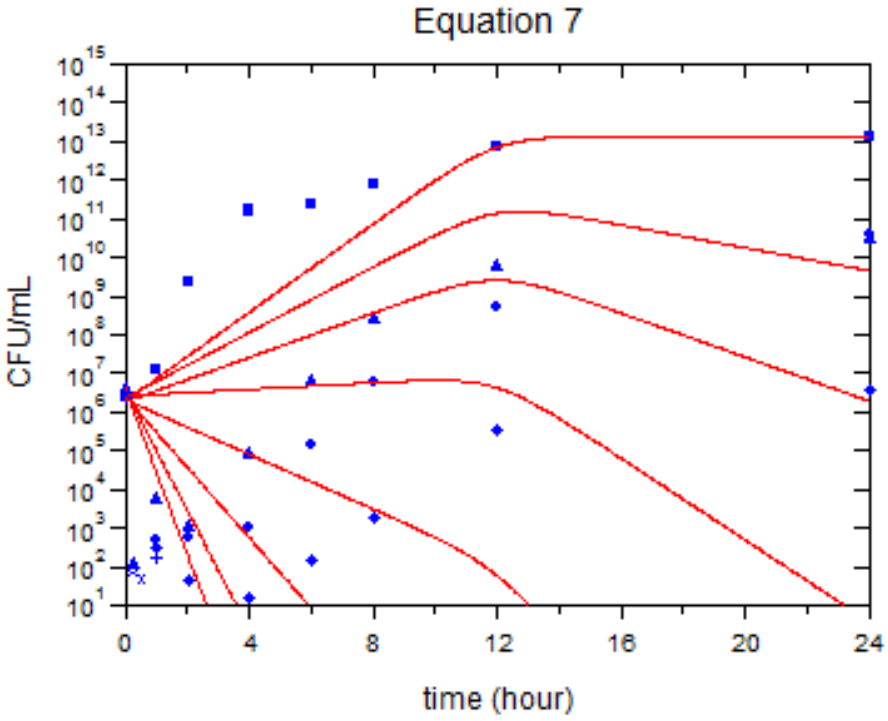
ภาพที่ 46 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 5



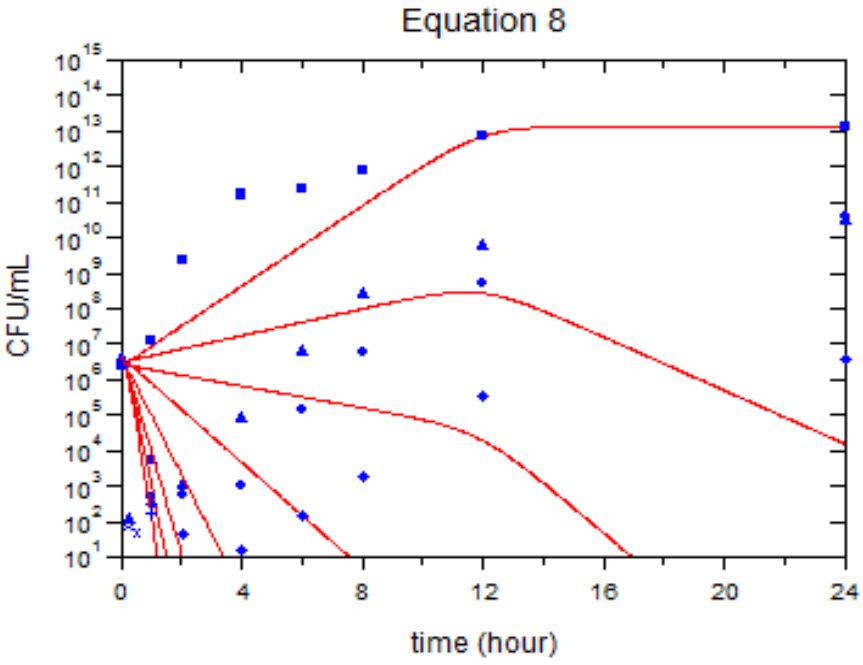
ภาพที่ 47 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 6



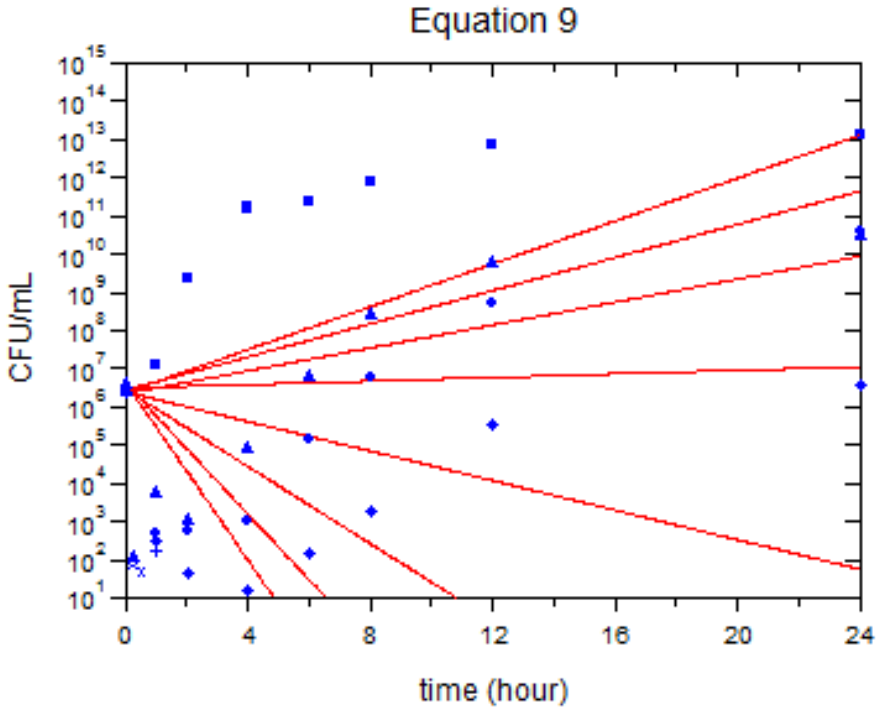
ภาพที่ 48 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 7



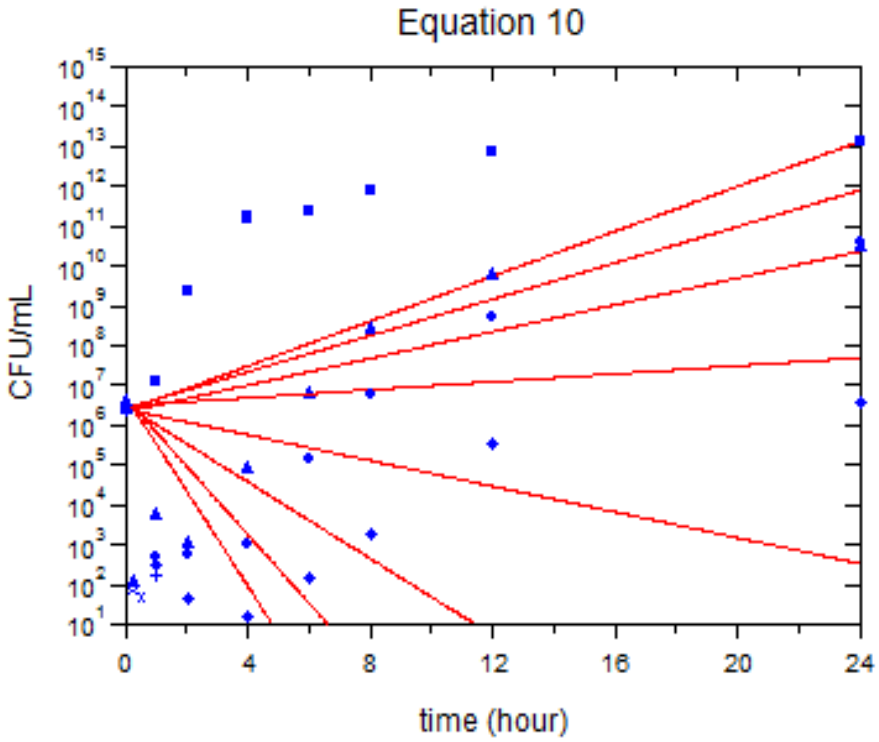
ภาพที่ 49 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 8



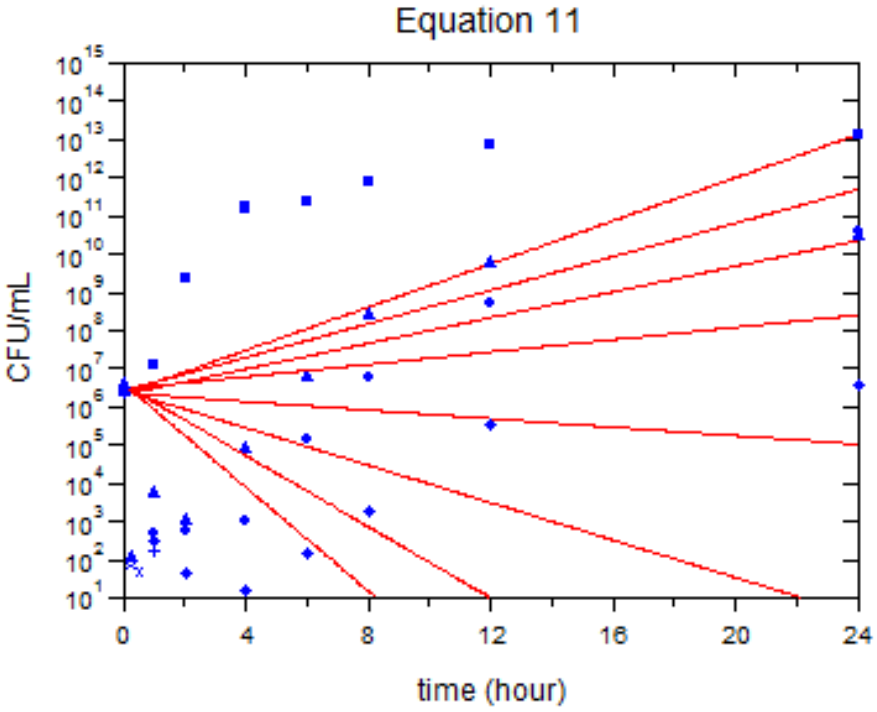
ภาพที่ 50 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 9



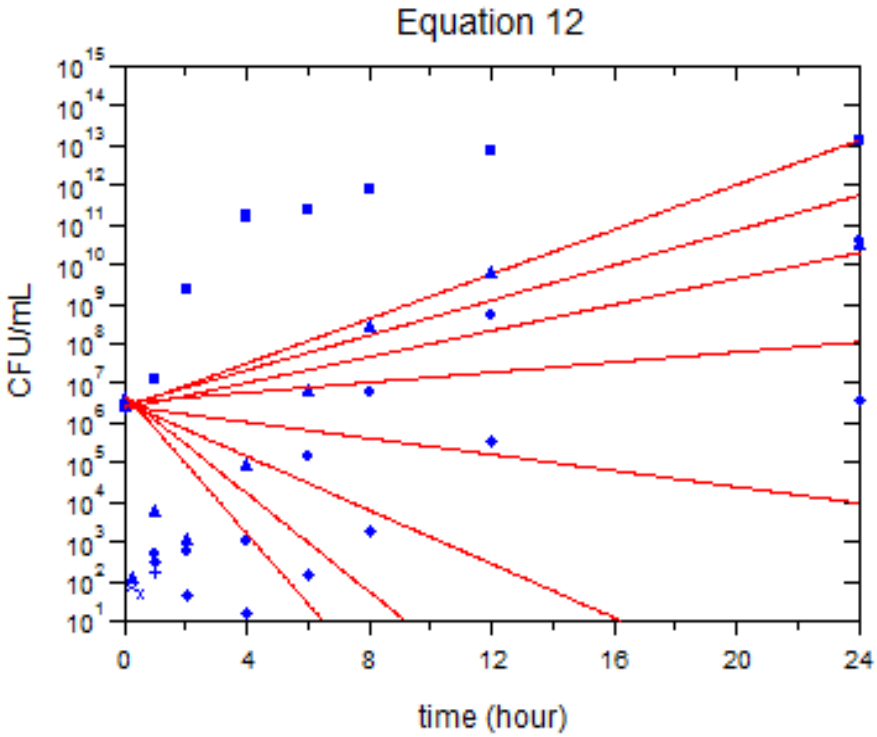
ภาพที่ 51 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 10



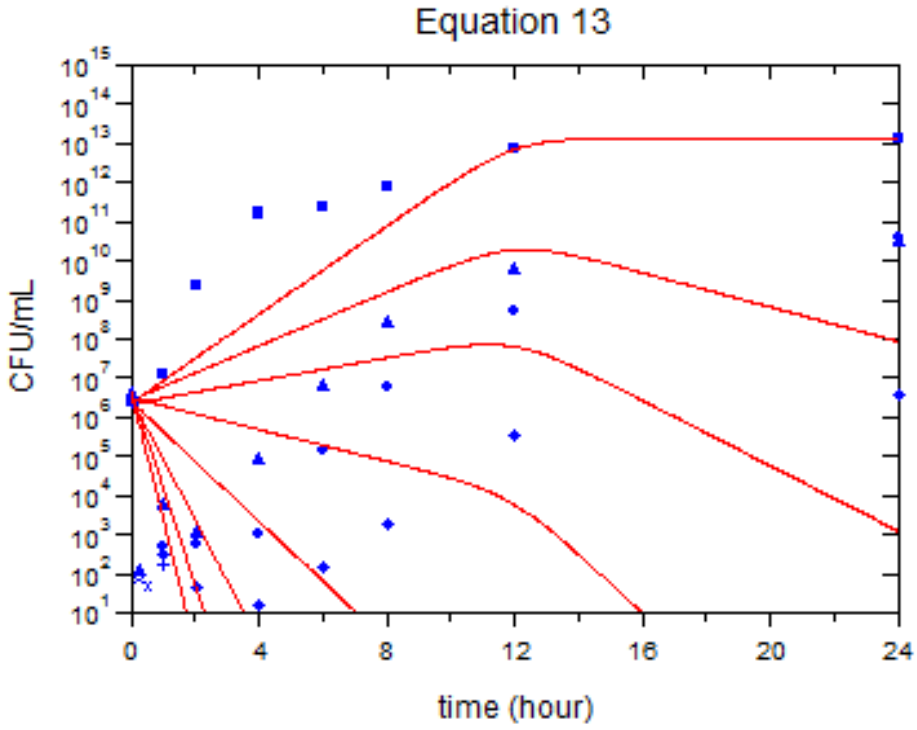
ภาพที่ 52 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 11



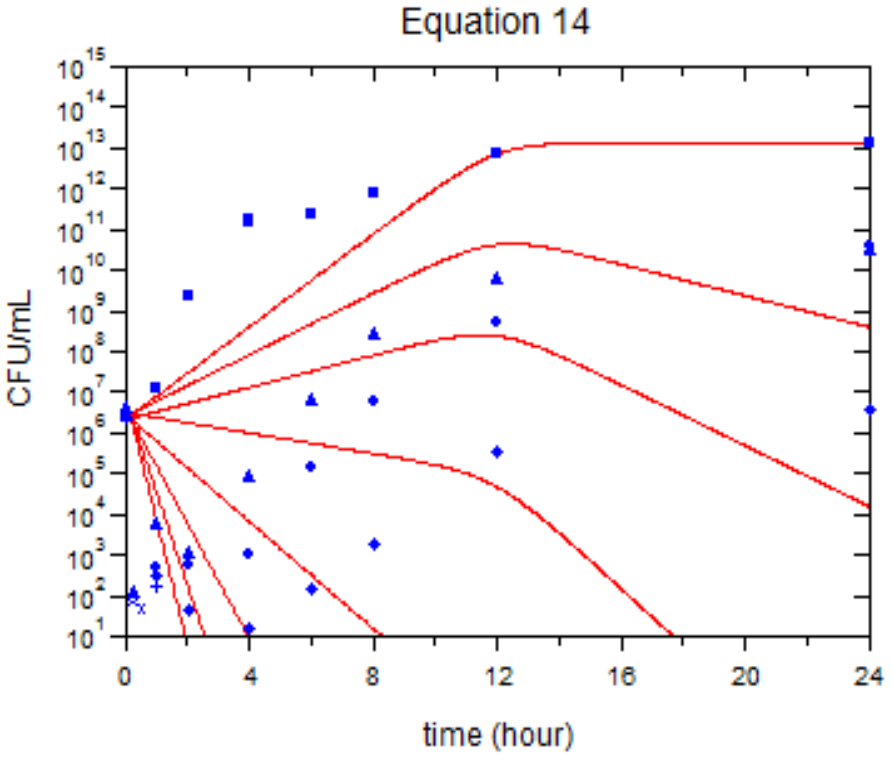
ภาพที่ 53 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 12



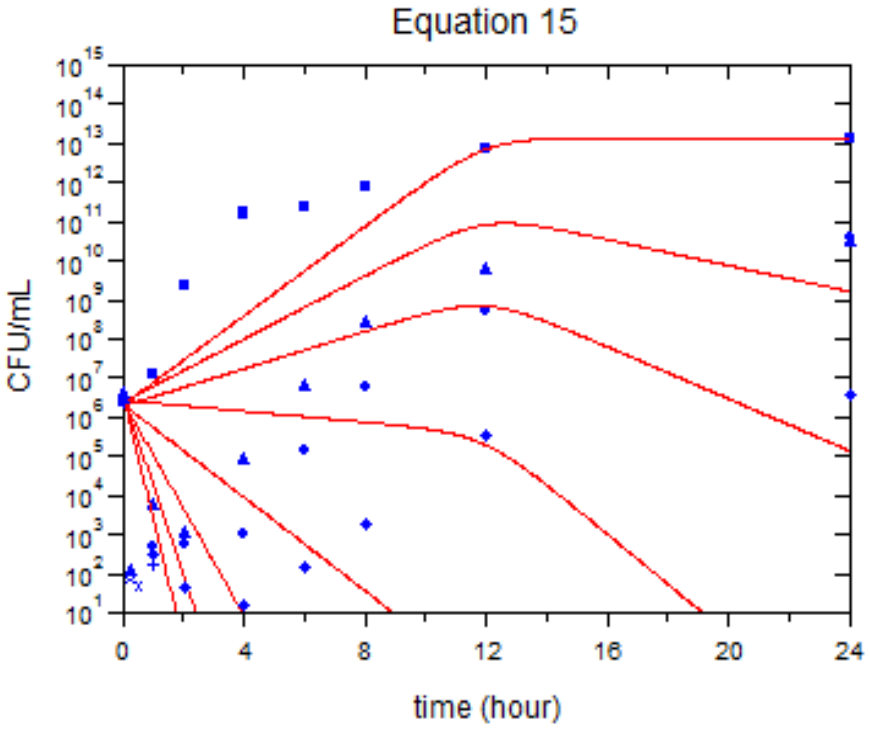
ภาพที่ 54 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 13



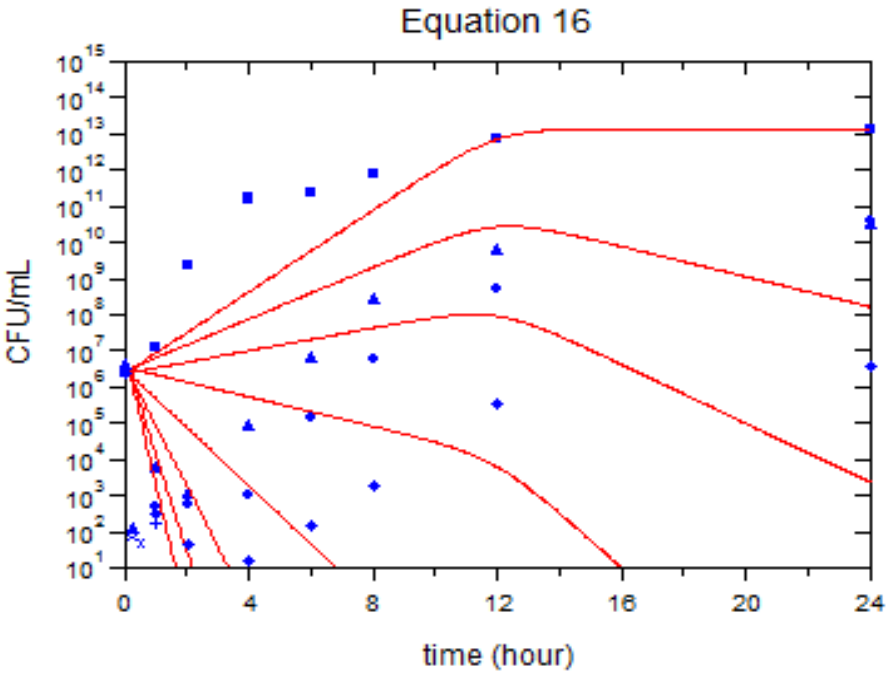
ภาพที่ 55 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 14



ภาพที่ 56 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 15



ภาพที่ 57 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 16



ผลการประเมินความสอดคล้องพอดี (Goodness of fit) จากข้อมูลค่าสถิติวิเคราะห์และการพิจารณารูปกราฟที่ได้จากแบบจำลองซึ่งสอดคล้อง (fit) กับข้อมูล ตามภาพที่ 42-57 พบว่าแบบจำลองที่สร้างขึ้นจากรูปแบบสมการที่ 1-16 นั้น ไม่มีสมการใดที่ให้รูปกราฟที่สอดคล้องกับข้อมูลจริง จึงต้องมีการพัฒนารูปแบบสมการขึ้นใหม่เพื่อให้แบบจำลองที่สร้างขึ้นนั้นให้รูปกราฟที่มีความสอดคล้องพอดีกับข้อมูลจริงมากที่สุดและได้รูปแบบของสมการที่มีความเหมาะสมในการประเมินฤทธิ์ของยาฟอสโฟมัยซิน ทุก ๆ ความเข้มข้น

เพื่อให้ได้รูปแบบของสมการที่มีความสอดคล้องพอดีกับข้อมูลจริงได้มากที่สุดรวมถึงมีความเหมาะสมในการใช้ประเมินฤทธิ์ของยาฟอสโฟมัยซินในการศึกษานี้มากที่สุด จึงทำการพัฒนารูปแบบของสมการในการประเมินอัตราคงที่ของการเจริญเติบโตของเชื้อขณะที่ไม่มียา (k_0), พัฒนารูปแบบของสมการเพื่อหาสมการแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ รวมไปถึงการวิเคราะห์หาอัตราคงที่ของการฆ่าเชื้อสูงสุด (k_{max}) จากสมการ k_0 ที่พัฒนาใหม่

<u>การพัฒนาสมการในการประเมินอัตราคงที่ของการเจริญเติบโตของเชื้อขณะที่ไม่มียา (k_0)</u>

ในการพัฒนารูปแบบสมการใหม่นั้นโดยนำพจน์ของ Exp^{yt} เข้าไปคูณในสมการที่ 24 เดิม เนื่องจากในการวิเคราะห์หาค่า k_0 ในครั้งแรกนั้นสมการที่ 24 ให้รูปกราฟที่สอดคล้องกับข้อมูลจริงมากที่สุด และผลจากการมีพจน์ของ Exp^{yt} คูณอยู่ในสมการจะช่วยให้เส้นกราฟที่ได้มีลักษณะเป็นเส้นโค้งขึ้น มากขึ้น รูปแบบของสมการในการวิเคราะห์หาค่า k_0 ที่พัฒนาขึ้นใหม่นั้นแสดงดังสมการที่ 33

<u>รูปแบบสมการที่ใช้หา k_0 สมการที่ 33</u>

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0 . \, Exp^{yt}\left(1 - \frac{N}{N_{max}}\right)\right].N$$

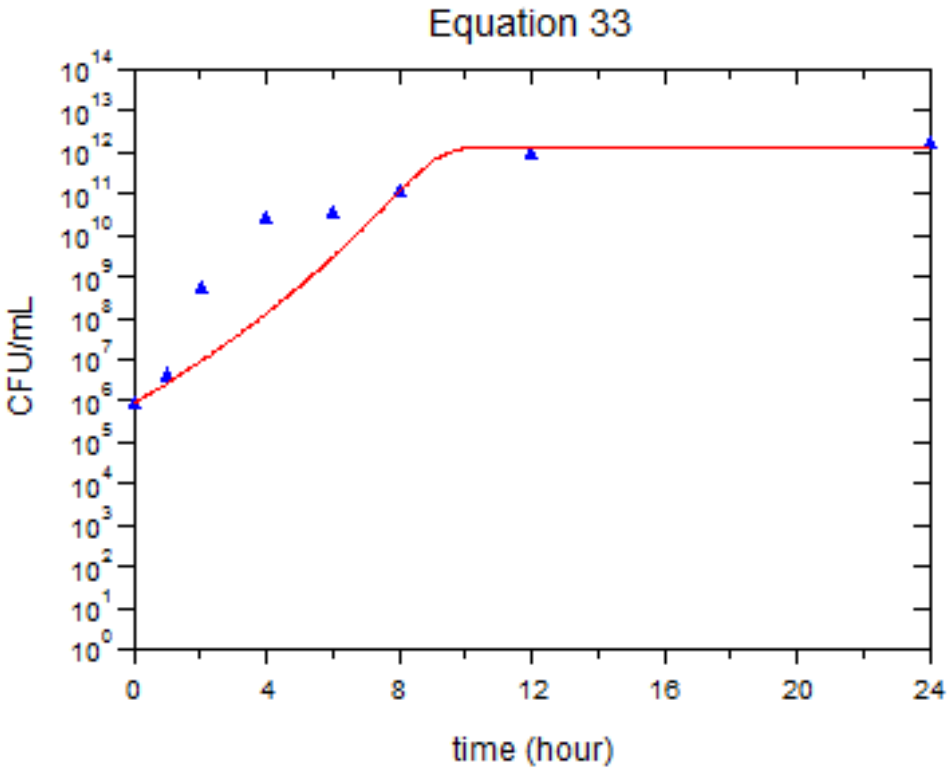
และเมื่อนำสมการที่ 33 ไปวิเคราะห์หาค่า k_0 พบว่าได้ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ตามตารางที่ 13 รูปกราฟ (ภาพที่ 58) ที่ได้จากแบบจำลองจากสมการที่ 33 นั้นพบว่ามีความสอดคล้องพอดีกับข้อมูลจริงเพิ่มมากขึ้นกว่าสมการที่ 24 แสดงให้เห็นว่าสมการที่ 33 มีความเหมาะสมที่สุดในการประเมิน

อัตราคงที่ของการเจริญเติบโตของเชื้อขณะที่ไม่มียา (k_0) โดยพบว่าค่า k_0 ที่ได้จากสมการมีค่าเท่ากับ 1.15 ชั่วโมง$^{-1}$, ค่า N_{max} เท่ากับ 1.06 x10^{13} CFU/ml, ค่า y (อัตราคงที่ของระยะเพิ่มจำนวน) เท่ากับ 0.079 ชั่วโมง$^{-1}$ และค่าสถิติที่ได้ คือ ค่า MSC=1.38 และค่า r^2=0.91 ตามลำดับ

ตารางที่ 13 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์และค่าสถิติที่ได้จากแบบจำลองของสมการที่ 33

สมการที่	K_0 (ชั่วโมง$^{-1}$)	y (ชั่วโมง$^{-1}$)	N_{max} (x10^{13}CFU/ml)	MSC	r^2
33	1.15	0.079	1.06	1.38	0.91

ภาพที่ 58 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 33



การวิเคราะห์หาอัตราคงที่ของการฆ่าเชื้อสูงสุด (k_{max})

ในการหาค่า k_{max} จากผลการวิเคราะห์รูปแบบสมการ 1-16 นั้นพบว่าสมการที่มีความเหมาะสมที่ใช้ในการประเมิน k_{max} คือสมการที่ 7 ดังนั้นจึงนำรูปแบบสมการของสมการที่ 7 มาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาค่า k_{max} ได้เป็นสมการที่ 7-1 โดยเปลี่ยนค่า k_0 เป็นค่า k_G (อัตราคงที่การเจริญเติบโตของเชื้อขณะที่สัมผัสยา) เพื่อใช้อธิบายกราฟการฆ่าเชื้อ ส่วนสมการที่ 33 นั้นนำค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์ที่ได้จากตารางที่ 13 มา fit ข้อมูลเส้นกราฟการเจริญเติบโตของเชื้อ (control)

สมการที่ 7-1

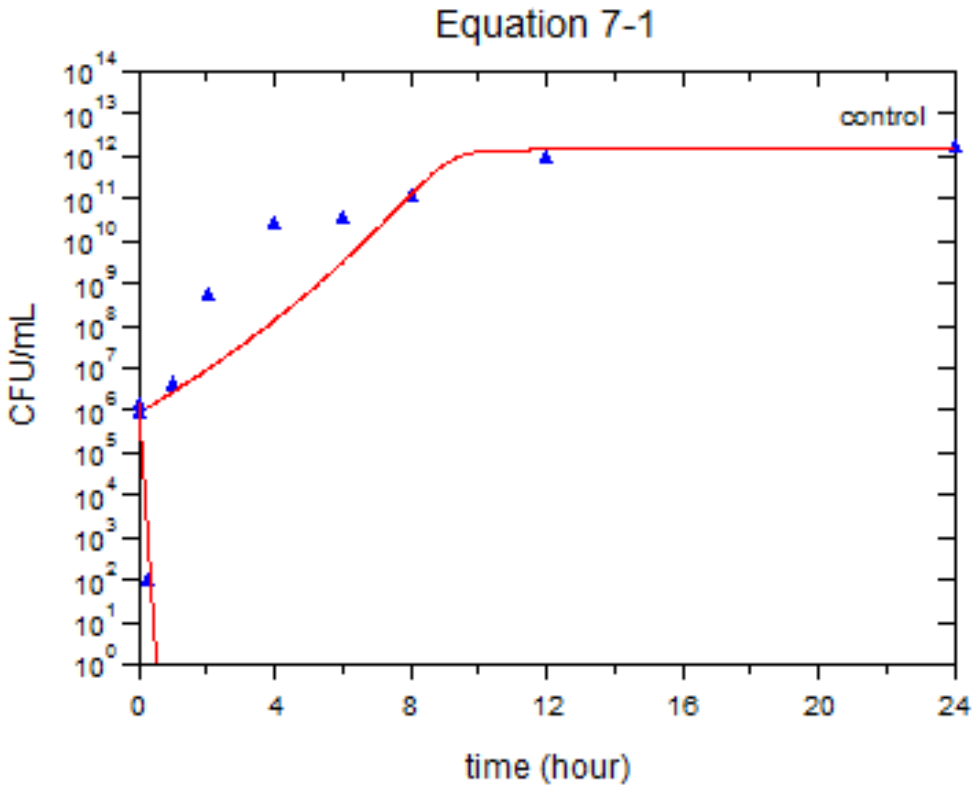
$$\frac{dN}{dt} = \left[k_G\left(1-\frac{N}{N_{max}}\right).(1-e^{-zt}) - \left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right)\right].N$$

ตารางที่ 14 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์และค่าสถิติที่ได้ จากสมการ 7-1

สมการที่	K_G **(ชั่วโมง$^{-1}$)**	K_{max} **(ชั่วโมง$^{-1}$)**	EC_{50} **(มคก/มล.)**	Z **(ชั่วโมง$^{-1}$)**	MSC	r^2
7-1	2.19	44.36	103.57	1.11	1.57	0.91

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาพที่ 59 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ด้วยสมการที่ 33 และสมการที่ 7



ผลการประเมินความสอดคล้องพอดี (Goodness of fit) พบว่ารูปกราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองด้วยสมการที่ 33 และสมการที่ 7-1 ดังภาพที่ 59 สอดคล้อง (fit) กับข้อมูล รูปกราฟที่ได้มีความความสอดคล้องพอดีกับข้อมูลจริงดีที่สุด สมการที่ 7-1 มีความเหมาะสมในการประเมินอัตราคงที่ของการฆ่าเชื้อสูงสุด (k_{max}) และจากตารางที่ 14 แสดงค่าพารามิเตอร์ต่างๆที่วิเคราะห์ โดยพบว่าค่า k_{max} ที่ได้มีค่า 44.36 ชั่วโมง$^{-1}$, ค่า k_G (อัตราคงที่การเจริญของเชื้อขณะที่สัมผัสยา) เท่ากับ 2.19 ชั่วโมง$^{-1}$, ค่า EC_{50} มีค่าเท่ากับ 103.57 มคก./มล. และค่า z เท่ากับ 1.11 ชั่วโมง$^{-1}$ สำหรับค่าสถิติที่ได้คือ ค่า MSC = 1.57, ค่า r^2 = 0.91

พัฒนารูปแบบสมการสำหรับวิเคราะห์หาแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์

จากการประเมินความสอดคล้องในตอนแรกพบว่าได้รูปกราฟที่ไม่สอดคล้องกับข้อมูลจริงที่ความเข้มข้นต่างๆของฟอสโฟมัยซิน (0.25-8 MIC) จึงพัฒนารูปแบบสมการใหม่ขึ้นมาโดยเพิ่มพจน์ Exp^{-ZT} เข้ามาในสมการดังสมการที่ 34

สมการที่ 34

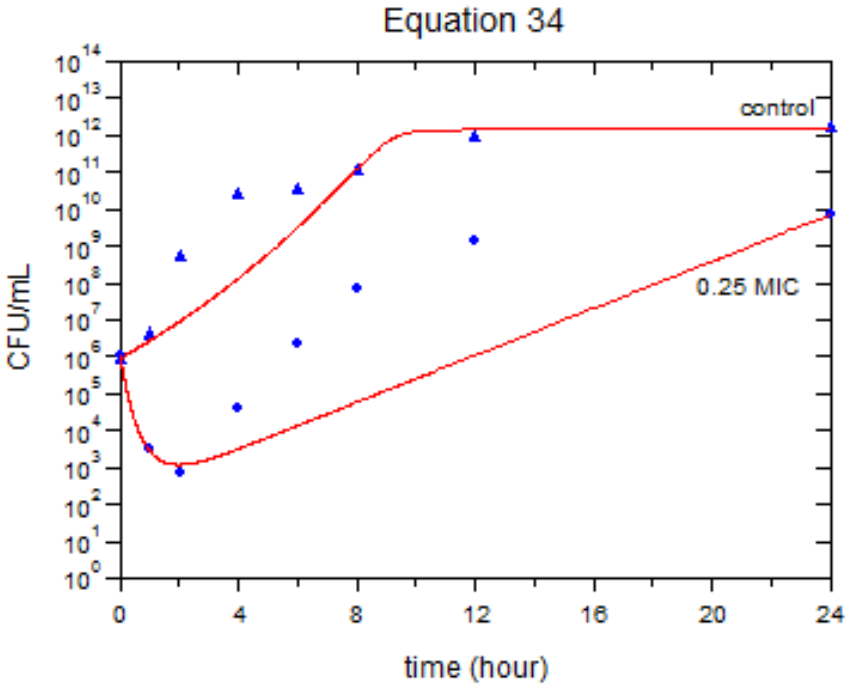
$$\frac{dN}{dt} = \left[k_G - \left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right).\left(Exp^{-zt}\right)\right].N$$

ผลของการประเมินความสอดคล้องพอดี (Goodness of fit) ของสมการที่ 34 พบว่าสมการที่ 34 ให้รูปกราฟที่สอดคล้องกับข้อมูลจริงได้ดี ดังภาพที่ 60-63 และค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์และค่าสถิติที่ได้แสดงดังตารางที่ 15

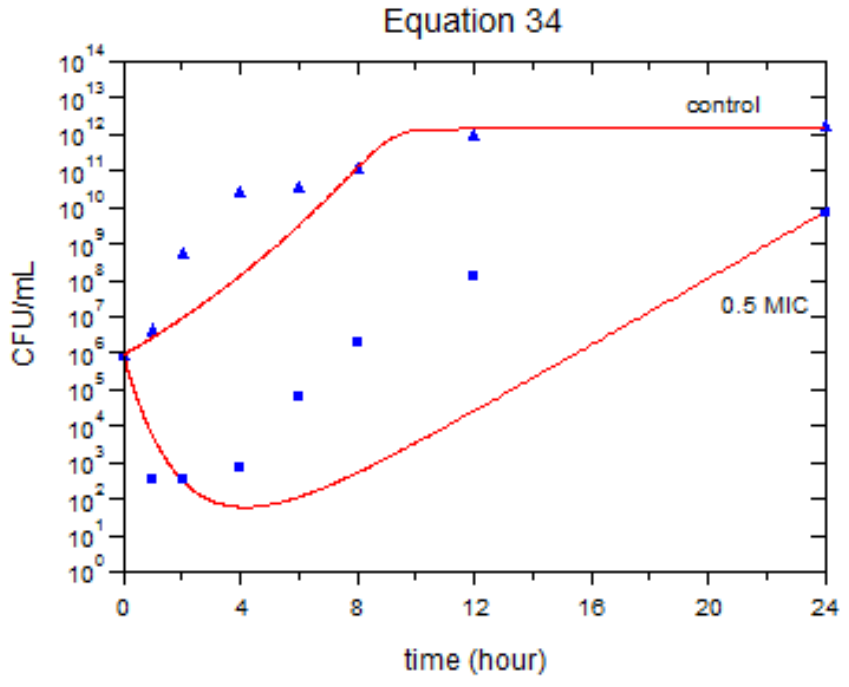
ตารางที่ 15 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์และค่าสถิติที่ได้จากสมการที่ 34

สมการที่	**ความเข้มข้นของยา (MIC)**	K_G **(ชั่วโมง$^{-1}$)**	K_{max} **(ชั่วโมง$^{-1}$)**	EC_{50} **(มคก/มล.)**	Z **(ชั่วโมง$^{-1}$)**	MSC	r^2
34	0.25	0.78	189.99	104.10	1.45	1.78	0.91
	0.5	1.13	54.09	88.17	0.48	1.78	0.91
	1	0.86	55.95	84.33	0.97	1.78	0.91
	0.25, 0.5, 1	0.57	84.03	168.21	0.92	2.10	0.91
	2, 4, 8	1.86	48.31	107.52	1.04	1.96	0.91

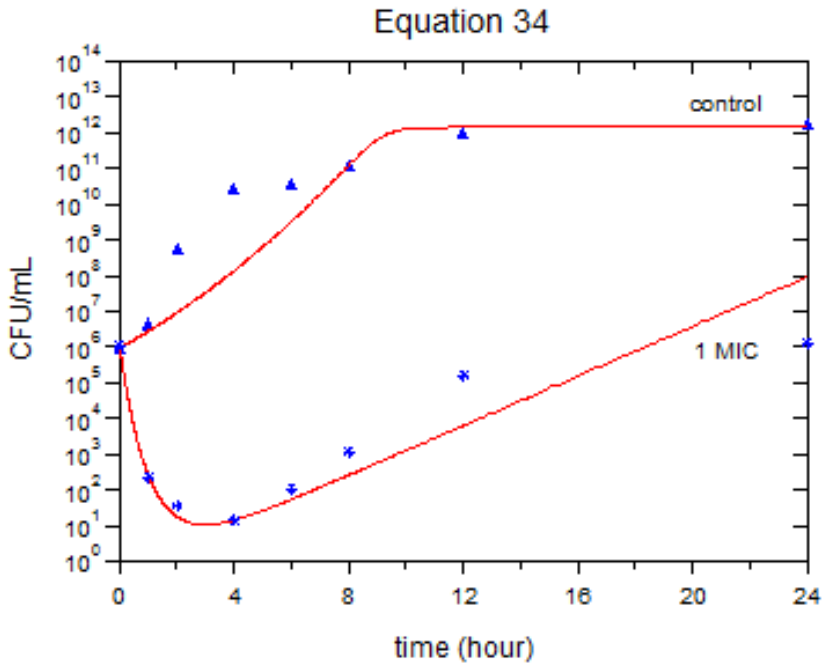
ภาพที่ 60 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 34 ที่ความเข้มข้นของยา 0.25MIC



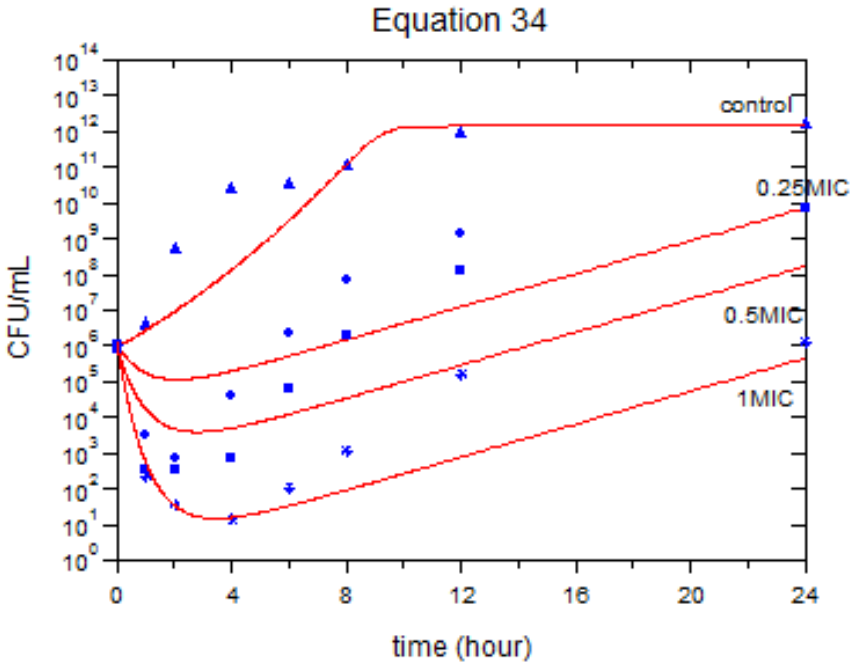
ภาพที่ 61 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 34 ที่ความเข้มข้นของยา 0.5MIC



ภาพที่ 62 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 34 ที่ความเข้มข้นของยา 1MIC

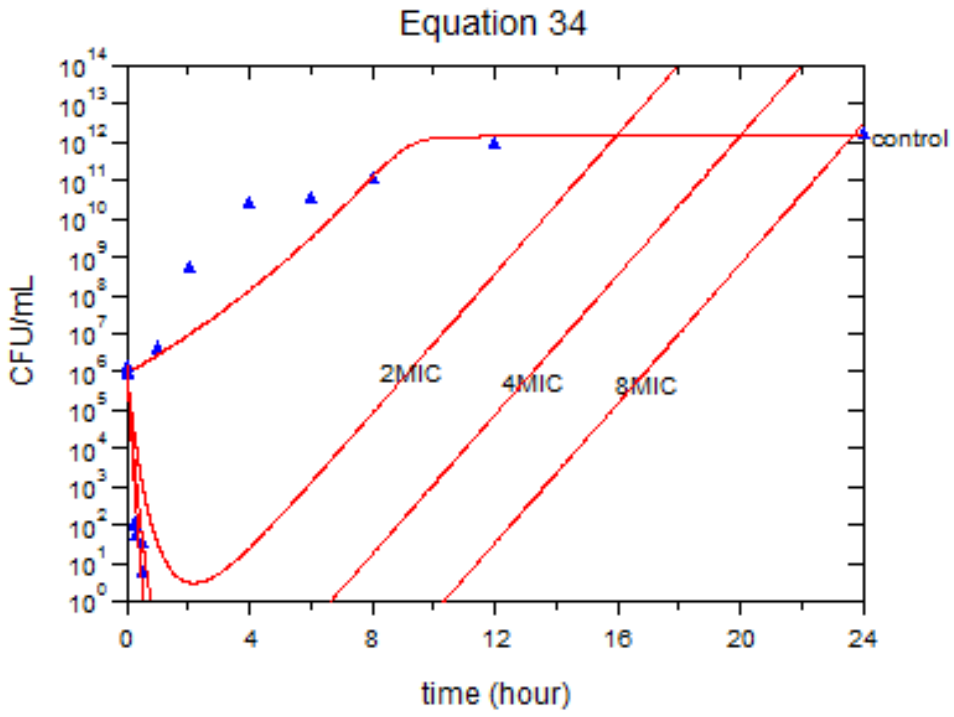


ภาพที่ 63 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 34 ที่ความเข้มข้นของยา 0.25MIC, 0.5MIC และ 1MIC



จากตารางที่ 15 พบว่า ค่า MSC = 2.10, ค่า r^2 = 0.91, ค่า k_G (อัตราคงที่การเจริญของเชื้อขณะที่สัมผัสยา) = 0.57 ชั่วโมง$^{-1}$, ค่า k_{max} = 84.03 ชั่วโมง$^{-1}$ และค่า EC_{50} = 168.21 มคก./มล. ตามลำดับ

ภาพที่ 64 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 34 ที่ความเข้มข้นของยา 2MIC, 4MIC และ 8MIC



ผลของการประเมินความสอดคล้องพอดี (Goodness of fit) ของสมการที่ 34 พบว่าให้ข้อมูลรูปกราฟไม่สอดสอดคล้องพอดีกับข้อมูลจริงที่ความเข้มข้นของยา 2MIC, 4MIC และ 8MIC ดังภาพที่ 64 และให้ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์และค่าสถิติที่ได้แสดงดังตารางที่ 15 เนื่องจากมีเส้นกราฟที่ regrowth เกิดขึ้นจึงต้องพัฒนารูปแบบสมการใหม่เพื่อนำมาใช้ในประเมินฤทธิ์ของยาฟอสโฟมัยซินที่ความเข้มข้น 2MIC, 4MIC และ 8MIC โดยเพิ่มพจน์ $(1-Exp^{-zt})$ เข้าไปดังสมการที่ 35

สมการที่ 35

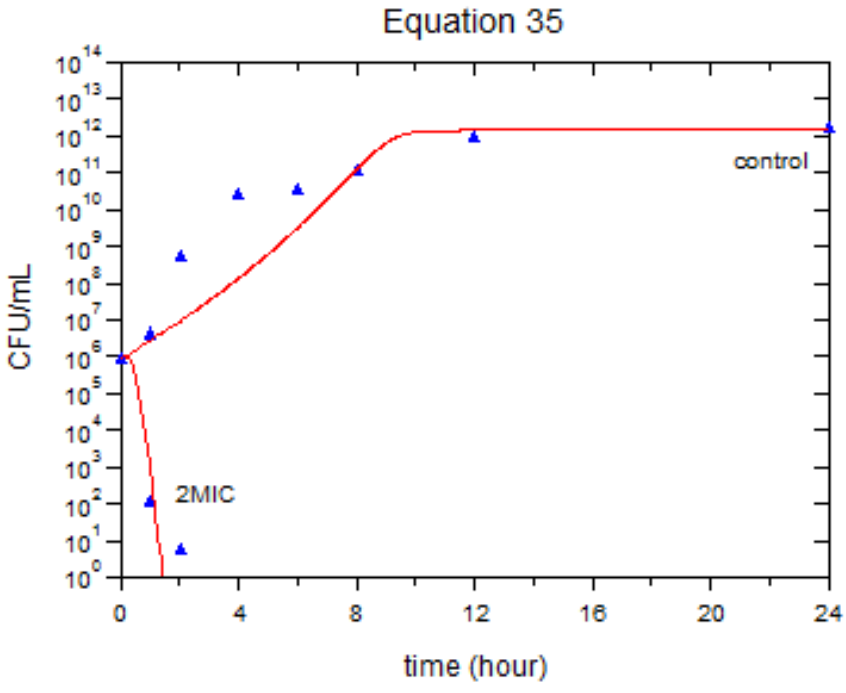
$$\frac{dN}{dt} = \left[k_G - \left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right).\left(1-Exp^{-zt}\right)\right].N$$

ผลของการประเมินความสอดคล้องพอดี (goodness of fit) ของสมการที่ 35 พบว่ารูปกราฟที่ได้มีสอดคล้องกับข้อมูลจริง ที่ความเข้มข้นของฟอสโฟมัยซินเท่ากับ 2MIC, 4MIC และ 8MIC ดังภาพที่ 65-68 และค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์และค่าสถิติที่ได้แสดงดังตารางที่ 16

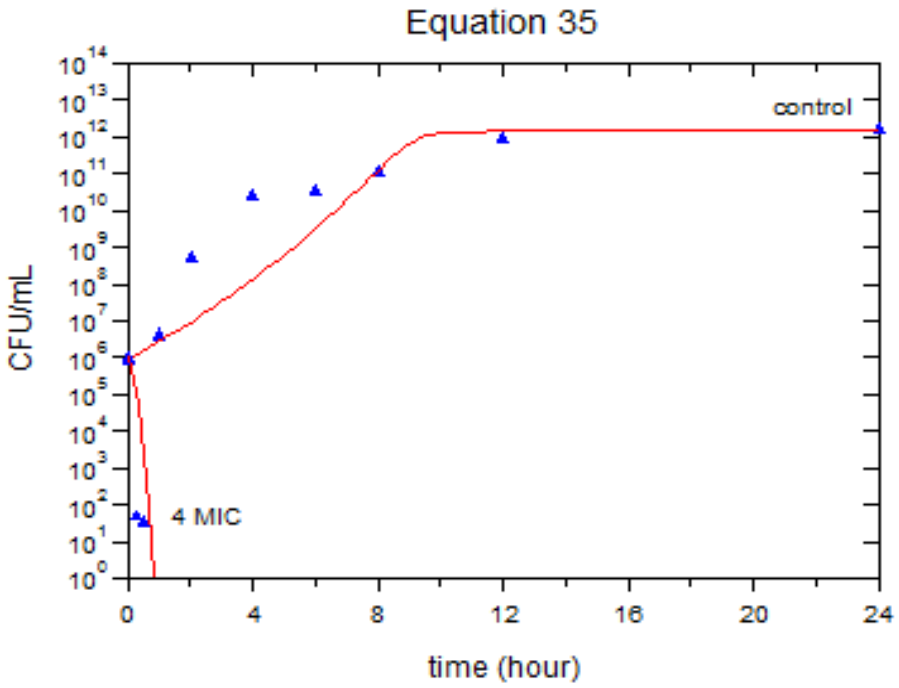
ตารางที่ 16 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชพลศาสตร์และค่าสถิติที่ได้จากสมการที่ 35

สมการที่	**ความเข้มข้นของยา (MIC)**	K_G (ชั่วโมง$^{-1}$)	K_{max} (ชั่วโมง$^{-1}$)	EC_{50} (มคก/มล.)	Z (ชั่วโมง$^{-1}$)	MSC	r^2
35	2	3.94	96.8	202.9	1.08	1.79	0.91
	4	1.03	61.96	110.95	2.35	1.64	0.91
	8	2.50	54.96	121.84	1.44	1.57	0.91
	2, 4, 8	2.01	50.30	100.03	1.02	1.56	0.91

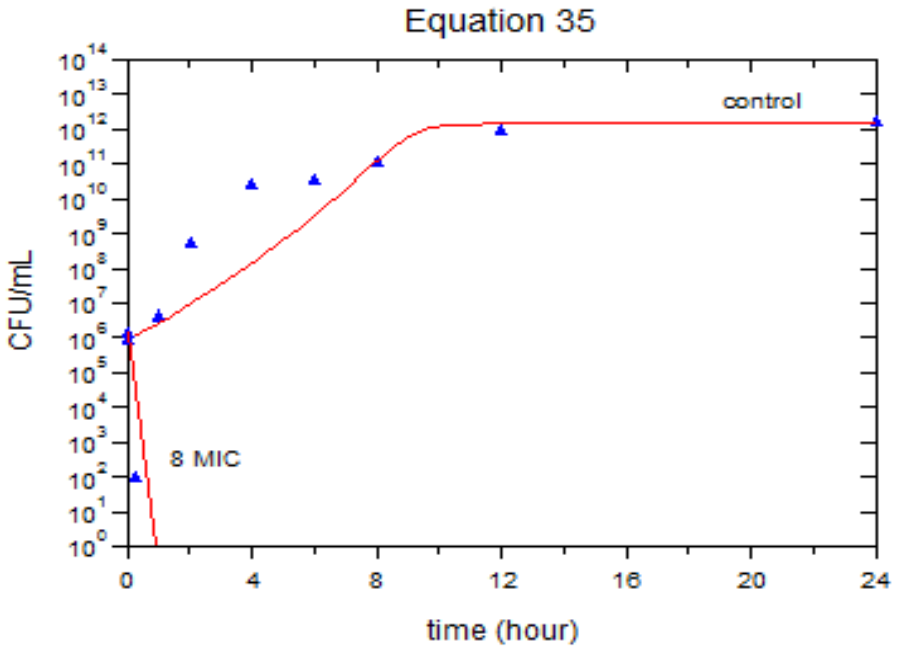
ภาพที่ 65 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์สมการที่ 35 ที่ความเข้มข้นของยา 2MIC



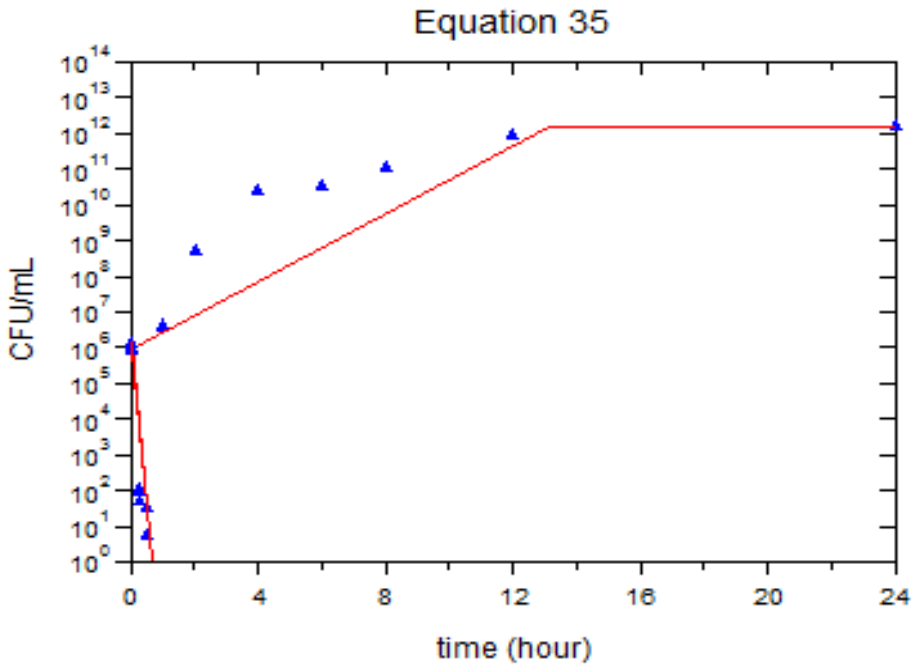
ภาพที่ 66 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 35 ที่ความเข้มข้นของยา 4MIC



ภาพที่ 67 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 35 ที่ความเข้มข้นของยา 8MIC



ภาพที่ 68 กราฟที่สร้างขึ้นจากแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สมการที่ 35 ที่ความเข้มข้นของยา 2MIC, 4MIC และ8MIC



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 5
อภิปรายผล

การศึกษานี้เป็นการศึกษาที่มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาฤทธิ์ของฟอสโฟมัยซิน ในการต้านเชื้อ *E. coli* ชนิดที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL โดยอาศัยกราฟการฆ่าเชื้อ และสร้างแบบจำลองทางเภสัช-จลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ เพื่อใช้ประเมินฤทธิ์ทางห้องปฏิบัติการของฟอสโฟมัยซินในการฆ่าเชื้อ *E. coli* ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL เนื่องจากพบว่าในปัจจุบันเชื้อจุลชีพต่างๆมีแนวโน้มการดื้อยาต้านจุลชีพมากขึ้นและจากรายงานการดื้อยาของเชื้อ *E. coli* พบว่าเกิดจากการที่เชื้อจุลชีพมีการสร้างเอนไซม์ Extended spectrum β lactamase (ESBL) ร้อยละ 28-69% ประกอบกับที่มีข้อมูลการใช้ยาฟอสโฟมัยซินเป็นยาทางเลือกในการใช้รักษาผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ *E. coli* ชนิดที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL เพิ่มมากขึ้น ซึ่งลักษณะของเชื้อที่นำมาศึกษาในงานวิจัยนี้นั้นเป็นเชื้อ *E. coli* ชนิดที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL เช่นเดียวกันแต่สายพันธุ์ของเชื้อที่นำมาศึกษานั้นมีความแตกต่างกันเนื่องจากมีการเก็บจากตัวอย่างคนละตัวอย่างและคนละพื้นที่ [19, 25]

ในการศึกษานี้มีการแบ่งผลการศึกษาเป็น 2 ส่วนใหญ่ๆคือ ส่วนที่ 1 การศึกษากราฟฆ่าเชื้อกับเวลา และ ส่วนที่ 2 การสร้างแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ สำหรับผลการศึกษาในส่วนที่ 1 นั้นประกอบไปด้วย

ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) ด้วยวิธี Agar dilution พบว่า พบว่าสายพันธุ์ที่นำมาทดสอบทั้ง 3 สายพันธุ์คือ L2EN49, L2EN228 และ L2EN486 นั้นมีความไวเป็น S (susceptible) ต่อยาฟอสโฟมัยซิน เนื่องจากพิจารณาจากค่า MIC ที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธี agar dilution นั้นมีค่าน้อยกว่า 64 มคก./มล. แต่เมื่อนำมาหาค่า MIC อีกครั้งด้วยด้วยวิธี Broth dilution (two fold serial dilution) พบว่าทั้ง 3 สายพันธุ์นั้นมีค่า MIC ที่แตกต่างกัน แต่ยังมีความไวต่อยาฟอสโฟมัยซินอยู่ จึงพิจารณาเลือกเชื้อ 1 สายพันธุ์ คือ L2EN49 ที่มีค่า MIC 32 มคก./มล. มาเป็นตัวแทนที่จะถูกนำไปศึกษาหากราฟการฆ่าเชื้อต่อไป เนื่องจากค่า MIC 32 มคก./มล. นั้นสามารถเป็นตัวแทนในการหากราฟการฆ่าเชื้อของอีก 2 สายพันธุ์ (สายพันธุ์ L2EN228 มีค่า MIC 16 มคก./มล., สายพันธุ์ L2EN486 มีค่า MIC=8 มคก./มล.) ได้ และจากผลของค่า MIC ที่ได้นั้นมีความสอดคล้องกับค่า MIC ของเชื้อ *E. coli ESBL* ที่ระบุไว้จากหลายๆงานวิจัย แต่มีบางส่วนที่มีความแตกต่างกันบ้างแต่พบว่าค่าที่ได้นั้นอยู่ในช่วงที่ระบุว่าเชื้อนั้นไวต่อยา [26, 27]

ผลการศึกษากราฟการฆ่าเชื้อพบว่ายาฟอสโฟมัยซินมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อการเจริญเติบโตของเชื้อ (bacteriostatic) ได้ที่ความเข้มข้น 8 (0.25MIC), 16 (0.5MIC) และ 32 (1MIC) มคก./มล. เนื่องจากพบการเพิ่มจำนวนขึ้นอีกครั้งของเชื้อหลังผ่านไป 4 ชั่วโมง และยาฟอสโฟมัยซินแสดงฤทธิ์ฆ่าเชื้อได้อย่างรวดเร็ว (rapid bactericidal) ภายใน 1 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 64 (2MIC), 128 (4MIC), 256 (8MIC) และ 512 (16MIC) มคก./มล. โดยที่ไม่พบการเพิ่มขึ้นอีกของเชื้อ ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษานั้นมีความสอดคล้องกับข้อมูลจากหลายการศึกษาที่ระบุว่า ฟอสโฟมัยซินสามารถฆ่าเชื้อได้อย่างรวดเร็วแต่อาจพบการเพิ่มจำนวนขึ้นของเชื้ออีกครั้งที่ความเข้มข้นของยาที่น้อยกว่าหรือเท่ากับค่า MIC [19, 27] และจากการวิเคราะห์กราฟการฆ่าเชื้อพบว่าหากไม่ต้องการให้พบการ regrowth ของเชื้อขึ้นอีกนั้น ความเข้มข้นของยาที่ใช้ต้องสามารถลดจำนวนของเชื้อแบคทีเรียจากจำนวนเชื้อเริ่มต้นให้เหลือ 1 log ภายในเวลา 2 ชั่วโมง

ผลการศึกษาในส่วนที่ 2 นั้น เป็นผลการสร้างแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ ในการสร้างแบบจำลองนั้นอาศัยข้อมูลจากกราฟการฆ่าเชื้อมาวิเคราะห์เปรียบเทียบความสอดคล้องพอดีกับแบบจำลองแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ โดยใช้โปรแกรม Scientist® โดยมีสมการ E_{max} mode เป็นสมการพื้นฐาน สำหรับรูปแบบสมการที่นำมาวิเคราะห์นั้นพัฒนาจากสมการพื้นฐานซึ่งมีจำนวน 16 รูปแบบ ผลจากการวิเคราะห์รูปกราฟที่ได้จากแต่ละแบบจำลองนั้น พบว่าสมการที่ 1-16 นั้น ไม่มีสมการใดที่ให้รูปกราฟที่สอดคล้องกับข้อมูลจริง จึงมีการพัฒนารูปแบบของสมการขึ้นมาใหม่โดยอาศัยรูปแบบสมการที่ 1-16 เป็นพื้นฐานและมีการเติมพจน์ Exp^{yt}, Exp^{-yt} หรือ $1-Exp^{-yt}$ เข้าไปคูณในสมการ ทำให้ได้สมการสำหรับหาค่า k_0 ดังสมการที่ 33

Chulalongkorn University

<u>รูปแบบสมการที่ 33</u>

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0 . \, Exp^{yt}\left(1 - \frac{N}{N_{max}}\right)\right].N$$

จากสมการที่ 33 มีความเหมาะสมในการประเมินหาอัตราคงที่ของการเจริญของเชื้อจุลชีพขณะที่ไม่ได้สัมผัสกับยาต้านจุลชีพ (k_0) มากที่สุดและค่า k_0 ที่ได้จากสมการมีค่าเท่ากับ 1.15 ชั่วโมง$^{-1}$

ในการหาค่าคงที่ของอัตราการฆ่าเชื้อสูงสุด (k_{max}) พบว่าสมการที่เหมาะสมคือสมการที่ 33 และสมการที่ 7-1 เนื่องจากรูปกราฟที่ได้จากการสร้างแบบจำลองมีความสอดคล้องพอดีกับข้อมูลจริงมากที่สุด ค่า k_{max} มีค่า เท่ากับ 44.36 ชั่วโมง$^{-1}$

สำหรับผลการวิเคราะห์หาสมการแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ พบว่ารูปแบบสมการที่ 34 เป็นสมการที่มีความเหมาะสมในการประเมินฤทธิ์ของยาฟอสโฟมัยซิน ที่ความเข้มข้น 0.25MIC, 0.5MIC และ 1MIC โดยมีค่า ค่า k_G (อัตราคงที่การเจริญของเชื้อขณะที่สัมผัสยา) เท่ากับ 0.57 ชั่วโมง$^{-1}$, ค่า k_{max} 84.03 ชั่วโมง$^{-1}$ และค่า EC_{50} 168.21 มคก./มล. สำหรับค่าสถิติที่ได้คือ MSC=2.10 และ ค่า r^2 = 0.91

<u>รูปแบบสมการที่ 34</u>

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_G - \left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right).\left(Exp^{-zt}\right)\right]. N$$

สำหรับที่ความเข้มข้นของฟอสโฟมัยซินเท่ากับ 2MIC, 4MIC และ 8MIC พบว่าสมการที่ 35 มีความเหมาะสมในการประเมินฤทธิ์ของยาฟอสโฟมัยซินมากที่สุด โดยค่าพารามิเตอร์ต่างๆ มีค่าดังนี้ ค่า k_G (อัตราคงที่การเจริญของเชื้อขณะที่สัมผัสยา) เท่ากับ 2.02 ชั่วโมง$^{-1}$, ค่า k_{max} 50.30 ชั่วโมง$^{-1}$ และค่า EC_{50} 100.03 มคก./มล. สำหรับค่าสถิติ คือ MSC 1.56 และ ค่า r^2 0.91

<u>รูปแบบสมการที่ 35</u>

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_G - \left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right).\left(1-Exp^{-zt}\right)\right]. N$$

จากผลการศึกษาที่ได้นั้น เนื่องจากไม่มีการศึกษาอื่นๆก่อนหน้านี้ที่ศึกษาหาแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ของยาฟอสโฟมัยซินต่อเชื้อ *E. coli* ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL มาก่อน และจากผลการวิเคราะห์สมการที่เคยมีการศึกษามาก่อนหน้านี้นั้นพบว่าไม่สามารถใช้ในการอธิบายรูปกราฟการฆ่าเชื้อที่ได้จากการศึกษานี้จึงต้องมีการพัฒนารูปแบบสมการใหม่ขึ้นมาเพื่อใช้ในการศึกษาหาแบบจำลองที่เหมาะสม ซึ่งในการพัฒนาสมการโดยการเติมพจน์ของ Exp^{yt}, Exp^{-yt} หรือ $1-Exp^{-yt}$ เข้าไปคูณในสมการนั้นมีความสอดคล้องกับการพัฒนารูปแบบสมการ [(4)] ที่อธิบายว่า ในกรณีที่เชื้อมีการเจริญเติบโตช้าในระยะแรกและยังไม่เข้าสู่ log phase จะมีการเติมพจน์ที่เป็น

correction factor หรือ exponential correction factor ลงในสมการเพื่อทำการปรับรูปสมการให้มีความเหมาะสมกับข้อมูลจริงที่ได้

นอกจากนี้ ปัจจัยที่อาจส่งผลทำให้รูปแบบของสมการที่ได้มีความแตกต่างจากสมการที่ใช้ในการศึกษาอื่นๆอาจเป็นเพราะยาฟอสโฟมัยซินนั้นเป็นยาที่มีโครงสร้างแตกต่างจากยาในกลุ่มอื่นๆ ทำให้ในการหาสมการที่เหมาะสมในการอธิบายการออกฤทธิ์ของยาจึงมีความแตกต่างกับสมการที่เคยมีจากการศึกษาอื่นๆที่มีมากก่อนหน้านี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 6
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

จากวัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้ คือ ศึกษาฤทธิ์ของยาฟอสโฟมัยซินในการต้านเชื้อ *E. coli* ชนิดที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL และสร้างแบบจำลองทางเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ เพื่อใช้ประเมินฤทธิ์ทางห้องปฏิบัติการของยาฟอสโฟมัยซินในการฆ่าเชื้อ *E. coli* ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL

1. ในการศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *E. coli* ชนิดที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL นั้นวิเคราะห์จากข้อมูลที่ได้จากการสร้างกราฟการฆ่าเชื้อกับเวลา (time-kill curves) โดยความเข้มของยาที่ใช้ในการหากราฟการฆ่าเชื้อนั้นถูกกำหนดเป็นจำนวนเท่าของค่า MIC ของเชื้อ *E. coli* ESBL คือ 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8 และ 16 เท่าของค่า MIC ผลการหาค่า MIC ของเชื้อ *E. coli* ESBL สายพันธุ์ L2EN49 นี้มีค่า 0.25 - 0.5 มคก./มล. จากการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้พบว่ายาฟอสโฟมัยซินสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (bacteriostatic effect) ได้ในความเข้มข้น 0.25MIC, 0.5MIC และ 1MIC และยาฟอสโฟมัยซินแสดงฤทธิ์ฆ่าเชื้อได้อย่างรวดเร็ว (rapid bactericidal effect) ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 2MIC, 4MIC, 8MIC และ 16MIC สำหรับฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อสูงสุดมีค่า 8MIC

2. ในการวิเคราะห์หาแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ นั้นอาศัยข้อมูลจากกราฟการฆ่าเชื้อมาวิเคราะห์เปรียบเทียบความสอดคล้องพอดี โดยใช้โปรแกรม Scientist® ในขั้นตอนการวิเคราะห์ประกอบไปด้วย

2.1 การหาอัตราคงที่ของการเจริญของเชื้อจุลชีพขณะที่ไม่ได้สัมผัสกับยาต้านจุลชีพ (k_0)

พบว่าแบบจำลองที่สร้างขึ้นจากรูปแบบสมการที่พัฒนาขึ้นใหม่ คือ สมการที่ 33 มีความเหมาะสมในการประเมินหาอัตราคงที่ของการเจริญของเชื้อจุลชีพขณะที่ไม่ได้สัมผัสกับยาต้านจุลชีพมากที่สุด สำหรับค่า k_0 = 1.15 ชั่วโมง$^{-1}$, ค่า N_{max} = 1.06 x10^{13} CFU/ml, ค่า y (อัตราคงที่ของระยะเพิ่มจำนวน) = 0.079 ชั่วโมง$^{-1}$ และค่าสถิติที่ได้ คือ ค่า MSC=1.38 และค่า r^2=0.91 ตามลำดับ

รูปแบบสมการที่ 33

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_0 . \, Exp^{yt}\left(1 - \frac{N}{N_{max}}\right)\right].N$$

2.2 การหาค่าคงที่ของอัตราการฆ่าเชื้อสูงสุด (k_{max})

พบว่าสมการที่เหมาะสมสำหรับหาค่า k_{max} ประกอบด้วยสมการที่ 33 สมการที่ 7-1 เนื่องจากรูปกราฟที่ได้จากการสร้างแบบจำลองมีความสอดคล้องพอดีกับข้อมูลจริงมากที่สุด ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ มีค่าดังนี้ ค่า k_{max} เท่ากับ 44.36 ชั่วโมง$^{-1}$, ค่า k_G (อัตราคงที่การเจริญของเชื้อขณะที่สัมผัสยา) เท่ากับ 2.19 ชั่วโมง$^{-1}$, ค่า EC_{50} มีค่าเท่ากับ 103.57 มคก./มล. และค่า z = 1.11 ชั่วโมง$^{-1}$ สำหรับค่าสถิติที่ได้คือ ค่า MSC =1.57, ค่า r^2 =0.91

2.3 การวิเคราะห์หาสมการแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์

จากการพิจารณารูปกราฟที่ได้จากแบบจำลอง พบว่าสมการที่ 1-16 นั้น ไม่มีสมการใดที่ให้รูปกราฟที่สอดคล้องกับข้อมูลจริง จึงมีการพัฒนารูปแบบสมการขึ้นใหม่คือสมการที่ 34 และ 35 ผลการประเมินความสอดคล้องพอดี พบว่ารูปแบบสมการที่ 34 เป็นสมการที่มีความเหมาะสมในการประเมินฤทธิ์ของยาฟอสโฟมัยซิน ที่ความเข้มข้น 0.25MIC, 0.5MIC และ 1MIC โดยมีค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ดังนี้ ค่า k_G (อัตราคงที่การเจริญของเชื้อขณะที่สัมผัสยา) = 0.57 ชั่วโมง$^{-1}$, ค่า k_{max} = 84.03 ชั่วโมง$^{-1}$ และค่า EC_{50}=168.21 มคก./มล. สำหรับค่าสถิติที่ได้ คือ MSC= 2.10 และ ค่า r^2 =0.91

Chulalongkorn University

รูปแบบสมการที่ 34

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_G - \left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right).\left(Exp^{-zt}\right)\right]. N$$

สำหรับที่ความเข้มข้นของฟอสโฟมัยซินเท่ากับ 2MIC, 4MIC และ 8MIC พบว่าสมการที่ 35 มีความเหมาะสมในการประเมินฤทธิ์ของยาฟอสโฟมัยซินมากที่สุด โดยค่าพารามิเตอร์ต่างๆ มีค่าดังนี้ ค่า k_G (อัตราคงที่การเจริญของเชื้อขณะที่สัมผัสยา) เท่ากับ 2.02 ชั่วโมง$^{-1}$, ค่า k_{max} = 50.30 ชั่วโมง$^{-1}$ และค่า EC_{50}= 100.03 มคก./มล. สำหรับค่าสถิติ คือ MSC= 1.56 และ ค่า r^2 =0.91

รูปแบบสมการที่ 35

$$\frac{dN}{dt} = \left[k_G - \left(\frac{k_{max}.C}{EC_{50}+C}\right).\left(1-Exp^{-zt}\right)\right]. N$$

การนำไปประยุกต์ใช้ทางคลินิก

1. จากข้อมูลค่า pharmacokinetics ของยาฟอสโฟมัยซินพบว่า การได้รับยาในรูปแบบยาฉีดเข้ากระแสเลือดในขนาด 4 กรัม (fosfomycin disodium) จะทำให้ได้ค่าความเข้มข้นสูงสุด (C_{max}) เท่ากับ 132 mg/L และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุด (C_{min}) เท่ากับ 4.1 mg/L และจากการศึกษาพบว่าค่า MIC ของเชื้อ *E. coli* ESBL มีค่า 32 µg/ml แสดงว่าการรักษาด้วยฟอสโฟมัยซินรูปแบบฉีดในขนาด 4 กรัม จะมีระดับยาที่เพียงพอในการควบคุมเชื้อที่ไวต่อยา (MIC<32 µg/ml) คือมีค่าระดับยามากกว่า 4 เท่าของค่า MIC แต่ถ้าในกรณีที่เชื้อแบคทีเรียมีค่า MIC มากกว่า 32 µg/ml เช่น 64 µg/ml หรือ 128 µg/ml ขนาดยาฉีดที่ใช้ควรมีขนาดสูงกว่า 4 กรัม

2. จากข้อมูลของกราฟการฆ่าเชื้อพบว่าในการป้องกันการ regrowth ของเชื้อแบคทีเรียนั้น ความเข้มข้นของยาที่ใช้ต้องสามารถลดจำนวนของเชื้อแบคทีเรียจากจำนวนเชื้อเริ่มต้นให้เหลือ 1 log ภายในเวลา 2 ชั่วโมง นั่นคือที่ความเข้มข้นของยาเท่ากับ 2MIC, 4MIC, 8MIC และ 16MIC

ข้อเสนอแนะ

1. ในการศึกษาแบบจำลองทางเภสัชจลนศาสตร์/ เภสัชพลศาสตร์และค่าพารามิเตอร์ต่างๆที่ได้จากงานวิจัยนี้อาจมีความแตกต่างกับผลการศึกษาอื่นได้เนื่องจากอาจเป็นผลจากปัจจัยต่างๆเช่น คุณสมบัติของยาหรือลักษณะของยาที่ใช้ ลักษณะทางธรรมชาติของเชื้อในแต่ละชนิดแต่ละสายพันธุ์ ความสามารถในการปรับตัวในสิ่งแวดล้อม รวมไปถึงกลไกการดื้อยาของเชื้อด้วย เป็นต้น

2. ในการศึกษาครั้งต่อๆไป อาจมีการเพิ่มชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษาหรือสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษาเพื่อให้ผลการวิจัยสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในสภาวะจริงได้มากขึ้น

3. เพื่อให้ผลการศึกษาสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้มากขึ้น อาจมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยมีการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่เป็นตัวแทนจากในแต่ละกลุ่มประชากรเพื่อนำมาศึกษา เช่น กลุ่มที่มีกลไกการดื้อยาฟอสโฟมัยซินจากยีนบนโครโมโซม กลุ่มที่มีกลไกการดื้อยาจากยีนบนพลาสมิด กลุ่มที่มีกลไกการดื้อยาทั้ง 2 กลไก และกลุ่มที่ไม่มีการดื้อยาทั้ง 2 กลไก เป็นต้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รายการอ้างอิง

1. ศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ, (NARST) NARSoT, Training WCfARSa. สถานการณ์เชื้อดื้อยาในประเทศไทย[อินเตอร์เน็ต]. กรุงเทพฯ :ศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ. 2555 [เข้าถึงเมื่อ 15ตุลาคม2556]; เข้าถึงได้จาก: http://nih.dmsc.moph.go.th/fsheet/showimgpic.php?id=5.

2. Schentag JJ, Gilliland KK, Paladino JA. What have we learned from pharmacokinetic and pharmacodynamic theories? Clin Infect Dis. 2001;32 Suppl 1:S39-46.

3. Schuck EL, Derendorf H. Pharmacokinetic/pharmacodynamic evaluation of anti-infective agents. Expert review of anti-infective therapy. 2005;3(3):361-73.

4. Treyaprasert W, Schmidt S, Rand KH, Suvanakoot U, Derendorf H. Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling of in vitro activity of azithromycin against four different bacterial strains. Int J Antimicrob Agents. 2007;29(3):263-70.

5. Huang C-C, Chen Y-S, Toh H-S, Lee Y-L, Liu Y-M, Ho C-M, et al. Impact of revised CLSI breakpoints for susceptibility to third-generation cephalosporins and carbapenems among Enterobacteriaceae isolates in the Asia-Pacific region: results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART), 2002–2010. International journal of antimicrobial agents. 2012;40:S4-S10.

6. Jacoby GA, Munoz-Price LS. The New β-Lactamases. New England Journal of Medicine. 2005;352(4):380-91.

7. Michalopoulos AS, Livaditis IG, Gougoutas V. The revival of fosfomycin. International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases. 2011;15(11):e732-9.

8. Falagas ME, Kastoris AC, Karageorgopoulos DE, Rafailidis PI. Fosfomycin for the treatment of infections caused by multidrug-resistant non-fermenting Gram-negative bacilli: a systematic review of microbiological, animal and clinical studies. International journal of antimicrobial agents. 2009;34(2):111-20.

9. Muller M, dela Pena A, Derendorf H. Issues in Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Anti-Infective Agents: Distribution in Tissue. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2004;48(5):1441-53.

10. Muller M, dela Pena A, Derendorf H. Issues in pharmacokinetics and pharmacodynamics of anti-infective agents: distribution in tissue. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2004;48(5):1441-53.

11. Schmidt S, Schuck E, Kumar V, Burkhardt O, Derendorf H. Integration of pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling and simulation in the development of new anti-infective agents - minimum inhibitory concentration versus time-kill curves. Expert opinion on drug discovery. 2007;2(6):849-60.

12. Nolting A, Dalla Costa T, Rand KH, Derendorf H. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the antibiotic effect of piperacillin in vitro. Pharmaceutical research. 1996;13(1):91-6.

13. Liu Q, Rand K, Derendorf H. Impact of tazobactam pharmacokinetics on the antimicrobial effect of piperacillin-tazobactam combinations. Int J Antimicrob Agents. 2004;23(5):494-7.

14. Liu P, Rand KH, Obermann B, Derendorf H. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of antibacterial activity of cefpodoxime and cefixime in in vitro kinetic models. Int J Antimicrob Agents. 2005;25(2):120-9.

15. de la Pena A, Grabe A, Rand KH, Rehak E, Gross J, Thyroff-Friesinger U, et al. PK-PD modelling of the effect of cefaclor on four different bacterial strains. Int J Antimicrob Agents. 2004;23(3):218-25.

16. Mouton JW, Vinks AA. Pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling of antibacterials in vitro and in vivo using bacterial growth and kill kinetics: the minimum inhibitory concentration versus stationary concentration. Clinical pharmacokinetics. 2005;44(2):201-10.

17. Schuck EL, Dalhoff A, Stass H, Derendorf H. Pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) evaluation of a once-daily treatment using ciprofloxacin in an extended-release dosage form. Infection. 2005;33 Suppl 2:22-8.

18. Bergan T. Pharmacokinetic comparison between fosfomycin and other phosphonic acid derivatives. Chemotherapy. 1990;36 Suppl 1:10-8.

19. Cagan Aktas S, Gencer S, Batirel A, Haciseyitoglu D, Ozer S. [Fosfomycin susceptibility of urinary Escherichia coli isolates producing extended-spectrum beta-lactamase according to CLSI and EUCAST recommendations]. Mikrobiyoloji bulteni. 2014;48(4):545-55.

20. Kahan FM, Kahan JS, Cassidy PJ, Kropp H. The mechanism of action of fosfomycin (phosphonomycin). Ann N Y Acad Sci. 1974;235(0):364-86.

21. Mazzei T, Cassetta MI, Fallani S, Arrigucci S, Novelli A. Pharmacokinetic and pharmacodynamic aspects of antimicrobial agents for the treatment of uncomplicated urinary tract infections. International journal of antimicrobial agents. 2006;28 Suppl 1:S35-41.

22. Roussos N, Karageorgopoulos DE, Samonis G, Falagas ME. Clinical significance of the pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of fosfomycin for the treatment of patients with systemic infections. Int J Antimicrob Agents. 2009;34(6):506-15.

23. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100-S23. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.

24. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 4.0, 2014. Available from:http://www.eucast.org.

25. Anunnatsiri S, Towiwat P, Chaimanee P. Risk factors and clinical outcomes of extended spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Escherichia coli septicemia at Srinagarind University Hospital, Thailand. The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health. 2012;43(5):1169-77.

26. Hortiwakul T, Chayakul P, Ingviya N, Chayakul V. In vitro activity of colistin, fosfomycin, and piperacillin/tazobactam against Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa in Songklanagarind Hospital, Thailand. J Infect Dis Antimicrob Agents. 2009;26:91-6.

27. Corvec S, Furustrand Tafin U, Betrisey B, Borens O, Trampuz A. Activities of fosfomycin, tigecycline, colistin, and gentamicin against extended-spectrum-beta-lactamase-producing Escherichia coli in a foreign-body infection model. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2013;57(3):1421-7.

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก

แบบบันทึกข้อมูลทั่วไปของเชื้อแบคทีเรีย

วันที่ .....ยาที่ใช้ทดสอบ.....

ลำดับ	หมายเลขเชื้อ (Isolate No.)	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) วิธีทดสอบ *Agar dilution / Broth dilution*			หมายเหตุ
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ข

แบบบันทึกข้อมูลจำนวนเชื้อแบคทีเรีย ณ เวลาใดๆ (Time-kill curves)

วันที่ .....ครั้งที่.....

ชื่อเชื้อ ..... หมายเลขเชื้อ..... MIC.....

time	dilution	D1		D2		D3		D4		D5		D6		D7		Control		Total CFU/ 30 ml
		a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	
	0																	
	-1																	
	-2																	
	-3																	
	-4																	
	-5																	
	-6																	
	-7																	
	-8																	
	-9																	

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายประสิทธิชัย พูลผล เกิดเมื่อวันที่ 28 สิงหาคม พ.ศ. 2529 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี เภสัชศาสตรบัณฑิต จากคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี เมื่อปีการศึกษา 2553 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเภสัชกรรมคลินิก คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2555 ปัจจุบันปฏิบัติงานในตำแหน่งอาจารย์ สังกัดกลุ่มวิชาเภสัชกรรมปฏิบัติ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University