

บทนำ

Extended spectrum β -lactamase (ESB) ถูกพบครั้งแรกจากเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ในปี พ.ศ. 2526 (1) ต่อมาผู้ศึกษาพบว่า ESB เปลี่ยนแปลงมาจากเอนไซม์บีตาแลคตามเอสในตระกูล TEM และ SHV (2, 3) และมีการรายงานพบ ESB จากแบคทีเรียที่แยกได้จากผู้ป่วยตามโรงพยาบาลต่าง ๆ อย่างกว้างขวางเกือบทั่วโลก (4, 5, 6) ปัจจุบันพบว่า ESB มีมากกว่า 25 ชนิด แต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกัน ทั้งความสามารถในการย่อยยาต้านแบคทีเรีย, ความทนต่อสารยับยั้งเอนไซม์บีตาแลคตามเอส และค่า pI (7) การสร้างเอนไซม์ ESB นี้ ถูกควบคุมด้วยพลาสมิดขนาดใหญ่ ซึ่งสามารถถ่ายทอดได้ และพลาสมิดเหล่านี้มีขึ้นที่ควบคุมการดื้อยาชนิดอื่น ๆ ด้วย ทำให้แบคทีเรียที่มีพลาสมิดนี้ไม่เพียงแต่ดื้อต่อยาเซฟาโลสปอรินรุ่นที่ 3 เท่านั้น แต่ยังดื้อต่อยาต้านจุลชีพอื่น ๆ ด้วย โดยเฉพาะกลุ่มอะมิโนกลัยโคไซด์ (8, 9, 10) แบคทีเรียที่สร้าง ESB บางสายพันธุ์อาจไม่แสดงการดื้อยาให้เห็นชัด (11) เมื่อทดสอบความไวตามปกติในห้องปฏิบัติการ จะพบว่าเชื้อไวต่อเซฟาโลสปอรินรุ่นที่ 3

เกี่ยวกับลักษณะทางพันธุกรรมของการสร้าง ESB ผู้ศึกษาพบว่า ESB น่าจะมีการเปลี่ยนแปลงมาจาก TEM-2 มากกว่า TEM-1 เนื่องจาก ESB หลายชนิดมีการเรียงตัวของกรดอะมิโนคล้าย TEM-2 โดยมีจุดที่กรดอะมิโนแตกต่างไปเพียง 1-4 ตำแหน่งเท่านั้น การเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนแต่ละตำแหน่งมีความหมายต่อการดื้อยาด้านจุลชีพแต่ละชนิด เช่น TEM-3 มีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนตรงตำแหน่งที่ 102 ทำให้ดื้อต่อยา ceftazidime และการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนตรงตำแหน่งที่ 236 ทำให้ดื้อต่อ cefotaxime (12)

ปี พ.ศ. 2533 มีการศึกษาฤทธิ์ของ ESB ทางจุลชีววิทยาพบว่า ESB มีฤทธิ์อ่อนกว่าเอนไซม์บรรพบุรุษ (13) ซึ่งอาจเป็นเหตุผลหนึ่งที่พบการสร้าง ESB ในแบคทีเรียที่ไวต่อยาต้านจุลชีพเซฟาโลสปอรินรุ่นที่ 3

ปี พ.ศ. 2536 มีการจัดกลุ่ม ESB ได้ 4 กลุ่ม (14) คือ

1. Class A เป็น ESB ที่เป็น TEM และ SHV related ประกอบด้วย TEM-3 ถึง TEM-26 และ SHV-2 ถึง SHV-6 เอนไซม์กลุ่มนี้ถูกยับยั้งด้วยกรดคลาวูลานิกและซัลแบคแทม พบได้ในเชื้อกลุ่ม Enterobacteriaceae

2. Class B เป็น ESB ที่ต้องการ Zn เป็น cofactor ไม่ถูกยับยั้งด้วยกรดคลาวูลานิก และซัลแบคแทม สามารถสลายยาต้านแบคทีเรียได้ทุกตัว รวมทั้งคาบาเพแนม พบในเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*

3. Class C เป็น ESB ที่มีฤทธิ์เป็นเซฟาโลสปอรินส์ ไม่ถูกยับยั้งด้วยกรดคลาวูลานิกและซัลแบคแทม พบใน *Klebsiella pneumoniae* และ *Citrobacter freundii*

4. Class D เป็น ESB ที่สามารถย่อยออกซาซอลินได้ ไม่ถูกยับยั้งด้วยกรดคลาวานิกและซัลแบคแคม พบใน *Pseudomonas aeruginosa*

ในประเทศไทยมีการศึกษาและรายงานเกี่ยวกับความชุกและแบบแผนความไวของแบคทีเรียที่ผลิต ESB (15) พบว่ามีอุบัติการณ์ของการสร้าง ESB ใน *Klebsiella pneumoniae* ถึง 37% และใน *Escherichia coli* 12% โดยเชื้อที่สร้าง ESB จะคือต่อ ceftazidime, cefotaxime, aztreonam และ amikacin ไวปานกลางต่อ cefoxitin คือปานกลางต่อกรดคลาวานิกและซัลแบคแคม ไวต่อเซฟาโลสปอรินรุ่นที่ 4 และไวมากต่อคาบาเพแนม ส่วนรายละเอียดเกี่ยวกับการศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์นี้ในประเทศไทยยังไม่มีรายงาน โครงการนี้จึงมุ่งศึกษาเพื่อให้ได้ข้อมูลเบื้องต้น ซึ่งจะเป็พื้นฐานในการศึกษาวิจัยอื่น ๆ ต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษาอัตราการสร้าง ESB จากแบคทีเรียแกรมลบในวงศ์ Enterobacteriaceae และวงศ์ Pseudomonadaceae ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยโรงพยาบาลศรีนครินทร์
2. เพื่อศึกษาความไวของแบคทีเรียที่สร้าง ESB ต่อยาเซฟาโลสปอรินรุ่นที่ 3
3. เพื่อศึกษาความสามารถของ ESB ที่พบในการย่อยสลายซากกลุ่มบีตาแลคแตม

วัสดุและวิธีการ

ตอนที่ 1 การตรวจหา ESB (16)

วัสดุ

Mueller Hinton agar

Brain heart infusion broth

normal saline

disk ขาชนิดต่าง ๆ ดังนี้

amoxicillin + clavulanic acid

ceftizoxime

Ceftriaxone

Cefotaxime

ไม้พันสำลีปราศจากเชื้อ

หลอดขุ่นมาตรฐาน 0.5 McFarland

ปากกีสบ

วิธีการ

1. เพาะแบคทีเรียลงใน brain heart infusion broth นำไปอบที่ 37°C นาน 3-4 ชั่วโมง
2. นำมาปรับความขุ่นให้เท่ากับ 0.5 McFarland โดยเจือจางใน normal saline
3. ใช้ไม้พันสำลีจุ่มเชื้อที่ปรับความขุ่นแล้วพอหมาด ๆ นำมาป้ายให้ทั่วผิวหน้า Mueller Hinton agar
4. ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที เพื่อให้ผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง
5. ใช้ปากกีสบปราศจากเชื้อ สบ disk ยา amoxicillin + clavulenic acid วางลงตรงกลางจานเพาะเชื้อที่ป้ายเชื้อแล้ว แล้วสบ disk ขาชนิดอื่น ๆ วางรอบ disk แรก โดยให้จุดกึ่งกลางของ disk ขายู่ห่างกันประมาณ 3 เซนติเมตร อบที่ 37°C นาน 24 ชั่วโมง
6. อ่านผลโดยสังเกตการเสริมฤทธิ์ของ amoxicillin + clavulenic acid กับ disk ขาชนิดอื่น ๆ โดยรอบ หากมีการเสริมฤทธิ์กัน (ดังภาพที่ 1) แสดงว่าแบคทีเรานั้นสร้าง ESB

ตอนที่ 2 การทดสอบความไวโดยการหาค่า MIC (17)

วัสดุ

Mueller Hinton agar

Brain heart infusion broth

normal saline

น้ำกลั่น

ผงยามาตรฐานของ CP, CTX, CAZ, CRO และ CFP

เครื่องชั่งวิเคราะห์

เครื่อง multiple inoculator (Danley)

วิธีการ

1. ชั่งผงยามาตรฐาน โดยคำนวณให้มีความเข้มข้นตั้งต้น 1280 µg/ml นำมาละลายในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 10 ml.
2. เจือจางสารละลายของยาแต่ละชนิดในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อให้ได้ความเข้มข้นเป็น 640, 320, 100 µg/ml. โดยนำ two-fold dilution
3. นำสารละลายของยาแต่ละความเข้มข้นมา 1 ml. ผสมกับ Mueller Hinton agar 19. ซึ่งทำให้ปราศจากเชื้อแล้ว และตั้งไว้ให้มีอุณหภูมิประมาณ 45-50°C
4. ผสมยาและอาหารเลี้ยงเชื้อในข้อ 3 ให้เข้ากัน โดยเขย่าเบา ๆ แล้วเทลงในจานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ ตั้งทิ้งไว้ให้แข็ง และตากผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อให้แห้ง
5. เตรียมเชื้อที่จะทำการทดสอบ เช่นเดียวกับข้อ 1 และ ข้อ 2 ในตอนที่ 1
6. นำเชื้อมา inoculate บนอาหารเพาะเชื้อด้วย multipoint inoculator โดย inoculate เชื้อในจานเพาะเชื้อ control ที่ไม่มียา ก่อนและหลังการ inoculate เชื้อในจานเพาะเชื้อที่มียา
7. ทดสอบโดยมีเชื้อ control *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ควบคุมไปด้วยเสมอ
8. ตั้งจานเพาะเชื้อทิ้งไว้ให้หยดแบคทีเรียแห้ง แล้วนำไปอบที่ 37°C 24 ชั่วโมง
9. อ่านค่า MIC โดยดูค่าความเข้มข้นของยาที่น้อยที่สุดที่เชื้อไม่เจริญ

ตอนที่ 3 การศึกษาความสามารถของเอนไซม์ในการย่อยสลายยากดภูมิคุ้มกัน การเตรียมเอนไซม์ (18)

วัสดุ

Brain heart infusion broth

Phosphate buffer 0.01 M pH 7.0

ตู้อบเชื้อแบบปรับให้เยเย้าได้

เครื่องปั่นชนิดตั้งอุณหภูมิได้

วิธีการ

1. เพาะเชื้อในหลอด brain heart infusion broth นาน 3-4 ชั่วโมง
2. นำมาถ่ายลงใน flask ที่มี brain heart infusion broth ปริมาตร 50 ml.
3. นำไปใส่ในตู้อบแบบเยเย้า ที่ 37°C นาน 24 ชั่วโมง
4. นำ broth ที่ได้มาเทลงในหลอดสำหรับปั่น ปรับน้ำหนักให้ balance
5. นำไปปั่นที่ความเร็วรอบ 7000 rpm นาน 10 นาที โดยตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 4°C
6. นำตะกอนที่ได้มาล้างใน phosphate buffer แล้วปั่น 7000 rpm นาน 10 นาที

7. ละลายตะกอนเชื้อที่ได้ใน phosphate buffer ปริมาตรประมาณ 5 ml.
8. นำมาทำให้ cell แบคทีเรียแตก โดยวิธี freeze-thaw ประมาณ 2 รอบ
9. นำมาปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 rpm ที่ 4°C นาน 30 นาที
10. ดูดส่วนน้ำใสมาเก็บที่ 20°C เพื่อศึกษาในขั้นตอนต่อไป

การย่อยสลายยากกลุ่มบีตาแลกแทม (19)

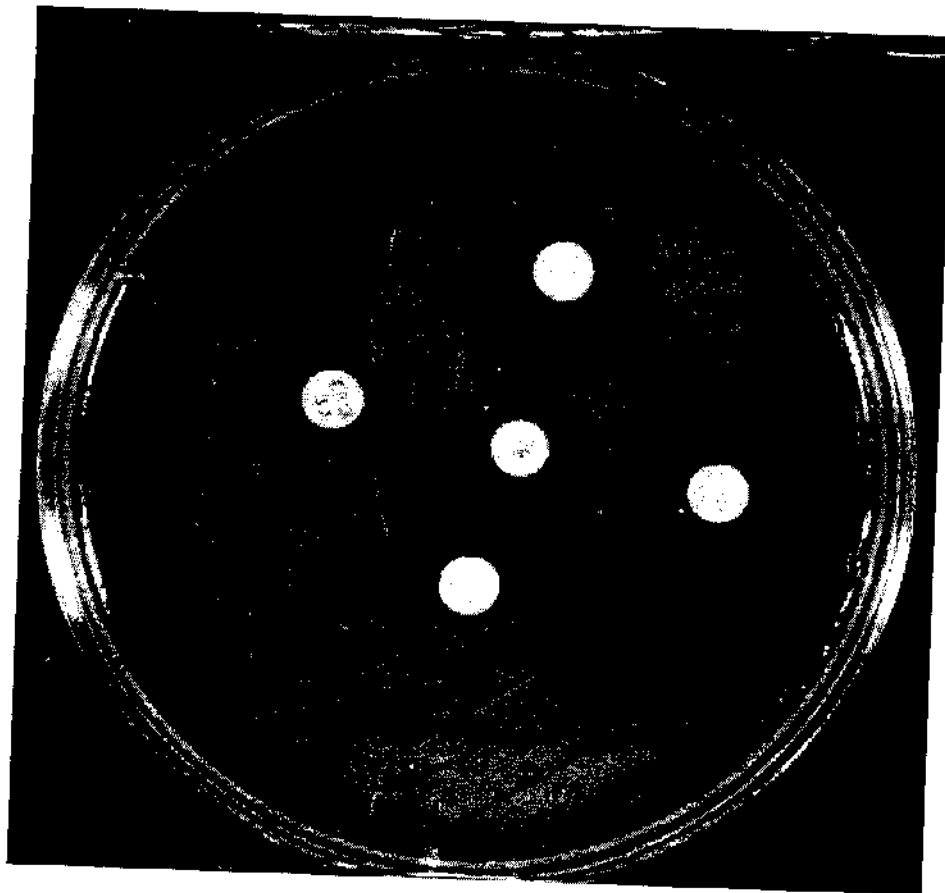
วัสดุ Phosphate buffer 0.01 M, pH 7.0

ยาด้านจุลชีพ : benzylpenicillin (PG), cephalothin (CP), cefotaxime (CTX), ceftazidime (CAZ), ceftriaxone (CRO), cefoperazone (CEP) เข้มข้น 100 µm

วิธีการ

1. pipette ยาด้านจุลชีพ 500 µl ลงใน quartz cuvette
2. ใส่ enzyme ปริมาณ 50 µl ผสมให้เข้ากัน แล้ววัดค่า absorbance ที่เปลี่ยนไปที่อุณหภูมิ 25°C ด้วยเครื่อง UV spectrophotometer (UV-160A, Shimadzu) โดยใช้ความยาวคลื่น ดังนี้

PG	วัดที่	235	nm.	CP	วัดที่	295	nm.
CTX	วัดที่	257	nm.	ACZ	วัดที่	257	nm.
CRO	วัดที่	257	nm.	CEP	วัดที่	265	nm.
3. คำนวณค่าอัตราเร็วในการย่อยยาด้านจุลชีพแต่ละชนิด แล้วเปรียบเทียบค่าอัตราเร็วสัมพัทธ์ โดยกำหนดให้อัตราเร็วในการย่อย PG มีค่าเท่ากับ 100



ภาพที่ 1. แสดงผลบวกของการทดสอบเอนไซม์บีตาแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย

ผลการศึกษา

จากการศึกษาอุบัติการณ์ของแบคทีเรียที่สร้าง ESB ในกลุ่ม Enterobacteriaceae จำนวน 200 สายพันธุ์ พบ 52 สายพันธุ์ โดยชนิดที่ทำการศึกษามากที่สุด 3 อันดับแรก คือ *Escherichia coli* ศึกษาทั้งหมด 73 สายพันธุ์ พบการสร้าง ESB 7 สายพันธุ์ ศึกษา *Klebsiella pneumoniae* จำนวน 55 สายพันธุ์ พบการสร้าง ESB 27 สายพันธุ์ และศึกษา *Enterobacter species* จำนวน 21 สายพันธุ์ พบการสร้าง ESB 9 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 9.5, 50 และ 42.8 ของเชื้อแต่ละชนิดตามลำดับ ส่วนกลุ่ม Pseudomonadaceae ได้ศึกษา 100 สายพันธุ์ พบการสร้าง ESB 28 สายพันธุ์ โดยได้ศึกษา *Pseudomonas aeruginosa* จำนวน 86 สายพันธุ์ พบการสร้าง ESB 20 สายพันธุ์ และศึกษา *Stenotrophomonas maltophilia* 8 สายพันธุ์ พบการสร้าง ESB 6 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 23 และ 75 ของเชื้อแต่ละชนิดตามลำดับ เมื่อคิดโดยไม่จำแนกตามชนิดของเชื้อจะพบอุบัติการณ์การสร้าง ESB ของกลุ่มเชื้อ Enterobacteriaceae และ Pseudomonadaceae ร้อยละ 26 และ 28 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1

เมื่อนำแบคทีเรียทั้ง 300 สายพันธุ์มาหาค่า MIC ต่อยา 5 ชนิด คือ CP, CTX, CAZ, CRO, และ CFP เมื่อแยกตามกลุ่มที่สร้างและไม่สร้าง ESB พบว่า กลุ่มที่สร้าง ESB ส่วนใหญ่มีค่า MIC อยู่ในช่วงคือถึงคือมาก คือ $MIC > 8 \mu\text{g/ml}$. ส่วนกลุ่มที่ตรวจไม่พบ ESB มีค่า MIC กระจ่ายระหว่าง $< 0.5-64 \mu\text{g/ml}$. โดยในกลุ่ม Enterobacteriaceae ส่วนใหญ่อยู่ในช่วงไวมาก และกลุ่ม Pseudomonadaceae พบจำนวนเท่า ๆ กัน ในกลุ่มไวและถึงคือมาก

เมื่อสังเกตค่า MIC_{50} และ MIC_{90} ในกลุ่มที่สร้าง ESB ทั้ง Enterobacteriaceae และ Pseudomonadaceae มีค่า MIC_{50} และ MIC_{90} สูงมาก คือ $16 - \geq 64 \mu\text{g/ml}$. โดยส่วนใหญ่มีค่า $\geq 64 \mu\text{g/ml}$. ส่วนในกลุ่มที่ตรวจไม่พบ ESB ค่า MIC_{50} ของ Enterobacteriaceae ส่วนใหญ่มีค่าค่อนข้างต่ำ คือ ≤ 0.5 ขณะที่ MIC_{90} อยู่ระหว่าง 8 กับ $\geq 64 \mu\text{g/ml}$ ในกลุ่ม Pseudomonadaceae ที่ตรวจไม่พบ ESB มีค่า MIC_{50} และ MIC_{90} สูงกว่ากลุ่ม Enterobacteriaceae คือ MIC_{50} อยู่ระหว่าง 4 ถึง $\geq 64 \mu\text{g/ml}$ ส่วน MIC_{90} อยู่ในช่วงคือมาก คือ $\geq 64 \mu\text{g/ml}$

ผลการศึกษา MIC แสดงในตารางที่ 2, 3 และ 4

การศึกษารวดเร็วสัมพันธ์ในการย่อยยาชนิดต่าง ๆ ของ ESB จากแบคทีเรียที่ทำการศึกษา จำนวน 5 สายพันธุ์ พบว่า ESB ของ Enterobacteriaceae มีอัตราเร็วในการย่อยยากลุ่มเซฟาโลสปอรินรุ่นที่ 3 ช้ากว่าการย่อยเพนิซิลลิน ส่วน ESB ของ Pseudomonadaceae มีอัตราเร็วในการย่อยเซฟาโลสปอรินรุ่นที่ 3 เร็วกว่าเพนิซิลลิน ดังผลในตารางที่ 5

ตารางที่ 1 แสดงชนิดจำนวนและร้อยละของแบคทีเรียที่สร้างและไม่สร้าง ESB

Genus and species	No. of strains (%)		
	ESBs producing	ESBs non-producing	Total
Family Enterobacteriaceae	52 (26)	148 (74)	200
<i>Escherichia coli</i>	7 (3.5)	66 (33)	73
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	27 (13.5)	28 (14)	55
<i>Enterobacter species</i>	9 (4.5)	12 (6)	21
<i>Klebsiella species</i>	5 (2.5)	11 (5.5)	16
<i>Proteus mirabilis</i>	0 (0)	12 (6)	12
<i>Morganella morganii</i>	0 (0)	7 (3.5)	7
<i>Serratia marcescens</i>	2 (1)	3 (1.5)	5
<i>Citrobacter species</i>	1 (0.5)	4 (2)	5
<i>Providencia species</i>	1 (0.5)	3 (1.5)	4
<i>Salmonella species</i>	0 (0)	2 (2)	2
Family Pseudomonadaceae	28 (28)	72 (72)	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20 (20)	66 (66)	86
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	6 (6)	2 (2)	8
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0 (0)	3 (3)	3
<i>Pseudomonas putida</i>	2 (2)	0 (0)	2
<i>Pseudomonas diminuta</i>	0 (0)	1 (1)	1

ตารางที่ 2 แสดงการกระจายของเชื้อที่ค่า MIC ต่าง ๆ

Family Antimicrobial agents	No. of strains with indicated MIC ($\mu\text{g/ml}$)							
	≤ 0.5	1	2	4	8	16	32	≥ 64
Enterobacteriaceae								
ESB producing								
CAZ			1		1	1	2	47
CRO				2	4	7	14	25
CFP						4	11	37
CTX				3	5	18	10	16
CP								52
ESB non producing								
CAZ	113	9	5	2	5	2	2	10
CRO	124	2	3	3	2	1	5	8
CFP	46	18	18	24	4	11	6	21
CTX	119	6	4	4	1	5	2	7
CP			4	30	14	25	24	51
Pseudomonadaceae								
ESB producing								
CAZ					1		1	26
CRO								28
CFP								28
CTX								28
CP								28
ESB non-producing								
CAZ	1		13	27	7	5	2	17
CRO	1			3	2	4	13	49
CFP			3	1	16	20	6	26
CTX	1		1		2	12	22	34
CP								72

ตารางที่ 3 แสดงค่าร้อยละสะสมของจำนวนสายพันธุ์ที่ค่า MIC ต่าง ๆ

Family Antimicrobial agents	cumulative percentages of strains with indicated MIC ($\mu\text{g/ml.}$)							
	≤ 0.5	1	2	4	8	16	32	≥ 64
Enterobacteriaceae								
ESB producing								
CAZ			1.9	1.9	3.8	5.7	9.6	100
CRO				1.9	11.5	25	51.9	100
CFP						7.6	28.8	100
CTX				5.7	15.3	50	69.2	100
CP								100
ESB non-producing								
CAZ	76.3	82.4	85.8	87.1	90.5	91.8	93.2	100
CRO	83.7	85.1	87.1	89.1	90.5	91.2	94.5	100
CFP	31.1	43.2	55.4	71.6	74.3	81.7	85.8	100
CTX	80.4	84.4	87.1	89.8	90.5	93.9	95.2	100
CP			2.7	22.9	32.4	49.3	65.5	100
Pseudomonadaceae								
ESB producing								
CAZ					3.5	3.5	7.1	100
CRO								100
CFP								100
CTX								100
CP								100
ESB non-producing								
CAZ	1.3	1.3	19.4	56.9	66.6	73.6	76.3	100
CRO	1.3	1.3	1.3	5.5	8.3	13.8	31.9	100
CFP			4.1	5.5	27.7	55.5	63.8	100
CTX	1.3	1.3	2.7	2.7	5.5	22.2	52.7	100
CP								100

ตารางที่ 4 แสดงค่า MIC₅₀ และ MIC₉₀ ของสายพันธุ์ที่สร้างและไม่สร้าง ESB

Family Antimicrobial agents	(µg/ml.)	
	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Enterobacteriaceae		
ESB producing		
CAZ	≥64	≥64
CRO	32	≥64
CFP	≥64	≥64
CTX	16	≥64
CP	≥64	≥64
ESB non-producing		
CAZ	≤0.5	8
CRO	≤0.5	8
CFP	2	≥64
CTX	≤0.5	8
CP	16	>64
Pseudomonadaceae		
ESB producing		
CAZ	≥64	≥64
CRO	≥64	≥64
CFP	≥64	≥64
CTX	≥64	≥64
CP	≥64	≥64
ESB non-producing		
CAZ	4	≥64
CRO	≥64	≥64
CFP	16	≥64
CTX	32	≥64
CP	≥64	≥64

ตารางที่ 5 แสดงค่าอัตราเร็วสัมพัทธ์ในการย่อยสลายขบวนการต่างๆ ของ crude ESB

ชนิดแบคทีเรีย	อัตราเร็วสัมพัทธ์ในการย่อยยา						ค่า MIC ($\mu\text{g/ml.}$)				
	100	108	6.9	27	7.3	29	>64	8	64	16	>64
<i>K. pneumoniae</i>	100	118	8.3	33	2.7	42	>64	16	64	8	16
<i>E. coli</i>	100	102	27	54	23	37	>64	32	>64	>64	>64
<i>S. maltophilia</i>	100	161	159	210	143	115	>64	>64	>64	>64	>64
<i>Ps. aeruginosa</i>	100	147	128	183	139	151	>64	>64	>64	>64	>64

วิจารณ์ผลการศึกษา

จากการศึกษานี้พบอุบัติการณ์การสร้าง ESB ในแบคทีเรียแกรมลบอยู่ระหว่างร้อยละ 26-28 ซึ่งค่อนข้างปกติสำหรับโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยที่มีการใช้ยาต้านจุลชีพปริมาณมาก แต่เมื่อสังเกตจำเพาะชนิดของแบคทีเรีย พบอุบัติการณ์การสร้าง ESB สูงมากใน *Klebsiella pneumoniae* และ *Stenotrophomonas maltophilia* คือ ร้อยละ 50 และ 75 ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรียทั้งสองชนิดมีธรรมชาติปกติที่ทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดี ประกอบกับสามารถรับและถ่ายทอดชิ้นส่วนการดื้อยาและแพร่กระจายมากขึ้น (11, 19, 20) รายงานที่มีการศึกษาก่อนหน้านี้ที่โรงพยาบาลศิริราช (15) พบอุบัติการณ์การสร้าง ESB ใน *Klebsiella pneumoniae* ค่อนข้างสูงเช่นเดียวกันคือ ร้อยละ 37 ส่วนการศึกษาในต่างประเทศมีอุบัติการณ์แตกต่างกัน เช่น ในประเทศสวีเดนพบร้อยละ 0-36 (21)

ผลการศึกษา MIC ของแบคทีเรียกลุ่มที่สร้าง ESB พบว่า ส่วนใหญ่มีค่า MIC สูงถึงสูงมากคือ $\geq 8 - \geq 64 \mu\text{g/ml}$ แสดงว่า ESB สามารถทำลายยากลุ่มเซฟาโลสปอรินส์ที่ทำการทดสอบ, ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาความสามารถในการย่อยยาดังกล่าว และสอดคล้องกับรายงานที่มีผู้ทำศึกษามาก่อนหน้านี้ (22, 23) ส่วนบางสายพันธุ์ที่สร้าง ESB แต่มีค่า MIC ต่ำ ๆ อยู่ในช่วงที่แปลผลว่าไวต่อยานั้น เนื่องจากการสร้าง ESB อาจมีปริมาณน้อย และเป็นชนิดที่มีฤทธิ์อ่อนจึงไม่สามารถทำลายยาได้มากพอจนทำให้เชื้อคือได้ (11, 15) สำหรับสายพันธุ์ที่ตรวจไม่พบการสร้าง ESB พบว่ามีค่า MIC กระจายในเกือบทุกความเข้มข้นของยาที่ใช้ทดสอบ โดยส่วนใหญ่ไวต่อยาที่ทดสอบ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการสร้างหรือไม่สร้าง ESB เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้แบคทีเรียคือหรือไวต่อยา อย่างไรก็ตาม มีบางสายพันธุ์ที่ตรวจไม่พบการสร้าง ESB แต่มีค่า MIC สูง ก็อยู่ในช่วงที่แปลผลว่าคือจนถึงคือมากนั้น อาจกล่าวได้เป็น 2 ประเด็น ประเด็นแรกคือ การตรวจหา ESB โดยวิธี double disk diffusion นี้ มีความไวในการทดสอบประมาณ ร้อยละ 82 (24) จึงอาจมีบางสายพันธุ์ที่สร้าง ESB แต่ตรวจไม่พบโดยวิธีทดสอบนี้ ประเด็นที่สองคือ กรณีที่แบคทีเรียไม่สร้าง ESB แต่คือต่อยา ซึ่งมีสาเหตุอื่น ๆ นอกเหนือจากการสร้าง ESB ที่ทำให้แบคทีเรียคือต่อยา ได้แก่ แบคทีเรียมี outer membrane porin เปลี่ยนแปลงไป มีผลทำให้ยาซึมผ่านเข้าสู่เซลล์ได้น้อย (25, 26) หรือแบคทีเรียอาจมีการเปลี่ยนแปลง penicillin binding protein ทำให้ไม่สามารถจับกับเป้าหมายได้ จึงไม่สามารถออกฤทธิ์ได้เต็มที่ (27)

ผลการศึกษาอัตราเร็วสัมพันธ์ในการย่อยยาในกลุ่มบีตาแลคแทม พบว่าในแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriaceae มีอัตราเร็วในการย่อยเซฟาโลสปอรินส์รุ่นที่ 3 ช้ากว่าอัตราการย่อยเพนิซิลลิน และมีค่า MIC ต่อ CAZ สูงกว่า CTX ซึ่งตรงกับลักษณะของ ESB ที่มีวิวัฒนาการมาจากตระกูล TEM (28) ส่วน ESB จาก Pseudomonadaceae มีอัตราเร็วในการย่อยเซฟาโลสปอรินส์รุ่นที่ 3 เร็วกว่าการย่อยเพนิซิลลิน ซึ่งอาจจัดอยู่ในกลุ่ม cephalosporinase (28) อย่างไรก็ตาม การบ่งว่าเป็นเอนไซม์ชนิดใดนั้น ต้องอาศัยคุณสมบัติอื่น ๆ ประกอบ เช่น น้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์, ค่า pI ของเอนไซม์, การถูกยับยั้งฤทธิ์ของเอนไซม์ด้วยสารเคมีชนิดต่าง ๆ และการศึกษาในระดับยีนส์ ซึ่งมีรายงานที่ศึกษาชนิดของบีตาแลคแทมส โดยการตรวจหายีนส์ของเอนไซม์ด้วยวิธี hybridization (21, 29, 30, 31)

นอกจากนี้ การศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์ควรใช้เอนไซม์ที่ผ่านการ purify เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เป็นของเอนไซม์นั้นจริง เนื่องจากแบคทีเรียบางสายพันธุ์สามารถสร้างบีตาแลคตาเมสมากกว่า 1 ชนิด (29) ทำให้คุณสมบัติที่ศึกษามีผลไม่ชัดเจนว่าเป็นเอนไซม์ชนิดใด ในการศึกษาครั้งนี้ได้ purify เอนไซม์ก่อนศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์ เนื่องจากต้องการทำการศึกษาเพื่อหาข้อมูลเบื้องต้น จึงเห็นว่าควรศึกษาต่อไปให้ละเอียดลึกซึ้ง เพื่อบอกชนิดของเอนไซม์ต่อไป ซึ่งจะเป็นประโยชน์เพิ่มขึ้นในด้านระบาดวิทยา