



ความไวของเชื้อ *Proteus mirabilis* ต่อยาฟอสโฟมัยซินในปัสสาวะสุนัข

Antibacterial Susceptibility of *Proteus mirabilis* to Fوسفomyin in Canine Urine

ณัฐา จริยภมรกร^{1*}, พงษ์ไทย บุญคำ², จิตรภา ยินดี³, ภัทรรัฐ จันท์ฉายทอง³, นิภัตรา สวนไพรินทร์⁴

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ปทุมธานี 12120

²หน่วยชันสูตรโรคสัตว์กลาง คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร 10330

³ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร 10330

⁴ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร 10330

Nattha Jariyapamornkoon^{1*}, Pongthai Boonkham², Jitrapa Yindee³,
Patrrarat Chanchaithong³, Nipattra Suanpairintr⁴

¹Department of Agricultural Technology, Faculty of Science and Technology,
Thammasat University, Pathum Thani 12120

²Veterinary Diagnostic Laboratory, Faculty of Veterinary Science,
Chulalongkorn University, Bangkok 10330

³Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Science,
Chulalongkorn University, Bangkok 10330

⁴Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Science,
Chulalongkorn University, Bangkok 10330

Received 31 December 2021; Received in revised 9 July 2022; Accepted 11 July 2022

บทคัดย่อ

เชื้อ *Proteus mirabilis* เป็นหนึ่งในแบคทีเรียก่อโรคที่เป็นสาเหตุหลักของการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะในสุนัข ยาฟอสโฟมัยซิน (fosfomyin) เป็นยาต้านเชื้อแบคทีเรียประเภท bactericidal ที่ออกฤทธิ์แบบวงกว้าง เหมาะเป็นทางเลือกเพื่อรักษาการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ เนื่องจากพบระดับยาในปัสสาวะสูงมาก และยามักได้ผลดีกับเชื้อที่ก่อโรคในระบบทางเดินปัสสาวะ การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความไวของเชื้อแบคทีเรีย *Proteus mirabilis* จากปัสสาวะของสุนัขที่มีภาวะทางเดินปัสสาวะอักเสบต่อยา fosfomyin ผลการศึกษาพบว่า เชื้อตัวอย่าง

ร้อยละ 80.9 มีความไวต่อยา fosfomycin โดยมีค่า minimum inhibitory concentration (MIC) ระหว่าง 0.125 ถึง >1024 µg/mL ค่า MIC₅₀ และ MIC₉₀ เท่ากับ 6 และ 128 µg/mL ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับความไวต่อยาต้านจุลชีพอื่น พบว่าเชื่อมีความไวต่อยา fosfomycin มากกว่ายา amoxicillin/clavulanic acid (ร้อยละ 78.7) และยา trimethoprim/ sulfamethoxazole (ร้อยละ 46.8) ผลดังกล่าวอาจเกิดจากยา fosfomycin ยังไม่มีการใช้อย่างทั่วไปในทางสัตวแพทย์ ทำให้มีการดื้อยาน้อยกว่ายาชนิดอื่นที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย จากการศึกษาครั้งนี้ ยา fosfomycin อาจเป็นยาทางเลือกเพื่อใช้ในการรักษาการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะในสุนัข โดยควรทำการเพาะเชื้อและตรวจความไวยาก่อนเลือกใช้ยาที่เหมาะสม

คำสำคัญ: ความไว; ระบบทางเดินปัสสาวะ; ฟอสโฟมัยซิน; สุนัข; โปรเตียส มิราบิลิส

Abstract

Proteus mirabilis is one of the most common bacterial pathogens in canine urinary tract infections (UTIs). Fosfomycin is a bactericidal drug with a broad spectrum. Fosfomycin is suitable as an alternative drug for UTI treatment due to its high concentration in urine, as well as its high efficacy against most uropathogens. The purpose of this study was to investigate the susceptibility of *Proteus mirabilis* from canine urine to fosfomycin. The results showed a fosfomycin susceptibility rate of 80.9 % and MIC range from 0.125 to >1024 µg/mL. MIC₅₀ and MIC₉₀ values were 6 and 128 µg/mL, respectively. To compare with percent susceptibility to other antibacterial drugs, fosfomycin susceptibility in this study was higher than those of amoxicillin/clavulanic acid (78.7%) and trimethoprim/ sulfamethoxazole (46.8%). These findings may be the consequence of the occasional use of fosfomycin in veterinary practice, leading to lower resistance rates than other commonly used antibacterial drugs. This study suggested that fosfomycin may be an alternative drug for UTI treatment in dogs. Bacterial culture and antibacterial susceptibility testing should be performed before selecting the appropriate antibacterial drug.

Keywords: Dogs; fosfomycin; *Proteus mirabilis*; Susceptibility; Urinary tract infection

1. บทนำ

การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะเป็นภาวะที่พบบ่อยในสุนัข มีรายงานว่า 14% ของสุนัขเคยติดเชื้อดังกล่าวอย่างน้อย 1 ครั้งในช่วงชีวิต [1] ในประเทศไทยมีรายงานความชุกของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่พบบ่อยในระบบทางเดินปัสสาวะสุนัข เช่น *Staphylococcus intermedius* (33.58%), *Proteus mirabilis* (27.01%), *Escherichia coli* (*E. coli*) (19.71%), *Streptococcus spp.* (10.95%) และ *Klebsiella pneumoniae* (5.11%) [2] ยาที่มักได้รับการแนะนำในการรักษาการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะในสุนัข ได้แก่ ยา amoxicillin ยา trimethoprim/sulfamethoxazole (อัตราส่วนยาที่ใช้ในทางการสัตวแพทย์ 1:5) และยา amoxicillin/clavulanic acid (อัตราส่วนยาที่ใช้ในทางการสัตวแพทย์ 4:1) [3,4] อย่างไรก็ตามมีบางรายงานพบว่า เชื้อก่อโรคที่ทางเดินปัสสาวะมีความไวต่อยาดังกล่าวน้อยกว่า 50% [5].

เชื้อ *Proteus mirabilis* เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างแท่ง พบในสิ่งแวดล้อมทั่วไป ลักษณะเด่นของเชื้อคือการเจริญแบบแผ่เป็นคลื่น (swarming motility) [6] สามารถก่อโรคในหลายระบบของร่างกาย รวมทั้งระบบทางเดินปัสสาวะ เช่น กระเพาะปัสสาวะอักเสบ กรวยไตอักเสบ การเกิดนิ่ว เนื่องจากเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ urease ซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยนยูเรียในปัสสาวะให้กลายเป็นแอมโมเนีย ส่งผลให้ปัสสาวะเป็นด่าง นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการยึดเกาะเซลล์เยื่อบุผิวของระบบทางเดินปัสสาวะ [6-8] มีรายงานการพบการดื้อยาของเชื้อ *Proteus mirabilis* จากสุนัขต่อยาต้านเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด เช่น ampicillin (ร้อยละ 14.6) enrofloxacin (ร้อยละ 12.6), trimethoprim/sulfamethoxazole (ร้อยละ 10.7) [9]

Fosfomycin เป็นยาต้านแบคทีเรียชนิด bactericidal ที่ออกฤทธิ์แบบวงกว้าง สามารถฆ่าเชื้อได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ กลไกการออกฤทธิ์ของยาเกิดจากการยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของ

เชื้อแบคทีเรีย โดยยามีผลยับยั้งเอนไซม์ UDP-N-acetylglucosamine-3-o-enolpyruvyl transferase ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญในขั้นตอนของการสร้างผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย [10,11] fosfomycin มีขนาดเล็ก น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 138.06 g/mol ละลายน้ำได้ดี สามารถกระจายไปสู่เนื้อเยื่อและของเหลวภายในร่างกายได้ดี โดยเฉพาะในปัสสาวะ ทำให้ระดับยาในปัสสาวะสูงกว่าระดับยาในเลือดมาก [12] จากคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์และเภสัชพลศาสตร์พบว่า fosfomycin ถูกกำจัดออกจากร่างกายทางปัสสาวะในรูปที่ออกฤทธิ์ (active form) มีผลข้างเคียงน้อย และมีความเป็นพิษต่ำ [13,14] ทำให้เหมาะสมในการรักษาการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ โดยยา fosfomycin tromethamine เป็นยาในรูปแบบกินที่ได้รับการแนะนำในการรักษาโรคกระเพาะปัสสาวะอักเสบแบบไม่ซับซ้อน (uncomplicated cystitis) ในคน [15,16] การดื้อยาของแบคทีเรียต่อยา fosfomycin มักเกิดต่อยา fosfomycin เพียงชนิดเดียว (single resistance) มากกว่าการดื้อยาแบบข้ามกลุ่ม (cross-resistance) จึงมีความเสี่ยงต่ำต่อการทำให้เกิดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาหลายขนาน (multidrug resistance หรือ MDR) [14]

การใช้ยา fosfomycin ในสุนัขยังมีรายงานการใช้น้อยมาก เนื่องจากข้อมูลของยาในสัตว์ในทางคลินิกมีจำกัดและมีการศึกษาประสิทธิภาพของยาต่อเชื้อแบคทีเรียไม่หลากหลายเท่าในคน มีรายงานว่า fosfomycin สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ในปัสสาวะจากสุนัขได้ดี โดยพบว่า 99% ของเชื้อตัวอย่าง *E. coli* มีความไวต่อยา fosfomycin [17] และจากการศึกษาในเชื้อแบคทีเรีย methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* ในสุนัขพบว่า 77% ของเชื้อตัวอย่างมีความไวต่อยา fosfomycin [18] จากข้อมูลดังกล่าวบ่งชี้ว่า fosfomycin สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคหลักของการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะในสุนัขได้ดี อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานประสิทธิภาพของยาต่อเชื้อ *Proteus mirabilis* ซึ่งเป็นอีกหนึ่งเชื้อก่อโรคหลักของระบบทางเดินปัสสาวะ

ในสุนัข การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาความไวของเชื้อ *Proteus mirabilis* ต่อยา fosfomycin โดยตรวจจากตัวอย่างปัสสาวะสุนัขที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรกระบบทางเดินปัสสาวะอักเสบ

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 ตัวอย่างเชื้อ *Proteus mirabilis*

นำเชื้อ *Proteus mirabilis* จำนวน 47 ตัวอย่างมาทดสอบความไวของยาด้านเชื้อแบคทีเรีย โดยตัวอย่างเชื้อเก็บจากปัสสาวะสุนัขที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคทางเดินปัสสาวะอักเสบ ซึ่งมารักษาที่โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตัวอย่างปัสสาวะถูกเก็บด้วยวิธีสวนปัสสาวะ (urinary catheterization) หรือ การเจาะเก็บปัสสาวะผ่านทางหน้าท้อง (cystocentesis) ด้วยเทคนิคปราศจากเชื้อ ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียได้รับการตรวจจำแนกเชื้อ (bacterial identification) และทดสอบความไวของเชื้อต่อยาด้านแบคทีเรีย (antibacterial susceptibility testing) โดยหน่วยชันสูตรโรคสัตว์กลาง คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ด้วยเครื่องจำแนกเชื้อและทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะแบบอัตโนมัติระบบ VITEK[®] 2 (BioMérieux, USA) โดยใช้แผ่นทดสอบความไวสำหรับเชื้อแกรมลบทางสัตวแพทย์ (GN 65 (412608)) ประกอบด้วยยาด้านจุลชีพดังนี้ ampicillin (2-32 µg/mL), amoxicillin/clavulanic acid (2/1 - 32/16 µg/mL), piperacillin (4 - 128 µg/mL), cephalixin (4 - 64 µg/mL), cefovecin (0.5 - 8 µg/mL), ceftiofur (1 - 8 µg/mL), amikacin (2 - 64 µg/mL), gentamicin (1-16 µg/mL), enrofloxacin (0.12-4 µg/mL), marbofloxacin (0.5-4 µg/mL), tetracycline (1-16 µg/mL), nitrofurantoin (16-512 µg/mL), chloramphenicol (2-64 µg/mL) และ trimethoprim/sulfamethoxazole (20 (1/19) - 320 (16/304) µg/mL) ทำการอ่านค่าและแปลผลความไวของเชื้อต่อยาต่าง ๆ โดยเทียบกับค่า minimum inhibitory concentration (MIC) breakpoints ของ

สุนัข อ้างอิงจาก Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [19] เชื้อ *Proteus mirabilis* ทั้งหมดถูกจัดเก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ระหว่างรอทดสอบความไวในขั้นตอนต่อไป

2.2 การทดสอบความไวต่อยา fosfomycin

ทดสอบหาค่า MIC ของยา fosfomycin ต่อเชื้อ *Proteus mirabilis* ด้วยวิธี gradient agar diffusion โดยใช้แผ่นยา fosfomycin (Liofilchem, Italy) ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ระหว่าง 0.064-1024 µg/mL และมีการเติมน้ำตาล glucose-6-phosphate (G6P) ตามมาตรฐานของ CLSI [20]

ทำการเพาะเชื้อแบคทีเรียลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy agar (TSA) และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง จากนั้นนำโคโลนีของเชื้อมาทำละลายในสารละลาย sodium chloride ที่มีความเข้มข้น 0.85% แล้วทำการปรับความขุ่นให้เท่ากับ 0.5 McFarland standard ด้วยเครื่อง densitometer จากนั้นนำเชื้อตัวอย่างที่เตรียมไว้มาเกลี่ยลงอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton agar (MHA) วางแผ่นตรวจยา fosfomycin และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 16-20 ชั่วโมง [21] โดยทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

อ่านค่า MIC และแปลผลโดยเทียบกับตารางมาตรฐาน European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) [22] การทดสอบนี้ใช้เชื้อ *E. coli* ATCC 25922 ในการควบคุมคุณภาพการทดลองตามมาตรฐานของ CLSI [20]

2.3 การวิเคราะห์และการคำนวณ

วิเคราะห์และแปลผลด้วยค่ามาตรฐาน MIC breakpoints ได้แก่ susceptible (S) breakpoint ที่ความเข้มข้น ≤ 32 µg/mL และ resistance (R) breakpoint ที่ความเข้มข้น > 32 µg/mL [22] และคำนวณค่าร้อยละของความไวของเชื้อต่อยา และคำนวณหาค่า MIC₅₀ และ MIC₉₀ หรือค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อร้อยละ 50 และ 90 ตามลำดับ จากค่าเปอร์เซ็นต์ไทล์ของค่า MIC จากเชื้อตัวอย่างทั้งหมด

3. ผลและวิจารณ์ผล

3.1 ตัวอย่างเชื้อ *Proteus mirabilis*

จากค่าความไวของเชื้อ *Proteus mirabilis* ต่อยาต้านแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ พบว่า เชื้อมีความไวต่อยา amikacin มากที่สุด รองลงมาคือยา ceftiofur และยา ceftiofur (Table 1) ส่วนยาที่เชื้อมีความไวต่ำที่สุดคือ ยา nitrofurantoin และ ยา tetracycline ส่วนยา amoxicillin ยา trimethoprim/sulfamethoxazole และยา amoxicillin/clavulanic acid ซึ่งเป็นยาที่ได้รับคำแนะนำในรักษาระบบทางเดินปัสสาวะติดเชื้อในสุนัข [3,4] พบว่า เชื้อมีความไวคิดเป็นร้อยละ 31.9, 46.8 และ 78.7 ตามลำดับ และพบว่าเชื้อตัวอย่างร้อยละ 80.9 (n= 38/47) เป็นเชื้อแบคทีเรียคือยาหลายขนานหรือ multidrug resistance (MDR) ซึ่งหมายถึงเชื้อที่ดื้อต่อยาต้านแบคทีเรียอย่างน้อย 1 ชนิดในกลุ่มยาที่แตกต่างกันอย่างน้อย 3 กลุ่มที่ไม่มีมีความเกี่ยวข้องกัน [23]

ค่าความไวอย่างซ้ำว่า เชื้อ *Proteus mirabilis* มีความไวสูงต่อยา amikacin ซึ่งเป็นยาทางเลือกในการรักษา มีการใช้ในทางคลินิกน้อย [3] เนื่องจากยา amikacin เป็นยาในกลุ่ม aminoglycosides ที่มีผลข้างเคียงที่ต้องระมัดระวังในการใช้ รวมทั้งความเป็นพิษต่อไต อีกทั้งการใช้ยาในสุนัขมีเฉพาะรูปแบบยาฉีด [24] ทำให้ไม่สะดวกในการบริหารยา จากเหตุผลดังกล่าวทำให้ยา amikacin มีการดื้อยาน้อยและยังคงใช้ได้ผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ในขณะที่ยา nitrofurantoin ซึ่งเป็นยาที่มีการใช้น้อยมากเช่นเดียวกับยา amikacin เนื่องจากเป็นยาที่มีข้อมูลน้อยในสุนัขและมีผลข้างเคียงสูง [24] โดยเชื้อตัวอย่างในการศึกษานี้ไม่มีความไวต่อยา nitrofurantoin ซึ่งใกล้เคียงกับการรายงานก่อนหน้านี้พบว่า เชื้อ *Proteus mirabilis* ดื้อต่อยา nitrofurantoin สูงถึง 92.5-100.0% [25,26] ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อ *Proteus mirabilis* ส่วนใหญ่มีการดื้อยาตามธรรมชาติ (intrinsic resistance) ต่อยา nitrofurantoin จึงทำให้ยา nitrofurantoin ไม่มีความไวต่อเชื้อดังกล่าว [27,28]

Table 1 Antibacterial susceptibility rates (%) of *Proteus mirabilis* isolates from canine urine.

Antibacterial drugs	Susceptible rates (%)
Amikacin	100.0
Ceftiofur	83.0
Ceftiofur	83.0
Amoxicillin/clavulanic acid	78.7
Cephalexin	76.6
Gentamicin	63.8
Piperacillin	48.9
Trimethoprim/sulfamethoxazole	46.8
Marbofloxacin	40.4
Enrofloxacin	36.2
Ampicillin	31.9
Chloramphenicol	27.7
Tetracycline	2.1
Nitrofurantoin	0.0

จากการทดลองนี้พบว่าเชื้อตัวอย่างมีความไวต่อ ยา trimethoprim/sulfamethoxazole ค่อนข้างต่ำ (ร้อยละ 46.8) อาจเกิดจากยา trimethoprim/sulfamethoxazole มีการใช้อย่างแพร่หลายทั้งในสัตว์และในคนมาเป็นเวลานาน ทำให้เชื้อแบคทีเรียมีการปรับตัวและเกิดการดื้อยา เช่นเดียวกับความไวต่อยา enrofloxacin ที่มีเพียงร้อยละ 36.2 ซึ่งอาจเกิดจากการใช้ยาอย่างแพร่หลายในสัตว์เช่นกัน มีการรายงานว่ายาน enrofloxacin เป็นยาที่มีการใช้มากที่สุดในโรงพยาบาลสัตว์ที่มีการเรียนการสอนสัตวแพทย์ ในประเทศไทย คิดเป็นร้อยละ 33.9 จากยาทั้งหมด [29] เมื่อเปรียบเทียบกับผลการการศึกษาอื่นเกี่ยวกับค่าความไวต่อยา amoxicillin/clavulanic acid และยา trimethoprim/sulfamethoxazole พบว่ามีความแตกต่างจากการศึกษาก่อนหน้า โดยจากการศึกษาของ Rampacci และคณะ (2018) พบว่า เชื้อตัวอย่าง *Proteus mirabilis* จากปัสสาวะสุนัข มีความไวต่อยา amoxicillin/clavulanic acid และยา trimethoprim/sulfamethoxazole เท่ากับร้อยละ 23.5 และ 38.8 ตามลำดับ [5] ในขณะที่ Scarborough และคณะ (2020) รายงานความไวต่อยา amoxicillin/clavulanic acid เท่ากับร้อยละ 99.0 และยา trimethoprim/sulfamethoxazole เท่ากับร้อยละ 94.0 [30]

ความแตกต่างของค่าความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาด้านเชื้อ อาจเกิดจากความหลากหลายของปัจจัย เช่น พื้นที่ที่ทำการศึกษา ช่วงเวลาเก็บตัวอย่าง กลุ่มสุนัขที่ถูกเก็บตัวอย่าง ความเข้มงวดในการใช้ยาด้านแบคทีเรียล้วนมีผลต่อความแตกต่างของเชื้อก่อโรค ความไวต่อยา รวมทั้งการดื้อยาของเชื้อต่าง ๆ [31] นอกจากนี้ตัวอย่างปัสสาวะได้มาจากสุนัขที่มารักษาที่โรงพยาบาลสัตว์ของมหาวิทยาลัย ซึ่งเป็นโรงเรียนสัตวแพทย์และเป็นศูนย์กลางรับเคสที่ส่งต่อมาจากสถานพยาบาลอื่น ทำให้มีความเป็นไปได้ว่าสุนัขเคยได้รับการรักษาด้วยยาด้านแบคทีเรียอื่นมาแล้ว ส่งผลให้เชื้อที่ตรวจพบมีความซับซ้อนและมีการดื้อยาสูง [5] ดังนั้นการใช้ยาที่ยังมีการใช้น้อย เช่น ยา fosfomycin อาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการเลือกใช้ยารักษาการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะในสุนัข โดยเฉพาะในกรณีเชื้อแบคทีเรียดื้อยาแบบหลายขนาน (MDR bacteria)

3.2 การทดสอบความไวต่อยา fosfomycin

ผลการศึกษานี้พบว่า ค่าความไวของเชื้อ *Proteus mirabilis* ต่อยา fosfomycin เท่ากับร้อยละ 80.9 (n = 38/47) โดยมีค่า MIC ระหว่าง 0.125 ถึง >1024 µg/mL (Figure 1) ค่า MIC₅₀ เท่ากับ 6 µg/mL และ MIC₉₀ เท่ากับ 128 µg/mL ตามลำดับ

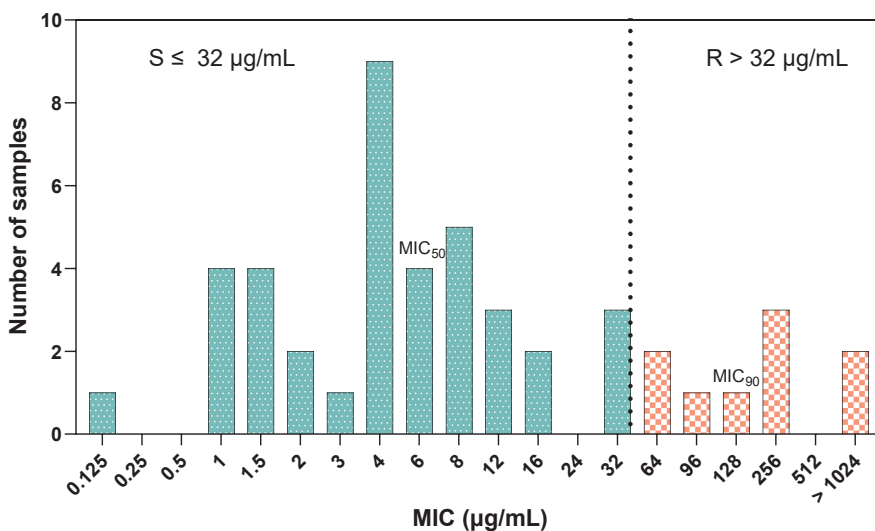


Figure 1 Distribution of fosfomycin MIC values form canine urine. S, susceptibility; R, resistance.

เชื้อที่ดื้อยาแบบหลายขนาน (MDR bacteria) มีจำนวน 38 ตัวอย่างจากเชื้อที่ทำการทดสอบ 47 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 80.9 ของเชื้อทั้งหมด มีค่าความไวต่อยา fosfomycin เท่ากับร้อยละ 76.3 ค่า MIC₅₀ เท่ากับ 6 µg/mL และ MIC₉₀ เท่ากับ 256 µg/mL

เมื่อเปรียบเทียบค่าความไวของฟอสโฟไมซิน ต่อยาด้านเชื้อแบคทีเรียอื่นพบว่า เชื้อตัวอย่าง *Proteus mirabilis* มีความไวต่อยา fosfomycin มากกว่ายาที่นิยมใช้รักษาการติดเชื้อเช่น ยา amoxicillin/clavulanic acid ยา trimethoprim/ sulfamethoxazole ยา enrofloxacin และ ยา marbofloxacin ผลดังกล่าวอาจเกิดจากการที่ยา fosfomycin เป็นยาที่ไม่มีการใช้อย่างทั่วไปในทางสัตวแพทย์ ทำให้มีเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อต่อยา fosfomycin น้อยกว่ายาอื่นที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย นอกจากนี้มีรายงานว่าเชื้อที่ดื้อต่อยา fosfomycin มักอ่อนแอและเจริญเติบโตช้ากว่าเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม (wild type strains) เนื่องจากกลไกดื้อยาหลักคือ การกลายพันธุ์ของยีนที่ควบคุมการสร้าง glycerol-3-phosphate (GlpT) และ hexose phosphate transporter (UhpT) ซึ่งมีผลต่อการผ่านเข้าเซลล์ของกลูโคส ส่งผลให้เซลล์แบคทีเรียขาดแหล่งพลังงานและเจริญเติบโตช้า [10,14]

เมื่อเปรียบเทียบค่าความไวของเชื้อแบคทีเรียต่างๆ จากสุนัขต่อยา fosfomycin พบว่าเชื้อตัวอย่าง *Proteus mirabilis* มีค่าความไวต่อยา fosfomycin (ร้อยละ 80.9) ต่ำกว่าเชื้อ *E. coli* (ร้อยละ 99.0) โดยมีการรายงานว่าเชื้อ *E. coli* มีค่า MIC ของยา fosfomycin ระหว่าง 0.25 ถึง 196 µg/mL ค่า MIC₅₀ เท่ากับ 1 µg/mL และ MIC₉₀ เท่ากับ 2 µg/mL ตามลำดับ [13] ในขณะที่เชื้อ *S. pseudintermedius* มีความไวต่อยา fosfomycin เท่ากับร้อยละ 77 ค่า MIC ระหว่าง 0.125 ถึง 96 µg/mL ค่า MIC₅₀ เท่ากับ 0.125 µg/mL และ MIC₉₀ เท่ากับ 64 µg/mL ตามลำดับ [18] แต่อย่างไรก็ตามการเปรียบเทียบการทดลองนี้กับการศึกษาก่อนหน้ามีข้อจำกัดในเรื่องการแปลผลในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากการทดลองนี้ได้ใช้ค่ามาตรฐาน MIC breakpoints ของ EUCAST

[22] ซึ่งมีค่า susceptible (S) breakpoints ≤ 32 µg/mL ในขณะที่การศึกษาก่อนหน้า [17,18] ใช้ค่ามาตรฐาน MIC breakpoints ของ CLSI ซึ่งมีค่า susceptible (S) breakpoints ≤ 64 µg/mL [32] ทำให้การอ่านผล MIC ของการศึกษานี้มีแนวโน้มเป็นค่า susceptible น้อยกว่า ทั้งนี้การปรับค่า MIC breakpoints เป็นการทำให้ค่าความไวสอดคล้องกับการตอบสนองทางคลินิกและสถานการณ์ปัจจุบันของเชื้อดื้อยา [22] แม้ว่าการเปรียบเทียบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่างชนิดอาจให้ข้อมูลไม่สมบูรณ์เท่ากับการเปรียบเทียบระหว่างเชื้อแบคทีเรียชนิดเดียวกัน เนื่องจากมีปัจจัยหลายข้อที่แตกต่าง แต่เนื่องด้วยข้อมูลความไวของยา fosfomycin ในสุนัขยังคงมีจำกัดมากและยังไม่มีข้อมูลเชื้อ *Proteus mirabilis* ดังนั้นข้อมูลการศึกษาก่อนหน้าในแต่ละเชื้อจึงถูกนำมาแสดง เพื่อให้เห็นภาพโดยรวม

ปัญหาสำคัญในการรักษาโรคติดเชื้อในปัจจุบันคือเชื้อแบคทีเรียดื้อยา ซึ่งส่งผลให้เกิดข้อจำกัดในการเลือกใช้ยา ทำให้การรักษาซับซ้อนมากขึ้น เพิ่มภาระค่าใช้จ่ายตลอดจนความเสี่ยงต่อการแพร่กระจายของยีนดื้อยาสู่คน สัตว์ และสิ่งแวดล้อม [33] ในขณะที่การคิดค้นยาด้านเชื้อแบคทีเรียชนิดใหม่เกิดขึ้นได้ช้า แต่ปฏิบัติการเกิดการเกิดเชื้อดื้อยาเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว วิธีหนึ่งในการจัดการปัญหาดังกล่าวคือการใช้อย่างยาด้านเชื้อแบคทีเรียชนิดเก่าที่เว้นระยะการใช้ไปนานเพียงพอที่เชื้อจะกลับมาไวต่อยานั้น หรือการใช้ยาที่ไม่เป็นที่นิยมใช้กันทั่วไปเพื่อหลีกเลี่ยงการเจอปัญหาเชื้อดื้อยา [34,35] อย่างไรก็ตาม การใช้ยาดังกล่าวอาจต้องคำนึงถึงผลข้างเคียงและข้อจำกัดของยา เช่น ความสะดวกในการบริหารยา การเข้าถึงยา และค่าใช้จ่าย เป็นต้น กรณียา fosfomycin ที่ใช้รักษาการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะในสุนัขเป็นยา fosfomycin tromethamine รูปแบบกิน โดยมีลักษณะเป็นผงละลายน้ำ กินวันละ 2 ครั้ง ทำให้สะดวกในการให้ยาและหลีกเลี่ยงความเครียดจากการฉีดยาของสัตว์ได้นอกจากนี้ยา fosfomycin มีผลข้างเคียงในสุนัขค่อนข้างน้อย อาการที่อาจพบเช่น เบื่ออาหารและท้องเสีย

[25] แต่อย่างไรก็ตามปัจจุบันยายังมีราคาค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับยาด้านเชื้อแบคทีเรียทั่วไปที่ใช้ในสุนัข เช่น ยา amoxicillin/clavulanic acid หรือยา trimethoprim/sulfamethoxazole และมีการใช้ในสถานพยาบาลสัตว์น้อยมาก เนื่องจากเป็นยาทางเลือกที่สงวนไว้ใช้เฉพาะกรณีที่ยาอื่นใช้ไม่ได้ผล จึงทำให้ยา fosfomycin ไม่มีการใช้ในสุนัขโดยทั่วไป

แม้ว่าค่าความไวของเชื้อ *Proteus mirabilis* ต่อยา fosfomycin ค่อนข้างสูง (ร้อยละ 80.9) แต่ในขณะที่เดียวกันการที่เชื้อเกือบร้อยละ 20 ตื้อต่อยา fosfomycin บ่งชี้ว่า ควรทำการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาก่อนเลือกใช้ยาดังกล่าว เพื่อยืนยันว่ายามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรค และหลีกเลี่ยงความเสี่ยงในการก่อเชื้อดื้อยาต่อไป ยา fosfomycin เหมาะสมที่จะเป็นยาทางเลือกเมื่อยาอื่นไม่ได้ผล มากกว่าการใช้เป็นยาหลักหรือยาที่ใช้รักษาระหว่างรอผลตรวจความไวของเชื้อก่อโรคต่อยาจากห้องปฏิบัติการ โดยอาจพิจารณาเลือกใช้ยา fosfomycin เมื่อเชื้อก่อโรคไม่มีความไวต่อยาด้านเชื้อแบคทีเรียอื่น แต่ยังคงมีความไวต่อยา fosfomycin หรืออาจพิจารณาใช้พอสโพนัยซินร่วมกับยาอื่นเพื่อเสริมฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคและชะลอการเกิดเชื้อดื้อยา [36]

4. สรุป

เชื้อ *Proteus mirabilis* จากทางเดินปัสสาวะสุนัขที่มีภาวะทางเดินปัสสาวะอักเสบ มีความไวต่อยา fosfomycin เท่ากับร้อยละ 80.9 โดยมีค่า MIC₅₀ เท่ากับ 6 µg/mL และ MIC₉₀ เท่ากับ 128 µg/mL ยา fosfomycin อาจเป็นยาทางเลือกในการรักษาทางเดินปัสสาวะติดเชื้อในสุนัข โดยควรทำการตรวจความไวของเชื้อแบคทีเรียก่อนใช้ยา

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และหน่วยชันสูตรโรคสัตว์กลาง คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6. References

- [1] Ling, G.V., 1984, Therapeutic strategies involving antimicrobial treatment of the canine urinary tract, J. Am. Vet. Med. Assoc. 185: 1162-1164.
- [2] Adsanychan, N., Hoisang, S., Seesupa, S., Kampa, N., Kunkitti, P. and Jitpean, S., 2019, Bacterial isolates and antimicrobial susceptibility in dogs with urinary tract infection in Thailand: a retrospective study between 2013-2017, Vet. Int. Sci. 17: 21-31.
- [3] Weese, J.S., Blondeau, J., Boothe, D., Guardabassi, L.G., Gumley, N., Papich, M., Jessen, L.R., Lappin, M., Rankin, S., Westropp, J.L., 2019, International Society for Companion Animal Infectious Diseases (ISCAID) guidelines for the diagnosis and management of bacterial urinary tract infections in dogs and cats, Vet. J. 247: 8-25.
- [4] Norris, C.R., Williams, B.J., Ling, G.V., Franti, C.E., Johnson, D.L. and Ruby, A.L., 2000, Recurrent and persistent urinary tract infections in dogs: 383 cases (1969-1995), J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 36: 484-492.
- [5] Rampacci, E., Bottinelli, M., Stefanetti, V., Hyatt, D.R., Sgariglia, E., Coletti, M. and Passamonti, F., 2018, Antimicrobial

- susceptibility survey on bacterial agents of canine and feline urinary tract infections: Weight of the empirical treatment, *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 13: 192-196.
- [6] Ambruster, C.E., Mobley, H.L.T., Pearson, M.M. and Donnenberg, M.S., 2018, Pathogenesis of *Proteus mirabilis* Infection. *Eco. Sal. Plus.* 8. doi:10.1128/ecosalplus.ESP-0009-2017
- [7] Jamil, R.T., Foris, L.A. and Snowden, J. *Proteus mirabilis* infections, Available Source: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK442017>, December 1, 2021.
- [8] Schaffer, J.N. and Pearson, M.M., 2017, *Proteus mirabilis* and urinary tract infections: Molecular Pathogenesis and Clinical Management, *Microbiol. Spectr.* 3(2): 383-433.
- [9] Harada, K., Niina, A., Shimizu, T., Mukai, Y., Kuwajima, K., Miyamoto, T. and Kataoka, Y., 2014, Phenotypic and molecular characterization of antimicrobial resistance in *Proteus mirabilis* isolates from dogs, *J. Med. Microbiol.* 63: 1561-1567.
- [10] Castaneda-Garcia, A., Blazquez, J. and Rodriguez-Rojas, A., 2013, Molecular Mechanisms and Clinical Impact of Acquired and Intrinsic Fosfomycin Resistance, *Antibiotics.* 2: 217-236.
- [11] Kahan, F.M., Kahan, J.S., Cassidy, P.J. and Kropp, H., 1974, The mechanism of action of fosfomycin (phosphonomycin), *Ann. NY. Acad. Sci.* 235: 364-386.
- [12] Cadorniga, R., Diaz Fierros, M. and Olay, T., 1977, Pharmacokinetic study of fosfomycin and its bioavailability, *Chemotherapy.* 23: 159-174.
- [13] Boothe, D. and Hubka, P., 2011, Pharmacokinetics and time dependent killing of fosfomycin in multi drug resistant-*Escherichia coli* urinary tract infections in dogs, *J. Vet. Intern. Med.* 25: 742-751.
- [14] Boothe, D. M., 2012, *Small animal clinical pharmacology & therapeutics*, 2nd Ed., Elsevier Saunders, St. Louis, 1334 p.
- [15] U.S. Food and Drug Administration. MONUROL (fosfomycin tromethamine) sachet. Available Source: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2008/050717s005lbl.pdf, July 19, 2022.
- [16] European Medicines Agency (EMA). fosfomycin-article-31-referral-annex-iii_en. Available Source: https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/fosfomycin-article-31-referral-annex-iii_en.pdf, July 19, 2022.
- [17] Hubka, P. and Boothe, D.M., 2011, In vitro susceptibility of canine and feline *Escherichia coli* to fosfomycin, *Vet. Microbiol.* 149: 277-282.
- [18] DiCicco, M., Weese, S., Neethirajan, S., Rousseau, J. and Singh, A., 2014, Fosfomycin susceptibility of canine methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolates, *Res. Vet. Sci.* 96: 251-253.
- [19] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2020, Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution

- Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals, 5th Ed., CLSI supplement VET01S-Ed5 ed., Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, 250 p.
- [20] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2018, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 28th Ed., CLSI supplement M100-2018., Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, 296 p.
- [21] Liofilchem® MIC Test Strip., 2017, Fosfomycin MIC Test Strip Technical Sheet. Available Source: http://www.liofilchem.net/login.area.mic/technical_sheets/MTS45.pdf, December 1, 2021.
- [22] The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), 2020, Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone Version 10.0. 2020. Available Source: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_10.0_Breakpoint_Tables.pdf, December 1, 2021.
- [23] Falagas, M.E., Kastoris, A.C., Kapaskelis, A.M. and Karageorgopoulos, D.E., 2010, Fosfomycin for the treatment of multidrug-resistant, including extended-spectrum beta-lactamase producing, Enterobacteriaceae infections: a systematic review, *Lancet. Infect. Dis.* 10: 43-50.
- [24] Papich, M. G., 2016, *Saunders handbook of veterinary drugs : small and large animal*, 4th Ed., Elsevier, St. Louis, 900 p.
- [25] Mirzaei, A., Nasr Esfahani, B., Raz, A., Ghanadian, M. and Moghim, S., 2021, From the Urinary Catheter to the Prevalence of Three Classes of Integrons, beta-Lactamase Genes, and Differences in Antimicrobial Susceptibility of *Proteus mirabilis* and Clonal Relatedness with Rep-PCR, *BioMed. Res. Int.* 9952769. doi:10.1155/2021/9952769.
- [26] Gravey, F., Loggia, G., de La Blanchardière, A. and Cattoir, V., 2017, Bacterial epidemiology and antimicrobial resistance profiles of urinary specimens of the elderly, *Med. Mal. Infect.* 47: 271-278.
- [27] Gardiner, B.J., Stewardson, A.J., Abbott, I.J. and Peleg, A.Y., 2019, Nitrofurantoin and fosfomycin for resistant urinary tract infections: old drugs for emerging problems. *Aust. Prescr.* 42: 14-19.
- [28] Grayson, M.L., Cosgrove, S.E., Crowe, S., Hope, W., McCarthy, J.S., Mills, J., Mouton, J.W. and Paterson, D.L., 2010, *Kucers' The Use of Antibiotics: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal, Antiparasitic, and Antiviral Drugs*, 6th Ed, CRC Press, Boca Raton, 3223 p.
- [29] Leesombun, A. and Boonmasawai, S., 2019, Categorization of antimicrobial agents prescribed in the Veterinary Teaching Hospital in Thailand, *J. Appl. Anim. Sci.* 12: 25-28.
- [30] Scarborough, R., Bailey, K., Galgut, B., Williamson, A., Hardefeldt, L., Gilkerson, J. and Browning, G., 2020, Use of Local Antibigram Data and Antimicrobial Importance Ratings to Select Optimal Empirical Therapies for Urinary Tract Infections in Dogs and Cats, *Antibiotics.* 9: 924-942.

- [31] Blondeau, J.M. and Tillotson, G.S., 1999, Formula to help select rational antimicrobial therapy (FRAT): its application to community- and hospital-acquired urinary tract infections, *Int. J. Antimicrob. Agents.* 12: 145-150.
- [32] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2008, Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals M31-A3 Approved Standard 3rd ed., Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, 296 p.
- [33] Guardabassi, L., Schwarz, S. and Lloyd, D.H., 2004, Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria, *J. Antimicrob. Chemotherapy.* 54: 321-332.
- [34] Bergen, P.J., Landersdorfer, C.B., Lee, H.J., Li, J. and Nation, R.L., 2012, 'Old' antibiotics for emerging multidrug-resistant bacteria, *Curr. Opin. Infect. Dis.* 25: 626-633.
- [35] Mouton, J.W., Ambrose, P.G., Canton, R., Drusano, G.L., Harbarth, S., MacGowan, A., Theuretzbacher, U. and Turnidge, J., 2011, Conserving antibiotics for the future: new ways to use old and new drugs from a pharmacokinetic and pharmacodynamic perspective, *Drug Resist Updat.* 14: 107-117.
- [36] Falagas, M.E., Vouloumanou, E.K., Samonis, G. and Vardakas, K.Z., 2016, Fosfomycin, *Clin. Microbiol. Rev.* 29: 321-347.