

Thesis Title	Inhibitory Activity of <i>Lactobacillus</i> Against the Extended - spectrum β - lactamase Producing Uropathogenic Enterobacteriaceae	
Author	Ms. Krittapak Horcharoen	
Degree	Master of Science (Microbiology)	
Thesis Advisory Committee	Dr. Siriwoot Sookkhee	Chairperson
	Assoc. Prof. Prasit Tharavichitkul	Member
	Asst. Prof. Dr. Sumalee Pruksakorn	Member

ABSTRACT

The present study was to determine the inhibitory effects of the potent lactobacilli toward the growth of extended - spectrum β - lactamase (ESBL) producing uropathogenic Enterobacteriaceae isolates and their β - lactamase activities.

Among 172 *Lactobacillus* isolated from vagina of goats and foods, 2 isolates, namely L541 and LSS exhibited the strongest antimicrobial activities against 5 tested standard and 4 uropathogenic strains. According to API - 50 CHL kit, they were identified to be *Lactobacillus plantarum*¹ and *Lactobacillus pentosus*, respectively. They produced too small amounts of lactic acid and hydrogen peroxide. The highest

quantity of their crude extracted bacteriocins could be precipitated by 40% saturation of ammonium sulfate. It may be suggested that their antimicrobial activities were caused from these extracted proteins. Among 101 isolates of multidrug resistant Enterobacteriaceae uropathogens, only 2 isolates of *Escherichia coli* and 2 isolates of *Klebsiella pneumoniae* which produced ESBL and also possessed the highest minimal inhibitory concentration to ceftazidime were selected. They significantly exhibited the β - lactamase activity after determined with the spectrophotometric nitrocefin assay. Furthermore, the above potent lactobacilli demonstrated the antimicrobial activity against various ESBL producing uropathogens. The growth inhibitions of 4 selected ESBL producing isolates could be demonstrated after cultured with these above lactobacilli or with the extracted bacteriocins. However, these bacteriocins showed the slightly reduction of the β - lactamase activity after mixed with these ESBL containing periplasmic proteins. It was concluded that lactobacilli and their bacteriocins could completely inhibit the growth of ESBL producing uropathogens but could interrupt in some degree of β - lactamase activity.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ฤทธิ์ยับยั้งของแลกโตบาซิลลัสต่อแบคทีเรียในวงศ์ เอนเทอโรแบคทีเรียซิงนี สายพันธุ์ก่อโรคในระบบทางเดิน ปัสสาวะ ที่ผลิตเอนไซม์บีตา - แลกแทเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย	
ผู้เขียน	นางสาวกฤตภัก หอเจริญ	
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยา)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ดร. ศิริวุฒิ สุขขี รศ. ประสิทธิ์ ธรวิจิตรกุล ผศ. ดร. สุมาลี พุกษากร	ประธานกรรมการ กรรมการ กรรมการ

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาฤทธิ์ยับยั้งของแลกโตบาซิลลัส ต่อการเจริญของแบคทีเรียในวงศ์เอนเทอโรแบคทีเรียซิงนีสายพันธุ์ก่อโรคในระบบทางเดินปัสสาวะ ที่ผลิตเอนไซม์บีตา - แลกแทเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย และต่อประสิทธิภาพของเอนไซม์ บีตา - แลกแทเมส ในจำนวนแลกโตบาซิลลัสทั้งสิ้น 172 ไอโซเลทที่แยกได้จากช่องคลอดและอาหารชนิดต่างๆ พบว่าแลกโตบาซิลลัส 2 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท L541 และ LSS แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพได้ดีที่สุดต่อเชื้อทดสอบสายพันธุ์มาตรฐาน 5 สายพันธุ์และเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินปัสสาวะ 4 สายพันธุ์เชื้อเหล่านี้ถูกจำแนกเป็นแลกโตบาซิลลัส แพลนทาร์ม และ แลกโตบาซิลลัส เพนโตซัส ตามลำดับด้วยชุดตรวจสอบ API - 50 CHL เชื้อนี้ผลิตกรดแลคติกและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในปริมาณน้อย ส่วนแบคทีเรียโอซินสก็ดหายับปริมาณที่สูงสามารถตกตะกอนได้ด้วยแอมโมเนียม ซัลเฟตอิ่มตัวร้อยละ 40 อาจกล่าวได้ว่าฤทธิ์ต้านจุลชีพนี้เป็นผลมาจากโปรตีนที่สกัดได้ ในจำนวนแบคทีเรีย

ในวงศ์เอนเทอโรแบคทีเรียซิงที่ก่อโรคในระบบทางเดินปัสสาวะและดื้อยาหลายชนิด จำนวน 101 ไอโซเลทนั้นมีเพียง 2 ไอโซเลท ของเชื้อเอชเชอริเชีย โคลิ และ 2 ไอโซเลทของเชื้อเครปเชียล่า นิวโมนิอี ซึ่งผลิตเอนไซม์บีตา - แลกแตเมสชนิดฤทธิ์ขยาย และแสดงค่าความเข้มข้นที่ขยับยั้งเชื้อได้น้อยที่สุดของยาเซฟตาซิมสูงสุด ได้ถูกคัดเลือกไว้ เชื้อเหล่านี้แสดงประสิทธิภาพของเอนไซม์บีตา - แลกแตเมสได้อย่างมีนัยสำคัญภายหลังทดสอบด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตริก ในโตรเซพิน นอกจากนี้แลคโตบาซิลลัสสายพันธุ์ที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพเหล่านี้ แสดงฤทธิ์ต้านจุลชีพต่อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินปัสสาวะ สายพันธุ์ที่ผลิตเอนไซม์บีตา - แลกแตเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย การยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคทั้ง 4 ไอโซเลทนี้ สามารถตรวจพบภายหลังบ่มเพาะด้วยแลคโตบาซิลลัสหรือด้วยแบคทีเรียโอซินที่สกัดได้ อย่างไรก็ตามแบคทีเรียเหล่านี้แสดงการลดลงเพียงเล็กน้อยของประสิทธิภาพของเอนไซม์บีตา - แลกแตเมสภายหลังผสมร่วมกับโปรตีนจากเพอริพลาสมที่มีเอนไซม์บีตา - แลกแตเมสของเชื้อเหล่านี้ สรุปได้ว่าแลคโตบาซิลลัส และแบคทีเรียโอซินที่สกัดได้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินปัสสาวะ สายพันธุ์ที่ผลิตเอนไซม์บีตา - แลกแตเมส ชนิดฤทธิ์ขยายได้อย่างสมบูรณ์ แต่สามารถรบกวนประสิทธิภาพของเอนไซม์บีตา - แลกแตเมสได้บางส่วน