

# การศึกษา diarrheagenic *Escherichia coli* แยกจาก rectal swab ของผู้ป่วยในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ

## Studies on diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from rectal swab patients in Thammasat University Hospital

ดารณี นุตาลัย<sup>1,2</sup> นริศรา มังกรแก้ว<sup>3</sup> จิราภรณ์ ญาณสมบัติ<sup>4</sup>

เสกสรรค์ สโมสรสุข<sup>4</sup> วรดา สโมสรสุข<sup>4\*</sup>

Daranee Nutalai<sup>1,2</sup> Narissara Mungkornkaew<sup>3</sup> Jiraporn Yansombat<sup>4</sup>

Seksun Samosornsuk<sup>4</sup> Worada Samosornsuk<sup>4\*</sup>

### บทคัดย่อ

**ความสำคัญของปัญหา :** Diarrheagenic *Escherichia coli* (DEC) เป็นแบคทีเรียก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วงที่เป็นปัญหาสำคัญ ทั้งในประเทศที่พัฒนาแล้วและประเทศกำลังพัฒนา รวมถึงประเทศไทย อย่างไรก็ตาม ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาของโรงพยาบาลทั่วไป ไม่ได้ตรวจหาเชื้อ DEC ในงานประจำวัน

**วัตถุประสงค์ :** การศึกษาในครั้งนี้เพื่อตรวจหา DEC จาก rectal swab ของผู้ป่วย ในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์

**วิธีดำเนินการวิจัย :** โดยนำ rectal swab จำนวน 70 ตัวอย่าง มาเพิ่มจำนวนเชื้อใน tryptic soy broth เพื่อเตรียม boiled template และตรวจหา DEC ด้วยวิธี PCR โดยทดสอบต่อยีน a) *aggR* และ *Eagg* สำหรับตรวจหา enteroaggregative *E. coli* (EAEC), b) *bfpA* และ *eaeA* สำหรับตรวจหา enteropathogenic *E. coli* (EPEC), c) *elt* และ *est* สำหรับตรวจหา enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), d) *invE* สำหรับตรวจหา enteroinvasive *E. coli* (EIEC), e) *eaeA*, *stx1* และ *stx2* สำหรับตรวจหา enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC)

**ผลการศึกษา :** ผลการศึกษาพบ EAEC 5 ตัวอย่าง (ร้อยละ 7.14) ไม่พบ EPEC, ETEC, EHEC, และ EIEC ทำการแยกเชื้อ EAEC ออกจาก rectal swab และทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ พบว่า เชื้อดื้อต่อ ampicillin ร้อยละ 100 (5/5) co-trimoxazole ร้อยละ 60 (3/5) และ gentamicin ร้อยละ 40 (2/5) เชื้อ EAEC ที่แยกได้ ร้อยละ 80 พบในผู้ป่วยเด็ก อายุต่ำกว่า 2 ปี

**สรุป :** เชื้อเหล่านี้อาจเป็นสาเหตุของการก่อโรคอุจจาระร่วงในผู้ป่วย ดังนั้น การตรวจพิสูจน์เชื้อ DEC ในผู้ป่วย จะเป็นประโยชน์ต่อการรักษาได้ นอกจากนี้การสำรวจด้านระบาดวิทยาของเชื้อ DEC จะช่วยป้องกันและควบคุมการเกิดอุจจาระร่วงในเด็กได้

**คำสำคัญ :** diarrheagenic *Escherichia coli* (DEC), enteroaggregative *E. coli* (EAEC), enteropathogenic *E. coli* (EPEC), enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), enteroinvasive *E. coli* (EIEC) enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC)

<sup>1</sup> นักศึกษาปริญญาโท สาขาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ (ศูนย์รังสิต) ปทุมธานี

<sup>2</sup> Graduate School, Thammasat University (Rangsit Campus), Pathumthani

<sup>3</sup> งานจุลชีววิทยา ฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด โรงพยาบาลวชิระพยาบาล

มหาวิทยาลัยวชิราวุธราช กรุงเทพฯ

<sup>4</sup> Microbiology Division, Department of Central Laboratory and Blood bank, Faculty of Medicine, Vajira Hospital, Navamindrahaj University Bangkok

<sup>5</sup> หน่วยจุลชีววิทยา โรงพยาบาลธรรมศาสตร์ ปทุมธานี

<sup>6</sup> Microbiology Laboratory Unit, Thammasat University Hospital, Pathumthani

<sup>7</sup> ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ปทุมธานี

<sup>8</sup> Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Pathumthani

\*Corresponding Author Email: [sworada@hotmail.com](mailto:sworada@hotmail.com)

### Abstract

**Background :** Diarrheagenic *Escherichia coli* (DEC) causing diarrhea is an important problem both in developed countries and developing countries including Thailand. However, microbiology laboratories in the hospitals do not detect DEC in routine work.

**Objective :** This study was to detect DEC from rectal swabs patients in Thammasat Hospital.

**Material and methods :** Seventy samples of rectal swab were enriched in tryptic soy broth for preparing boiled templates. The PCR method for investigation of DEC was used to detect a) *aggR* and *Eagg* for enteroaggregative *E. coli* (EAEC), b) *bfpA* and *eaeA* for enteropathogenic *E. coli* (EPEC), c) *elt* and *est* for enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), d) *invE* for enteroinvasive *E. coli* (EIEC), e) *eaeA*, *stx1* and *stx2* for enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC).

**Result :** From this result, none of EPEC, ETEC, EHEC and EIEC was detected while 5 isolates of EAEC (7.14%) were detected in 5 rectal swab samples. These 5 EAEC isolates were subcultured and tested antimicrobial susceptibility test. Of all 5 EAEC isolates, the resistances to ampicillin, co-trimoxazole and gentamicin were 100% (5/5), 60% (3/5) and 40% (2/5), respectively. Eighty percent of isolates were found under the age of 2 years.

**Conclusion :** These DEC may be associated with diarrheal children, therefore, Identification of these strains are helpful for treatment. Furthermore, epidemiologic surveillance for DEC would be useful for diarrheal control and prevention in children.

**Keywords :** diarrheagenic *Escherichia coli* (DEC), enteroaggregative *E. coli* (EAEC), enteropathogenic *E. coli* (EPEC), enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), enteroinvasive *E. coli* (EIEC) enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC)

## บทนำ

*Escherichia coli* (*E. coli*) อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae เป็นแบคทีเรียสาเหตุสำคัญที่เป็นปัญหาทางการแพทย์และสาธารณสุข ปัจจุบันเชื่อจะมีความรุนแรงมากยิ่งขึ้นเพราะเชื่อสามารถเจริญเติบโตและปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมเป็นเชื้อประจำถิ่น (normal flora) หากเชื้อลุกล้ำเข้าสู่ระบบต่างๆ สามารถสร้างสารพิษ (toxin) และก่อความรุนแรงของโรคแตกต่างกันไปทั้งในมนุษย์และสัตว์ทำให้ผู้ป่วยเกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาลและในชุมชน [1,2] สายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วงที่มักพบในผู้ป่วย เรียก diarrheagenic *E. coli* (DEC) ได้แก่ enteroaggregative *E. coli* (EAEC), enteropathogenic *E. coli* (EPEC), enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), enteroinvasive *E. coli* (EIEC) และ enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) การติดเชื้อสามารถเกิดได้หลายระบบของร่างกาย เช่น การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ (urinary tract infection) กระเพาะปัสสาวะอักเสบ (pyelonephritis) กรวยไตอักเสบ (cystitis) การติดเชื้อในกระแสเลือด (septicemia) เยื่อหุ้มสมองอักเสบ (meningitis) ไล่ติ่งอักเสบ เยื่อช่องท้องอักเสบ แผลติดเชื้อ แผลกดทับ ไตติดเชื้อ [3] ในประเทศไทย ปี 1985 - 1986 Sunthadvanich และคณะ [4] รายงานอุบัติการณ์ของเชื้อ EPEC (10%), ETEC (6%), EAEC (4%) และ EIEC พบน้อยกว่า 1% ปี 1996-2000 Ratchtrachenchai และคณะ [5] พบอุบัติการณ์ DEC 16.9 % ประกอบด้วย EAEC (10.2%), EPEC (3.2%), ETEC (3.0%), EIEC (0.5%) และ EHEC (0.04 %) เมื่อศึกษาช่วงอายุของเด็กโดยแบ่งเป็น 4 ช่วง ดังนี้

0 - 5 เดือน 6 - 12 เดือน 1 - 2 ปี และ 2 - 12 ปี สามารถพบ EAEC ในเด็กไทยทุกช่วงอายุ ปี 1999 - 2000 Kalnauwakul และคณะ [6] พบอุบัติการณ์ของ EAEC (5.8%), ETEC (2.5%), EPEC (2.5%), EIEC (0.2 %) และพบ DEC ระบาดมากในช่วงอายุ 0 - 2 ปี (15.1 %) และพบว่า ทุกสายพันธุ์ของ EAEC กับ ETEC ไวต่อยา ciprofloxacin, cefotaxime, fosfomycin, gentamicin, norfloxacin 100% และ EPEC ไวต่อยา fosfomycin

จากการรายงานอุบัติการณ์ในประเทศไทย ยังคงพบความชุกของเชื้อ *E. coli* ที่ก่อโรคอุจจาระร่วง (DEC) อย่างไรก็ตามห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาในประเทศไทย ไม่ได้ตรวจหาเชื้อ DEC เนื่องจากต้องทำการตรวจหายีนก่อโรคของเชื้อแต่ละชนิดด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล [7-9] เพื่อจำแนก DEC แต่ละประเภท ดังนั้น งานวิจัยนี้ ผู้วิจัยทำการตรวจหาเชื้อ DEC จาก rectal swabs ผู้ป่วยที่ส่งเพาะเชื้อทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ

## วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อการศึกษา diarrheagenic *Escherichia coli* ที่แยกได้จาก rectal swabs ในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ

## วิธีการวิจัย

### 1. ตัวอย่างแบคทีเรียและสิ่งส่งตรวจที่ใช้ในการศึกษา

งานวิจัยได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ (เลขที่ 012/2558) และได้ผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ (เลขที่ 019/2558) ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาเป็น rectal swab ของผู้ป่วยที่มีอาการอุจจาระร่วง จำนวน 70 ตัวอย่าง ที่ส่งมาตรวจเพาะเชื้อก่อโรคอุจจาระร่วงในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ.2557 (ค.ศ. 2014) ที่เก็บเป็น glycerol stock และ freeze -80 องศาเซลเซียส

แบคทีเรียที่ใช้เป็นเชื้อควบคุมการทดสอบ PCR ประกอบด้วย ETEC JSEC01 (*elt*, *est*), EIEC EC11 (*invE*), EPEC EC12 (*eaeA*, *bfpA*), EAEC EC13 (*aggR* *Eagg*), และ EHEC EC14 (*stx1* *stx2*)

## 2. การเตรียม boiled template

นำ stock rectal swab 1 loopful ใส่ลงใน 3 มิลลิลิตร ของ tryptic soy broth (TSB) หลอดที่ 1 บ่มเพาะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง จากนั้นนำ TSB suspension ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ลงใน 3 มิลลิลิตร ของ TSB หลอดที่ 2 บ่มเพาะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง หลังจากนั้น นำ 1 มิลลิลิตร ที่เพาะใน TSB หลอดที่ 2 มาใส่ใน 1xTE buffer 500 ไมโครลิตรในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร เพื่อเตรียม boiled template ต่อไป

สำหรับเชื้อควบคุม ทำการเพาะเชื้อลงบนอาหาร MacConkey บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง นำเชื้อ 1 loopful ใส่ใน 1xTE buffer 500 ไมโครลิตร ในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร เพื่อเตรียม boiled template ต่อไป

การเตรียม boiled template นำ TE suspension ไปปั่นที่ 13,500 rpm เป็นเวลา

5 นาที เทส่วนใส (supernatant) ทิ้งแล้วซับให้แห้งนำตะกอนที่ได้เติม 1x TE buffer 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปต้มด้วยอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำมาแช่แข็งทันทีที่ 1 นาที แล้วนำไปปั่นที่ 13,500 rpm เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสด้านบนที่มีดีเอ็นเอใส่ในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร เก็บใส่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ -25 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปทำการทดสอบเพื่อจำแนกชนิดของเชื้อ *E. coli* ด้วย PCR ต่อไป

## 3. การทดสอบหาชนิดด้วยวิธี PCR

สำหรับงานวิจัยนี้ ทำการตรวจวิเคราะห์โดยใช้ primer 9 คู่ (ตารางที่ 1) โดยองค์ประกอบสำหรับการทดสอบ PCR ใน 1 ปฏิกริยาใช้ปริมาตรสุทธิ 25 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบไปด้วย 1X PCR buffer, Taq DNA Polymerase (GeneDireX®, Taiwan) 1.25 unit, dNTP 25 µM, PCR primer 0.1 µM, DNA template 1.5 ไมโครลิตร จากนั้นเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยเครื่อง thermal cycle (G-Storm, England) โดยใช้ PCR condition (ตารางที่ 1) ทำการตรวจวิเคราะห์ผลของแถบดีเอ็นเอด้วยวิธี gel electrophoresis บน 1.5% agarose gel โดยใช้ 100 bp DNA ladder 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (BioLab, England) เป็น marker และนำไปย้อมสี EtBr เป็นเวลา 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น เป็นเวลา 10 นาที อ่านผลด้วยเครื่อง Electrophoresis Gel Documentation System

## 4. การแยกพิสูจน์ชนิดของเชื้อและทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ

นำ rectal swab ที่ตรวจพบเชื้อ diarrheagenic *E. coli* (DEC) มาตรวจหาเชื้อเหล่านี้ ด้วยการ subculture ลงบนอาหาร MacConkey และทำการสุมโคโลนี 5 ถึง 10

โคลนี มาเตรียม boiled template และตรวจหาด้วยวิธี PCR เพื่อยืนยันชนิดของเชื้อและทดสอบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพด้วยวิธี Microbroth dilution ด้วยเครื่อง Phoenix automated microbiology system (Becton and Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) และกำหนดเกณฑ์การแปลผลความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพจากค่า MIC สำหรับเชื้อกลุ่ม *Enterobacteriaceae* และ Gram Negative Bacteria ตามมาตรฐาน CLSI 2017 [10] วิธีการโดยย่อ คือ subculture เชื้อ DEC บนอาหาร MacConkey บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง แล้วป้ายเชื้อใส่ในหลอด ID broth ปรับความเข้มข้นให้ได้ 0.5 McFarland และดูดเชื้อ 25 ไมโครลิตร ใส่ในหลอด AST ที่ใส่ indicator 1 หยด และเทใส่ใน panel ID/AST 95 โดยเทเชื้อหลอด ID ใส่ในช่อง ID และเทเชื้อหลอด AST ใส่ลงในช่อง AST ปิดฝา

panel และนำไปใส่เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติเป็น 15 ชั่วโมง เครื่องจะรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ทั้งเชื้อและการดื้อต่อยาต้านจุลชีพ

### ผลการวิจัย

*E. coli* 70 ไอโซเลท ที่แยกจากอุจจาระผู้ป่วย 70 ตัวอย่างในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ พบ Diarrheagenic *E. coli* (DEC) ประเภท enteroaggregative *E. coli* (EAEC) 5 ตัวอย่าง ในงานวิจัยนี้ตรวจไม่พบ EPEC ETEC EIEC และ EHEC (ตารางที่ 2) ผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพ 15 ชนิด พบ EAEC 5 ไอโซเลท ดื้อต่อ ampicillin ร้อยละ 100 (5/5), co-trimoxazole ร้อยละ 60 (3/5) และ gentamicin ร้อยละ 40 (2/5) (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 1 Primers และ PCR condition ที่ใช้ในการตรวจ multiplex PCR สำหรับตรวจหา diarrheagenic *E. coli*

| Target gene | Nucleotide sequence (5'-3')                          | Amplicon size (bp) | PCR conditions (x30 cycles) |               |               |
|-------------|------------------------------------------------------|--------------------|-----------------------------|---------------|---------------|
|             |                                                      |                    | Denaturation                | Annealing     | Extension     |
| elt         | GGCGACAGATTATACCGTGC<br>CGGTCTCTATATCCCTGTT          | 450                | 94 °C, 30 sec               | 53 °C, 1 min  | 72 °C, 1 min  |
| est         | ATTTTTC/CTTTCTGTATTA/GTCTT<br>CACCCGGTACAA/GGCAGGATT | 190                | 94 °C, 30 sec               | 54 °C, 1 min  | 72 °C, 1 min  |
| invE        | AGTTCTCGGATGCTATGCTC<br>CAAGATTTAACCTTCGTCAACC       | 293                | 94 °C, 30 sec               | 60 °C, 30 sec | 72 °C, 1 min  |
| eaeA        | AAACAGGTGAAACTGTTGCC<br>CTCTGCAGATTAACCTCTGC         | 454                | 94 °C, 30 sec               | 50 °C, 30 sec | 72 °C, 1 min  |
| bfpA        | AATGGTGCTTGCGCTTGCTGC<br>GCGGCTTTATCCAACCTGGTA       | 320                | 94 °C, 30 sec               | 58 °C, 30 sec | 72 °C, 30 sec |
| aggR        | CAGAATACATCAGTACACTG<br>GAAGCTTACAGCCGATATAT         | 433                | 94 °C, 30 sec               | 54 °C, 40 sec | 72 °C, 1 min  |
| Eagg        | CTGGCGAAAGACTGTATCAT<br>CAATGTATAGAAATCCGCTGTT       | 630                | 94 °C, 30 sec               | 53 °C, 30 sec | 72 °C, 30 sec |
| stx1        | CAACACTGGATGATCTCAG<br>CCCCCTCAACTGCTAATA            | 349                | 94 °C, 30 sec               | 53 °C, 1 min  | 72 °C, 1 min  |
| stx2        | ATCAGTCGTCACACTGCTGGT<br>CTGCTGTACAGTGACAAA          | 110                | 94 °C, 30 sec               | 53 °C, 1 min  | 72 °C, 1 min  |

ตารางที่ 2 ตารางแสดงความชุกของเชื้อ diarrheagenic *E. coli* และ *Salmonella* แบ่งตามช่วงอายุ

|                                 | จำนวน<br>ตัวอย่าง | อายุน้อย<br>กว่า 2 ปี | 2-5 ปี | 5-14 ปี | 14-30 ปี | 30-50 ปี | มากกว่า<br>50 ปี |
|---------------------------------|-------------------|-----------------------|--------|---------|----------|----------|------------------|
| Total rectal<br>swab<br>samples | 70                | 15                    | 2      | 5       | 15       | 6        | 27               |
| EAEC                            | 5 (7.14%)         | 4                     |        |         |          |          | 1                |
| <i>Salmonella</i> *             | 3 (4.28%)         | 1                     |        | 2       |          |          |                  |

\*งานวิจัยนี้ ไม่ได้ทดสอบหาเชื้อ salmonella แต่เป็นรายงานผลการตรวจเชื้อก่อโรค จากอุจจาระผู้ป่วย 70 ตัวอย่างที่นำมาทดสอบ

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความไวของเชื้อ DEC ต่อสารต้านจุลชีพ จำนวน 5 ไอโซเลท

| ลำดับ | เชื้อ | ผลความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพ |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |     |     |     |     |
|-------|-------|----------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|
|       |       | A<br>M<br>C                      | AMP | AZT | FEP | FOX | CAZ | CRO | CEF | CIP | ETP | GN | IPM | MEM | TZP | SXT |
| E024  | EAEC  | S                                | R   | S   | S   | S   | S   | S   | S   | S   | S   | S  | S   | S   | S   | R   |
| E028  | EAEC  | S                                | R   | S   | S   | S   | S   | S   | S   | S   | S   | R  | S   | S   | S   | S   |
| E042  | EAEC  | S                                | R   | S   | S   | S   | S   | S   | S   | S   | S   | R  | S   | S   | S   | S   |
| E062  | EAEC  | S                                | R   | S   | S   | S   | S   | S   | S   | S   | S   | S  | S   | S   | S   | R   |
| E076  | EAEC  | S                                | R   | S   | S   | S   | S   | S   | S   | S   | S   | S  | S   | S   | S   | R   |

AMC, Amoxicillin – Clavulanate; AMP, Ampicillin; AZT, Aztreonam; FEP, Cefepime; FOX, Cefoxitin; CAZ, Ceftazidime; CRO, Ceftriaxone; CEF, Cefuroxime; CIP, Ciprofloxacin; ETP, Ertapenem; GN, Gentamycin; IPM, Imipenem; MEM, Meropenem; TZP, Piperacillin – Tazobactam; SXT, Trimethoprim – Sulfamethoxazole

### อภิปรายผล

อุจจาระผู้ป่วยทั้งหมด 70 ตัวอย่าง ที่ส่งเพื่อเพาะเชื้อทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ ในเดือนกุมภาพันธ์ และมีนาคม พ.ศ. 2557 สามารถตรวจ พบ EAEC 5 ตัวอย่าง (ร้อยละ 7.14) ในการศึกษาครั้งนี้ ตรวจไม่พบ EPEC ETEC EIEC และ EHEC ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากตัวอย่างอุจจาระที่ทำการตรวจ มีจำนวนน้อย อย่างไรก็ตามผลการตรวจ พบ EAEC มากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับรายงาน การวิจัยปี ค.ศ. 2004 (พ.ศ. 2547) ของ Ratchtrachenchai และคณะ [5] ซึ่ง ทำการศึกษาความชุกของ DEC จาก *E. coli* 2629 ไอโซเลท ที่แยกได้จากอุจจาระเด็กอายุ น้อยกว่า 12 ปี ในประเทศไทย ช่วง ปี ค.ศ. 1996 ถึง 2000 (พ.ศ. 2539 ถึง พ.ศ. 2543) ซึ่งตรวจพบ EAEC สูงสุด 10.2% รองลงมา ได้แก่ EPEC (3.29%), ETEC (3.0 %), EIEC (0.5%) และ EHEC (0.04%) การพบ EAEC สูงอาจเพราะ เชื้อสายพันธุ์นี้สามารถยึดเกาะ บนผนังเยื่อเมือกโดยเรียงตัวแบบก้อนอิฐใน ลำไส้ได้เป็นอย่างดีและเชื้อยังสร้าง biofilm [1] เพื่อปกป้องตัวเองทำให้เชื้อมีความทนทาน ต่อการถูกกำจัดหรือถูกทำลายและเมื่อออกจาก ร่างกายก็ทนต่อสภาวะต่างๆ ได้เป็นอย่างดี หากยังไม่ถูกกำจัดออกจากลำไส้ก็ยังคงเป็นเชื้อ ที่แฝงในลำไส้

Kalnauwakul และคณะ [6] ได้ศึกษา ความไวต่อยาต้านจุลชีพในเชื้อ DEC ที่ตรวจ พบในอุจจาระผู้ป่วยในโรงพยาบาลสงขลา นครินทร์ ปี 1999-2000 พบว่าเชื้อ EAEC ผล ความ ไว ต่ ย า ต้ น จุล ชี พ ข อ ง ampicillin (60%), chloramphenicol (67%) ciprofloxacin (100%), gentamicin (100%) และ cotrimoxazole (23%) ขณะที่ งานวิจัย

นี้ ได้ทำการศึกษาความไวต่อยาต้านจุลชีพของ เชื้อ EAEC ที่แยกได้จากอุจจาระผู้ป่วย ในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์ ปี 2014 พบ เชื้อดื้อต่อ ampicillin (100%) แต่ยังไม่ดื้อต่อ gentamicin (60%) และ co-trimoxazole (40%) การดื้อยาของเชื้อที่ไม่เหมือนกัน อาจเกิดจากการเลือกใช้ในการรักษาของแต่ละ โรงพยาบาล ไม่เหมือนกัน

การแยกพิสูจน์เชื้อก่อโรคที่เป็นงาน ประจำใน ห้องจุลชีววิทยา ตรวจพบ เชื้อ salmonella 3 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 4.28 (ตารางที่ 2) ซึ่งน้อยกว่าเชื้อ EAEC โดย เชื้อก่อโรคส่วนใหญ่พบในเด็กอายุต่ำกว่า 2 ปี จะเห็นว่า การพิสูจน์ เชื้อ DEC ในอุจจาระ ผู้ป่วยมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากเชื้อ EAEC ตรวจพบได้มากกว่า salmonella ซึ่ง การส่งตรวจหาเชื้อก่อโรคในอุจจาระผู้ป่วยทาง ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ไม่มีการตรวจหา เชื้อ DEC ทำให้ไม่มีข้อมูลการติดเชื้อเหล่านี้ ของผู้ป่วย ซึ่งส่งผลกระทบทำให้ผู้ป่วยอาจเสีย สิทธิในการรักษา และ ผู้ติดเชื้อ อาจ แพร่กระจายเชื้อไปสู่ผู้ใกล้ชิดได้

### สรุปผล

ก า ร ศี ก ษ า diarrheagenic *Escherichia coli* (DEC) แยกจาก rectal swab ของผู้ป่วยในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์ เฉลิมพระเกียรติ จำนวน 70 ตัวอย่าง พบ DEC ชนิด enteroggregative *E. coli* (EAEC) 5 ตัวอย่าง (7.19%) เชื้อเหล่านี้อาจเป็น สาเหตุของการก่อโรคอุจจาระร่วงในผู้ป่วย ดังนั้นการเพิ่มศักยภาพในการตรวจเชื้อ DEC ทำให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาอย่างถูกต้อง และสามารถใช้เป็นข้อมูลในการป้องกันและควบคุม การแพร่กระจายของเชื้อเหล่านี้ได้

### ข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาครั้งนี้ แสดงให้เห็นถึงการตรวจพบเชื้อ enteroggregative *E. coli* (EAEC) ซึ่งตรวจพบได้มากกว่าเชื้อ salmonella ในอุจจาระของผู้ป่วยอุจจาระร่วง ดังนั้น การเพิ่มศักยภาพ ในการตรวจหาเชื้อ DEC ในสิ่งส่งตรวจอุจจาระผู้ป่วย ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ทำให้เกิดประโยชน์ต่อการรักษาผู้ป่วย และเป็นข้อมูลเพื่อป้องกันและควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อเหล่านี้ได้

### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก กองทุนวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

### เอกสารอ้างอิง

1. Nataro, J.P., Kaper, J.B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev 1998;11(1):142-201.
2. อรอนงค์ รัตนเซนชัย, เอกสารประกอบการบรรยายและปฏิบัติการ เรื่อง *Escherichia coli* ก่อโรคอุจจาระร่วงและการตรวจวินิจฉัย *Escherichia coli* O157:H7 ทางห้องปฏิบัติการ, กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2541.
3. Ledebor, N.A. and Doern, V. *Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella*, In Jorgensen, J.H. Pfaller, M.A., Carroll, K.C., Funke, G.F., Landry, M.L., Richter, S.S. and Warnock, D.W., Manual of Clinical Microbiology, 11<sup>th</sup> Ed., Washington (DC) ASM Press; 2015. Pp.685-713.
4. Sunthadvanich R, Chiewsilp D, Seriwatana J, Sakazaki R and Echeverria P. Nationwide Surveillance Program to Identify Diarrhea-Causing *Escherichia coli* in Children in Thailand. J Clin Microbiol 1990; 28(3):469-472.
5. Ratchtrachenchai, O., Subpasu, S., Hayashi, H. and Ba-Thein, W. Prevalence of Childhood Diarrhoea-Associated *Escherichia coli* in Thailand. J Clin Microbiol 2004; 53(Pt3):237-243.
6. Kalnauwakul, S., Phengmak, M., Kongmuang, U., Nakaguchi, Y and Nishibuchi, M. Examination of Diarrheal Stool in Hat Yai City, South Thailand, for *Escherichia coli* O157 and Other Diarrheagenic *Escherichia coli* using Immunomagnetic Separation and PCR Method. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2007; 38(5):871-880.
7. Gómez-Duarte, O.G., Arzuza, O., Urbina, D., Bai, J., Guerra, J., Montes, O., Puella, M., Mendoza, K. and Castro, G.Y. Detection of *Escherichia coli* Enteropathogens by Multiplex Polymerase Chain Reaction from Children's Diarrheal Stools in Two Caribbean-Colombian Cities. Foodborne Pathog Dis 2010;7(2): 199-206.

8. Guion, C.E., Ochoa, T.J., Walker, C.M., Barletta, F. and Cleary, T.G. Detection of Diarrheagenic of *Escherichia coli* by Use of Melting-Curve Analysis and Real-Time Multiplex PCR. J Clin Microbiol 2008; 46(5):1752-1757.
9. Rúgeles, L.C., Bai, J., Martínez, A.J., Vanegas, M.C. and Gómez-Duarte, O.G. Molecular Characterization of Diarrheagenic *Escherichia coli* Strains from Stools Samples and Food Products in Colombia. Int J Food Microbiol 2010; 138(3):282-286.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Approved Standard; 27<sup>th</sup> Information Supplement. CLSI document M100-S27. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2017.
11. Hinenoya, A., Naigita, A., Ninomiya, K., Asakura, M., Shima, K., Seto, K., Tsukamoto, T., Ramamurthy, T., Faruque, S.M. and Yamasaki, S. Prevalence and characteristics of cytolethal distending toxin-producing *Escherichia coli* from children with diarrhea in Japan. Microbiol Immunol 2009; 53(4):206-215.
12. Tokuda, K., Nishi, J., Imuta, N., Fujiyama, R., Kamenosono, A., Manago, K., and Kawano, Y. Characterization of typical and atypical enteroaggregative *Escherichia coli* in Kagoshima, Japan: biofilm formation and acid resistance. Microbiol Immunol 2010; 54(6): 320-329.