อุบัติการณ์ของเชื้อ Enterobacteriaceae ที่ดื้อยากลุ่ม carbapenems

อุธาภรณ์ ภูมิศานติพงศ์ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์), วท.ม. (สาธารณสุขศาสตร์)*

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาอุบัติการณ์และความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อกลุ่ม Enterobacteriaceae ที่ดื้อยากลุ่ม carbapenems (carbapenem resistant Enterobacteriacea, CRE)

วิธีดำเนินการวิจัย: การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงพรรณนาแบบไปข้างหน้า ศึกษาเชื้อกลุ่ม Enterobacteriaceae จากตัวอย่างตรวจของผู้ป่วยในคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล ระหว่างวันที่ 1 มกราคม ถึงวันที่ 31 ธันวาคม พ.ศ. 2554 การตรวจแยกชนิดของเชื้อและทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพใช้ระบบอัตโนมัติ (Microscan, Walkaway) การตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ใช้วิธี Modified Hodge test

ผลการวิจัย: พบเชื้อ Enterobacteriaceae ที่สร้างเอนไซม์ carbapenemase 9 ตัวอย่าง จากเชื้อ Enterobacteriaceae ทั้งหมด 6,795 ตัวอย่าง หรืออุบัติการณ์ของ CRE เท่ากับร้อยละ 0.13 เชื้อ CRE ที่พบได้แก่ เชื้อ *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* และ *Citrobacter freundii* เชื้อ CRE ที่พบ ร้อยละ 100 ดื้อต่อยา ampicillin, cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime, cefepime, amoxicillin/calvulanic acid, ampicillin/salbactam และ ertapenem ร้อยละ 88.9 ดื้อต่อยา ciprofloxacin และ piperacillin/tazobactam และพบว่า ร้อยละ 66.7, 55.5 และ 22.2 ดื้อต่อยา imipenem, meropenem และ amikacin ตามลำดับ และไม่พบการดื้อยา colistin

สรุป: อุบัติการณ์ของเชื้อ Enterobacteriaceae ที่ดื้อยากลุ่ม carbapenems ในคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาลเท่ากับร้อยละ 0.13 เชื้อที่พบดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิดซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญทางสาธารณสุข จึงควรเฝ้าระวังอย่างต่อเนื่อง และใช้มาตรการป้องกันและควบคุมที่มีประสิทธิภาพในการลดการแพร่กระจายเชื้อ

* ภาควิชาพยาธิวิทยาคลินิก คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยกรุงเทพมหานคร

Abstract

Incidence of Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae

Uraporn Phumisantiphong MSc

Department of Clinical Pathology, Faculty of Medicine Vajira Hospital, University of Bangkok Metropolis

Objectives: To determine the incidence and antimicrobial sensitivity of carbapenem resistant Enterobacteriaceae (CRE).

Methods: This prospective descriptive study was carried out on Enterobacteriaceae specimens isolated from the patients during January 1, to December 31, 2011. The identification and antimicrobial susceptibility testing of *Enterobacteriaceae* isolates were determined using the automated MicroScan, Walkaway system. The modified Hodge test was used for confirmation of carbapenemase production of the isolates.

Results: Nine of the total 6,795 Enterobacteriaceae isolates produced carbapenemase enzyme, hence the incidence of CRE was 0.13%. The following strains were identified: *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* and *Citrobacter freundii*. All the isolates were 100% resistant to ampicillin, cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime, cefepime, amoxicillin/calvulanic acid, ampicillin/salbactam and ertapenem. About 88.9% of the isolates were resistant to ciprofloxacin and piperacillin/tazobactam. The resistant to imipenem, meropenem and amikacin were found in 66.7%, 55.5% and 22.2% respectively. No resistant to colistin was observed.

Conclusion: The incidence of carbapenem resistant Enterobacteriaceae in the Faculty of Medicine Vajira Hospital was 0.13%. The presence of the multidrug resistance was an important public health problem. Continuing surveillance and effective infection control measures are recommended to limit the spread of these organisms.

Keywords: carbapenem resistant Enterobacteriaceae (CRE), *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC), antimicrobial susceptibility testing

บทนำ

การระบาดของแบคทีเรียแกรมลบดื้อยา เป็นปัญหาสำคัญในระบบสาธารณสุขโดยเฉพาะผู้ป่วยที่ต้องเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล ปัจจุบันมีรายงานของเชื้อ Enterobacteriaceae ดื้อยากลุ่ม carbapenems เพิ่มขึ้นทั่วโลก โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถผลิตเอนไซม์ metallo-beta-lactamase และ carbapenemase ส่งผลให้เกิดการดื้อยาในกลุ่ม beta-lactams ทั้งหมดรวมถึงกลุ่ม carbapenems รายงานครั้งแรกของเชื้อ Enterobacteriaceae ที่สร้างเอนไซม์ carbapenemase พบในเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ในปี พ.ศ. 2544 จากผู้ป่วยในโรงพยาบาลทางเหนือของรัฐคาโรไลนา ประเทศสหรัฐอเมริกา[1] ดังนั้นเอนไซม์นี้จึงมีชื่อเรียกโดยทั่วไปว่า *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) และเชื้อที่สร้างเอนไซม์ carbapenemase นี้จึงมีการเรียกกันว่าเชื้อ KPC ต่อมามีการตรวจพบเอนไซม์ KPC ในแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriaceae หลายเชื้อสาย เช่น *Escherichia coli*, Enterobacter spp., Salmonella spp., และ *Citrobacter freundii*[2-4] เนื่องจากพบการสร้างเอนไซม์ KPC ของเชื้อแบคทีเรีย

อื่น ๆ ในกลุ่ม Enterobacteriaceae นอกจาก *K. pneumoniae* เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ในปี พ.ศ. 2552 ศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคประเทศสหรัฐอเมริกา หรือ CDC (Centers for Disease Control and Prevention) จึงใช้คำว่า Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae (CRE) ในการรายงานเชื้อกลุ่ม Enterobacteriaceae ที่สร้างเอนไซม์ KPC[5]

เอนไซม์ carbapenemase ถูกจัดอยู่ใน class A beta-lactamase โดยมียีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์นี้อยู่บนพลาสมิด (plasmids-encoded carbapenemase)[6,7] ซึ่งพลาสมิดเป็นหน่วยพันธุกรรมที่เคลื่อนที่ได้ และเชื้อแบคทีเรียสามารถใช้พลาสมิดนี้ในการส่งผ่านยีนดื้อยาโดยวิธี horizontal transfer หรือการถ่ายทอดสารพันธุกรรมให้กับแบคทีเรียอีกเซลล์ทั้งที่ไม่ใช่รุ่นลูกได้ กลไกนี้ทำให้แบคทีเรียเกิดการวิวัฒนาการกลายเป็นเชื้อดื้อยาได้อย่างรวดเร็ว เพราะในระหว่างการแลกเปลี่ยนสามารถรับหรือส่งยีนดื้อยาได้หลายกลุ่ม จึงมักพบลักษณะการดื้อยาต้านจุลชีพหลายกลุ่มร่วมกัน และเกิดการแพร่กระจายของเชื้อได้ในวงกว้าง ดังรายงานการพบเชื้อ CRE ในพื้นที่ต่าง ๆ ทั่วโลก เช่น ฝรั่งเศส โคลัมเบีย เปอร์โตริโก บราซิล อิสราเอล และจีน[8-11] และเชื้อ CRE ที่พบดื้อยาต้านจุลชีพเกือบทุกขนานจนแทบไม่มียารักษา ผู้ป่วยที่ติดเชื้อนี้จึงมีอัตราการตายสูง[12]

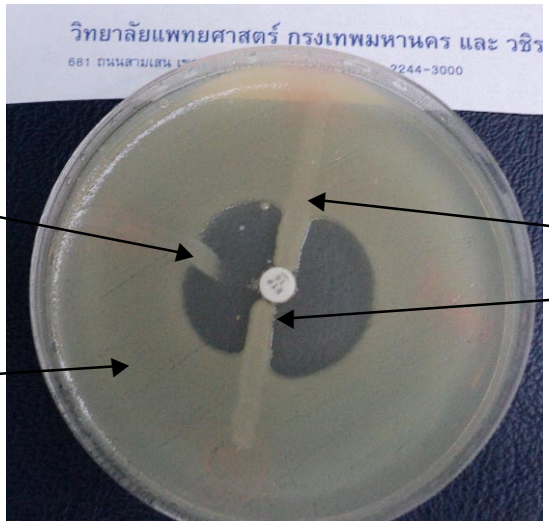
Enterobacteriaceae เป็นเชื้อประจำถิ่นในลำไส้ของคนและสัตว์ ทำให้เกิดโรคได้หลายระบบของร่างกายที่สำคัญ เช่น ปอดอักเสบ การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ ทางเดินอาหาร และการติดเชื้อในกระแสเลือด เชื้อกลุ่มนี้ยังเป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อในโรงพยาบาลและชุมชน ปัจจุบันเชื้อที่พบในผู้ป่วยโดยเฉพาะ *K. pneumoniae* และ *E. coli* มักสร้างเอนไซม์ extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) และ class C beta-lactamases (AmpC) ทำให้การรักษาด้วยยากลุ่ม beta-lactams และ cephalosporins ไม่ได้ผล นำไปสู่การใช้ยากลุ่ม carbapenems เพิ่มขึ้นเนื่องจากยากลุ่มนี้ออกฤทธิ์กว้างครอบคลุมเชื้อดื้อยาหลายชนิดจนทำให้เชื้อพัฒนาการดื้อยากลุ่ม carbapenems มากขึ้น[6,13,14] เนื่องจากมีรายงานการพบเชื้อ CRE เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ประกอบกับเชื้อในกลุ่มนี้อยู่ในระบบทางเดินอาหารคนปรกติ ถ้าเกิดการแพร่ระบาดจะยากต่อการควบคุมและเกิดเป็นปัญหาในระบบสาธารณสุขมากขึ้น

จากการสำรวจข้อมูลการตรวจเพาะเชื้อที่คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาลตั้งแต่ปี พ.ศ. 2550-2553 พบว่า *K. pneumoniae*, *E. coli* และ Enterobacter species เป็นแบคทีเรียที่มีอัตราการตรวจพบสูงและเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยประมาณร้อยละ 60 สร้างเอนไซม์ ESBL ทำให้ดื้อยาหลายชนิด นอกจากนั้นการศึกษาที่วชิรพยาบาล[15] ก็พบว่า มีอัตราของเชื้อ *Acinetobacter baumannii* และ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ดื้อยาเกือบทุกชนิดค่อนข้างสูง จึงมีความเป็นไปได้ที่เชื้อจะมีการส่งผ่านยีนดื้อยาทางพลาสมิดให้แก่กัน ส่งผลให้เกิดการแพร่กระจายเชื้อ CRE ในประเทศไทยในอนาคตอันใกล้นี้

การศึกษานี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อหาอุบัติการณ์ของแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriaceae ที่ดื้อยา carbapenems ในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาที่คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาลโดยวิธี Modified Hodge Test (MHT)[16] และศึกษาความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อที่ตรวจพบ

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงพรรณนาแบบไปข้างหน้า ศึกษาเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriaceae จากตัวอย่างตรวจของผู้ป่วยที่ส่งเพาะเชื้อมายังห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยาคลินิก คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยกรุงเทพมหานคร ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม ถึงวันที่ 31 ธันวาคม พ.ศ. 2554 การตรวจแยกชนิดของเชื้อและทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพใช้เครื่องอัตโนมัติ Microscan, Walkaway (Siemens Healthcare Diagnostics, New York) ส่วนการทดสอบความไวของยา colistin ซึ่งไม่สามารถทดสอบโดยเครื่อง Microscan, Walkaway ได้ทดสอบโดยวิธี disc diffusion เกณฑ์การแปลผลและวิธีทดสอบทำตามมาตรฐานของ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)[17] โดยใช้เชื้อมาตรฐาน *E. coli* ATCC 25922 เป็นตัวควบคุมคุณภาพ กรณีพบเชื้อกลุ่ม Enterobacteriaceae ที่มีระดับ minimum inhibitory concentration (MIC) ต่อยากลุ่ม carbapenems (meropenem, imipenem, ertapenem, doripenem) ให้ผล intermediate หรือ resistant จะนำเชื้อนั้นมาตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ KPC ด้วยวิธี Modified Hodge Test (MHT)[16] โดยการนำเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว tryptone soy broth (TSB) และปรับให้มีความขุ่นเท่ากับค่ามาตรฐาน McFarland No. 0.5 แล้วเจือจางอาหารเหลวนี้ในอัตราส่วน 1:10 จากนั้นนำมาป้ายให้ทั่วผิวของอาหาร Mueller Hinton agar (MHA) นำแผ่นยา ertapenem (10 µg/disc) วางตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำเชื้อที่ต้องการทดสอบขีดเป็นเส้นตรงจากขอบแผ่นสารต้านจุลชีพไปถึงขอบของจานอาหาร นำไปอบที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำจานอาหารมาตรวจสอบ ถ้าพบลักษณะการเว้าเข้าของ inhibition zone ของแผ่นยา ertapenem บริเวณจุดตัด



รูปที่ 1 การทดสอบการสร้างเอนไซม์ carbapenemase โดยวิธี Modified Hodge Test

ของเชื้อที่ต้องการทดสอบกับเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 แสดงว่าเชื้อทดสอบสร้างเอนไซม์ carbapenemase และทำลายฤทธิ์ยาได้ จึงทำให้เชื้อ *E. coli* ATCC 25922 บริเวณที่ใกล้เชื้อทดสอบเจริญเข้าไปในบริเวณ inhibition zone ตามรอยป้ายจึงมีลักษณะเป็นรูปเว้าเข้าไปตรงกลางของแผ่นยา แปลผลทดสอบเป็นบวก ถ้าไม่พบการเว้าเข้าของ inhibition zone แสดงว่าเชื้อทดสอบนั้นไม่สร้างเอนไซม์ carbapenemase แปลผลทดสอบเป็นลบ (รูปที่ 1)

กรณีที่พบแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriaceae ดื้อต่อยา carbapenems ผู้วิจัยจะบันทึกข้อมูลของผู้ป่วยจากเวชระเบียนและบันทึกผลความไวต่อยาต้านจุลชีพจากแบบบันทึกผลการเพาะเชื้อ การนำเสนอข้อมูลจะแสดงค่าเป็นจำนวนและร้อยละ

ผลการวิจัย

จากการศึกษาผลตรวจเพาะเชื้อในช่วงวันที่ 1 มกราคม ถึงวันที่ 31 ธันวาคม พ.ศ. 2554 พบเชื้อจุลชีพทั้งหมด 17,883 ตัวอย่าง เป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Enterobacteriaceae จำนวน 6,795 ตัวอย่าง (ร้อยละ 38.0) และพบว่าเชื้อ Enterobacteriaceae 12 ตัวอย่างมีค่าความไวต่อยา ertapenem ลดลงจากการตรวจด้วยวิธี MIC ผลตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ด้วยวิธี MHT พบว่าให้ผลบวก 9 ตัวอย่าง ดังนั้นอุบัติการณ์ของเชื้อ Enterobacteriaceae ที่ดื้อยากลุ่ม carbapenems หรือเชื้อ CRE เท่ากับ 9 ใน 6,795 ตัวอย่าง (ร้อยละ 0.13) เชื้อทั้งหมดแยกได้จากผู้ป่วย 9 ราย ชนิดของเชื้อ CRE มีดังนี้ *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae* และ *C. freundii* รายละเอียดของผู้ป่วยและเชื้อที่พบแสดงในตารางที่ 1

ผลการทดสอบความไวของเชื้อ CRE ทั้ง 9 ตัวอย่าง ต่อยาต้านจุลชีพจำนวน 19 ชนิดพบว่าเชื้อทุกตัวอย่างดื้อต่อยา ampicillin, cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime, cefepime, amoxicillin/calvulanic acid, ampicillin/salbactam และ ertapenem ที่ใช้ทดสอบ (ร้อยละ 100) ดื้อหรือดื้อปานกลางต่อยา ciprofloxacin และ piperacillin/tazobactam ร้อยละ 88.9 ดื้อหรือดื้อปานกลางต่อยา imipenem และ meropenem ร้อยละ 66.7 และ 55.5 ตามลำดับ ส่วนยา amikacin มีอัตราการดื้อยาต่ำ (ร้อยละ 22.2) และไม่พบการดื้อยา colistin ในการศึกษานี้ ผลทดสอบความไวของเชื้อ แสดงในตารางที่ 2

วิจารณ์

อุบัติการณ์ของเชื้อ Enterobacteriaceae ที่ดื้อต่อยากลุ่ม carbapenems หรือเชื้อ CRE ในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล แสดงให้เห็นว่ามีการแพร่ระบาดของเชื้อเข้ามาในประเทศไทยและระบาดในคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล โดยที่ต่างประเทศยังคงมีรายงานการระบาดเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง[18,19] แต่อุบัติการณ์ในการศึกษานี้ค่อนข้างต่ำ (ร้อยละ 0.13) เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของโรงเรียนแพทย์แห่งหนึ่งในประเทศจีน[19]

ตารางที่ 1 รายละเอียดของผู้ป่วยที่ตรวจพบเชื้อ carbapenem resistant Enterobacteriaceae (CRE)

ผู้ป่วย	เพศ	อายุ	หอผู้ป่วย	โรค	ระยะเวลารักษาในโรงพยาบาล (วัน)	ตัวอย่างตรวจ	เชื้อที่พบ	ยาต้านจุลชีพที่ผู้ป่วยเคยได้รับก่อนพบเชื้อ*
1	หญิง	83	อายุรกรรม	ไตวายเรื้อรัง เบาหวาน สมองตายจากการขาดเลือด	83	ปัสสาวะ	*K. pneumoniae*	CAZ, CIP, IPM, TZP
2	ชาย	65	อายุรกรรม	ฝีบริเวณไตและรอบ ๆ ไต ไตวายเรื้อรัง เบาหวาน	33	หนองจากช่องท้อง	*E. cloacae*	CIP, MEM, TZP
3	ชาย	81	ศัลยกรรม	ปัสสาวะไม่ออก ไตวายเรื้อรัง เบาหวาน	8	ปัสสาวะ	*E. cloacae*	CIP, CRO
4	หญิง	57	ศัลยกรรม	ลำไส้เล็กอุดตัน มะเร็งปากมดลูก	35	ปัสสาวะ	*E. coli*	CIP, IPM
5	หญิง	80	ศัลยกรรม	สมองตายจากการขาดเลือด	5	ปัสสาวะ	*K. pneumoniae*	CDR, CRO, AK, CIP
6	หญิง	59	ออร์โธปิดิกส์	กระดูกขาท่อนล่างหัก	39	ปัสสาวะ	*E. cloacae*	CZ
7	ชาย	44	อายุรกรรม	ตับแข็ง ติดเชื้อในกระแสเลือด	11	ปัสสาวะ	*C. freundii*	CIP, CRO
8	หญิง	44	นรีเวชกรรม	มะเร็งปากมดลูก	42	ปัสสาวะ	*E. cloacae*	CRO, CDR
9	ชาย	52	อายุรกรรม	มะเร็งเม็ดเลือดขาว	94	เสมหะ	*E. cloacae*	CRO, IPM, TZP

* AK = amikacin, CAZ = ceftazidime, CDR = cefdinir, CIP = ciprofloxacin, CRO = ceftriaxone, CZ = cefazolin, IPM = imipenem, MEM = meropenem, TZP = piperacillin/tazobactam

ที่พบอุบัติการณ์ของเชื้อ CRE ร้อยละ 0.9 ในปี พ.ศ. 2548 และเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วเป็นร้อยละ 12.9 ในปี พ.ศ. 2552 การที่อุบัติการณ์ของเชื้อ CRE ในคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาลค่อนข้างต่ำ อาจเกิดจากในช่วง 2-3 ปีที่ผ่านมาคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาลมีมาตรการป้องกันและควบคุมการแพร่กระจายเชื้อดื้อยาซึ่งได้ดำเนินการอย่างต่อเนื่องสำหรับเชื้อ methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* (CRAB) และ ESBL ซึ่งอาจมีผลในการลดการแพร่กระจายเชื้ออื่น ๆ รวมถึงเชื้อกลุ่มนี้ด้วย ชนิดของเชื้อ CRE ที่ตรวจพบในการศึกษานี้คือ *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae* และ *C. freundii* ซึ่งรายงานการศึกษาในต่างประเทศพบการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ในเชื้อเหล่านี้เช่นกัน[2,20] ผู้ป่วยทั้งหมด 9 รายที่พบเชื้อ CRE ส่วนใหญ่สูงอายุ เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลด้วยโรคเรื้อรังและเคยได้รับการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพก่อนพบเชื้อ เชื้อ CRE ที่พบทั้งหมดดื้อยาในกลุ่ม beta-lactams และ carbapenems ที่ทดสอบเกือบทุกชนิด และมีการดื้อยาแบบ multi drug resistant (MDR) คือดื้อยากลุ่ม beta-lactams ร่วมกับยาต้านจุลชีพกลุ่มอื่น ๆ เช่น aminoglycosides, fluoroquinolones และ co-trimoxazole ซึ่งลักษณะการดื้อยาแบบ MDR ของเชื้อ CRE ในการศึกษานี้คล้ายกับผลการศึกษาของ Bratu และคณะ[12] ที่พบการดื้อยาของเชื้อ CRE ในยากลุ่ม fluoroquinolones,

ตารางที่ 2 ความไวของเชื้อ Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae (CRE) ต่อยาต้านจุลชีพชนิดต่าง ๆ (n=9)

ยาต้านจุลชีพ	ระดับความไวต่อยาต้านจุลชีพ					
	ไวต่อยา		ดื้อยาปานกลาง		ดื้อยา	
	จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ
Ampicillin	0	0	0	0	9	100
Cefotaxime	0	0	0	0	9	100
Ceftriaxone	0	0	0	0	9	100
Ceftazidime	0	0	0	0	9	100
Cefepime	0	0	0	0	9	100
Amoxicillin/calvulanic acid	0	0	0	0	9	100
Ampicillin/salbactam	0	0	0	0	9	100
Cefoxitin	2	22.2	0	0	7	77.8
Piperacillin/tazobactam	1	11.1	1	11.1	7	77.8
Ertapenem	0	0	0	0	9	100
Imipenem	3	33.3	0	0	6	66.7
Meropenem	4	44.4	1	11.1	4	44.4
Amikacin	7	77.8	0	0	2	22.2
Gentamicin	4	44.4	0	0	5	55.6
Ciprofloxacin	1	11.1	0	0	8	88.9
Levofloxacin	2	22.2	1	11.1	6	66.7
Moxifloxacin	4	44.4	0	0	5	55.6
Trimethoprim/sulfamethoxazole	3	33.3	0	0	6	66.7
Colistin	9	100	0	0	0	0

aminoglycosides และ beta-lactams ส่วนการศึกษาของ Naas และคณะ[8] เชื้อ CRE ที่พบดื้อยาทุกชนิดยกเว้น colistin และ fosfomycin ส่วนการศึกษาของ Leavitt และคณะ[9] พบว่า เชื้อ CRE ดื้อยาทุกชนิดยกเว้น colistin และ gentamicin

จะเห็นว่าเชื้อ Enterobacteriaceae ในการศึกษานี้นอกจากดื้อยากลุ่ม carbapenems แล้วยังดื้อต่อยากลุ่มอื่นอีกหลายชนิด ซึ่งโดยทั่วไปเชื้อกลุ่ม Enterobacteriaceae มีการดื้อยาผ่านกลไกหลายรูปแบบ ที่สำคัญคือผลิตเอนไซม์ต่าง ๆ เช่น beta-lactamases, ESBL, Amp C และ carbapenemase มาทำลายยา ทำให้ยากลุ่ม beta-lactams, cephalosporins และ carbapenems ไม่สามารถออกฤทธิ์ได้ กลไกอื่น เช่น การเปลี่ยนแปลงบริเวณเป้าหมายที่ยาจะไปจับซึ่งพบในการดื้อยากลุ่ม fluoroquinolones และ ลดการนำยาเข้าสู่เซลล์พบในการดื้อยากลุ่ม aminoglycosides เป็นต้น[21] อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ไม่พบการดื้อยา colistin และเชื้อส่วนใหญ่ยังไวต่อยา amikacin จึงอาจเป็นยาทางเลือกในการนำมาใช้รักษาการติดเชื้อกลุ่มนี้ หรือกรณีที่เชื้อมีการพัฒนาจนดื้อยา colistin ในอนาคต

เนื่องจากความสำคัญของเอนไซม์ carbapenemase ทำให้มีการพัฒนาวิธีต่าง ๆ เพื่อตรวจการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ในเชื้อ Enterobacteriaceae ซึ่ง CLSI[17] ได้แนะนำวิธี Modified Hodge Test (MHT) สำหรับตรวจยืนยัน โดยวิธี MHT เป็นการตรวจลักษณะที่แสดงออกของยีนซึ่งมีความไวและความ

จำเพาะสูงกว่าร้อยละ 98[16] และสามารถตรวจได้ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทั่วไป อย่างไรก็ตามการตรวจยืนยันที่ถือเป็นมาตรฐาน (gold standard) คือวิธี polymerase chain reaction (PCR) โดยการตรวจหายีน *bla*KPC ซึ่งมีความไวและความจำเพาะสูงสุดในปัจจุบัน แต่วิธี PCR ต้องใช้เครื่องมือ อุปกรณ์ น้ำยาเฉพาะที่มีราคาสูง และใช้เวลานานจึงเป็นข้อจำกัดในการตรวจสำหรับห้องปฏิบัติการทั่วไป[6] การศึกษานี้ใช้วิธี MHT ตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ carbapenemase เพราะเป็นวิธีที่สะดวกต่อการทดสอบและค่าใช้จ่ายน้อย แต่วิธี MHT ยังมีข้อจำกัดบางประการ เช่น ไม่สามารถบอกชนิดของยีนและ class ของเอนไซม์ได้ และอาจพบผลบวกปลอมได้ในกรณีที่เชื้อสร้างเอนไซม์ ESBL ชนิด CTX-M และเอนไซม์ AmpC ซึ่งอาจจะทำลายยา ertapenem ที่ใช้ทดสอบโดยวิธีนี้ได้เช่นกัน ซึ่งในเอเชียมีรายงานการพบเอนไซม์ ESBL ชนิด CTX-M ค่อนข้างสูง[22] จึงต้องระมัดระวังในการทดสอบและแปลผล

อุบัติการณ์ของเชื้อ CRE ซึ่งดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิดในการศึกษานี้ แสดงถึงความจำเป็นที่จะต้องเผยแพร่ข้อมูลความรู้ของเชื้อและวิธีป้องกันการแพร่ระบาดให้กับบุคลากรการแพทย์ รวมถึงบุคคลที่เกี่ยวข้องได้รับทราบ ห้องปฏิบัติการควรเพิ่มการตรวจเอนไซม์ carbapenemase ในเชื้อกลุ่ม Enterobacteriaceae เป็นงานประจำเช่นเดียวกับการตรวจเอนไซม์ ESBL เพื่อเป็นประโยชน์ต่อการรักษาการติดเชื้อ การเฝ้าระวัง และควบคุมการแพร่ระบาดอย่างมีประสิทธิภาพ และน่าจะมีการศึกษาต่อถึงปัจจัยเสี่ยงในการติดเชื้อ และระบาดวิทยาของเชื้อในผู้ป่วยไทยเพื่อเป็นข้อมูลในการวางแผนป้องกันการติดเชื้อและการแพร่ระบาดของเชื้อนี้ในประเทศไทยในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนส่งเสริมวิจัยทางแพทย์ คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาลที่อนุญาตให้ดำเนินการวิจัย ขอขอบคุณคณบดีคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล และหัวหน้าภาควิชาพยาธิวิทยาคลินิกที่อนุญาตให้เสนอผลงานวิจัยนี้ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่หน่วยจุลชีววิทยาที่ช่วยเหลือ และขอขอบคุณอาจารย์และเจ้าหน้าที่ฝ่ายส่งเสริมการวิจัยที่ให้คำแนะนำในการดำเนินงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Biddle JW, Steward CD, et al. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 1151-61.
2. Bratu S, Landman D, Alam M, Tolentino E, Quale J. Detection of KPC carbapenem-hydrolyzing enzymes in Enterobacter spp. from Brooklyn, New York. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 776-8.
3. Hong TE, Moland ES, Abdalhamid B, Hanson ND, Wang J, Sloan C, et al. *Escherichia coli*: development of carbapenem resistance during therapy. Clin Infect Dis 2005; 40: e84-6.
4. Miriagou V, Tzouvelekis LS, Rossiter S, Tzelepi E, Angulo FJ, Whichard JM. Imipenem resistance in a Salmonella clinical strain due to plasmid-mediated class A carbapenemase KPC-2. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 1297-300.
5. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guidance for control of infections with carbapenem-resistant or carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in acute care facilities. Morb Mortal Wkly Rep 2009; 58: 256-60.
6. Martinez-Martinez L, Pascual A, Hernández-Allés S, Alvarez-Diaz D, Suárez AI, Tran J, et al. Roles of beta-lactamases and porins in activities of carbapenems and cephalosporins against *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 1669-73.
7. Cao VT, Arlet G, Ericsson BM, Tammelin A, Courvalin P, Lambert T. Emergence of imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* owing to combination of plasmid-mediated CMY-4 and permeability alteration. J Antimicrob Chemother 2000; 46: 895-900.

8. Naas T, Nordmann P, Vedel G, Poyart C. Plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase KPC in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from France. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 4423-4.
9. Leavitt A, Navon-Venezia L, Chmelnitsky I, Schwaber MJ, Carmeli Y. Emergence of KPC-2 and KPC-3 in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains in an Israeli hospital. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51: 3026-9.
10. Villegas MV, Lolans K, Correa A, Suarez CJ, Lopez JA, Vallejo M, et al: Colombian Nosocomial Resistance Study Group. First detection of the plasmid-mediated class A carbapenemase KPC-2 in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from South America. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50: 2880-2.
11. Wei ZQ, Du XX, Yu YS, Shen P, Chen YG, Li LJ. Plasmid-mediated KPC-2 in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from China. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51: 763-5.
12. Bratu S, Landman D, Haag R, Recco R, Eramo A, Alam M, et al. Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium. Arch Intern Med 2005; 165: 1430-5.
13. Doménech-Sánchez A, Pascual A, Suárez AI, Alvarez D, Benedi VJ, Martinez-Martinez L. Activity of nine antimicrobial agents against clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum beta-lactamases and deficient or not in porins. J Antimicrob Chemother 2000; 46: 858-9.
14. Shannon K, Stapleton P, Xiang X, Johnson A, Beattie H, El Bakri F, et al. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains causing nosocomial outbreaks of infection in the United Kingdom. J Clin Microbiol 1998; 36: 3105-10.
15. Phumisantiphong U, Diraphat P, Utrarachkij F, Uaratanawong S, Siripanichgon K. Clonal spread of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* in the patients and their environment at BMA Medical College and Vajira Hospital. J Med Assoc Thai 2009; 92 suppl 7: S173-80.
16. Lee K, Chong Y, Shin HB, Kim YA, Yong D, Yum JH. Modified Hodge and EDTA-disk synergy tests to screen metallo-lactamase-producing strains of Pseudomonas and Acinetobacter species. Clin Microbiol Infect 2001; 7: 88-91.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 19th Informational Supplement. M100-S19. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009.
18. Elizabeth BH, Vincent HT. Detection and treatment options for *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemases (KPCs): an emerging cause of multidrug-resistant infection. J Antimicrob Chemother 2010; 65: 1119-25.
19. Chen S, Hu F, Xu X, Liu Y, Wu W, Zhu D, et al. High prevalence of KPC-2 type carbapenemase coupled with CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a teaching hospital in China. Antimicrob Agents Chemother 2011; 55: 2493-4.
20. Anderson KF, Lonsway DR, Rasheed JK, Biddle J, Jensen B, McDougal LK, et al. Evaluation of methods to identify the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase in Enterobacteriaceae. J Clin Microbiol 2007; 45: 2723-5.
21. Carattoli A. Resistance plasmid families in Enterobacteriaccae. Antimicrob Agents Chemother 2009; 53: 2227-38.
22. Carvalhaes CG, Picão RC, Nicoletti AG, Xavier DE, Gales AC. Cloverleaf test (modified Hodge test) for detecting carbapenemase production in *Klebsiella pneumoniae*: be aware of false positive results. J Antimicrob Chemother 2010; 65: 249-51.