



สถานการณ์เครื่องดื่มปนเปื้อนเชื้อพีคัลโคลิฟอร์มและรูปแบบความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อพีคัลโคลิฟอร์มในเครื่องดื่มที่จำหน่ายในชุมชนชอยสังคโลก

อภิญญา พุ่มพวง วท.ม.^{1#} อภิญญา ชีวะพันธ์ วท.ม.^{2#}

จิตรวิทย์ อำนวยผล³ ญาณิศา ศุภศิริสันต์³ ฐานมาศ เตียวรัตนกุล³ นิชากร พิเดช³

นลิน สัมปณณะโชติ³ ศิวรัตน์ รัตนธนะเสถียร³ สรียุภา ผิวเกลี้ยง³ ศิริพรรณ บุญศิลป์ ปร.ด.^{1*}

¹ ภาควิชาพยาธิวิทยาคลินิก คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

² ภาควิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์พื้นฐาน คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

³ นักศึกษาแพทย์ คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

ผู้มีหน้าที่ร่วมกัน

* ผู้ติดต่อ Email: boonsilp.s@gmail.com

Vajira Med J. 2017; 61(2): 75-82

<http://dx.doi.org/10.14456/vmj.2017.8>

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: 1). วิเคราะห์คุณภาพเครื่องดื่มร้านค้าที่จำหน่ายภายในชุมชนในชอยสังคโลก เขตดุสิต กรุงเทพฯ 2). สำรวจความชุกของเชื้อโคลิฟอร์มจากเครื่องดื่ม และ 3) ศึกษาแบบการดื้อยาต้านจุลชีพ

วิธีการดำเนินการวิจัย: เก็บตัวอย่างเครื่องดื่มจากทุกร้านค้าที่จำหน่ายภายในชุมชนในชอยสังคโลกทั้งหมด จำนวน 36 ตัวอย่าง ตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาโดยวิธี multiple tubes fermentation technique จำแนกเชื้อพีคัลโคลิฟอร์มโดยทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีและทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพของแบคทีเรียโคลิฟอร์มโดยวิธี agar disk diffusion

ผลการวิจัย: สำรวจพบเครื่องดื่มปนเปื้อนเชื้อพีคัลโคลิฟอร์มเกินเกณฑ์มาตรฐานจำนวนร้อยละ 50 (18/36) เป็นตัวอย่างประเภทน้ำแข็งร้อยละ 72.22 (13/18) เครื่องดื่มพร้อมบริโภคร้อยละ 27.78 (5/18) แยกเชื้อพีคัลโคลิฟอร์มจากเครื่องดื่มจำนวน 164 ไอโซเลต ประกอบด้วย *Klebsiella pneumoniae* 103 ไอโซเลต (ร้อยละ 62.80), *Escherichia coli* 52 ไอโซเลต (ร้อยละ 31.71) และพีคัลโคลิฟอร์มอื่น ๆ 9 ไอโซเลต (ร้อยละ 5.49) เชื้อส่วนใหญ่ดื้อต่อยา ampicillin ร้อยละ 18.90 (31/164), trimethoprim/sulfamethoxazole ร้อยละ 9.76 (16/164), ciprofloxacin ร้อยละ 9.15 (15/164), cefotaxime ร้อยละ 7.32 (12/164) พบพีคัลโคลิฟอร์มที่สร้าง เอนไซม์ extended spectrum beta-lactamases จำนวน 7 ไอโซเลต และพบเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพหลายกลุ่ม (multidrug resistant) ในเครื่องดื่ม

สรุป: ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเครื่องดื่มมีการปนเปื้อนเชื้อพีคัลโคลิฟอร์มเกินเกณฑ์มาตรฐานร้อยละ 50 โดยส่วนใหญ่เป็นน้ำแข็ง เครื่องดื่มขงร้อนทั้งหมดผ่านเกณฑ์มาตรฐาน เชื้อส่วนใหญ่เป็นชนิด *Klebsiella pneumoniae* และ *Escherichia coli* พบเป็นสายพันธุ์ดื้อยาปฏิชีวนะแบบ multidrug resistance และ ESBLs ควรมีการเฝ้าติดตามเพื่อหาหนโยบายลดการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาในชุมชนต่อไป



Prevalence and Antibiotic Susceptibility Profile of Fecal Coliform Isolated from Beverage Sold in Sangkhalok Community

Apinya pumpuang M.Sc^{1#} Apinya Cheewaphan M.Sc^{2#}

Jittiwat Amnouypon³ Yanisa Supasirisun³ Thanamas Teawrattanakul³ Nichakorn Pidet³

Nalin Sampoonyachote³ Sivarat Ratthanasathian³ Sareeya Pewklieng³ Siriphan Boonsilp Ph.D^{1*}

¹ Department of Clinical Pathology, Faculty of Medicine, Vajira Hospital, Navamindradhiraj University. Bangkok, Thailand

² Department of Basic Medical Science, Faculty of Medicine, Vajira Hospital, Navamindradhiraj University. Bangkok, Thailand

³ Medical student, Faculty of Medicine, Vajira Hospital, Navamindradhiraj University. Bangkok, Thailand

Contributed equally

* Corresponding author, email address: boonsilp.s@gmail.com

Vajira Med J. 2017; 61(2): 75-82

<http://dx.doi.org/10.14456/vmj.2017.8>

Abstract

Objectives: The aims of this study were: 1) to assess the microbial quantity of beverages sold in Sangkhalok community, 2) to establish the prevalence of fecal coliforms in beverages, and 3) to study the antimicrobial susceptibility pattern of fecal coliform in beverages

Methods: Thirty-six sample beverages sold in Sangkhalok community were collected. They were tested for the presence of fecal coliforms using the multiple tubes fermentation technique (MPN). Fecal coliforms from contaminated beverages were isolated and identified by using biochemical testing. Antimicrobial susceptibility tests were performed with eight antibiotic agents by agar disk diffusion.

Results: Of 36 samples, 50%, including ice 72.22% (13/18) and cold beverages 27.78% (5/18), were contaminated with fecal coliform at above standard level. A total 164 fecal coliforms were isolated and identified as *Klebsiella pneumoniae* (62.80%), *Escherichia coli* (31.71%), and other coliform (5.49%). Susceptibility testing against to eight antibiotic agents showed that fecal coliform were highly resistant to ampicillin (18.90%), trimethoprim/sulfamethoxazole (9.76%), ciprofloxacin (9.15%), and cefotaxime (7.32%). Seven isolates were regarded as extended-spectrum beta-lactamase producing bacteria. We reported the presence of multidrug resistance fecal coliforms in beverages.

Conclusion: The current study revealed that contaminated beverages accounted for upto 50% of all beverages. Ice was the most contaminated with coliforms. All hot beverages met the standard microbiological criteria. The most common coliform was identified as *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* which were multidrug resistant and ESBL-producing bacteria. This study provided data to promote awareness and to set policies to monitor for the prevention of widespread antibiotic-resistant fecal coliforms in the community.

Keywords: Fecal coliform, beverages, antibiotic resistant coliform

บทนำ

ประเทศไทยมีที่ตั้งอยู่ในเขตร้อนมีสภาพอากาศร้อนชื้น ประชาชนนิยมดื่มเครื่องดื่มและน้ำแข็งเพื่อช่วยคลายร้อน สภาพอากาศที่ร้อนเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อโรค การผลิตเครื่องดื่ม หรือน้ำแข็ง ที่ไม่สะอาดมีโอกาสปนเปื้อนเชื้อก่อโรคท้องร่วงได้สูง โรคอุจจาระร่วงยังคงเป็นปัญหา และมีรายงานต่อเนื่องในประเทศไทย สำนักระบาดวิทยา รายงานสถานการณ์โรคอุจจาระร่วงในปี 2557 พบผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วงเฉียบพลัน 987,486 ราย อัตราป่วย 1,532.01 ต่อประชากรแสนคน มีผู้เสียชีวิตจำนวน 9 ราย สภาพสังคมเมือง ในปัจจุบันประชาชนส่วนใหญ่ทำงานนอกบ้าน เร่งรัดแข่งขันกับเวลาจึงหาซื้ออาหารและเครื่องดื่มบริโภคที่ร้านค้าจัดจำหน่าย สุนัขลักษณะของผู้ประกอบอาหาร เครื่องดื่ม นับว่าเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องเฝ้าระวังและควบคุมให้ปฏิบัติตามถูกสุขลักษณะเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคและตนเอง สำนักงานคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขได้เฝ้าระวังควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยของเครื่องดื่มเป็นประจำทุกปี โดยใช้เกณฑ์ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่ามาตรฐานเครื่องดื่มให้ตรวจพบเชื้อฟีคัลโคลิฟอร์มได้ไม่เกิน MPN 2.2 /ml และต้องไม่พบเชื้อ *Escherichia coli* โดยแบคทีเรียโคลิฟอร์มเป็นตัวชี้แนะ (biological indicator) ว่าการตรวจพบแบคทีเรียก่อโรคท้องร่วงมักจะต้องพบแบคทีเรียโคลิฟอร์มร่วมด้วย จำนวนแบคทีเรียโคลิฟอร์มแปรผันตามจำนวนของแบคทีเรียก่อโรค¹ หากมีค่าปนเปื้อนเกินกว่าที่กำหนดบ่งบอกถึงการปนเปื้อนของเชื้อก่อโรคอุจจาระร่วงมาก เชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารได้แก่ *Salmonella* spp., *Shigella* spp., pathogenic *Escherichia coli* และ *Vibrio* spp. เป็นต้น สถานการณ์การตรวจพบ อาหาร น้ำและเครื่องดื่มพบเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนไม่ได้มาตรฐานยังมีการรายงานอย่างต่อเนื่อง²⁻⁷ นับว่าการตรวจคุณภาพน้ำดื่มทางจุลชีววิทยานั้นมีความจำเป็นต้องเฝ้าระวังติดตามอย่างต่อเนื่องเพื่อเป็นแนวทางชี้แนะแก้ไขควบคุมขบวนการผลิตเพื่อลดอุบัติการณ์เกิดโรคอุจจาระร่วง

แบคทีเรียกลุ่มฟีคัลโคลิฟอร์มเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง ไม่สร้างสปอร์ เชื้อกลุ่มนี้อาศัยอยู่ในลำไส้ของมนุษย์ และพบได้ตามสิ่งแวดล้อมทั้งในน้ำ ดิน และ ในพืชผักที่ใช้

ประกอบอาหาร ทางห้องปฏิบัติการใช้แบคทีเรียโคลิฟอร์มเป็นดัชนีชี้วัดการปนเปื้อนอุจจาระในน้ำและเครื่องดื่ม¹ นอกจากนี้แบคทีเรียกลุ่มฟีคัลโคลิฟอร์มที่พบก่อโรคในคน ได้แก่ *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. และ *Citrobacter* spp. เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่สามารถปรับตัวดื้อต่อยาปฏิชีวนะ สามารถถ่ายทอดยีนดื้อยาให้กับแบคทีเรียข้างเคียงข้ามสายพันธุ์กันได้ (horizontal transfer)⁸ มีรายงานแบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์มที่แยกได้จาก มนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อม ปรับตัวดื้อต่อยาต้านจุลชีพได้หลายชนิด^{9, 10} ดังนั้นหากยังมีการใช้ยาต้านจุลชีพเกินความจำเป็นอย่างต่อเนื่องโดยมิได้ควบคุม อาจส่งผลให้เชื้อดื้อยาแพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อมและชุมชน ส่งผลต่อการเลือกยารักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อในอนาคต เพื่อเป็นการเฝ้าระวังการเกิดโรคอุจจาระร่วงในบริเวณชุมชน ชอยสังคโลกและเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเชื้อโคลิฟอร์มดื้อยาต้านจุลชีพ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ตรวจคุณภาพเครื่องดื่ม หาความชุกเชื้อโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนในเครื่องดื่ม สำนวความชุกเชื้อโคลิฟอร์มรูปแบบการดื้อยาต้านจุลชีพของแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในเครื่องดื่ม เพื่อเป็นข้อมูลเฝ้าระวังควบคุมการแพร่กระจายของเชือดังกล่าวในชุมชนและโรงพยาบาล รวมทั้งให้ความรู้เกี่ยวกับขบวนการผลิต และการจัดเก็บเครื่องดื่มบริโภคที่ถูกสุขลักษณะแก่ผู้ประกอบการ

วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บตัวอย่างเครื่องดื่ม

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยสำรวจตัวอย่างและทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ ผู้วิจัยซื้อเครื่องดื่มจำนวน 36 ตัวอย่างจากทุกร้านค้าที่บริการจำหน่ายในบริเวณชุมชนในชอยสังคโลก จำนวน 16 ร้านค้า เกณฑ์การเลือกตัวอย่างทดสอบเป็นน้ำแข็ง เครื่องดื่มขงร้อน และ เครื่องดื่มขงเก็บใส่ภาชนะพร้อมบริโภค ตัวอย่างเครื่องดื่มที่ไม่นำมาตรวจสอบได้แก่เครื่องดื่มบรรจุกระป๋อง หรือเครื่องดื่มบรรจุขวดที่ปิดผนึก

การวิเคราะห์คุณภาพเครื่องดื่มทางด้านจุลชีววิทยา

ตรวจหาปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ฟีคัลโคลิฟอร์ม และ *Escherichia coli* ที่ปนเปื้อนในเครื่องดื่ม โดยวิธีการ most probable number (MPN) ในระบบ 5 หลอด มี 3 ขั้นตอนคือ

1) การตรวจสอบขั้นประมาณการ (presumptive test) ตรวจหาปริมาณเชื้อแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มในเครื่องดื่ม โดยนำตัวอย่างปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด double-strength lauryl tryptose broth จำนวน 5 หลอด นำตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร และ 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด single-strength lauryl tryptose broth ปริมาตรละ 5 หลอด บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ผลบวกคือเกิดการดัดสีในหลอดดักก๊าซ (Durham tube)

2) การตรวจสอบขั้นยืนยัน (confirmed test) ตรวจหาเชื้อแบคทีเรียกลุ่มฟีคัลโคลิฟอร์มในเครื่องดื่ม โดยนำหลอดที่ให้ผลบวกจากขั้นตอน Presumptive test ทุกหลอด หยดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ brilliant green lactose bile broth (BGLB) บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ผลบวกคือเกิดการดัดสีในหลอดดักก๊าซ (Durham tube)

3) การตรวจสอบขั้นสมบูรณ์ (complete test) สำหรับตรวจหาเชื้อ *Escherichia coli* นำหลอด BGLB broth ที่ให้ผลบวกหยดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อชนิด EC broth ในบ่มที่อุณหภูมิ 45.5°C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ผลบวกคือเกิดการดัดสีในหลอดดักก๊าซ (Durham tube) นำหลอด EC broth ที่ให้ผลบวกเพาะเลี้ยงบน Eosin Methylene Blue Agar (EMB agar) เชื้อ *Escherichia coli* มีลักษณะสีม่วงดำ มีนวลคล้ายโลหะ (metallic sheen)

วิเคราะห์คุณภาพเครื่องดื่มตามเกณฑ์ประกาศกระทรวงสาธารณสุขต้องมีค่าฟีคัลโคลิฟอร์มปนเปื้อนน้อยกว่า 2.2 MPN/100 มิลลิลิตร และไม่พบการปนเปื้อนเชื้อ *Escherichia coli*

การตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อฟีคัลโคลิฟอร์มที่แยกได้จากเครื่องดื่ม

เชื้อฟีคัลโคลิฟอร์มจากเครื่องดื่มที่มีการปนเปื้อนไม่ได้มาตรฐานทั้งหมด นำมาตรวจสอบวินิจฉัยจำแนกประเภทเชื้อโดยตรวจสอบทางชีวเคมี 4 การทดสอบดังนี้ indole test, Voges-Proskauer (VP) test, methyl red test และ citrate test

รูปแบบความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อฟีคัลโคลิฟอร์ม

นำเชื้อฟีคัลโคลิฟอร์มและ *E. coli* ที่แยกได้ทั้งหมด มาทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพจำนวน 8 ชนิดดังนี้ ampicillin (AMP), cefoxitin (FOX), ertapenem (ETP), trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT), ciprofloxacin (CIP), gentamycin (GN), cefotaxime (CTX) และ ceftazidime (CAZ) ตรวจสอบอ่านผลการทดลองตามวิธีมาตรฐานของ Clinical Laboratory standard Institute (CLSI, 2014)

ตรวจสอบเชื้อสร้าง เอนไซม์ extended spectrum beta-lactamases (ESBLs) โดยวิธี combination disk diffusion method อ่านผลโดยการวัดความแตกต่างระหว่าง inhibition zone ของยา ceftazidime (CAZ) และ ceftazidime - clavulanic acid (CAC) หรือวัดความแตกต่างระหว่าง inhibition zone ของยา cefotaxime (CTX) และ cefotaxime - clavulanic acid (CEC) ถ้ามีความต่างมากกว่าหรือเท่ากับ 5 มิลลิเมตร แสดงว่าเชื้อมีการสร้าง เอนไซม์ ESBLs

ผลการวิจัย

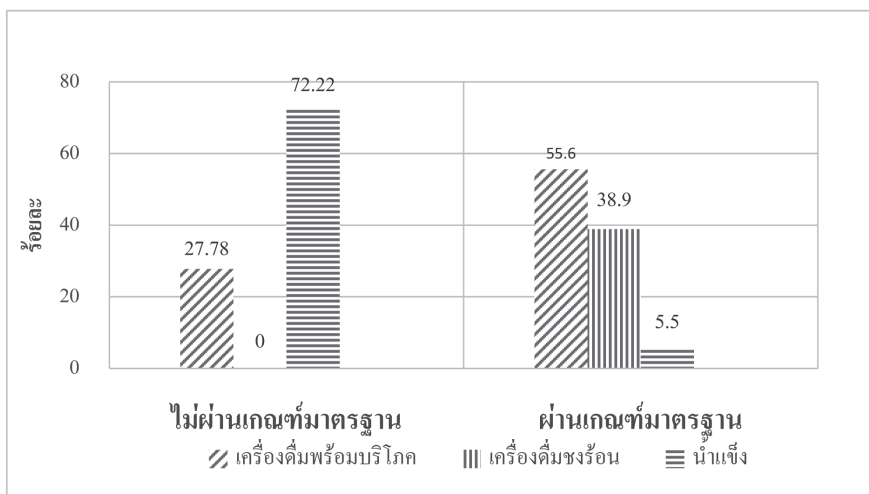
วิเคราะห์คุณภาพเครื่องดื่มทางจุลชีววิทยา

งานวิจัยนี้เก็บเครื่องดื่มที่จำหน่ายภายในคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาลและชุมชนในซอยสังคโลก จำนวนทั้งสิ้น 36 ตัวอย่าง แบ่งประเภทเป็นน้ำแข็ง เครื่องดื่มชงร้อน และ เครื่องดื่มพร้อมบริโภคจำนวน 14, 7 และ 15 ตัวอย่าง ตามลำดับ วิเคราะห์คุณภาพเครื่องดื่มตามเกณฑ์มาตรฐานประกาศกระทรวงสาธารณสุข ว่าด้วยเครื่องดื่มที่ได้มาตรฐานปลอดภัยต่อผู้บริโภคต้องมีค่าฟีคัลโคลิฟอร์มปนเปื้อนไม่เกิน 2.2 MPN/100 มิลลิลิตรและไม่พบการปนเปื้อนเชื้อ *Escherichia coli* พบเครื่องดื่มไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานโดยพบเชื้อฟีคัลโคลิฟอร์มปนเปื้อนเกินมาตรฐานจำนวนร้อยละ 50.00 (18/36) เป็นน้ำแข็งร้อยละ 72.22 (13/18) เครื่องดื่มพร้อมบริโภคร้อยละ 27.78 (5/18) ไม่พบการปนเปื้อนในเครื่องดื่มชงร้อน เครื่องดื่มที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานมีจำนวนร้อยละ 50.00 (18/36) เป็นน้ำแข็งร้อยละ 5.5 (1/18) เครื่องดื่มพร้อมบริโภคร้อยละ 55.6 (10/18) และเครื่องดื่มชงร้อนร้อยละ 38.9 (7/18) (รูปที่ 1)

ข้อมูลความชุกของเชื้อฟีคัลโคลิฟอร์มจากเครื่องดื่ม

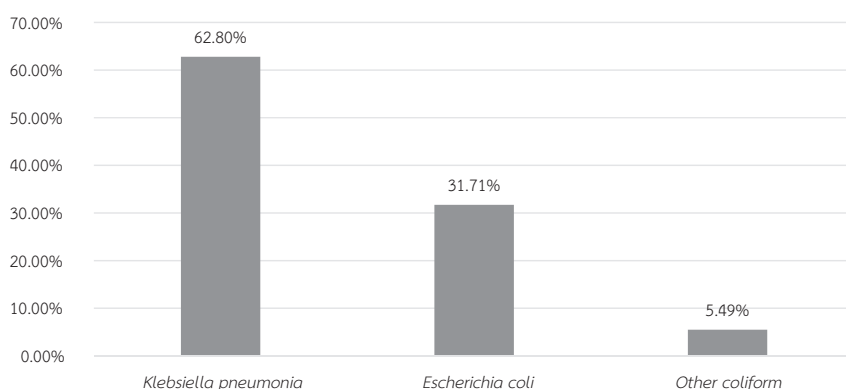
จากการสำรวจตรวจเชิ้อปนเปื้อนฟีคัลโคลิฟอร์มจากเครื่องดื่มจำนวน 36 ตัวอย่าง แยกเชื้อฟีคัลโคลิฟอร์มปนเปื้อนในเครื่องดื่มทั้งหมดได้ 164 ไอโซเลต ผลการทดสอบคุณสมบัติ

ทางชีวเคมีวินิจฉัยเชื้อได้เป็น *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* และ เชื้อฟีคัลโคลิฟอร์มอื่น ๆ คิดเป็นจำนวนร้อยละ 62.80 (103/164), 31.71 (52/164) และ 5.49 (9/164) ตามลำดับ (รูปที่ 2)



รูปที่ 1:

แสดงจำนวนเครื่องดื่มที่คุณภาพผ่านเกณฑ์มาตรฐานและจำนวนตัวอย่างที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน



รูปที่ 2:

ข้อมูลความชุกของเชื้อฟีคัลโคลิฟอร์มที่แยกได้จากเครื่องดื่ม

ความชุกของการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อฟีคัลโคลิฟอร์ม

ผลการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพของแบคทีเรียกลุ่มฟีคัลโคลิฟอร์มที่แยกได้จากเครื่องดื่มจำนวน 164 ไอโซเลต พบเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพได้รับภายหลัง (acquire resistance) จำนวนร้อยละ 27.44 (45/164) ต่อดื้อ ampicillin, cefoxitin, trimethoprim/sulfamethoxazole, ciprofloxacin, gentamycin, cefotaxime, ceftazidime คิดเป็นจำนวนร้อยละ 18.90 (31/164) , 1.22 (2/164), 9.77

(16/164), 9.15 (15/164), 4.88 (8/164), 7.32 (12/164) และ 1.22 (2/164) ตามลำดับ ข้อมูลความชุกการดื้อยาของเชื้อฟีคัลโคลิฟอร์มแต่ละชนิดแสดงในตารางที่ 1 เนื่องจากงานวิจัยนี้สำรวจความชุกของเชื้อดื้อยาที่มีกลไกได้รับตามหลังเท่านั้น สำหรับเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* มีกลไกการดื้อ ampicillin โดยธรรมชาติอยู่แล้ว (natural resistance) จึงไม่นำข้อมูลการดื้อยา ampicillin ของ *K. pneumoniae* มาวิเคราะห์ร่วม

ตารางที่ 1:

ความชุกของเชื้อแบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์มต่อสารต้านจุลชีพ

	จำนวนเชื้อดื้อยา n(%)		
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (N = 103)	<i>Escherichia coli</i> (N = 52)	Other fecal coliform (N = 9)
Ampicillin	60.37 (99)*	17.07 (28)	1.83 (3)
Cefoxitin	0.61 (1)	0 (0)	0.61 (1)
Ertapenem	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Trimethoprim/sulfamethoxazole	1.83 (3)	7.93 (13)	0 (0)
Ciprofloxacin	4.88 (8)	4.27 (7)	0 (0)
Gentamycin	0.61 (1)	4.27 (7)	0 (0)
Cefotaxime	2.44 (4)	4.88 (8)	0 (0)
Ceftazidime	0 (0)	1.22 (2)	0 (0)

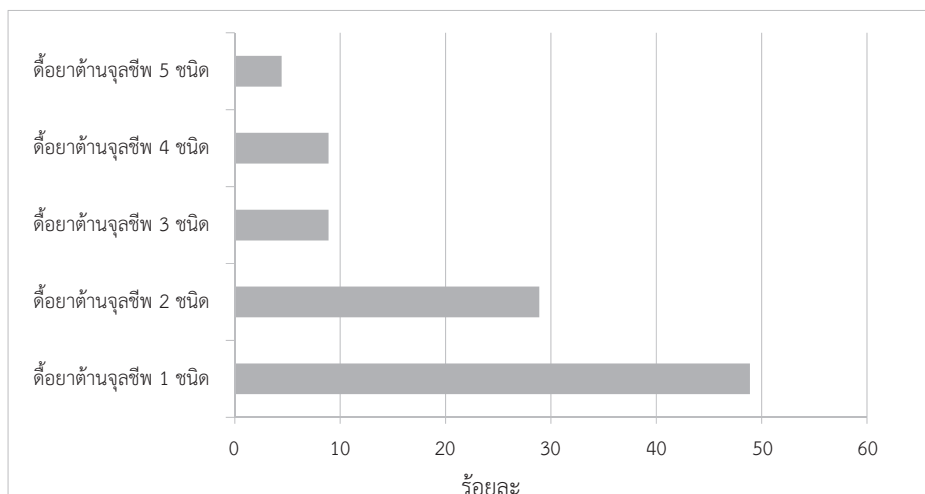
* หมายถึง เชื้อ *Klebsiella pneumoniae* มีกลไกการดื้อ ampicillin ตามธรรมชาติ (natural resistance)

รูปแบบการดื้อยาด้านจุลชีพ

จากเชื้อดื้อยาทั้งหมดจำนวน 45 ไอโซเลต พบรูปแบบการดื้อยาจำนวน 5 แบบ คือ รูปแบบ 1: ดื้อยาด้านจุลชีพ 1 ชนิด มีจำนวนร้อยละ 48.89 (22/45), รูปแบบ 2: ดื้อยาด้านจุลชีพ 2 ชนิด: มีจำนวนร้อยละ 28.89 (13/45), รูปแบบ 3: ดื้อยาด้านจุลชีพ 3 ชนิด: มีจำนวนร้อยละ 8.89 (4/45), รูปแบบ 4: ดื้อยาด้านจุลชีพ 4 ชนิด: มีจำนวนร้อยละ 8.89 (4/45) และ รูปแบบ 5: ดื้อยาด้านจุลชีพ 5 ชนิด: มีจำนวนร้อยละ 4.44 (2/45) ตามภาพที่ 3

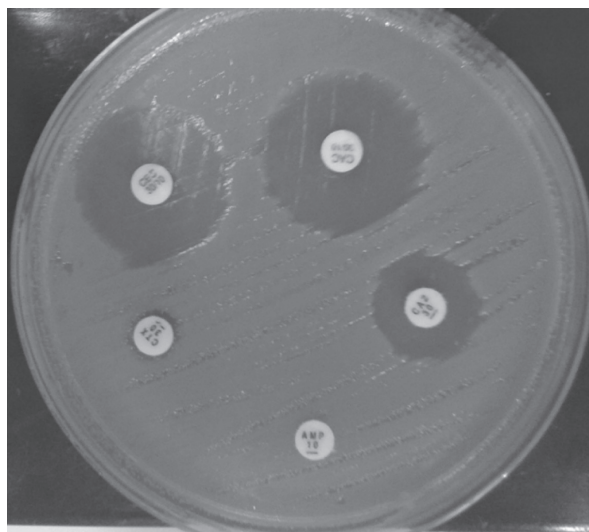
ความชุกของเชื้อฟีคัลโคลิฟอร์มที่สร้าง เอนไซม์ ESBLs

จากการสำรวจตรวจหาแบคทีเรียสร้างเอนไซม์ ESBL จากเชื้อทั้งหมดจำนวน 164 ไอโซเลต ตรวจหาโดยวิธี combination disk diffusion method (ภาพที่ 4) พบแบคทีเรียที่สามารถสร้าง เอนไซม์ ESBLs ได้จำนวน 7 ไอโซเลต ทั้งหมดนี้ตรวจพบได้จากเชื้อ *Escherichia coli* มีความชุกคิดเป็นร้อยละ 4.27 (7/164)



รูปที่ 3:

รูปแบบการดื้อยาด้านจุลชีพของแบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์มจากเครื่องดื่ม



รูปที่ 4: แสดงการตรวจสอบแบคทีเรียโคลิฟอร์มที่สร้าง เอนไซม์ ESBLs โดย inhibition zone ของแผ่นยาที่มีกรด clavulanic (CEC และ CAC) กว้างกว่าแผ่นยาที่ไม่มีกรด clavulanic (CTX และ CAZ) มากกว่าหรือเท่ากับ 5 มิลลิเมตร

วิจารณ์

จากการสำรวจเก็บตัวอย่างเครื่องดื่มจากร้านค้าในเขตชุมชนชอยสังคโลก จำนวนทั้งหมด 36 ตัวอย่าง พบว่า เครื่องดื่มประเภทชงร้อนทั้งหมด มีคุณภาพอยู่ในเกณฑ์ได้มาตรฐานเหมาะแก่การบริโภค สำหรับเครื่องดื่มไม่ได้มาตรฐานจำนวนร้อยละ 50 ของตัวอย่างทั้งหมด ส่วนใหญ่เป็นน้ำแข็งที่ไม่เหมาะสมต่อการบริโภค อันอาจทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารได้ ให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ ตรวจพบแบคทีเรียโคลิฟอร์มปนเปื้อนในเครื่องดื่มเกินเกณฑ์มาตรฐานที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนดไว้ สาเหตุการปนเปื้อนอาจมาจากกระบวนการผลิต อุปกรณ์ไม่สะอาด สุขอนามัยของผู้ประกอบการ ตลอดจนความสะอาดของภาชนะและสิ่งแวดล้อม^{5,7} โครงการวิจัยนี้จัดทำเอกสารแนะนำการผลิต จัดเก็บ รักษา น้ำแข็งที่ได้มาตรฐานให้กับผู้ประกอบการเพื่อผลิตเครื่องดื่มที่ได้มาตรฐานถึงมือผู้บริโภค

แบคทีเรียพีคัลโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนในเครื่องดื่มวิเคราะห์เชื้อได้ส่วนใหญ่เป็น *Klebsiella pneumoniae* และ *Escherichia coli* เชื้อทั้งสองชนิดนี้สามารถก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในมนุษย์ได้ทุกระบบของร่างกาย ความก้าวหน้าวิทยาการทางการแพทย์มีการใช้ยาปฏิชีวนะเพิ่มขึ้นทั้งในมนุษย์ สัตว์และสิ่งแวดล้อมจนบางครั้งใช้เกินความจำเป็นจน

เชื้อแบคทีเรียสามารถปรับตัวดื้อยาปฏิชีวนะและแพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อมได้ ดังนั้นจึงไม่แปลกที่งานวิจัยนี้ตรวจพบเชื้อพีคัลโคลิฟอร์มที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายกลุ่ม multidrug resistance (MDR) พบเชื้อที่สร้าง เอนไซม์ ESBLs ในเครื่องดื่มและน้ำแข็ง เชื้อดื้อยาเหล่านี้สามารถแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนสารพันธุกรรมยีนดื้อยาปฏิชีวนะที่อยู่บน plasmid ให้กับแบคทีเรียตัวอื่น ๆ ได้ตามแนวราบ (horizontal transfer) ส่งผลให้เชื้อสายพันธุ์ดื้อยาแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว การใช้ยาปฏิชีวนะกับมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อมเกินความจำเป็น เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการคัดเลือกเชื้อสายพันธุ์ดื้อยาให้มีจำนวนเพิ่มมากขึ้น หากมนุษย์ติดเชื้อมีแนวโน้มอัตราการป่วยและเสียชีวิตสูง มีค่าใช้จ่ายในการรักษาเพิ่มขึ้นเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อที่พบได้บ่อยทั้งในชุมชนและโรงพยาบาล หากไม่มีการเฝ้าระวังและหาหนโยบายเพื่อควบคุมอาจทำให้มีการระบาดเพิ่มขึ้นและมีผลต่อการรักษาโรคติดเชื้อในอนาคต

สรุป

จากตัวอย่างเครื่องดื่มและน้ำแข็งทั้งหมดที่ทำการทดสอบหาคุณภาพทางจุลชีววิทยาในงานวิจัยครั้งนี้ พบการปนเปื้อนพีคัลโคลิฟอร์มเกินเกณฑ์มาตรฐานร้อยละ 50 ส่วนใหญ่เป็นน้ำแข็ง เครื่องดื่มชงร้อนทั้งหมด

ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน เชื้อพีคัลโคลิฟอร์มที่พบส่วนใหญ่เป็นชนิด *K. pneumoniae* และ *E. coli* พบเป็นสายพันธุ์ดื้อยาปฏิชีวนะแบบ multidrug resistance และ ESBLs ควรมีการเฝ้าติดตามเพื่อหานโยบายลดการแพร่กระจายเชื้อดื้อยาในชุมชนต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก ฝ่ายส่งเสริมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช เป็นส่วนสำคัญที่ทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบคุณ ภาควิชาพยาธิวิทยาคลินิก คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช ที่ให้โอกาสและเอื้อเฟื้อสถานที่ทำการวิจัยครั้งนี้ และ ขอขอบคุณ ผศ.ดร. อารยา ชูสัตยานนท์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และ ดร. นฤมล บุญมัน คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา ที่อุปการะอุปกรณ์บางส่วนในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. (APHA) APHA. Standard Methods for the examination of water and wastewater (19th ed.). APHA: Washington DC. 1995.
2. ปิยะรัตน์ ภูมิโคก. การปนเปื้อนของอาหาร น้ำดื่ม และ ภาชนะ ในสถานสงเคราะห์เด็กกรุงเทพมหานครและปริมณฑล [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต]. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2547.
3. ดาริวรรณ เศรษฐีธรรม, เนตรนภา เจียรระเม. สถานการณ์การปนเปื้อนจุลินทรีย์ในน้ำดื่ม เครื่องดื่มและภาชนะที่ให้บริการในโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล จังหวัดมหาสารคาม. วารสารวิจัยสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 2555;3:87-96.
4. นัยนา หาญโรตม, นัยนา ใช้เทียมวงศ์และชัยเลิศ กิ่งแก้วเจริญชัย. ของเชื้อจุลินทรีย์ใน เครื่องดื่มที่จำหน่ายในศูนย์อาหารของห้างสรรพสินค้า. กรุงเทพฯ: กองสุขาภิบาลอาหาร และน้ำ กรมอนามัยกระทรวงสาธารณสุข: 2548.
5. อาษามะ ตาหมี. การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ Coliform Bacteria และ Escherichia coli ในน้ำแข็งที่จำหน่ายในตำบลบ้านคู อำเภอมืองเชียงราย. เชียงราย: โปรแกรมวิชา ชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย: 2548.
6. สำนักสารนิเทศ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข. กรมวิทย์ฯ เผยผลตรวจเครื่องดื่มในโรงเรียนทั่วประเทศ [อินเทอร์เน็ต]. กรุงเทพฯ: สำนักสารนิเทศ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข; 2551 [เข้าถึงเมื่อ 18 ต.ค. 2557]. เข้าถึงได้จาก: http://www.moph.go.th/ops/iprg/include/admin_hotnew/show_hotnew.php?idHot_new=29251.
7. กลุ่มสื่อสารสาธารณะและภาคีเครือข่ายสำนักโรคติดต่อทั่วไป. การรับประทานน้ำแข็งอย่างปลอดภัยในช่วงฤดูร้อน [อินเทอร์เน็ต]. สุรินทร์: กลุ่มสื่อสารสาธารณะและภาคีเครือข่ายสำนักโรคติดต่อทั่วไป; 2557 [เข้าถึงเมื่อ 18 ต.ค. 2557]. เข้าถึงได้จาก: thaigcd.ddc.moph.go.th/informations/view/365.
8. Ball AR, Casadei G, Samosorn S, Bremner JB, Ausubel FM, Moy TI, et al. Conjugating berberine to a multidrug efflux pump inhibitor creates an effective antimicrobial. ACS Chem Biol. 2006;1(9):594-600.
9. Badura A, Luxner J, Feierl G, Reinthaler FF, Zarfel G, Galler H, et al. Prevalence, antibiotic resistance patterns and molecular characterization of Escherichia coli from Austrian sandpits. Environ Pollut. 2014;194:24-30.
10. ปิยะรัตน์ จิตรภิมมย์. การศึกษาความชุกของแบคทีเรียชนิดที่สร้างเอนไซม์บีตาแลคทาเมสที่มีฤทธิ์ขยายจากแหล่งน้ำสิ่งแวดล้อม. ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์ ปีที่ 12. 2555(2):94-106.