

นิพนธ์ต้นฉบับ

ความชุกของเอนไซม์ดื้อยาในกลุ่ม Carbapenems ที่แยกได้จากเชื้อดื้อยา Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* ในโรงพยาบาลพระปกเกล้า ปีพ.ศ. 2555 – 2556

วีวรรณ อาชีวะ, วท.บ.(เทคนิคการแพทย์)*

* กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี

บทคัดย่อ

ที่มาของปัญหา : เชื้อ Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) ดื้อยาในกลุ่ม Carbapenems ที่เป็นยาชั้นสูงที่ใช้รักษาเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ และ CRE สามารถถ่ายทอดยีนข้ามสายพันธุ์ได้ทำให้มีการแพร่กระจายของเชื้อมาก

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาความชุกของเอนไซม์ดื้อยาในกลุ่ม Carbapenems ที่แยกได้จากเชื้อดื้อยา Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* จากสิ่งส่งตรวจที่ส่งมาตรวจวิเคราะห์ในโรงพยาบาลพระปกเกล้า ปีพ.ศ. 2555 - 2556

วัสดุและวิธีการ: ศึกษาย้อนหลังในสิ่งส่งตรวจทุกชนิดจากผู้ป่วยที่ตรวจพบเชื้อดื้อยา CRE โดยคัดกรองเบื้องต้นด้วยวิธี Kirby-Bauer disc diffusion และวิธี gradient diffusion (E-test) แล้วยืนยันหา

เอนไซม์ดื้อยาด้วยวิธี multiplex PCR ศึกษาระหว่างปี พ.ศ. 2555 - 2556 คำนวณเป็นค่าร้อยละ และบรรยายเชิงพรรณนา

ผลการศึกษา: พบว่าความชุกของเอนไซม์ดื้อยาในกลุ่ม Carbapenems ที่แยกได้จากเชื้อดื้อยา CRE จากสิ่งส่งตรวจ 53 ตัวอย่าง ในผู้ป่วย 50 รายเป็นสายพันธุ์ที่ผลิตเอนไซม์ NDM-1 ร้อยละ 43.4 IMP ร้อยละ 35.8 เอนไซม์อื่นๆนอกจาก NDM-1 OXA IMP KPC VIM ร้อยละ 15.1 ตามลำดับ พบการผลิตเอนไซม์ร่วมกันคือ NDM-1 และ OXA ร้อยละ 5.7

สรุป: ความชุกสูงสุดของเอนไซม์ carbapenemase คือ NDM-1 ทุกคนควรเฝ้าควบคุมและลดการแพร่เชื้อ

คำสำคัญ: CRE carbapenemase

Original article

Prevalence of Carbapenemase Enzyme in Clinical Isolates of Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* from Prapokklao Hospital in 2012 – 2013

Weewan Arsheewa, B.Sc. (Med. Tech.)^{*}

^{*}Department of Medical Science, Prapokklao Hospital, Chanthaburi Province, Thailand.

Abstract

Background : Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) develop resistance to higher drug such as Carbapenems absolutely. Gene is passed from one bacteria to another. Some people use drug by overuse and misuse of medications cause germs can spread fastly and hard to control.

Objective: To study the prevalence of Carbapenemase enzyme in clinical isolates of CRE from Prapokklao Hospital during 2012-2013.

Material and Method: Collected clinical isolates of CRE during 2012-2013 by review study and percentage analysis then they were screened for the presence of carbapenemase enzyme by Kirby-Bauer disc diffusion and

gradient diffusion (E-test) from Prapokklao Hospital and proven multiplex PCR from department of medical science, Thailand.

Results: From 50 patients, a total of 53 CRE isolates were found of NDM-1 (43.4 percent), IMP (35.8 percent), Other than NDM-1, OXA, IMP, KPC, VIM (15.1 percent) and both of NDM-1 and OXA (5.7 percent).

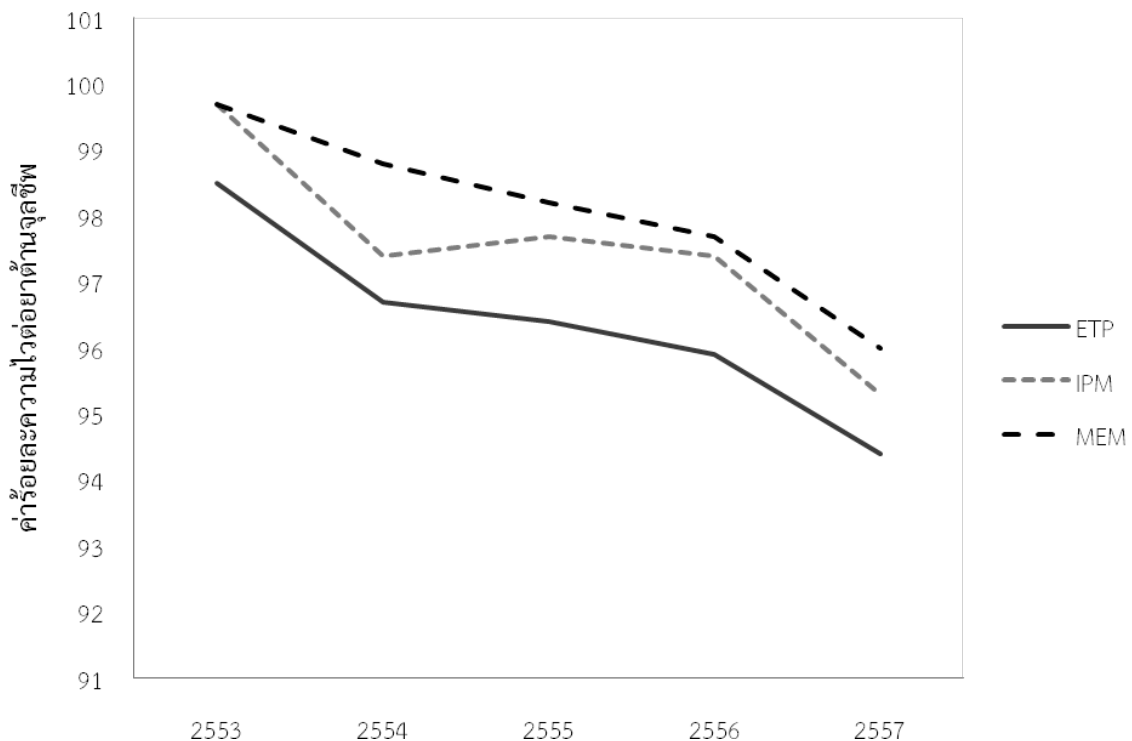
Conclusion: The high prevalence of carbapenemase enzyme in clinical isolates of CRE from Prapokklao Hospital is NDM-1. Health team should act early detection, antimicrobial stewardship, contact precautions to prevent the spread of CRE.

Keywords: CRE, carbapenemase

บทนำ

จากการศึกษาแบบแผนความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* (All isolates) ต่อยากลุ่ม Carbapenems (Ertapenem, Imipenem, Meropenem) ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2555

-2556 ของศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาด้านจุลชีพแห่งชาติ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์พบว่ามีแนวโน้มความไวต่อยาต้านจุลชีพลดลง¹⁻⁵ ดังกราฟด้านล่าง (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 กราฟแสดงค่าร้อยละความไวต่อยาต้านจุลชีพกลุ่ม Carbapenems ของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* (All isolates) ระหว่างปีพ.ศ. 2553-2557

กระทรวงมหาดไทยได้มีมาตรการป้องกันการระบาดของเชื้อนี้ขึ้น เนื่องจากคณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาลได้แจ้งการพบการระบาดของเชื้อแบคทีเรียวงศ์ *Enterobacteriaceae* ที่เคยไวต่อยาต้านจุลชีพหลายขนานรวมทั้งยากกลุ่ม Carbapenems โดยเชื้อ *Enterobacteriaceae* สร้างเอนไซม์ทำลายยากกลุ่ม Carbapenems จึงไม่สามารถใช้ยากกลุ่ม Carbapenems รักษาการติดเชื้อ ทำให้ผู้ป่วยมีโอกาสเสียชีวิตได้สูง ในขณะที่

ที่โรงพยาบาลพระปกเกล้า จันทบุรีมีการรายงานการพบเชื้อดื้อยากกลุ่ม Carbapenems แล้วตั้งแต่ปี พ.ศ. 2554 โดยพบเชื้อครั้งแรกจากปัสสาวะเป็นเชื้อ *Escherichia coli* ที่สร้างเอนไซม์ carbapenemase⁶ เรียกเชื้อกลุ่มนี้ว่า Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) กลไกการดื้อยากกลุ่ม carbapenems ของแบคทีเรียแกรมลบได้แก่ 1) การเปลี่ยนแปลงหรือขาดหายไปของโปรตีน porin ของแบคทีเรียซึ่งเป็นทางที่ยาจะผ่านเข้าไป

ในเซลล์ ทำให้เข้าไปในเซลล์ได้น้อยลงหรือผ่านเข้าไปไม่ได้ 2) การดัดแปลง Penicillin Binding Protein (PBP) ทำให้ยาจับกับ PBP ได้น้อยลงหรือไม่ได้ ยาจึงออกฤทธิ์ไม่ได้ กลไกนี้พบบ่อยในแบคทีเรียแกรมลบ 3) การขับยาออกนอกเซลล์ (efflux pump) มากขึ้นและ 4) การผลิตเอนไซม์ β -lactamase ซึ่งสามารถสลายวงแหวน β -lactam เมื่อโครงสร้างนี้ของยาเสียไป ยาจึงออกฤทธิ์ไม่ได้หรือเกิดการดื้อยานั่นเอง กลไกการผลิตเอนไซม์ β -lactamase นี้เป็นกลไกสำคัญที่ทำให้แบคทีเรียแกรมลบโดยเฉพาะวงศ์ *Enterobacteriaceae* ดื้อต่อยากลุ่ม cephalosporins และ carbapenems เนื่องจากยีนที่กำหนดเอนไซม์ β -lactamase มักพบอยู่บน พลาสมิด จึงมีโอกาสเกิดการแลกเปลี่ยนยีนดื้อยาระหว่างแบคทีเรียและเกิดการแพร่กระจายมากที่สุดในแบคทีเรียแกรมลบ⁷ โดยสามารถแบ่งเชื้อได้เป็น 3 class ได้แก่ 1) Class A Carbapenemases มีโครโมโซมและส่วนของพลาสมิด ที่สามารถสลายยา กลุ่ม carbapenems และถูกยับยั้งด้วยกรด clavulanic โดยมีเอนไซม์ KPCs ที่พบบ่อยที่สุด เอนไซม์ KPC-2 ในเชื้อ *K.pneumoniae* ถูกพบครั้งแรกในปี พ.ศ. 2539 ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของสหรัฐอเมริกา และไม่กี่ปีต่อมา ก็แพร่ระบาดไปทั่วโลก เอนไซม์ KPCs ส่วนใหญ่พบจากการติดเชื้อในโรงพยาบาล และแยกได้จากเชื้อ *K.pneumoniae*⁸ 2) Class B Metallo- β -Lactamases มักพบในเอนไซม์ VIM และ IMP และมีอุบัติใหม่คือ NDM-18 ในปีพ.ศ. 2551 พบครั้งแรกที่สวีเดนจากผู้ป่วยติดเชื้อ *K.pneumoniae* ในทางเดินปัสสาวะ โดยผู้ป่วยมีประวัติการรักษาตัวที่นิวเดลี ประเทศอินเดีย ซึ่งเชื่อว่าเป็นแหล่งที่ผู้ป่วยได้รับเชื้อ⁹ มักพบในเชื้อ *E. coli* และ *K.pneumoniae* เอนไซม์กลุ่มนี้

สามารถสลายยาในกลุ่ม β -lactams ยกเว้น aztreonam โดยถูกยับยั้งด้วย EDTA ไม่ใช่กรด clavulanic⁸ 3) Class D Enzymes of the OXA-48 Type พบครั้งแรกในปีพ.ศ.2546 ที่ประเทศตุรกี ในเชื้อ *K.pneumoniae* เอนไซม์ OXA-48/OXA-181 ต่างจากกลุ่มอื่นเพราะสลายยาในกลุ่ม carbapenems และ cephalosporins ได้น้อยและไม่ถูกยับยั้งด้วย EDTA หรือกรด clavulanic เอนไซม์ OXA-48 ส่วนมากแยกได้จากเชื้อ *K.pneumoniae* และ *E. coli*⁸

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อศึกษาความชุกของเอนไซม์ดื้อยา กลุ่ม Carbapenems ที่แยกได้จากเชื้อดื้อยา Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* จากสิ่งส่งตรวจที่ส่งมาตรวจวิเคราะห์ในโรงพยาบาลพระปกเกล้า ปี พ.ศ.2555-2556

วัสดุและวิธีการ

โครงการวิจัยนี้ดำเนินการหลังผ่านการอนุมัติจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมในการวิจัยในคนแล้ว (เอกสารรับรองเลขที่ CITIREC 041 เลขที่โครงการ 038/58) เป็นงานวิจัยแบบย้อนหลัง คำนวณเป็นค่าร้อยละและใช้การพรรณนาโดยประชากรที่ศึกษาเป็นผู้ป่วยที่ตรวจพบเชื้อดื้อยา Carbapenem - Resistant *Enterobacteriaceae* จากสิ่งส่งตรวจทุกชนิด ได้แก่ Body fluids เลือด ปัสสาวะ เสมหะ สาย catheter หนองแผล ต่างๆ ที่ส่งมาตรวจวิเคราะห์ในโรงพยาบาลพระปกเกล้า ตั้งแต่วันที่ 1 เดือนมกราคม พ.ศ. 2555 ถึง วันที่ 31 เดือนธันวาคม พ.ศ. 2556 โดยทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ โดยวิธี Kirby-Bauer disc diffusion ด้วยยา Ertapenem

และ Meropenem และวิธี gradient diffusion (E-test) เพื่อหาค่า minimum inhibitory concentration (MIC) ด้วยยา Ertapenem และ Meropenem เช่นกันโดยเกณฑ์การทดสอบหา

เอนไซม์ carbapenemase ในแบคทีเรียวงศ์ *Enterobacteriaceae* ทำตามคำแนะนำของ Clinical Standard Institute หรือ CLSI M100-S20 January 2010 ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การแปลผลการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพของยากลุ่ม Carbapenems โดยวิธี Kirby-Bauer disc diffusion หน่วยการอ่านผลเป็น มม. และวิธี gradient diffusion (E-test) หน่วยการอ่านผลเป็น ไมโครกรัม/มล. อ้างอิงจากบางส่วนของ Table 2A-1 *Enterobacteriaceae* M02 and M07 ใน CLSI M100-S20 January 2010

Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter (nearest whole mm.)	Interpretive Criteria	MIC Interpretive Criteria (µg/mL)					
		S	SDD	I	R	S	SDD	I	R
Doripenem	10µg	≥23		20-22	≤19	≤1		2	≥4
Ertapenem	10µg	≥22		19-21	≤18	≤0.5		1	≥2
Imipenem	10µg	≥23		20-22	≤19	≤1		2	≥4
Meropenem	10µg	≥23		20-22	≤19	≤1		2	≥4

1. สารต้านจุลชีพแผ่นยาต้านจุลชีพ (BD BBL™ USA) ได้แก่ Ertapenem (10 ไมโครกรัม) Meropenem (10 ไมโครกรัม) แผ่นยาสตรีปที่มียาเคลือบตามลำดับความเข้มข้น (BioMe'rieux France) ได้แก่ Ertapenem (0.002-32 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) Meropenem (0.002-32 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

2. เชื้อมาตรฐานประกอบด้วย *E.coli* ATCC25922, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *E.faecalis* ATCC 29212, *S.aureus* ATCC 25923

3. การเพาะเชื้อที่ใช้เครื่องอัตโนมัติใช้ในการเพาะเชื้อจากเลือดแบบใช้เครื่องอัตโนมัติรุ่น BACTEC 9240 และ BACTEC 9050 จะตรวจวิเคราะห์เชื้อแบคทีเรียในเลือดผู้ป่วย โดยอาศัย fluorescent technology มี microprocessors ตรวจวัดการเรืองแสงของสารเรืองแสง ที่ sensor ใต้ฐานของอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาณการเรืองแสงจะสัมพันธ์กับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่เชื้อสร้าง

ขึ้นมาในระหว่างการเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อถ้าเครื่องวัดได้ว่าการเจริญของเชื้อให้น้ำขวดอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่ positive มา sub-culture เพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Chocolate agar Blood agar MacConkey agar และนำเชื้อที่พบไปทดสอบทางชีวเคมีหาเชื้อกลุ่ม *Enterobacteriaceae* และทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ

4. การเพาะเชื้อจากส่วนอื่นๆ นำสิ่งส่งตรวจไปเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Chocolate agar Blood agar MacConkey agar Manital Salt Agar Thioglycolate broth ตามชนิดของสิ่งส่งตรวจ (conventional method) และนำเชื้อที่พบไปทดสอบทางชีวเคมีหาเชื้อกลุ่ม *Enterobacteriaceae* และทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ

5. โปรแกรม WHONET software ซึ่งถูกพัฒนาโดยองค์การอนามัยโลกที่ช่วยวิเคราะห์แบบแผนการดื้อยาของเชื้อในท้องถิ่น บันทึกข้อมูลทางจุลชีววิทยา

เมื่อผ่านการทดสอบขั้นต้นด้วยวิธีดังกล่าวจากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลพระปกเกล้า จันทบุรีแล้ว จึงทำการส่งเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจต่อไปยังกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขเพื่อทำการตรวจยืนยันอีกครั้ง โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จะทำการทดสอบตั้งแต่การเพาะเชื้อทดสอบทางชีวเคมีทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ มีมาตรฐานตาม ISO 15189 และทำการทดสอบหาสารพันธุกรรมด้วยวิธี multiplex PCR

รวบรวมข้อมูลผลตรวจเพาะเชื้อที่เป็นเชื้อดื้อยา Carbapenem - Resistant *Enterobacteriaceae* จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลพระปกเกล้าจาก WHONET software ผลตรวจยืนยันจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขและประวัติผู้ป่วยจากเวชระเบียนผู้ป่วยในโรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรีนำข้อมูลมาวิเคราะห์และประมวลผล คำนวณค่าร้อยละ เขียนกราฟและสร้างตารางด้วยโปรแกรม Microsoft Excel 2007 และแปลผล

ผลการศึกษา

จากการศึกษาย้อนหลังในสิ่งส่งตรวจทุกชนิดได้แก่ body fluids เลือด ปัสสาวะ เสมหะ สาย catheter หลอดแผลต่างๆ จากผู้ป่วยที่ตรวจพบเชื้อ Carbapenem - Resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) พบการติดเชื้อดื้อยา CRE ในโรงพยาบาลพระปกเกล้า ปีพ.ศ. 2555 - 2556 ทั้งหมด 53 ตัวอย่าง ความชุกของเอนไซม์ที่ทำให้ดื้อยาในกลุ่ม Carbapenems พบได้ 4 ชนิด ได้แก่ เอนไซม์ NDM-1 23 ตัวอย่าง เอนไซม์ IMP 19 ตัวอย่าง เอนไซม์อื่นๆ นอกเหนือจากเอนไซม์ NDM-1, OXA, IMP, KPC, VIM 8 ตัวอย่างและ

พบเอนไซม์ NDM-1 ร่วมกับ OXA 3 ตัวอย่าง (ตารางที่ 2)

จากเอนไซม์ที่พบทั้งหมด พบในเพศหญิง 28 ราย เพศชาย 22 ราย รวมทั้งสิ้น 50 ราย เมื่อพิจารณาจากอายุของผู้ป่วยติดเชื้อ CRE เอนไซม์ทั้ง 4 ชนิด พบในผู้ป่วยอายุ 60 ปีขึ้นไปมากที่สุด โดยเพศหญิงมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 66 ปี เพศชายมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 64 ปี การติดเชื้อในช่วงเวลาต่างๆ ดังนี้ ครั้งปีแรกของปีพ.ศ. 2555 พบ 4 ราย ปีพ.ศ. 2556 พบ 9 ราย ครั้งปีหลังของปีพ.ศ. 2555 พบ 17 ราย ปีพ.ศ. 2556 พบ 20 ราย (รูปที่ 2) พบการติดเชื้อในหอผู้ป่วยต่างกันดังนี้ หอผู้ป่วยกลุ่มอายุกรรม ร้อยละ 70 หอผู้ป่วยหนัก ร้อยละ 12 หอผู้ป่วยศัลยกรรม ร้อยละ 4 หอผู้ป่วยโรคติดเชื้อ ร้อยละ 8 และส่งตรวจจากโรงพยาบาลชุมชน ร้อยละ 6 (รูปที่ 3) เชื้อ CRE ที่พบคือต่อยากลุ่ม Carbapenems เมื่อทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพ (Ertapenem, Meropenem) ด้วยวิธี Kirby-Bauer disc diffusion ทั้งหมด แต่พบว่าเมื่อทดสอบยืนยันด้วยวิธี gradient diffusion (E-test) เพื่อหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ด้วยยา Ertapenem, Meropenem และ Imipenem พบว่าเชื้อ CRE NDM-1 มีความไวต่อยา Ertapenem 1 ตัวอย่าง CRE IMP ไวต่อยา Meropenem 2 ตัวอย่าง และไวต่อยา Imipenem 9 ตัวอย่าง (ตารางที่ 2)

เมื่อแยกการติดเชื้อ CRE ออกตามชนิดของเอนไซม์ พบว่า CRE NDM-1 พบในเพศหญิง 18 ราย มากกว่าพบในเพศชายที่มีเพียง 5 ราย ตรวจพบในเชื้อ *K.pneumoniae* 18 ตัวอย่าง (ร้อยละ 78.3) *E. coli* 5 ตัวอย่าง (ร้อยละ 21.7) โดยพบเชื้อ CRE NDM-1 ในปัสสาวะ 17 ตัวอย่างจาก 23 ตัวอย่าง ในเสมหะ 5 ตัวอย่างจาก 23 ตัวอย่าง ในเลือด 1 ตัวอย่างจาก 23 ตัวอย่าง CRE NDM-1 พบการติดเชื้อในช่วงอายุ 35 - 60 ปี 5 ราย อายุ

60 ปีขึ้นไป 18 ราย (ตารางที่ 4) แยกเพศชาย-หญิง และสำรวจการติดเชื้อ CRE NDM-1 ในสิ่งส่งตรวจพบว่า ในเพศหญิงพบการติดเชื้อนี้ในปัสสาวะถึง 14 ราย ในเสมหะ 3 ราย ในเลือด 1 ราย เพศชายพบการติดเชื้อในปัสสาวะ 3 ราย ในเสมหะ 2 ราย แต่ไม่พบการติดเชื้อในเลือด (ตารางที่ 3)

CRE IMP พบในเพศชาย 17 รายมากกว่าเพศหญิงที่พบ 2 ราย ตรวจพบในเชื้อ *K.pneumoniae* 17 ตัวอย่าง (ร้อยละ 89.5) *E.coli* 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 5.3) *Enterobacter cloacae* 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 5.3) โดยพบเชื้อ CRE IMP ในเสมหะ 12 ตัวอย่างจาก 19 ตัวอย่าง ในปัสสาวะ 5 ตัวอย่างจาก 19 ตัวอย่าง ในน้ำเจาะท้อง 1 ตัวอย่างจาก 19 ตัวอย่าง ในปลายสาย catheter 1 ตัวอย่างจาก 19 ตัวอย่าง (ตารางที่ 4) พบการติดเชื้อในช่วงอายุน้อยกว่า 18 ปี 1 ราย ช่วงอายุ 35 - 60 ปี 9 ราย อายุ 60 ปีขึ้นไป 9 ราย (ตารางที่ 4) แยกเพศชาย-หญิงและสำรวจการติดเชื้อ CRE IMP ในสิ่งส่งตรวจพบว่า ในเพศหญิงพบการติดเชื้อนี้ในปัสสาวะ 1 ราย ในเสมหะ 1 ราย ในขณะที่เพศชายพบการติดเชื้อในเสมหะถึง 11 ราย ในปัสสาวะ 4 ราย ในน้ำเจาะท้อง 1 ราย ในปลายสาย catheter 1 ราย (ตารางที่ 3)

CRE เอนไซม์อื่นๆ นอกเหนือจากเอนไซม์ NDM-1, OXA, IMP, KPC, VIM พบในเพศหญิง 6 รายมากกว่าเพศชายที่พบ 2 ราย ตรวจพบในเชื้อ *K.pneumoniae* 5 ตัวอย่าง (ร้อยละ 62.5) *E.coli* 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 12.5) *Citrobacter freundii* 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 12.5) *Proteus mirabilis* 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 12.5) โดยพบในปัสสาวะ 4 ตัวอย่างจาก 8 ตัวอย่าง ในหนอง 2 ตัวอย่างจาก 8 ตัวอย่าง ในเสมหะและเลือดอย่างละ 1 ตัวอย่างจาก 8 ตัวอย่าง พบการติดเชื้อในช่วงวัย 18 - 35 ปี 1 ราย ช่วงอายุ 35 - 60 ปี 3 ราย ช่วงอายุ 60 ปีขึ้นไป 4 ราย (ตารางที่ 4) แยกเพศชาย - หญิง และสำรวจการติดเชื้อชนิดนี้พบว่า ในเพศหญิงพบการติดเชื้อในปัสสาวะ 4 ราย ในเสมหะและหนองอย่างละ 1 ราย ส่วนในเพศชายพบการติดเชื้อในหนองและเลือดอย่างละ 1 ราย (ตารางที่ 3)

CRE ที่พบการติดเชื้อร่วมกันของเอนไซม์สองชนิดคือ NDM-1 และ OXA พบในเพศหญิงทั้งหมด 3 รายตรวจพบในเชื้อ *E. coli* เพียงชนิดเดียว จำนวน 3 ตัวอย่าง (ร้อยละ 100) พบในเพศหญิงช่วงอายุ 35 - 60 ปี 1 ราย ช่วงอายุ 60 ปีขึ้นไป 2 ราย โดยแยกได้จากปัสสาวะ 2 ตัวอย่าง เลือด 1 ตัวอย่าง (ตารางที่ 4) ไม่พบการติดเชื้อ CRE ร่วมกันของเอนไซม์ 2 ชนิดในเพศชายแต่อย่างใด (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 2 จำนวนสิ่งส่งตรวจทั้งหมดและผลการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อ CRE แต่ละชนิด

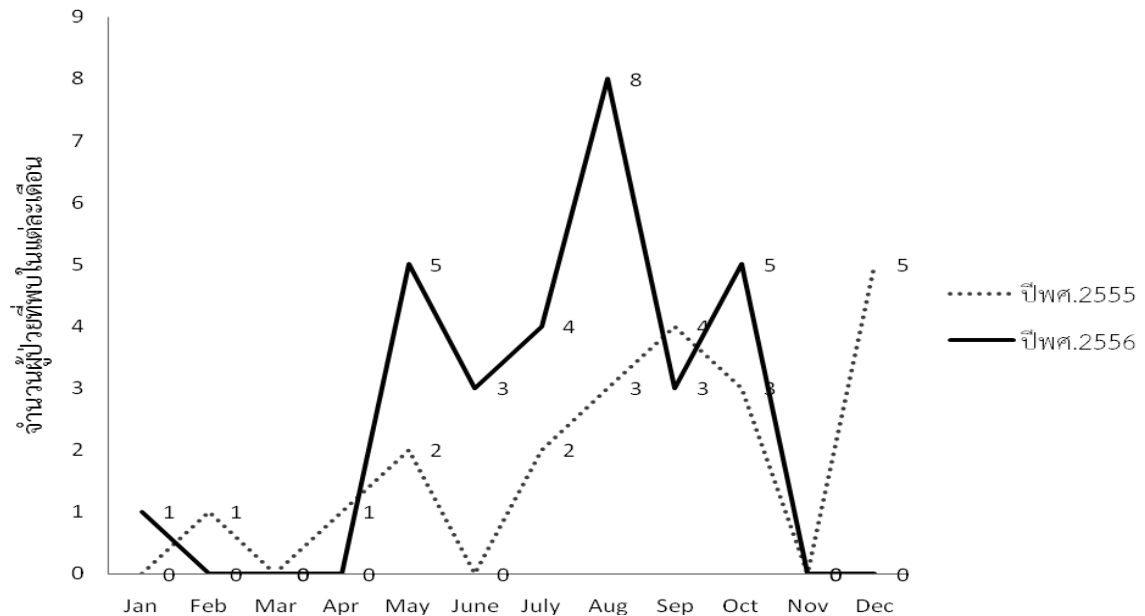
เชื้อ	จำนวนทั้งหมด ตัวอย่าง (ร้อยละ)	จำนวนของผลดื้อ (resist) ต่อยาชนิดต่างๆ ของเชื้อ CRE ด้วยวิธี E-test (ตัวอย่าง)		
		MIC Ertapenem	MIC Meropenem	MIC Imipenem
CRE NDM-1	23 (43.4)	22	23	23
CRE IMP	19 (35.8)	19	17	10
CRE Others	8 (15.1)	8	8	8
CRE NDM-1,OXA	3 (5.7)	3	3	3

ตารางที่ 3 การติดเชื้อในสิ่งส่งตรวจชนิดต่างๆ แยกตามเพศ

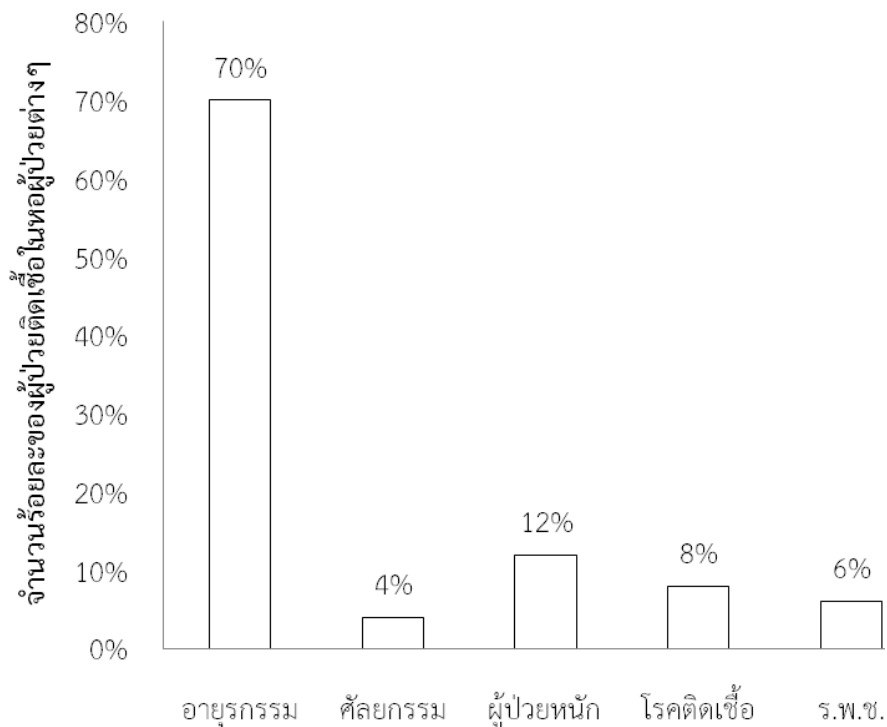
	เอนไซม์ NDM-1		เอนไซม์ IMP		เอนไซม์อื่น ๆนอกเหนือ จากเอนไซม์ NDM-1, OXA, IMP, KPC, VIM		เอนไซม์ร่วมกันสองชนิด คือ NDM-1และ OXA	
สิ่งส่งตรวจ (ตัวอย่าง)	ชาย (ราย)	หญิง (ราย)	ชาย (ราย)	หญิง (ราย)	ชาย (ราย)	หญิง (ราย)	ชาย (ราย)	หญิง (ราย)
ปัสสาวะ	3	14	4	1	-	4	-	2
เสมหะ	2	3	11	1	-	1	-	-
เลือด	-	1	-	-	1	-	-	1
น้ำเจาะท้อง	-	-	1	-	-	-	-	-
ปาลายสาย	-	-	1	-	-	-	-	-
หนอง	-	-	-	-	1	1	-	-

ตารางที่ 4 ข้อมูลการติดเชื้อ CRE แยกตามชนิดของเอนไซม์ที่พบ

	เอนไซม์ NDM-1	เอนไซม์ IMP	เอนไซม์อื่น ๆนอกเหนือจาก เอนไซม์NDM-1, OXA, IMP, KPC, VIM	เอนไซม์ร่วมกันสองชนิด คือ NDM-1และ OXA
ช่วงอายุ(ปี)	จำนวน ราย (ร้อยละ)	จำนวน ราย (ร้อยละ)	จำนวน ราย (ร้อยละ)	จำนวน ราย (ร้อยละ)
เพศ (ราย)				
ชาย	5 (21.7)	17 (89.5)	2 (25.0)	0 (0)
หญิง	18 (78.3)	2 (10.5)	6 (75.0)	3 (100)
สิ่งส่งตรวจ (ตัวอย่าง)				
ปัสสาวะ	17 (74.0)	5 (26.3)	4 (50.0)	2 (66.7)
เสมหะ	5 (21.7)	12 (63.2)	1 (12.5)	0 (0)
เลือด	1 (4.3)	0 (0)	1 (12.5)	1 (33.3)
น้ำเจาะท้อง	0 (0)	1 (5.3)	0 (0)	0 (0)
ปาลายสาย	0 (0)	1 (5.3)	0 (0)	0 (0)
หนอง	0 (0)	0 (0)	2 (25.0)	0 (0)
ตรวจพบในเชื้อ (ตัวอย่าง)				
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	18 (78.3)	17 (89.5)	5 (62.5)	0 (0)
<i>Escherichia coli</i>	5 (21.7)	1 (5.3)	1 (12.5)	3 (100)
<i>Enterobacter cloacae</i>	0 (0)	1 (5.3)	0 (0)	0 (0)
<i>Citrobacter freundii</i>	0 (0)	0 (0)	1 (12.5)	0 (0)
<i>Proteus mirabilis</i>	0 (0)	0 (0)	1 (12.5)	0 (0)



รูปที่ 2 จำนวนผู้ป่วยที่ติดเชื้อ CRE ในปีพ.ศ. 2555 ถึง พ.ศ. 2556 แบ่งช่วงเวลาในแต่ละเดือน



รูปที่ 3 ร้อยละการติดเชื้อ CRE ในหอผู้ป่วยต่างๆ

วิจารณ์

จากการศึกษาความชุกของเอนไซม์ดื้อยา กลุ่ม Carbapenems ที่แยกได้จากเชื้อดื้อยา Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* จากสิ่งส่งตรวจที่ส่งมาตรวจวิเคราะห์ในโรงพยาบาลพระปกเกล้า ปีพ.ศ. 2555 - 2556 มีทั้งสิ้น 53 ตัวอย่าง เป็นสิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วยในโรงพยาบาลพระปกเกล้าทั้งสิ้น 47 ราย มี 3 ราย ที่รับตรวจจากโรงพยาบาลชุมชน ทำให้มีข้อจำกัดในการศึกษาเวชระเบียนของผู้ป่วยเหล่านี้ รวมทั้งสิ้นมีผู้ป่วยติดเชื้อดื้อยา CRE 50 ราย โดยอัตราที่พบ CRE ถือว่าสูงกว่าปี พ.ศ.2554 ที่พบเป็นครั้งแรกและเป็นตัวอย่างเดียวจากผู้ป่วยที่รักษาตัวในโรงพยาบาลพระปกเกล้าในขณะนั้น โดยพบเป็นเชื้อ *E. coli* จากปัสสาวะ⁶ เชื้อ CRE ทั้งหมดได้รับการทดสอบยืนยันด้วยวิธี multiplex PCR ทำให้ทราบเอนไซม์ที่ทำให้เกิดเชื้อดื้อยา CRE ใน จันทบุรี เอนไซม์ที่ทำให้เกิดเชื้อดื้อยา CRE ที่พบมากที่สุด ได้แก่ เอนไซม์ NDM-1 ร้อยละ 43.4 เอนไซม์ IMP ร้อยละ 35.8 เอนไซม์อื่นๆ นอกเหนือจากเอนไซม์ NDM-1, OXA, IMP, KPC, VIM ร้อยละ 15.1 และพบการสร้างเอนไซม์ร่วมกันระหว่าง NDM-1 และ OXA ร้อยละ 5.7 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับโรงพยาบาลอื่นพบว่า ในปี 2555 โรงพยาบาลหัวหิน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ พบเชื้อ CRE NDM-1 เพียง 1 ตัวอย่าง¹⁰ ในเดือนตุลาคม พ.ศ. 2553 ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2554 โรงพยาบาลมหาวิทยาลัย ในประเทศไทยพบ CRE NDM-1 6 ตัวอย่าง CRE IMP-14a 2 ตัวอย่าง ซึ่ง CRE NDM-1 ถูกพบในปัสสาวะทั้งหมด¹¹ ในขณะที่ CRE NDM-1 จากสิ่งส่งตรวจของโรงพยาบาลพระปกเกล้าพบมากในปัสสาวะถึง 17 ตัวอย่าง จาก 23 ตัวอย่าง โรงพยาบาลบุรีรัมย์ พบ CRE

NDM-1 15 ตัวอย่างมีอายุเฉลี่ยที่ 62 ปี ตรวจพบในเชื้อ *K. pneumoniae* ถึง 13 ตัวอย่าง¹² ในขณะที่ CRE NDM-1 จากสิ่งส่งตรวจของโรงพยาบาลพระปกเกล้าพบมากที่ช่วงอายุ 60 ปีขึ้นไป ตรวจพบในเชื้อ *K. pneumoniae* ถึง 18 ตัวอย่างจาก 23 ตัวอย่าง

เมื่อพิจารณาจากอายุของผู้ป่วยติดเชื้อ CRE เอนไซม์ทั้ง 4 ชนิด พบในผู้ป่วยอายุ 60 ปีขึ้นไปมากที่สุด โดยเฉพาะหญิงมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 66 ปี เพศชายมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 64 ปี พบในเพศหญิงร้อยละ 56 มากกว่าเพศชายที่พบร้อยละ 44 และพบมากในช่วงครึ่งปีหลังตั้งแต่เดือนกรกฎาคมถึงเดือนธันวาคมของทั้ง 2 ปี CRE เอนไซม์ NDM-1 และ IMP ตรวจพบในเชื้อ *K.pneumoniae* สูงถึงร้อยละ 78.3 – 89.5 รองลงมาก็คือ *E.coli* ร้อยละ 5.3-21.7 ในขณะที่ CRE ที่พบเอนไซม์ร่วมกัน 2 ชนิดคือ NDM-1 และ OXA ตรวจพบในเชื้อ *E. coli* เท่านั้นเชื้อทั้งสองชนิดเป็นเชื้อประจำถิ่นที่พบในลำไส้ของคนและสัตว์ จึงมีโอกาสมากที่จะพบเชื้อเหล่านี้ดื้อยาได้สูง และพบการติดเชื้อหลายชนิดในเอนไซม์อื่นๆ นอกเหนือจากเอนไซม์เหล่านี้ ยังมีเชื้อในวงศ์ *Enterobacteriaceae* อื่นๆ ที่ตรวจพบอีก ได้แก่ *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis* เมื่อศึกษาลักษณะของชนิดของสิ่งส่งตรวจกับชนิดของเอนไซม์แต่ละชนิดพบว่า เป็นปัสสาวะมากที่สุด ร้อยละ 50 - 74 ค่าเฉลี่ยที่ร้อยละ 54 ส่วนในเอนไซม์ IMP พบการติดเชื้อจากเสมหะมากที่สุดที่ร้อยละ 63.2 ค่าเฉลี่ยจากการติดเชื้อในเอนไซม์ทุกชนิดที่ร้อยละ 32.5 เอนไซม์อื่นๆ พบการติดเชื้อจากหนองด้วยร้อยละ 25 เอนไซม์ทุกชนิดพบการติดเชื้อที่ตำแหน่ง sterile site ค่าเฉลี่ยร้อยละ 14 เชื้อ CRE ทั้ง 53 ตัวอย่างพบการติดเชื้อใน hemoculture ร้อยละ 6

เห็นได้ว่าตำแหน่งที่มีการติดเชื้อจำนวนมากมีเชื้อประจำถิ่นอาศัยอยู่ แต่ตำแหน่ง sterile site เป็นเขตปลอดเชื้อจึงพบน้อยกว่า แสดงว่าเชื้อมีการถ่ายทอดยีนต่อยาสู้กันได้ เมื่อศึกษาลักษณะของหอผู้ป่วยกับจำนวนเชื้อ CRE พบว่า หอผู้ป่วยอายุรกรรมมีสัดส่วนการพบเชื้อสูงที่สุด ร้อยละ 70 สรุปผลการศึกษาได้ว่าข้อมูลเหล่านี้เป็นประโยชน์ในด้านระบาดวิทยาของเชื้อ สามารถนำไปสอบสวนโรคเพื่อหาสาเหตุที่แท้จริง ซึ่งการติดเชื้อดังกล่าวอาจจะเป็นการติดเชื้อแบบ colonization หรือเป็นเชื้อก่อโรคจริงๆ หากเป็นแค่การ colonization ก็ต้องมีมาตรการป้องกันการแพร่กระจายของยีนข้ามกลุ่มกันได้ และต้องมีการทำความเข้าใจที่ถูกต้องเผยแพร่ข้อมูลการดื้อยาของเชื้อ CRE ให้แก่บุคลากรในโรงพยาบาลที่เกี่ยวข้อง รับผิดชอบแพทย์ให้มีการใช้ยาที่ถูกต้องเหมาะสมในผู้ป่วยและหอผู้ป่วยที่พบอัตราการติดเชื้อสูงควรจัดการควบคุมการแพร่กระจายของเชื้ออย่างไร เหล่านี้ถือเป็นปัญหาเร่งด่วนที่ทุกคนควรร่วมมือกันปฏิบัติ

ผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะเพิ่มเติม เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ศึกษาเฉพาะสิ่งส่งตรวจที่ส่งมาตรวจที่โรงพยาบาลพระปกเกล้าเท่านั้น จึงไม่มีข้อมูลจากโรงพยาบาลอื่นๆ ในจังหวัดจันทบุรีที่ไม่ได้ส่งตรวจเพาะเชื้อที่โรงพยาบาลพระปกเกล้า หากต้องการข้อมูลที่ครบถ้วนทั้งจังหวัด โรงพยาบาลอื่นๆ ควรส่งตรวจเพาะเชื้อที่ห้องจุลชีววิทยา โรงพยาบาลพระปกเกล้าด้วยหรือสามารถส่งเชื้อบริสุทธิ์ที่ทราบผลเบื้องต้นแล้วว่าเป็นเชื้อดื้อยา CRE มาตรวจยืนยันที่โรงพยาบาลพระปกเกล้า จะทำให้การศึกษานี้สมบูรณ์

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ทนพญ. สุธีรัตน์

ศรีสุภลักษณ์ หัวหน้ากลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลพระปกเกล้า ทนพญ. ศศิธร ไทยเจริญ นักเทคนิคการแพทย์ กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลพระปกเกล้า ทนพ. วิจิตร โทณศิริ นักเทคนิคการแพทย์ กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลพระปกเกล้า นพ. ภัทรพงศ์ อุดมพัฒน์ หัวหน้ากลุ่มงานเวชกรรมสังคม โรงพยาบาลพระปกเกล้า คุณประภัสสร เดชศรี งานป้องกันและควบคุมการติดเชื้อในโรงพยาบาล โรงพยาบาลพระปกเกล้า จันทบุรี

เอกสารอ้างอิง

1. National Antimicrobial Resistance Surveillance Center, Thailand. Antibigrams [Internet]. 2010 [cited 2015 January 5]. Available from: <http://narst.dmsc.moph.go.th/antibiograms/2010/2010all.pdf>
2. National Antimicrobial Resistance Surveillance Center, Thailand. Antibigrams [Internet]. 2011 [cited 2015 January 5]. Available from: <http://narst.dmsc.moph.go.th/antibiograms/2011/2011all.pdf>
3. National Antimicrobial Resistance Surveillance Center, Thailand. Antibigrams [Internet]. 2012 [cited 2015 January 5]. Available from: <http://narst.dmsc.moph.go.th/antibiograms/2012/2012all.pdf>
4. National Antimicrobial Resistance Surveillance Center, Thailand. Antibigrams [Internet]. 2013 [cited 2015 January 5]. Available from: <http://narst.dmsc.moph.go.th/antibiograms/2013/2013all.pdf>
5. National Antimicrobial Resistance Surveil-

- lance Center, Thailand. Antibigrams [Internet]. 2014 [cited 2015 January 5]. Available from: <http://narst.dmsc.moph.go.th/antibiograms/2014/2014all.pdf>
6. Thaicharuen S. Carbapenem-Resistant *Escherichia coli* for the first time in Phapokklao Hospital. *J Prapokklao Hosp Clin Med Educat Center* 2011;28:238-42.
 7. Chanawong A. Drug resistance in Enterobacteriaceae and laboratory method. In: Faculty of Medical Technology, Khonkaen University, editor. A workshop on Laboratory method to detect resistant bacteria. 2015 July 21-23; Khonkaen, Microbiology Department of Faculty of Medical Technology; 2015. P1-14.
 8. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global Spread of Carbapemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis* 2011;17:1791-8.
 9. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, et al. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53:5046-54.
 10. Preechachuawong P, Santimaleeworagun W, Jitwasinkul T, Samret W. Detection of New Delhi Metallo-Beta-Lactamase-1-Producing *Klebsiella pneumoniae* at general hospital in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2015;46:1031-6.
 11. Rimrang B, Chanawong A, Lulitanond A, Wilailuckana C, Charoensri N, Sribenjalux P, et al. Emergence of NDM-1 and IMP-14a-Producing Enterobacteriaceae in Thailand. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67:2626-30.
 12. Wongprasit P, Champadaeng S, Chansri S, Boontawee S, Jitthai S, Malathum K. Epidemiology and Clinical Review of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae New Delhi Metallo Betalactamase (NDM-I) in Burirum Hospital. *Khon Kaen Medical Journal* 2012; 36(3): 46-51.