ว.วิทย. มข. 43(4) 688-697 (2558) KKU Sci. J. 43(4) 688-697 (2015)

ความชุกของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มที่สามารถสร้างเอนไซม์ขยายการดื้อยาในกลุ่มบีตา-แลคแทม (ESBLs) จากห้องสุขาสาธารณะ

Prevalence of Extended Spectrum Beta-Lactamases (ESBLs) Producing Coliform Bacteria in Public Toilets

กิจจา จิตรภิรมย์[1*] *และ ปิยะรัตน์ จิตรภิรมย์*[2]

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อตรวจหาความชุกของการสร้างเอนไซม์ ESBLs และรูปแบบของการดื้อยาต้านจุลชีพจากแบคทีเรียในกลุ่มโคลิฟอร์มจากห้องสุขาสาธารณะ โดยใช้เชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ในสุขาสาธารณะในกรุงเทพมหานคร จำนวน 138 ไอโซเลต ซึ่งประกอบด้วย *E. coli* (ร้อยละ79.7) *K. pneumoniae* (ร้อยละ 14.5) *Citrobacter* spp. (ร้อยละ 3.6) และ *Enterobacter* spp. (ร้อยละ 2.2) นำมาทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพโดยวิธี Double Disc Synergy (DDS) ด้วยยา 6 ชนิดคือ amoxicillin/clavulanate (20/10 มคก.) cefpodoxime (10 มคก.) ceftazidime (30 มคก.) ceftriaxone (30 มคก.) cefoxitin (30 มคก.) และ aztreonam (30 มคก.) ผลการศึกษาพบว่าแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มส่วนใหญ่ดื้อต่อยา amoxicillin/clavulanate (ร้อยละ 39.2) และ cefoxitin (ร้อยละ 27.5) โดยมีรูปแบบการดื้อต่อยาจำนวน 5 รูปแบบ นอกจากนี้พบความชุกของแบคทีเรียในกลุ่มโคลิฟอร์มที่สร้างเอนไซม์ ESBLs จำนวน 14 (ร้อยละ 10.1) ไอโซเลต ซึ่งสามารถจำแนกเป็น Class A จำนวน 2 (ร้อยละ 1.4) Class C จำนวน 5 (ร้อยละ 3.6) และพบการสร้าง ESBLs ร่วมกับ Amp C บีตา-แลคทาเมส จำนวน 7 (ร้อยละ 5.0) ไอโซเลตตามลำดับ

จากการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มมีความสามารถสร้างเอนไซม์ ESBLs เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากพบว่ามีระดับการดื้อต่อยาต้านจุลชีพสูง จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดอุปสรรคในการรักษา โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากการติดเชื้อฉวยโอกาสในโรงพยาบาลหรือชุมชน และสามารถนำข้อมูลนี้ไปใช้ประโยชน์ในเฝ้าระวัง การบริหารจัดการ และการควบคุมการแพร่กระจายของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มดังกล่าวต่อไป

[1]สาขาอาชีวอนามัยและความปลอดภัย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา เขตธนบุรี กรุงเทพฯ 10600

[2]สาขาเทคนิคการแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา เขตธนบุรี กรุงเทพฯ 10600

*Corresponding Author, E-mail: kj.pirom@yahoo.com

ABSTRACT

This study aimed to determine the prevalence and antibiotic resistance patterns of ESBLs producing coliform bacteria from public toilets. A total of 138 coliform bacteria (79.7% *E. coli*, 14.5% *K. pneumoniae,* 3.6% *Citrobacter* spp. and 2.2% *Enterobacter* spp.) isolated from the public toilets in Bangkok were tested susceptibility by Double Disc Synergy (DDS) method with 6 antibiotics (20µg amoxicillin/10 µg clavulanate, 10µg cefpodoxime, 30µg ceftazidime, 30µg ceftriaxone, 30µg cefoxitin, and 30µg aztreonam). The results revealed the coliform bacteria were mainly resistant to amoxicillin/clavulanate (39.2%), and cefoxitin (27.5%). All these bacteria showed 5 patterns of antibiotic resistance. The prevalence of ESBLs production was also found in 14 (10.1%) isolates classified as Class A [2 (1.4%)], Class C [5 (3.6%)], and ESBLs + Amp C [7 (5.0%)], respectively.

This study indicates that ESBLs production of coliform bacteria from public toilets has increased, which results in higher resistance to antibiotics and causes obstacles to treatment, especially the opportunistic infection from hospitals or communities. These data are useful to monitor, manage, and control the spread of colifrom bacteria.

คำสำคัญ: ห้องน้ำสาธารณะ แบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพ เอนไซม์ขยายการดื้อยาในกลุ่มบีตา-แลคแทม
Keywords: Public toilet, Antibiotic resistant Bacteria, ESBLs

บทนำ

ห้องสุขาสาธารณะที่ละเลยในการทำความสะอาดสามารถเป็นแหล่งแพร่กระจายของโรค หรือกลุ่มอาการที่เรียกว่า “Toilet syndrome” (Barker and Bloomfield, 2000) โดยแบคทีเรียที่พบปนเปื้อนในสุขาสาธารณะส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม (Coliform bacteria) (กิจจา, 2556) นอกจากนี้ยังสามารถพบปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมทั้งในน้ำ ในดิน หรือปะปนในพืช รวมถึงอาหารต่าง ๆ จึงนิยมใช้เป็นดัชนีบ่งชี้การปนเปื้อนในการกระบวนการผลิตอาหาร อย่างไรก็ตามแบคทีเรียกลุ่มนี้มีความสามารถในการก่อโรคได้เช่นกัน เช่น *E. coli, Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. และ *Citrobacter* spp. (Lipskey et al., 1980; Bagley, 1985; Podschun and Ullmann, 1998) จากรายงานการศึกษาพบว่าแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าว มีความสามารถดื้อต่อยาต้านจุลชีพได้หลากหลายชนิดที่พบได้บ่อย คือ *E. coli* ซึ่งสามารถแยกได้จากมนุษย์ตลอดจนจากปศุสัตว์ เช่น วัว ไก่ และสุกร (Nordmann et al., 2009; Totsika et al., 2011; Tadesse et al., 2012) ดังนั้นเมื่อเกิดการติดเชื้อแก่ผู้ป่วยย่อมจะส่งผลกระทบโดยตรงต่อการรักษาตลอดจนการสูญเสียทางเศรษฐกิจ อย่างไรก็ตามการใช้ยาที่เกินความจำเป็นและไม่เหมาะสมเป็นสาเหตุทำให้เกิดการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียในธรรมชาติ

ยาในกลุ่มบีตา-แลคแทมจัดเป็นยาต้านจุลชีพในกลุ่มที่แพทย์เลือกใช้เป็นอันดับแรกในการรักษาผู้ป่วย เนื่องจากยาในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อในแบคทีเรีย (Bactericidal) โดยมีกลไกการออกฤทธิ์ที่

ขัดขวางการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรีย (Zervosen et al., 2012) กลไกที่สำคัญในการเกิดการดื้อยาในกลุ่มบีตา-แลคแทมของแบคทีเรียที่สำคัญคือ การสร้างเอนไซม์ extended spectrum beta-lactamases (ESBLs) ซึ่งมีรายงานการตรวจพบครั้งแรกในประเทศเยอรมนี ที่สร้างจากเชื้อวงศ์ Enterobacteriaceae โดยเอนไซม์ชนิดนี้สามารถเพิ่มการทำลายยาในกลุ่ม Penicillins กลุ่ม Oxyimino-cephalosporins รุ่นที่ 3 และกลุ่ม Monobactams ได้ แต่ไม่มีฤทธิ์ทำลายยากลุ่ม Cephamycins และกลุ่ม Carbepenems (Kliebe et al., 1985; Bush, 2001) การปนเปื้อนของยาต้านจุลชีพในสิ่งแวดล้อมมีส่วนกระตุ้นให้แบคทีเรียมีการปรับตัวและเกิดวิวัฒนาการเพื่อการอยู่รอดจนก่อให้เกิดการดื้อยาต้านจุลชีพมากขึ้นขณะเดียวกันการใช้ยาในปริมาณมากอาจทำให้มีการคัดเลือกตามธรรมชาติของสายพันธุ์ที่ดื้อยา หรือมีการกลายพันธุ์ที่เพิ่มความสามารถในการดื้อยา ทำให้มีเชื้อดื้อยาเพิ่มขึ้นและแพร่กระจายต่อไป นอกจากนี้พบว่าแบคทีเรียหลายชนิดสามารถถ่ายทอดความสามารถในการดื้อยาในแนวดิ่งหรือการถ่ายทอดการดื้อยาในสายพันธุ์เดียวกัน และมีความสามารถในการถ่ายทอดการดื้อยาในแนวราบหรือระหว่างสายพันธุ์ หรือในระดับจีนัสได้ (Anthony et al., 2006; Hasan et al., 2009) ในการศึกษาความสัมพันธ์ของการดื้อยาระหว่างแบคทีเรียก่อโรค และ *E. coli* ซึ่งเป็นตัวแทนของจุลชีพประจำถิ่นในลำไส้ พบว่าแบคทีเรียก่อโรคอุจจาระร่วงส่วนใหญ่มีการดื้อยา trimetroprim-sulfamethoxazole, ampicillin, tetracycline สอดคล้องกับ *E. coli* ผลที่ได้นี้สนับสนุนสมมติฐานที่ว่าเชื้อจุลชีพประจำถิ่นในลำไส้โดยเฉพาะ *E. coli* สามารถถ่ายทอดยีนดื้อยาไปยังแบคทีเรียในลำไส้ชนิดอื่น ๆ รวมถึงเชื้อก่อโรคได้หรือเป็นในทางกลับกัน ดังนั้นจึงควรเพิ่มความระมัดระวังในการใช้ยาต้านจุลชีพให้มากขึ้น ยีนที่เกี่ยวข้องที่ควบคุมการสร้าง ESELs ที่ตรวจพบใน Enterobacteriaceae เช่น *E. coli* จากสิ่งส่งตรวจผู้ป่วยมีหลากหลายชนิด (Poirel et al., 2008; Kaftandzieva et al., 2011) ซึ่งควบคุมการสร้างอยู่บน Plasmid หรือ Transposons ซึ่งอยู่บน plasmid และไม่แตกต่างจากที่แยกเชื้อกลุ่มนี้ได้ในสิ่งแวดล้อมภายนอกโรงพยาบาล (Lu et al., 2010)

การศึกษาในครั้งนี้จึงเน้นการค้นหาความชุกของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มที่สามารถผลิตเอนไซม์ ESBLs ที่แยกได้ในสุขาสาธารณะ เพื่อเป็นข้อมูลบริหารจัดการควบคุมการแพร่กระจายสำหรับการเฝ้าระวังแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าว อันนับว่ามีประโยชน์ในการที่จะใช้เป็นเครื่องชี้วัดการใช้ยาต้านจุลชีพโดยเฉพาะอย่างยิ่งสามารถบ่งชี้ทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพถึงการใช้ยาที่ไม่เหมาะสมหรือใช้มากเกินความจำเป็นเกิดการปนเปื้อนออกสู่สิ่งแวดล้อมและเพื่อเป็นข้อมูลของการดื้อยาที่ช่วยให้แพทย์ใช้เป็นทางเลือกในการเลือกใช้ยาต้านเชื้อจุลชีพ (empirical selection) ในการรักษาผู้ป่วยโรคติดเชื้อจากโรงพยาบาลหรือชุมชน

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ตัวอย่างและการเก็บตัวอย่าง

ตัวอย่างแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มจำนวน 138 ไอโซเลตประกอบด้วย *E. coli*, *K. pneumoniae, Citrobacter* spp. และ *Enterobacter* spp. จำนวน 110, 20, 5 และ 3 ไอโซเลต หรือร้อยละ 79.7, 14.5, 3.6และ 2.2 ตามลำดับ ที่แยกได้จากสุขาสาธารณะโดยวิธีการป้ายเชื้อจากพื้นผิววัสดุอุปกรณ์ ภายในห้องสุขาสาธารณะที่ตั้งในซุปเปอร์มาเก็ตค้าปลีกขนาดใหญ่ในกรุงเทพมหานคร และนำมาแยกตรวจวินิจฉัยเชื้อตามวิธีทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา (กิจจา, 2556)

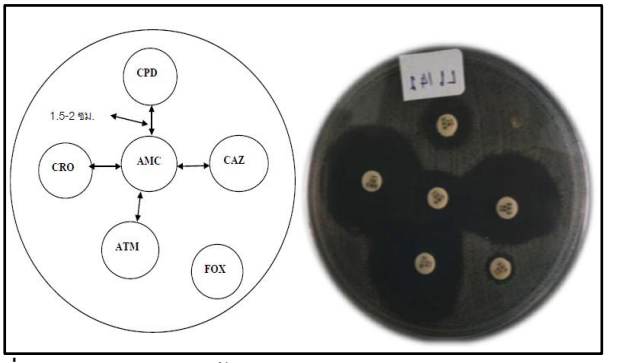
2. การตรวจหาความชุกของแบคทีเรียที่สร้าง ESBLs และทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ

ตรวจหาเอนไซม์ ESBLs ของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มโดยวิธี Double Disc Synergy (DDS) ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธี Agar disk diffusion ตามวิธีมาตรฐานของ Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI, 2013) มีวิธีการทดสอบโดยย่อ คือ เขี่ยเชื้อโคลิฟอร์มที่แยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง มาปรับความขุ่นของเชื้อให้เท่ากับ McFarland Standard NO 0.5 ใน Normal saline solution (NSS) ใช้ไม้พันสำลีปราศจากเชื้อจุ่มลงในเชื้อที่ปรับความขุ่นแล้วบิดไม้พันสำลีกับหลอดให้หมาด หลังจากนั้นนำมาป้ายบนจานอาหาร (Mueller-Hinton agar plate) เพื่อให้กระจายบนจานอาหารอย่างสม่ำเสมอ แล้วจึงวางแผ่นยา Amoxicillin/Clavulanate (AMC; 20/10 มคก.) บริเวณตรงกลางของจานอาหารหลังจากนั้นวาง แผ่นยาอื่นๆ คือ Cefpodoxime (CPD; 10 มคก.), Ceftazidime (CAZ; 30 มคก.), Ceftriaxone (CRO; 30 มคก.), Cefoxitin (FOX; 30 มคก.) และ Aztreonam (ATM; 30 มคก.) ให้ห่างจากขอบของแผ่นยา AMC ในระยะระหว่าง 1.5-2 ซม. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง อ่านผลการทดสอบเป็นไวต่อยา (Susceptible; S) ไวปานกลาง (Intermediate; I) และดื้อยา (Resistant; R) โดยเทียบขนาดของวงใสของการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียรอบแผ่นยากับค่าที่กำหนดใน Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI, 2013) ในการทดสอบการดื้อยาต้านจุลชีพทุกครั้งมีการควบคุมคุณภาพการทดสอบโดยใช้เชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน คือ *K. pneumoniae* (ATCC 700603) และ *E. coli* (ATCC 25922) พร้อมทั้งสังเกตการเกิดการเสริมฤทธิ์ (synergy) ระหว่าง AMC กับยาที่วางไว้โดยรอบ การแยกประเภทของ ESBLs (ESBL-class) แปลผลตามวิธีของ Toronto Medical Laboratories (2005) นอกจากนี้สังเกตการสร้าง Amp C beta-lactamase และแยกประเภทของ ESBLs ออกเป็น Class A และ Class C โดยการวางยา FOX ห่างจากยากลุ่มแรกในระยะระหว่าง 1.5-2 ซม. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง สังเกตการเกิดวงใสของการยับยั้งยาที่ถูกยับยั้งการออกฤทธิ์ (antagonism) ระหว่างยา ATM และ CAZ ด้านที่ใกล้กับ FOX (Toronto Medical Laboratories, 2005) ซึ่งเป็นยาดัชนี (indicator drugs) ในการตรวจคัดกรอง (screening) การสร้างเอนไซม์ ESBLs และ Amp C beta-lactamase โดยเชื้อที่ดื้อต่อยา FOX และพบการเกิด antagonism ระหว่าง extended spectrum cephalosporins แสดงว่าเชื้อมีการสร้าง Amp C beta-lactamase (รูปที่ 1) หลังจากนั้นตรวจยืนยันผลเพิ่มเติมด้วยวิธี Disk antagonism test (DAT) ตามวิธีของ Arora and Bal (2005)

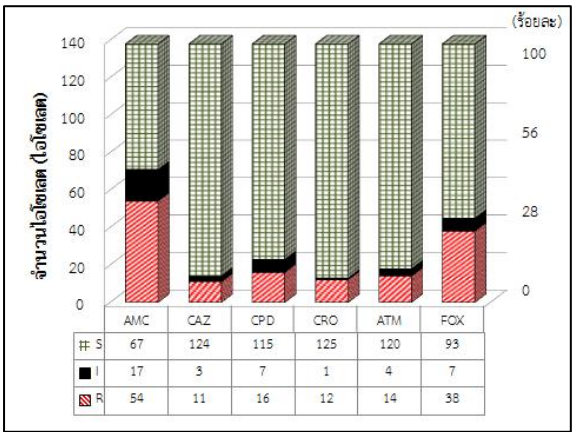
ผลการวิจัย

1. ความชุกของการดื้อยาต้านจุลชีพของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม

ผลการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อที่แยกได้ 138 ไอโซเลตพบความชุกของการดื้อต่อ extended spectrum beta-lactamase สูง โดยเฉพาะยากลุ่ม third generation cepalosporins โดยดื้อต่อ Amoxicillin/Clavulanic, Ceftazidime, Cefpodoxime, Ceftriaxone, Aztreonam และ Cefoxitin คิดเป็นร้อยละ 39.2, 8.1, 12.0, 8.7, 10.0 และ 27.5 ตามลำดับ ทั้งนี้พบไวปานกลางคิดเป็นร้อยละ 12.3, 2.1, 5.1, 0.7, 2.9 และ 5.1 ตามลำดับ และพบผลไวต่อยาคิดเป็นร้อยละ 48.5, 89.8, 83.0, 90.5, 87.0 และ 67.3 ตามลำดับ (รูปที่ 2)



รูปที่ 1 การทดสอบการสร้าง ESBLs และ Amp C beta-lactamase



รูปที่ 2 ความไวต่อยาต้านจุลชีพของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม (N=138)

(ที่มา: AMC, Amoxicillin/Clavulanic; CAZ, Ceftazidime; CPD, Cefpodoxime; CRO, Ceftriaxone; ATM, Aztreonam และ FOX, Cefoxitin)

2. รูปแบบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม

ผลการทดสอบพบรูปแบบของการดื้อต่อยาต้านจุลชีพทั้งหมด 5 รูปแบบ โดยพบรูปแบบที่ให้ผลการดื้อยา 1 ชนิดเป็นจำนวน 72 ไอโซเลต (ร้อยละ 52.2) ได้แก่ การดื้อยา Amoxicillin/Clavulanic, Cefoxitin, Aztreonam และ Cefpodoxime คิดเป็นร้อยละ 32.6, 16.7, 2.2 และ 0.7 ตามลำดับ พบรูปแบบการดื้อยา 2 ชนิดจำนวน 4 ไอโซเลต (ร้อยละ 2.9) ดื้อยา 3 ชนิด เป็นจำนวน 3 ไอโซเลต (ร้อยละ 2.2) ดื้อยา 4 ชนิด จำนวน 3 ไอโซเลต (ร้อยละ 2.2) โดยไม่พบการดื้อยาร่วมกัน 5 ชนิด แต่พบมีการดื้อยาที่ทดสอบทั้ง 6 ชนิดจำนวน 7 ไอโซเลต (ร้อยละ 5.1) ตามตารางที่ 1

3. ความชุกและประเภทของ ESBLs

ตรวจพบแบคทีเรียที่สามารถสร้าง ESBLs ได้ทั้งสิ้น 14 ไอโซเลต หรือมีความชุกเป็นร้อยละ 10.1 ของจำนวนแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมด ทั้งนี้สามารถแยกกลุ่ม ESBLs ออกเป็น Class A ESBLs พบ 2 ไอโซเลต (ร้อยละ 14.3) ที่แยกได้จาก *K. Pneumoniae* เท่านั้น พบ Class C ESBLs 5 ไอโซเลต (ร้อยละ 35.7) จาก *E. coli*, *K. pneumoniae* และ *Citrobacter* spp. จำนวน 2, 2 และ 1 ไอโซเลต และจากการศึกษาพบเชื้อที่สร้างเอนไซม์ ESBLs ร่วมกับ Amp C จำนวน 7 ไอโซเลต (ร้อยละ 50.0) แยกได้จาก *E. coli* และ *Enterobacter* spp. จำนวน 6 และ 1 ไอโซเลต ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 รูปแบบความไวต่อยาต้านจุลชีพของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม (N= 138)

รูปแบบความไวต่อยาต้านจุลชีพ	จำนวน (ร้อยละ)
1. การดื้อยา 1 ชนิด	**72 (52.2)**
AMC	45 (32.6)
CPD	1 (0.7)
ATM	3 (2.2)
FOX	23 (16.7)
2. การดื้อยา 2 ชนิด	**4 (2.9)**
CRO + FOX	1 (0.7)
CPD + FOX	2 (1.4)
ATM + CPD	1 (0.7)
3. การดื้อยา 3 ชนิด	**3 (2.2)**
CAZ + CPD + FOX	1 (0.7)
CPD + ATM + FOX	1 (0.7)
CRO + CPD + FOX	1 (0.7)
4. การดื้อยา 4 ชนิด	**3 (2.2)**
CPD + CRO + ATM + CAZ	1 (0.7)
CPD + CRO + CAZ + FOX	1 (0.7)
CRO + ATM + CAZ + FOX	1 (0.7)
5. การดื้อยาทั้ง 6 ชนิด	**7 (5.1)**
AMC + CAZ + CPD + ATM + CRO + FOX	7 (5.1)

ที่มา: AMC, Amoxicillin/Clavulanic; CAZ, Ceftazidime; CPD, Cefpodoxime; CRO, Ceftriaxone; ATM, Aztreonam และ FOX, Cefoxitin

ตารางที่ 2 ประเภทของ ESBLs ที่พบ (N= 14)

แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม	จำนวนไอโซเลต (ร้อยละ)		
	Class A	Class C	ESBL ร่วมกับ Amp C
E. coli	0	2 (14.3)	6 (42.9)
Klebeiella pneumoniae	2 (14.3)	2 (14.3)	0
Enterobacter spp.	0	0	1 (7.1)
Citrobacter spp.	0	1 (7.1)	0
รวม (ร้อยละ 100)	2 (14.3)	5 (35.7)	7(50.0)

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการศึกษาการตรวจหาความชุกของการสร้างเอนไซม์ที่มีฤทธิ์ขยายการดื้อยาในกลุ่มบีตา-แลคแทม ของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มที่แยกจากห้องสุขาสาธารณะในกรุงเทพมหานคร จำนวน 138 ไอโซเลต ซึ่งส่วนใหญ่เป็น *E. coli* มีความชุกของการสร้าง

เอนไซม์ ESBLs จำนวน 14 ไอโซเลตหรือร้อยละ 10.1 ของแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมดโดยใช้วิธี DDS ซึ่งประกอบด้วย Class A, Class C และพบการสร้างเอนไซม์ ESBLs ร่วมกับ Amp C จำนวน 2, 5 และ 7 ไอโซเลตคิดเป็นร้อยละ 14.3, 35.7 และ 50.0 ของแบคทีเรียที่สร้าง ESBLs หรือร้อยละ 1.4, 3.6 และร้อยละ 5.1 จากแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มที่แยกได้ทั้งหมด ตามลำดับ ด้วยวิธีของ Toronto Medical Laboratories (2005) ทั้งนี้พบแบคทีเรียโคลิฟอร์มที่แยกได้ดื้อต่อยากลุ่ม penicillins + beta-lactamase inhibitors (Amoxicillin/Clavulanic), extended spectrum cephalosporins (Ceftazidime, Cefpodoxime และ Ceftriaxone), monobactams (Aztreonam) และยากลุ่ม Cephamycins (Cefoxitin) ที่ใช้เป็นยาที่ใช้เป็นดัชนีและคัดกรองการสร้าง ESBLs คิดเป็นร้อยละ 39.2, 28.3, 10.1 และ 27.5 ของแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมดตามลำดับ ซึ่งมีความชุกของการดื้อยาอย่างน้อย 1 ชนิดร้อยละ 64.5 โดยประกอบด้วยรูปแบบที่ดื้อต่อยาจำนวน 5 รูปแบบ พบรูปแบบที่ดื้อต่อยา 1 ชนิดมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 52.2 และพบการดื้อยาที่ทดสอบร่วมกันทั้ง 6 ชนิด ร้อยละ 5.1

การดื้อต่อยาต้านจุลชีพของแบคทีเรียในปัจจุบันเป็นปัญหาสำคัญทั้งทางการแพทย์และผู้ป่วยที่ใช้ยาต้านจุลชีพในการรักษาทำให้มีแนวโน้มของการดื้อยาเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ซึ่งส่งผลทำให้การดื้อยาหลายชนิดพร้อมกัน โดยสาเหตุสำคัญที่ทำให้มีการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาเกิดจากการใช้ยาต้านจุลชีพกันอย่างแพร่หลายและไม่เหมาะสม โดยยาต้านจุลชีพกลุ่ม beta-lactams ซึ่งถือว่าเป็นกลุ่มยาที่มีความปลอดภัยต่อผู้ป่วยจึงมีการใช้มากที่สุดในโรงพยาบาล แต่เมื่อเชื้อสร้างเอนไซม์ ESBLs จึงส่งผลให้เกิดการดื้อต่อยาต้านจุลชีพ penicillins และ cephalosporins รวมทั้ง extendedspectrumbeta-lactams นอกจากนี้พบว่าเชื้อที่สร้างเอ็นไซม์ ESBLs ส่วนใหญ่เกิดการดื้อยาหลายกลุ่มร่วมกัน (multiple drug resistance) ทำให้เป็นปัญหาในการเลือกยารักษาผู้ป่วยโดยมีอุบัติการณ์ของการสร้างเอนไซม์และการดื้อยาแตกต่างกันในยาต้านจุลชีพแต่ละชนิด วิธีที่ใช้ในการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ ESBLs และ Amp C beta-lactamase ในห้องปฏิบัติการทั่วไปมีหลายวิธี (Vercauteren et al., 1997; M'Zali et al., 2000) โดยแต่ละวิธีจะมีความไวและความจำเพาะที่ไม่เท่ากัน แต่วิธีเหล่านี้มีข้อจำกัดเนื่องจากพบว่าแบคทีเรียสามารถผลิตเอนไซม์เหล่านี้ได้หลากหลายชนิด (Song et al., 2007) และหากเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ ESBLs ร่วมกับ AmpC beta-lactamase จะทำให้เกิดปัญหาในการบดบังการตรวจหาเอนไซม์ ESBLs ในห้องปฏิบัติการ อย่างไรก็ตามวิธี DDS สามารถทำได้ง่ายและใช้ยาในกลุ่มเดียวกันกับการตรวจหา ESBLs ตาม CLSI (2013) อยู่แล้ว แต่หากใช้วิธีที่มีความไว เช่น การตรวจหายีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ย่อมมีโอกาสตรวจพบอุบัติการณ์ของการสร้าง ESBLs และ Amp C beta-lactamase ได้เพิ่มมากขึ้น (Peter-Getzlaff et al., 2011)

ปัญหาการสร้าง ESBLs ของ *E. coli* แม้เริ่มต้นจากการก่อโรคในมนุษย์ทั้งในชุมชน และเป็นโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล ตลอดจนเกิดการระบาดในสัตว์เลี้ยงและปศุสัตว์แล้วยังพบว่าพบการปนเปื้อนเชื้อดังกล่าวได้ในสิ่งแวดล้อมทั้งภายในและนอกสถานบริการสุขภาพหรือโรงพยาบาล หรือภายในสิ่งแวดล้อมชุมชน (Kitziz et al., 1988; Teshager et al., 2000; Pitout, 2010; Wieler et al., 2011) เช่น การศึกษาของปิยะรัตน์ (2556) พบ *E. coli* ที่แยกได้จากแหล่งน้ำในสิ่งแวดล้อมดื้อต่อยากลุ่ม cephalosporins รุ่นที่ 3 ได้แก่ cefpodoxime และ ceftazidime คิดเป็น

ร้อยละ 6.1 และ 1.3 ตามลำดับ โดยมีรายงานการตรวจพบการสร้างเอนไซม์ ESBLs ในเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากแหล่งน้ำสิ่งแวดล้อมร้อยละ 15.2 (ปิยะรัตน์, 2555) ในขณะที่เชื้อในกลุ่มเดียวกันที่แยกจากการศึกษานี้ดื้อต่อยาดังกล่าว ร้อยละ 12.0 และ 8.1 ตามลำดับ และสามารถแยก ESBLs จากแบคทีเรียในสิ่งแวดล้อมภายในสุขาได้ร้อยละ 10.1

การตรวจพบการดื้อยาต้านจุลชีพและการสร้างเอนไซม์ ESBLs ในกลุ่มแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนในห้องสุขาสาธารณะ แสดงว่าชุมชนมีโอกาสติดเชื้อก่อโรคชนิดอื่น ๆ ซึ่งมีแหล่งที่มาจากอุจจาระได้เช่นเดียวกัน และอาจเป็นกลุ่มที่มีความสามารถในการดื้อต่อยาต้านจุลชีพจากการสร้างเอนไซม์ดังกล่าวได้มากขึ้น ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้มีประโยชน์เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการบริหารจัดการควบคุมการแพร่กระจายและเฝ้าระวังแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นางสาววิลาวัลย์ หิรัญชากร นางสาวปิยะนุช ทองโต และนางสาวเสาวนิตย์ เสียม-ไหม รวมทั้งผู้ที่เกี่ยวข้องที่ทำให้สามารถปฏิบัติงานได้อย่างลุล่วงเป็นไปตามวัตถุประสงค์ของการศึกษา

เอกสารอ้างอิง

กิจจา จิตรภิรมย์. (2556). การประเมินมาตรฐานและการปนเปื้อนแบคทีเรียในห้องน้ำสาธารณะ. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 41(3): 787-796.

ปิยะรัตน์ จิตรภิรมย์. (2555). การศึกษาความชุกของแบคทีเรียชนิดที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมสที่มีฤทธิ์ขยายจากแหล่งน้ำสิ่งแวดล้อม. ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์ 12(2): 94-106.

ปิยะรัตน์ จิตรภิรมย์. (2556). การดื้อต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มที่แยกได้จากน้ำในสิ่งแวดล้อม. การประชุมเครือข่ายการวิจัยความหลากหลายทางชีวภาพ : การวิจัยบูรณาการเพื่อการพัฒนาบุคลากรการศึกษาและการพัฒนาท้องถิ่นอย่างยั่งยืน. ณ โรงแรมโพธิ์วดล รีสอร์ทแอนด์สปา เชียงราย, 9-10 กันยายน 2556.

Anthony, R.B., Gabriele, C., Siritron S., John, B.B., Frederick, M.A., Terence, I.M. and Kim, L. (2006). Conjugating berberine to a multidrug resistance pump Inhibitor creates an effective antimicrobial. ASC Chemica Biology 1(9): 594-600.

Arora, S. and Bal, M. (2005). Amp C beta-lactamase producing bacterial isolates from a Kolkata hospital. Indian J Med Res. 122(3): 224-233.

Barker, J. and Bloomfield, S.F. (2000). Survival of Salmonella in bathrooms and toilets in domestic homes following salmonellosis. JAM. 89(1): 137–144.

Bagley, S.T., (1985). Habitat association of *Klebsiella* species. Infect Control 6(2): 52–58.

Bush, K. (2001). New beta-lactamases in Gram-negative bacteria: diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. Clin Infect Dis. 32(7): 1085–1089.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2013). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-third informational supplement M100-S23. USA: CLSI.

Hasan, M.Z., Zinat, M. and Mamun, R. (2009). Intergenic and intragenic conjugal transfer of multiple antibiotic resistance determinants among bacteria in the aquatic environment of Bangladesh. African Journal of Biotechnology 8(2): 155-160.

Kaftandzieva, A., Trajkovska-Dokic, E. and Panovski, N. (2011). Prevalence and molecular characterization of extended spectrum beta-lactamases (ESBLs) producing *Escherichia*

coli and *Klebsiella pneumoniae*, Sec Biol Med Sci. XXXII/2(2011), 129–14. Available from: http://manu.edu.mk/prilozi/9k.pdf. 25 October 2014.

Kitzis, M.D., Billot-Klein,D., Goldstein, F.W., Williamson, R., Tran Van Nhieu, G., Carlet, J. Acar, J.F. and Gutmann, L. (1988). Dissemination of the novel plasmid-mediated beta-lactamase CTX-1, which confers resistance to broad-spectrum cephalosporins, anditsinhibition by beta-lactamaseinhibitors. Antimicrob. Agents Chemother. 32(1): 9–14.

Kliebe, C., Nies, B.A., Meyer, J.F., Tolxdorff-Neutzling, R.M. and Wiedemann, B. (1985). Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cepha- losporins. Antimicrob Agents Chemo-ther. 28(2): 302–307.

Lu, S.Y., Zhang, Y.L., Geng, S.N., Li, T.Y., Ye, Z.M., Zhang, D.S., Zou, F. (2010). High diversity of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in an urban river sediment habitat. Appl Environ Microbiol. 76(17): 5972–5976.

Lipsky, B.A,, Hook, E.W, .Smith, A.A. and Plorde, J.J. (1980). Citrobacter infection in humans; experience at Seattle veterans Administration Medical Centre and review of literature. Rev Infect Dis. 2(5): 746-760.

M'Zali, F.H., Chanawong, A., Kerr, K.G., Birkenhead, D. and Hawkey, P.M. (2000). Detection of extended-spectrum beta-lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae*: comparison of the MAST DD test, the double disk and the Etest ESBL. J Antimicrob Chemother. 45(6): 881-885.

Nordmann, P., Cuzon, G. and Naas, T. (2009). The real threat of *Klebsiella pneumonia* carbapenemase-producing bacteria. Lancet Infect Dis. 9(4): 228-36.

Peter-Getzlaff, S., Polsfuss, S., Poledica, M., Hombach, M., Giger, J., Böttger, E.C., Zbinden, R. and Bloemberg, G.V. (2011). Detection of AmpC Beta-Lactamase in *Escherichia coli*: Comparison of Three Phenotypic Confirmation Assays and Genetic Analysis. J Clin Microbiol. 49(8): 2924–2932.

Pitout, J.D.D. (2010). Infections with extended-spectrum beta-lactamase-producing Entero bacteriaceae:changing epidemiology and drug treatment choices. Drugs. 70(3): 313–333.

Podschun, R. and Ullmann, U. (1998). *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clin Microbiol Rev. 11(4): 589-603.

Poirel, L., Naas, T. and Nordmann, P. (2008). Genetic support of extended-spectrum b-lactamases. CMI. 14(1): 75–81.

Song, W., Bael, K., Lee, Lee, Y.N., Lee, C.H., Lee S.H. and Jeong, S.H. (2007). Detection of Extended-spectrum beta-Lactamases by using boronic acid as an AmpC beta-lactamase inhibitor in clinical isolates of *Klebsiella* spp. and *Escherichia coli*. J Clin Microbiol. 45(4): 1180-1184.

Tadesse, D.A., Zhao, S., Tong, E., Ayers, S., Singh, A., Bartholomew, M.J. and McDermott, P.F. (2012). Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950-2002. Emerg Infect Dis. 18 (5): 741–749.

Teshager, T., Dominguez, L., Moreno, M.A., Saenz, Y., Torres, C. and Cardemosa, S. (2000). Isolation of an SHV-12 beta-lactamase-

producing *Escherichia coli* strain from a dog with recurrent urinary tract infections. Antimicrob Agents Chemother. 44(12): 3483–3484.

Totsika, M., Beatson, S., Sarkar, S. and Phan, M.D. (2011). Insights into a multidrug resistant *Escherichia coli* pathogen of the globally disseminated ST131 lineage: genome analysis and virulence mechanisms. PLoS One6: e26578. Available from: http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0026578&representation=PDF. 27 October 2014.

Toronto medical laboratories. (2005). Antimicrobial Susceptibility Testing Manual. Procedure manual Toronto medical laboratories/Mount Sinai hospital microbiology department, 21 November 2005.

Vercauteren, E., Descheemaeker, P., Ieven, M., Sanders, C.C. and Goossens, H. (1997). Comparison of screening methods for detection of extended-spectrum beta-lactamases and their prevalence among blood isolates *of Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in a Belgian teaching hospital. J Clin Microbiol. 35(9) : 2191-2197.

Wieler, L.H., Ewers, C., Guenther, S., Walther, B. and Lübke-Becker, A. (2011). Methicillin-resistant staphylococci (MRS) and extended spectrum-betalactamases (ESBL)- producing Enterobacteriaceae in companion animals: nosocomial infections as one reason for the rising prevalence of the sepotential zoonotic pathogens in clinical samples. Int J Med Microbiol. 301(8): 635–641.

Zervosen, A., Sauvage, E., Frère, J.M, Charlier, P. and Luxen, A. (2012). Development of new drugs for an old target: the penicillin binding proteins. Molecules 17(11): 12478-505.

❒❒❒❒❒