

บทที่ 4

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

ในช่วง 2-3 ปีหลังนี้มีรายงานแบคทีเรียวงศ์ Enterobacteriaceae ที่ดื้อยาในกลุ่ม carbapenems โดยเชื้อผลิตเอนไซม์ carbapenemase โดยเฉพาะเอนไซม์ KPC, NDM และ OXA-48 จากประเทศต่างๆทั่วโลก โรงพยาบาลศรีนครินทร์มีอัตราความชุกของเอนไซม์ ESBL ใน *E. coli* และ *K. pneumoniae* สูงเกือบร้อยละ 50 จึงมีการใช้ยาในกลุ่ม carbapenems เพิ่มขึ้นและมีโอกาสเกิดการคัดเลือกเชื้อดื้อยาในกลุ่ม carbapenems ได้ การศึกษาครั้งนี้จึงสำรวจเอนไซม์ carbapenemase ในเชื้อวงศ์ Enterobacteriaceae ที่แยกได้จากโรงพยาบาลศรีนครินทร์เพื่อเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาเหล่านี้และเป็นข้อมูลสำหรับหน่วยควบคุมโรคติดเชื้อของโรงพยาบาลต่อไป

CLSI ได้กำหนดวิธีตรวจกรองเอนไซม์ carbapenemase โดยเฉพาะเอนไซม์ KPC ในเชื้อ Enterobacteriaceae ด้วยยา ertapenem แต่ไม่แนะนำให้ใช้ยา imipenem เนื่องจากมีความไวต่ำ (23) การศึกษานี้ใช้ทั้งยา ertapenem และยา imipenem เนื่องจาก Pasteran และคณะ (24) พบว่ายา imipenem มีความไวและความจำเพาะสูงกว่ายา ertapenem และ meropenem ผลการศึกษาพบว่ายา ertapenem สามารถตรวจกรองเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ MBL ทั้ง 8 ตัวอย่างในขณะที่ยา imipenem ไม่สามารถตรวจกรองเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ MBL ชนิด IMP-14a ทั้งสองตัวอย่างได้ ดังนั้นการศึกษานี้สนับสนุนการใช้ ertapenem ในการตรวจกรองเอนไซม์ carbapenemase ในเชื้อวงศ์ Enterobacteriaceae ตามคำแนะนำของ CLSI

สำหรับการตรวจยืนยันเอนไซม์ carbapenemase โดยวิธีพีโนไทป์ CLSI ได้แนะนำวิธี MHT สำหรับตรวจยืนยันเอนไซม์ KPC ซึ่งมีความไวและความจำเพาะถึงร้อยละ 90 อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อมูลสำหรับการตรวจยืนยันเอนไซม์ MBL โดยวิธี MHT ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าวิธี MHT ไม่เหมาะสมสำหรับการตรวจยืนยันเอนไซม์ MBL เนื่องจากมีเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ NDM-1 จำนวน 2 ตัวอย่างจาก 6 ตัวอย่างให้ผลลบกับวิธี MHT ในขณะที่วิธี EDTA-carbapenem combined disc ให้ผลบวกกับเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ MBL ทั้ง 8 ตัวอย่างซึ่งให้ผลตรงกับวิธี PCR ที่ถือว่าเป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard) การศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Castanheira และคณะ (34) และ Perry และคณะ (35) ซึ่งใช้ dipicolinic acid, EDTA หรือ mercaptopropionic acid เป็นสารยับยั้ง นอกจากนี้ในการศึกษานี้มีเชื้อที่ให้ผลบวกกับวิธี MHT จำนวน 27 ตัวอย่างและ 21 ตัวอย่างให้ผลลบกับวิธี PCR ผลบวกปลอมอาจเกิดจากเชื้อผลิตเอนไซม์ ESBL หรือ AmpC ร่วมกับการขาดหายไปของ porin (36,37) ดังนั้นจากการศึกษานี้จึงเสนอแนะให้ใช้วิธี EDTA-carbapenem combined disc สำหรับการตรวจยืนยันเอนไซม์ MBL ในงานประจำวัน

จากตัวอย่างที่ให้ผลบวกกับวิธีตรวจกรองจำนวน 104 ตัวอย่างพบว่ามีเชื้อ 36 ตัวอย่างให้ผลบวกกับ PBA โดยเชื้อ 31 ตัวอย่างจาก 36 ตัวอย่างเป็น Enterobacter spp. ซึ่งผลิตเอนไซม์ chromosomal AmpC ได้ นอกจากนี้พบว่า 23 ตัวอย่างให้ผลบวกกับยา OX และไม่มีตัวอย่างใดที่ตรวจพบยีน *bla_{KPC}* ผลบวกปลอมจาก PBA อาจเกิดจากเชื้อผลิตเอนไซม์ AmpC ร่วมกับการขาดหายไปของ porin (24,38) อย่างไรก็ตามเชื้อเหล่านี้อาจผลิตเอนไซม์ class A carbapenemase ชนิดอื่นนอกเหนือจาก KPC ซึ่งต้องทำการศึกษาโดยวิธี PCR ต่อไป

ในโรงพยาบาลศรีนครินทร์มีรายงานเอนไซม์ MBL ครั้งแรกใน *P. aeruginosa* ที่แยกได้จากผู้ป่วย ในปี ค.ศ. 2001 โดยเชื้อผลิตเอนไซม์ VIM-2 (Chanawong และคณะ GenBank accession no. DQ302723) (12) และในปี ค.ศ. 2006 (Chanawong และคณะ GenBank accession no. FJ267652) นอกจากนี้พบเอนไซม์ IMP-14a (Chanawong และคณะ GenBank accession no. FJ267650 และ FJ267651) และ IMP-15 ใน *P. aeruginosa* ที่แยกได้จากผู้ป่วยในปี ค.ศ. 2006 เช่นกัน (13) integron ที่มี *bla*_{IMP-14a} นั้นมียีน aminoglycoside adenylyltransferase (*aadB*) อยู่ด้วยในขณะที่ *bla*_{IMP-14} ใน *P. aeruginosa* จากโรงพยาบาลศิริราช (Tribuddharat และคณะ GenBank accession no. AY553332) อยู่บน integron ที่มียีน aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase gene (*aacA*) อยู่ด้วย ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า *bla*_{IMP-14a} ใน *K. pneumoniae* 2 ตัวอย่างอยู่บน integron ที่มียีน aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase gene (*aacA*) เช่นเดียวกับที่พบใน *P. aeruginosa* จากโรงพยาบาลศิริราช จนถึงปัจจุบันเอนไซม์ IMP-14 และ IMP-14a มีรายงานจากประเทศไทยเท่านั้น

การศึกษายีนที่อยู่รอบ *bla*_{NDM-1} ในเชื้อทั้ง 6 ตัวอย่างพบว่าเหมือนกับที่มีรายงานจากอินเดีย (7), ฮังการี (32) และสเปน (33) ซึ่งทางด้าน upstream ของยีน *bla*_{NDM-1} เป็นส่วนของยีน *ISAb125* ส่วนยีน *ble* (bleomycin resistance gene) และ *trpF* (phosphoribosylanthranilate isomerase gene) อยู่ทางด้าน downstream ส่วนของ *ISAb125* มีรายงานพบใน *A. baumannii* ที่ไม่ผลิตเอนไซม์ NDM-1 (39) จึงมีข้อสันนิษฐานว่า *ISAb125* element อาจมีส่วนในการเคลื่อนย้าย (mobilization) ยีน *bla*_{NDM-1} อย่างไรก็ดีตามยีนที่อยู่รอบ *bla*_{NDM-1} มีความหลากหลายมาก (7,32,33,40-42) การศึกษายีนที่อยู่รอบ *bla*_{NDM-1} ของเชื้อทั้ง 6 ตัวอย่างอาจช่วยอธิบายการแพร่กระจายของยีนดื้อยานี้ในแบคทีเรียแกรมลบได้ซึ่งต้องทำการศึกษาต่อไป

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ NDM-1 ดื้อต่อยากลุ่ม β -lactams ทั้งหมดยกเว้น aztreonam แต่เชื้อทั้งหมดยังไวต่อยา colistin และ tigecycline อย่างไรก็ดีตามมีรายงานเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ NDM-1 และดื้อต่อยา colistin และ tigecycline (43,44) ซึ่งทำให้มีทางเลือกในการรักษาน้อยลง ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ IMP-14a ยังให้ผลไวหรือไวปานกลางต่อยากลุ่ม carbapenems เมื่อใช้เกณฑ์การแปลผลของ CLSI ในปีค.ศ. 2009 เช่นเดียวกับการศึกษาอื่นๆ (45,46) การใช้ยากลุ่มนี้รักษาผู้ป่วยอาจจะไม่ได้ผล

การศึกษานี้เป็นรายงานเอนไซม์ NDM-1 ครั้งแรกจากประเทศไทยและเอนไซม์ IMP-14a จาก *K. pneumoniae* ดังนั้นควรมีมาตรการในการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาเหล่านี้เพื่อควบคุมและป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาเหล่านี้ในประเทศไทย และเสนอแนะการตรวจกรองเอนไซม์ carbapenemase ด้วยยา ertapenem และการตรวจยืนยันเอนไซม์ MBL ด้วยวิธี EDTA เป็นงานประจำของห้องปฏิบัติการต่อไป