บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

การศึกษานี้ได้ทำการศึกษาเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ AmpC beta-lactamases โดยทำการเก็บตัวอย่างเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ได้จากการการเพาะแยกเชื้อทางห้องปฏิบัติการจุล-ชีววิทยาคลินิกของโรงพยาบาลเขตภาคเหนือตอนล่าง ทำการตรวจหาการผลิตเอนไซม์ AmpC beta-lactamases ทางฟีโนไทป์ในเชื้อ *K. pneumoniae* โดยวิธี inhibitor-based test และตรวจยืนยันผลการทดสอบด้วยวิธี multiplex PCR

จากการศึกษานี้พบว่าวิธี Inhibitor besed test ให้ค่าความไวและค่าความจำเพาะ คิดเป็นร้อยละ 75 และ 91.28 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของนักวิจัยหลายกลุ่มที่พบว่าวิธีนี้มีค่าความไวและความจำเพาะ คิดเป็นร้อยละ 20-96 และ 81-100 ตามลำดับ[15-17] ดังนั้น วิธี inhibitor-based test จึงเป็นวิธีหนึ่งสำหรับนำไปใช้ในการตรวจหาการผลิตเอนไซม์ AmpC beta-lactamases ทางฟีโนไทป์ของเชื้อในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิกได้ เนื่องจากเป็นวิธีที่มีค่าความไวและความจำเพาะสูง การทดสอบทำได้ง่าย เพียงวัดขนาดของ inhibition zone ของยาที่เกิดขึ้น แล้วอ่านผลความแตกต่างของ inhibition zone

แต่การสังเกตปฏิกริยาระหว่างคู่แผ่น Cefoxitin ที่มี Boronic acid กับในยากลุ่ม Cephalosporin ได้แก่ ยา Ceftazidime Cefotaxime Ceftriaxone Cefpodoxime และ Cefoperazone ที่ระยะห่างของแผ่นยาเท่ากับ 20 มิลลิเมตร ในการตรวจหาการการสร้างเอนไซม์ AmpC beta-lactamases นั้นให้ผลที่ชัดเจนเมื่อทำในเชื้อควบคุม (83.33-100%) โดยเฉพาะระหว่างคู่แผ่นยา Cefoxitin ที่มี Boronic acid กับ cefotaxime แต่กลับไม่ชัดเจนเท่าที่ควร คือให้ผลที่ต่ำ ที่ 33.33% ซึ่งยังไม่สามารถนำมาประยุกต์ใช้สำหรับห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิกได้ ซึ่งระยะห่างของยาและสารยับยั้งมีผลต่อการทดสอบ การวางยาและสารยับยั้งที่ใกล้หรือไกลเกินไป จะมีผลต่อการอ่านผลและแปลผลการทดสอบที่เป็นผลบวกปลอมหรือผลลบปลอมได้[45] อย่างไรก็ตามมีเชื้อที่ไม่สามารถผลิตเอนไซม์ AmpC beta-lactamases ของวิธี inhibitor-based test จำนวน 13 ตัวอย่าง ที่ให้ผลบวกปลอม อาจเกิดจากเชื้อ *K. pneumoniae* บางสายพันธุ์สามารถผลิตเอนไซม์ AmpC beta-lactamases จากยีน AmpC ทีกำกับบนโครโมโซมได้ อีกทั้งการศึกษานี้ใช้วิธี multiplex PCR โดยใช้ primers ที่จำเพาะต่อยีน AmpC ที่กำกับบนพลาสมิดเท่านั้น

นอกจากนี้การศึกษานี้ใช้ยา Cefoxitin แทนยา cefotetan ที่จัดเป็นยาในกลุ่มเดียวกัน คือ 2nd Cephalosporin และเป็นยาที่นิยมใช้ทดสอบความไวต่อยาในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิกทั่วไป และหาซื้อได้ง่าย อีกทั้งยังให้ผลที่สอดคล้องกับการวิจัยที่ผ่านมา[17-18] แสดงว่าสามารถใช้ยา cefoxitin แทนยา cefotetan ในการตรวจหาการผลิตเอนไซม์ AmpC beta-lactamases ด้วยวิธีทาง ฟีโนไทป์ได้

Philippon และคณะ ได้รายงานว่า ยีน AmpC ที่กำกับบนพลาสมิดที่พบทั่วโลก มีมากกว่า 40 ชนิด โดยชนิด CMY-2 เป็นชนิดพบบ่อยที่สุด[3] แต่ในประเทศไทยยังไม่มีการรายงานอย่างเป็นทางการเกี่ยว

ยีน AmpC ที่กำกับบนพลาสมิด แต่คาดว่าน่าจะมีเชื้อที่มียีน AmpC อยู่เช่นกัน เนื่องจากเชื้อ *K. pneumoniae* มีกลไกการดื้อยาคล้ายกับเชื้อที่สร้างเอนไซม์ ESBLs ได้ สำหรับการการตรวจหายีน AmpC ที่กำกับบนพลาสมิดด้วยวิธี multiplex PCR โดยในการศึกษานี้ พบว่า ความชุกของเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ AmpC beta-lactamases เท่ากับร้อยละ 10.3 จัดเป็นยีนชนิด LAT/CMY/BIL (คิดเป็นร้อยละ 43.75) โดยคาดว่าน่าจะเป็นยีนชนิด CMY เช่นเดียวกับการศึกษาก่อนหน้านี้[3]

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษานี้ พบอุบัติการณ์ของเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ AmpC beta-lactamases ในโรงพยาบาลเขตภาคเหนือตอนล่าง ในระหว่างเดือน มีนาคม ถึง สิงหาคม 2554 เท่ากับร้อยละ 9.7 และจากการเปรียบเทียบวิธีตรวจหาการผลิตเอนไซม์ AmpC beta-lactamases ทางฟีโนไทป์ ในเชื้อ *K. pneumoniae* ซึ่งแยกได้จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิกกับวิธี multiplex PCR ซึ่งเป็นวิธีทางจีโนไทป์ที่ใช้ในการตรวจยืนยันผลการผลิตเอนไซม์ AmpC beta-lactamases พบว่าวิธี inhibitor-based test มีค่าความไวและความจำเพาะสูงที่สามารถนำไปใช้ในการตรวจหาการผลิตเอนไซม์ AmpC beta-lactamases ทางฟีโนไทป์ของเชื้อในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิกได้ โดยใช้แผ่นยา cefoxitin ขนาด 30 ไมโครกรัม และ แผ่นยา cefoxitin ขนาด 30 ไมโครกรัม ที่เติม boronic acid ขนาด 400 ไมโครกรัม ซึ่งอ่านผล แปลผลได้ง่าย ไม่ยุ่งยาก