บทที่ 5

สรุป อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุป และอภิปรายผล

Acinetobacter baumannii เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล ปัจจุบันพบว่าเป็นปัญหาสำคัญของประเทศไทยและทั่วโลก เนื่องจากเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิด (multidrug-resistant *A. baumannii*; MDR-*AB*) โดยเฉพาะการดื้อยาในกลุ่ม carbapenems ซึ่งเคยเป็นยาที่ดีที่สุด (drug of choice) ในการรักษา ด้วยกลไกหลากหลาย ได้แก่ การสร้างเอนไซม์ carbapenem-hydrolysing β-lactamases หรือ carbapenemase กลุ่ม metallo-β-lactamases (MBLs) หรือ class B β-lactamases และกลุ่ม carbapenem-hydrolysing class D β-lactamases (CHDLs) หรือ oxacillinases และจากแนวโน้มการพบเชื้อ *A. baumannii* สายพันธุ์ที่ดื้อยาในกลุ่ม carbapenems เพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน บุคลากรทางการแพทย์และผู้ที่เกี่ยวข้องจึงมีมาตรการเคร่งครัดในการควบคุมและป้องกันการติดเชื้อและการแพร่กระจายเชื้อในผู้ป่วย รวมทั้งตระหนักในการเลือกใช้ยาในการรักษา ซึ่งข้อมูลพื้นฐานต่างๆ ที่เกี่ยวกับกลไกการดื้อยา การถ่ายทอดยีนดื้อยา และสถานการณ์การดื้อยาของเชื้อ จะมีส่วนช่วยให้แพทย์ตัดสินใจเลือกใช้ยาต้านจุลชีพได้อย่างเหมาะสม และมีประสิทธิภาพในการรักษาสูงสุด เพื่อป้องกันปัญหาเชื้อดื้อยา การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาความชุกของเชื้อ *A. baumannii* สายพันธุ์ดื้อยา imipenem (imipenem-resistant *A. baumannii*) ที่สร้างเอนไซม์ MBLs และ carbapenem-hydrolysing class D β-lactamases จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยโรงพยาบาลนครปฐม จังหวัดนครปฐม โดยตรวจคัดกรอง (phenotypic screening) หาเชื้อที่สร้างเอนไซม์ class B and D carbapenem-hydrolysing β-lactamases ด้วยวิธี modified Hodge test และ MBLs ด้วยวิธี imipenem-EDTA double disk synergy test ซึ่งเป็นวิธีตรวจทางฟีโนทัยป์ที่มีงานวิจัยตีพิมพ์ไว้แล้ว (Lee et al. 2003 : 4623-4629 ; Ikonomidis et al. 2008 : 346-349 ; Andriamanantena et al. 2010 : 17-22) และทำการทดสอบในระดับพันธุกรรม (genotypic detection) โดยตรวจหายีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาในกลุ่ม carbapenems ด้วยเทคนิค PCR เพื่อใช้ในการยืนยันผล ผลการทดสอบเชื้อ imipenem-resistant *A. baumannii* สายพันธุ์ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยโรงพยาบาลนครปฐม ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2552 ถึงเดือนมกราคม พ.ศ. 2553 จำนวนทั้งสิ้น 84 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อทุกสายพันธุ์ (ร้อยละ 100) ให้ผลบวกในการตรวจหาเอนไซม์ class B and D carbapenem-hydrolysing β-lactamases แต่ไม่พบสายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์ MBLs การตรวจหายีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาในกลุ่ม carbapenems ได้แก่ ยีน $bla_{\text{IMP-1-type}}$, $bla_{\text{VIM-2-type}}$ ซึ่งเป็นยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์กลุ่ม MBLs

และยีน $bla_{\text{OXA-23-like}}$ ซึ่งเป็นยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์กลุ่ม carbapenem-hydrolysing class D β-lactamases ของเชื้อทั้ง 84 สายพันธุ์ ด้วยวิธี PCR ผลการทดสอบ พบยีน $bla_{\text{OXA-23-like}}$ แต่ไม่พบยีน $bla_{\text{IMP-1-type}}$ และ $bla_{\text{VIM-2-type}}$ โดยเชื้อ imipenem-resistant *A. baumannii* ทุกสายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วยโรงพยาบาลนครปฐม มียีน $bla_{\text{OXA-23-like}}$ คิดเป็นร้อยละ 100 จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าในช่วงระยะเวลาที่ทำการศึกษายังไม่พบการแพร่กระจายของเชื้อ imipenem-resistant *A. baumannii* สายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์ MBLs ที่ควบคุมโดยยีน $bla_{\text{IMP-1-type}}$ และ $bla_{\text{VIM-2-type}}$ ในโรงพยาบาลนครปฐม ดังที่มีรายงานในต่างประเทศ ซึ่งการสร้างเอนไซม์กลุ่ม MBLs จะทำให้เชื้อดื้อยาในระดับสูงมาก เนื่องจากเอนไซม์สามารถทำลายยากลุ่ม penicillins และ cephalosporins ได้อีกด้วย แต่เชื้อทั้งหมดที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้อาศัยการสร้างเอนไซม์ CHDLs ชนิด OXA-23-like ซึ่งเป็นกลไกหนึ่งในการดื้อยา โดยทั้งนี้เชื้ออาจใช้กลไกเดียวหรือกลไกอื่นๆ ร่วมด้วย ได้แก่ เพิ่มกระบวนการขับยาออก (efflux pump) (Koh et al. 2007 : 1173-1174) หรือลดการแพร่ผ่านของยาเข้าสู่เซลล์ และการเปลี่ยนแปลงเป้าหมาย (target) การออกฤทธิ์ของยาร่วมด้วย (Poirel and Nordmann. 2006 : 826-836 ; Gordon and Wareham. 2010 : 219-226) ซึ่งควรต้องมีการศึกษาต่อไป เนื่องจากรายงานนี้ศึกษาความชุกของเชื้อ imipenem-resistant *A. baumannii* ที่แยกได้จากผู้ป่วยโรงพยาบาลนครปฐม ในระยะเวลาเพียง 7 เดือน (เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2552 ถึงเดือนมกราคม พ.ศ. 2553) ดังนั้นจึงควรศึกษาความชุกของเชื้อนี้อย่างต่อเนื่อง เพื่อเป็นข้อมูลด้านระบาดวิทยาและเป็นแนวทางในการควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อในโรงพยาบาลต่อไป

จากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าข้อมูลสอดคล้องกับการศึกษาของ ชาญวิทย์ ตรีพุทธรัตน์ และคณะ (2551) ที่ทำการศึกษาเชื้อ *A. baumannii* ที่ดื้อยากลุ่ม carbapenems จำนวน 100 สายพันธุ์ จากผู้ป่วยโรงพยาบาลศิริราช และโรงพยาบาลมหาราชนครศรีธรรมราช ในช่วงปี พ.ศ. 2525-2546 ตรวจพบสายพันธุ์ที่มียีน $bla_{\text{OXA-23-like}}$ ด้วยวิธี PCR คิดเป็นร้อยละ 77.8 และไม่พบว่าเชื้อสร้าง MBLs ชนิด IMP-type และ VIM-type เมื่อตรวจยืนยันโดยเทคนิค Southern blot hybridization ด้วย specific probe เช่นเดียวกับข้อมูลการศึกษาของ นภาวรรณ ปุณกบุตร (2551) ที่ทำการศึกษาในเชื้อ *A. baumannii* ที่แยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ระหว่างเดือนมกราคม ปีพ.ศ. 2547 ถึงเดือนสิงหาคม ปี พ.ศ.2550 จำนวน 501 สายพันธุ์พบว่ามีอัตราการดื้อยา imipenem และ meropenem เท่ากับร้อยละ 82.4 และ 81.8 ตามลำดับ เชื้อที่ดื้อยากลุ่ม carbapenems ทุกสายพันธุ์มี carbapenemase activity เมื่อทดสอบโดยวิธี modified Hodge test ไม่พบเอนไซม์ MBLs เมื่อทดสอบด้วยวิธี imipenem-EDTA double-disk synergy test การตรวจคัดกรองยีนที่สร้างเอนไซม์ carbapenemases ในเชื้อทั้งหมด ได้แก่ $bla_{\text{OXA-like}}$, $bla_{\text{IMP-like}}$ และ $bla_{\text{VIM-like}}$ ด้วยวิธี PCR พบยีน $bla_{\text{OXA-23-like}}$, $bla_{\text{OXA-24-like}}$, $bla_{\text{OXA-51-like}}$ และ $bla_{\text{OXA-58-like}}$ แต่ไม่พบยีน $bla_{\text{IMP-like}}$ และ $bla_{\text{VIM-like}}$ โดยเชื้อ

A. baumannii ทุกสายพันธุ์มียีน $bla_{\text{OXA-51-like}}$ ซึ่งสายพันธุ์ที่พบยีน $bla_{\text{OXA-51-like}}$ เพียงชนิดเดียวจะไวต่อยากลุ่ม carbapenems ในขณะที่สายพันธุ์ที่พบยีน $bla_{\text{OXA-51-like}}$ ร่วมกับยีน $bla_{\text{OXA-23-like}}$, $bla_{\text{OXA-24-like}}$ หรือ $bla_{\text{OXA-58-like}}$ จะดื้อต่อยา carbapenems ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้พบเชื้อ *A. baumannii* ที่มียีน $bla_{\text{OXA-51-like}}$ ร่วมกับยีน $bla_{\text{OXA-23-like}}$ มากที่สุดถึงร้อยละ 93.2 และพบยีน $bla_{\text{OXA-51-like}}$ ร่วมกับยีน $bla_{\text{OXA-24-like}}$ หรือ $bla_{\text{OXA-58-like}}$ ร้อยละ 6.8 และจากการศึกษาของ กุนชญา ด้วงเพชร และคณะ (2554) ได้ศึกษาเชื้อ *A. baumannii* ที่ดื้อยากลุ่ม carbapenems ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ ระหว่างเดือนมีนาคม ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2553 จำนวน 144 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อร้อยละ 94.4 สร้างเอนไซม์ CHDLs โดยพบว่าเป็นยีน $bla_{\text{OXA-23-like}}$ ร่วมกับ $bla_{\text{OXA-51-like}}$ มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 94.7 พบยีน $bla_{\text{OXA-24-like}}$ ร่วมกับ $bla_{\text{OXA-51-like}}$ ร้อยละ 0.7 พบยีน $bla_{\text{OXA-24-like}}$ ร่วมกับ $bla_{\text{OXA-23-like}}$ และ $bla_{\text{OXA-51-like}}$ ร้อยละ 0.7 และยีน $bla_{\text{OXA-51-like}}$ ชนิดเดียว ร้อยละ 3.7 แต่ไม่พบยีน $bla_{\text{IMP-type}}$ และ $bla_{\text{VIM-type}}$ หากเปรียบเทียบระบาดวิทยาระดับโมเลกุล (molecular epidemiology) ของเชื้อ carbapenem-resistant *A. baumannii* ที่พบในประเทศแถบทวีปเอเชีย เช่น เกาหลี ไต้หวัน และสิงคโปร์ พบความชุกของสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน โดยเชื้อสายพันธุ์ที่พบในประเทศเกาหลี พบยีน $bla_{\text{OXA-23-like}}$, $bla_{\text{IMP-1-type}}$ และ $bla_{\text{VIM-2-type}}$ คิดเป็นร้อยละ 22.6, 48.4 และ 3.2 ตามลำดับ (Sung et al. 2008 : 16-23) ขณะที่ประเทศไต้หวัน พบยีน $bla_{\text{OXA-23-like}}$ สูงถึงร้อยละ 92.8 (Chen et al. 2009 : 394-397) และประเทศสิงคโปร์ พบยีน $bla_{\text{IMP-4}}$, $bla_{\text{OXA-58}}$ และ $bla_{\text{OXA-23}}$ คิดเป็นร้อยละ 9.1, 11.4 และ 90.9 ตามลำดับ (Koh et al. 2007 : 627-632) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างกันทางด้านภูมิศาสตร์ (geographical areas) และรูปแบบการเลือกใช้ยาต้านจุลชีพที่แตกต่างกัน

จากรายงานการพบเชื้อ carbapenem-resistant *A. baumannii* สายพันธุ์ที่มียีน $bla_{\text{OXA-23}}$ โดยแยกเชื้อได้จากผู้ป่วยโรงพยาบาลพุทธชินราช จังหวัดพิษณุโลก ในปี พ.ศ. 2549 (Niumsup et al. 2009 : 152-154) และได้ศึกษาคุณลักษณะของยีนพบว่าเป็น plasmid-mediated gene สามารถส่งผ่านยีนดื้อยานี้ระหว่างสายพันธุ์ในเชื้อสปีชีส์เดียวกัน หรือต่างสปีชีส์ได้ ซึ่งส่งผลให้การดื้อยาแพร่กระจายได้โดยง่าย อาจเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้พบความชุกของเชื้อ *A. baumannii* สายพันธุ์ที่มียีน $bla_{\text{OXA-23-like}}$ ในประเทศไทยสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว อย่างไรก็ตามยังไม่มีการทดสอบยืนยันที่ชัดเจน

ในปัจจุบันยาใหม่ที่เริ่มนำมาใช้ในการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อ carbapenem-resistant *A. baumannii* ได้แก่ ยา tigecycline ซึ่งเป็นยาชนิดใหม่ล่าสุดที่นำมาใช้ในประเทศไทย หรือ ยา tigecycline ร่วมกับ colistin ซึ่งเป็นยาเก่าที่ไม่ได้นำมาใช้ทางคลินิกมานานแล้ว เนื่องจากมีผลข้างเคียงต่อไต และจาก

รายงานการทดสอบความไวทางห้องปฏิบัติการของ Center for Infections ประเทศอังกฤษ พบว่าเชื้อ carbapenem-resistant *A. baumannii* ที่มียีน $bla_{\text{OXA-23-like}}$ ไวต่อยา tigecycline และ colistin ร้อยละ 88.1 และ 100 ตามลำดับ (Livermore et al. 2010 : 19-24) และสอดคล้องกับการศึกษาของ ชาญวิทย์ ตรีพุทธรัตน์ และคณะ (2551) ที่พบว่าเชื้อ *A. baumannii* ที่มียีน $bla_{\text{OXA-23-like}}$ ทุกสายพันธุ์ไวต่อยา tigecycline และ colistin แต่ดื้อต่อยา rifampin โดยร้อยละ 38 ดื้อต่อยา rifampin ในระดับสูง การใช้ยา rifampin ร่วมกับยากลุ่ม carbapenem จึงอาจใช้ไม่ได้ผลในการรักษากับเชื้อที่แยกได้ในประเทศไทย ดังนั้นการใช้ยา tigecycline และ colistin จึงต้องมีการควบคุมการใช้อย่างเคร่งครัด ไม่เช่นนั้นเชื้ออาจถูกคัดเลือกจนเหลือแต่เชื้อดื้อยาเท่านั้น

5.2 ข้อเสนอแนะ

การดื้อยาในกลุ่ม carbapenems ของเชื้อ *A. baumannii* ยังคงเป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขของประเทศ ดังนั้นบุคลากรทางการแพทย์และผู้ที่เกี่ยวข้องจึงจำเป็นที่จะต้องร่วมมือกันเพื่อควบคุมและป้องกันปัญหาเชื้อดื้อยาที่เกิดขึ้น การรายงานผลตรวจติดตามเชื้อที่สามารถสร้างเอนไซม์กลุ่ม carbapenemase โดยการตรวจคัดกรอง (phenotypic screening) ด้วยวิธี modified Hodge test และ imipenem-EDTA double disk synergy test ซึ่งเป็นเทคนิคที่สามารถทำได้ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทั่วไป หากทำเป็นงานประจำ ข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อ อย่างไรก็ตามการทดสอบในระดับโมเลกุลด้วยเทคนิค PCR ยังมีความจำเป็นเพื่อใช้ในการยืนยันผล เนื่องจากมีผู้วิจัยพบว่าวิธี imipenem-EDTA double disk synergy test มีความไวและความจำเพาะเพียงร้อยละ 79 และ 98 ตามลำดับ (Franklin, Liolios and Peleg. 2006 : 3139-3144) และมีการตรวจพบยีน $bla_{\text{VIM-1-type}}$ ใน *A. baumannii* สายพันธุ์ที่ให้ผลลบในการทดสอบทางฟีโนทัยป์ ได้แก่ MBL Etest, imipenem-EDTA double disk synergy test และ imipenem-EDTA combined disk test ร้อยละ 2.30 (2/87) (Ikonomidis et al. 2008 : 346-349) แต่การทดสอบแยกยีนแต่ละชนิดมีข้อจำกัดเรื่องเวลาและค่าใช้จ่าย ดังนั้นหากผู้วิจัยสามารถพัฒนาเทคนิค multiplex PCR เพื่อตรวจหายีนดื้อยาหลายยีนได้พร้อมกัน และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในห้องปฏิบัติการในลักษณะงานประจำได้ ก็จะเป็นประโยชน์ต่อแพทย์ในการเลือกใช้สารต้านจุลชีพที่เหมาะสมสำหรับการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อดื้อยาหลายขนาน ซึ่งยากแก่การรักษา