บทที่ 2
การปริทัศน์วรรณกรรม

การดื้อยาปฏิชีวนะ สามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ

1. Intrinsic (natural) resistance หมายถึง การดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นอยู่แล้วตามธรรมชาติ ซึ่งอาจเกิดจากเชื้อไม่มีเป้าหมายที่จะให้ยาต้านจุลชีพนั้นๆ ไปออกฤทธิ์ หรือมีกลไกการป้องกันไม่ให้ยานั้นจับกับเป้าหมายในการออกฤทธิ์ได้ ทำให้เชื้อไม่เคยไวต่อยานั้น เช่น การที่ไม่สามารถใช้ยากลุ่ม β-lactams ในการกำจัดเชื้อ *Mycoplasma spp.* เนื่องจากเชื้อนี้ไม่มีผนังเซลล์ หรือการที่ไม่สามารถใช้ยา vancomycin ในการกำจัดเชื้อแกรมลบได้ เพราะ vancomycin มีขนาดโมเลกุลใหญ่จนไม่สามารถเข้าไปในเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ หรือการที่ยากลุ่ม cephalosporins ไม่สามารถจับกับ penicillin-binding proteins (PBPs) ของ *enterococci* ได้ เป็นต้น

2. Acquired resistance หมายถึง การดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดขึ้นมาภายหลัง ทั้งๆ ที่เชื้อแบคทีเรียเคยไวต่อยาตัวนั้นๆ มาก่อน เช่น การดื้อยา ampicillin ของเชื้อ *Haemophilus influenzae* ซึ่งพบว่าปัญหาการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่ในปัจจุบันจะเป็นแบบ *acquired resistance* โดยทั่วไป acquired resistance แบ่งได้เป็น 4 กลไกใหญ่ซึ่งในเชื้อแต่ละชนิดอาจจะใช้หลายๆ กลไกร่วมกันในการดื้อยา antibiotic แต่ละชนิด

1 Drug inactivation / modification เป็นกลไกที่พบมากที่สุด เกิดจากแบคทีเรียสร้าง enzyme มาทำลายหรือเปลี่ยนแปลงยาปฏิชีวนะ ตัวอย่างที่เราพบได้บ่อย ได้แก่ penicillinases, beta-lactamases, cephalosporinases

2 Alteration of target site โดยวิธีการนี้ยาจะสามารถเข้าไปในผนังเซลล์ไปถึง target site ได้ แต่ไม่สามารถจับกับ *target site* ได้เพราะมีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้าง moleculeจึงทำให้ยาออกฤทธิ์ต่อไม่ได้ เช่นใน *S. pneumoniae* PBP (penicillinbinding protein) จะเปลี่ยนโครงสร้างเป็น PBPX ทำให้เกิดการดื้อยาตามมา

3 Bypass pathways เชื้อที่ดื้อยาสร้าง *alternative target* ขึ้นมาใหม่ แล้วยาปฏิชีวนะจะมาจับกับ target ตัวใหม่แทน เช่น PBP2a ในกรณี MRSA

4 *Decreased uptake* แบคทีเรียมีกลไกป้องกันไม่ให้ยาเข้าไปในเซลล์ หรือมีการใช้ energy-requiring membrane efflux pump นำยาออกไป ตัวอย่าง เช่น ยา imipenam จำเป็นจะต้องอาศัย *porin* เฉพาะในการที่ยาจะเข้าเซลล์ได้ เมื่อ *P.aeruginusa* พัฒนาให้ไม่มี porin ชนิดนี้ก็จะสามารถดื้อต่อ imipenam ได้หรือใน *Salmonella typhi* มีการเพิ่ม expression ของยีนที่สร้าง *multidrug efflux pump* จึงทำให้เกิดการดื้อยาหลายชนิดตามมา

การถ่ายทอดการดื้อยา

การถ่ายทอดการดื้อยาสามารถทำได้โดยผ่านยีนดื้อยาซึ่งอาจอยู่บน chromosome, plasmids หรือ transposons ซึ่งเป็นชิ้นส่วนของยีนภายใน chromosome หรือ plasmids โดยยีนดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิดจะอยู่บน plasmids และเนื่องจาก plasmids บางชนิดสามารถเพิ่มจำนวนได้เอง จึงสามารถส่งผ่านยีนดื้อยาเหล่านี้ไปสู่แบคทีเรียอีกชนิดหนึ่งได้ โดยผ่านการแลกเปลี่ยน plasmids กัน

เชื้อแบคทีเรียสามารถพัฒนาการดื้อยาได้ โดยผ่านการเปลี่ยนแปลงยีนบน chromosome แล้วแบ่งตัวจากหนึ่งเป็นสอง หรือส่งผ่านยีนดื้อยาให้เชื้อแบคทีเรียอีกตัว โดยส่งยีนดื้อยาเข้าไปรวมใน chromosome, ส่งยีนดื้อยาผ่านกระบวนการ bacteriophage หรือผ่าน palsmids DNA หลังจากนั้นยีนดื้อยาอาจแทรกเข้าไปใน chromosome หรือจับอยู่บน plasmids ในเซลล์แบคทีเรียใหม่ได้

กลไกการดื้อยา

เชื้อแบคทีเรียสามารถสร้างกลไกหลักของการดื้อยาได้ 3 วิธี ได้แก่ การสร้างเอนไซม์ไปทำลายหรือทำให้ยาต้านจุลชีพไม่สามารถออกฤทธิ์ได้ การเปลี่ยนแปลงเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยาต้านจุลชีพ และการป้องกันไม่ให้ยาต้านจุลชีพเข้าไปในบริเวณที่มีเป้าหมายของการออกฤทธิ์ โดยเพิ่มกระบวนการขับยาออก (efflux) หรือลดการแพร่ผ่านของยาเข้า เซลล์เชื้อแบคทีเรียอาจใช้กลไกเดียวหรือใช้หลายกลไกในการดื้อยาต้านจุลชีพตัวใดตัวหนึ่ง ทั้งกลุ่ม หรือหลายกลุ่ม นอกจากนั้นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบยังมีโครงสร้างเซลล์ที่แตกต่างกัน ทำให้มีกลไกการดื้อยาบางกลไกที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 2-1 กลไกการดื้อยาและตัวอย่างกลุ่มยาต้านจุลชีพที่มีการดื้อยา (1)

กลไกการดื้อยา	**ตัวอย่างยา/กลุ่มยาต้านจุลชีพ**
ลดความเข้มข้นของยาภายในเซลล์	
- เพิ่มการขับยาออกจากเซลล์	Tetracyclines Quinolones Macrolides
- ลดความสามารถในการยอมให้ยาแพร่ผ่านผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย	β-lactams
- ลดการขนส่งยาผ่าน cytoplasmic membrane	Quinolones Aminoglycosides
การทำให้ยาหมดฤทธิ์ทั้งแบบชั่วคราวและแบบถาวร	β-lactams Aminoglycosides Chloramphenicol
การเปลี่ยนแปลงเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยา	Quinolones Rifampicin β-lactams Macrolides Linezolid
การ bypass เป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยา	Glycopeptide Trimethoprim

1. **การสร้างเอนไซม์ β-lactamases** เพื่อมาทำลายยา เป็นกลไกที่สำคัญในการดื้อยากลุ่ม β-lactams โดยยีนที่สร้างเอนไซม์ β-lactamases อาจถูกถ่ายทอดผ่าน plasmids หรือ chromosome ได้

2. **การเปลี่ยนแปลงเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยาต้านจุลชีพ** เป็นกลไกการดื้อยาอีกชนิดหนึ่งที่พบได้บ่อย ซึ่งอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงลำดับที่สำคัญของยีนเพียงตำแหน่งเดียวที่ใช้ในการสร้างเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยาทำให้ยาจับกับเป้าหมายได้ลดลง ตัวอย่างที่สำคัญของการดื้อยาแบบนี้ ได้แก่ การเปลี่ยนแปลง PBPs ของเชื้อ *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitides* และ *Enterococcus faecium* ทำให้มีการดื้อยากลุ่ม β-lactams

3. **การลดการแพร่ผ่านของยาเข้าเซลล์ หรือเพิ่มการขับยาออกจากเซลล์** เช่น การลดจำนวน porin ของเชื้อแกรมลบร่วมกับการสร้าง efflux pumps ซึ่งกลไกดังกล่าวทำให้เชื้อเกิดการดื้อยากลุ่ม macrolides, tetracyclines, quinolones, chloramphenicol และ β-lactams

ตารางที่ 2-2 กลไกการดื้อยาจำแนกตามชนิดของยาต้านจุลชีพ

ยาต้านจุลชีพ	กลไกการดื้อยา	การถ่ายทอดของยีน	ตัวอย่างเชื้อดื้อยา
β-lactams Penicillins Cephalosporins Monobactams Carbapenams	เปลี่ยนแปลง penicillin-binding protein	Chromosomal	*Staphylococcus aureus* *Streptococcus pneumoniae* *Haemophilus influenzae* *Neisseria gonorrhoeae* *Escherichia coli* *Pseudomonas aeruginosa*
	ลด permeability	Chromosomal	*Pseudomonas aeruginosa* *Enterobacter cloaceae* *Serratia marcescens* *Klebsiella pneumoniae* *Klebsilla oxytoca*
	การทำให้ยาหมดฤทธิ์ โดยเอนไซม์ β-lactamases	Chromosomal and plasmid	*Staphylococcus aureus* *Staphylococcus epidermidis* Enterococci *Pseudomonas aeruginosa* Enterobacteriaceae *Neisseria gonorrhoeae* *Neisseria meningitidis*

ตารางที่ 2-2 กลไกการดื้อยาจำแนกตามชนิดของยาต้านจุลชีพ (ต่อ)

ยาต้านจุลชีพ	กลไกการดื้อยา	การถ่ายทอดของยีน	ตัวอย่างเชื้อดื้อยา
Fluoroquinolones Ciprofloxacin Ofloxacin Norfloxacin Lomefloxacin	เปลี่ยนแปลง DNA gyrase	Chromosomal	*Staphylococcus aureus* *Staphylococcus epidermidis* Enterobacteriaceae
	Efflux หรือลด permeability	Chromosomal	*Pseudomonas aeruginosa* Enterobacteriaceae
Aminoglycosides Amikacin Gentamicin Tobramycin	Modifying enzyme inactivation	Plasmid	Streptococci Staphylococci Enterococci Enterobacteriaceae
	ลด permeability	Chromosomal	Enterobacteriaceae *Pseudomonas spp* *Bacteroides spp*
	เปลี่ยนแปลง ribosomal target binding	Chromosomal	Streptococci
Macrolides and lincosamides	Methylation of rRNA target	Chromosomal and plasmid	Streptococci Staphylococci Enterococci *Streptococcus pneumoniae*
	Efflux	Plasmid	Streptococci Staphylococci
Tetracyclines Tetracycline Minocycline Doxycycline	Efflux	Plasmid	Staphylococci Enterococci Enterobacteriaceae *Bacteroides spp.* *Haemophilus spp*
	เปลี่ยนแปลง ribosomal target	Plasmid	*N gonorrhoeae* *Bacteroides spp.* *Listeria spp* *Mycoplasma spp* *Ureaplasma spp.*
Glycopeptides Vancomycin Teicoplanin	เปลี่ยนแปลงเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยา	Chromosomal and plasmid	Enterococci Lactobacilli *Staphylococcus heamolyticus*
Folate inhibitors Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	เปลี่ยนแปลงเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยา	Chromosomal and plasmid	Streptococci Staphylococci Enterobacteriaceae *S.pneumoniae* *Neisseria spp.*

ตารางที่ 2-3 ปัญหาการดื้อยาจำแนกตามชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

ชนิดของเชื้อแบคทีเรีย	**ปัญหาการดื้อยา**
Gram-positive cocci	Methicillin-resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA)
	Methicillin-resistance coagulase-negative staphylococci
	Penicillin-resistance *Streptococcus pneumoniae* (PRSP)
	Macrolide-resistance *Streptococcus pneumoniae*
	Vancomycin-resistance enterococci
Gram-negative cocci	Penicillin-resistance *Neisseria meningitidis*
	Quinolone-resistance *Neisseria gonorrhoeae*
Gram-negative bacilli	Multidrug-resistance *Pseudomonas aeruginosa*
	Multidrug-resistance *Stenotrophomonas maltophilia*
	Multidrug-resistance *Acinetobacter spp*
	Enterobacteriaceae with extended-spestum β-lactamases
	Multiple drug-resistance diarrheal pathogens (*Shigella spp* , *Salmonella spp* , *Escherichia coli*, *Campylobacter spp.*)

ปัจจัยเสี่ยงของการเกิดเชื้อดื้อยา

1.**ยาปฏิชีวนะ** ได้แก่ การใช้ยาปฏิชีวนะมาก่อน โดยเฉพาะยาปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์กว้าง การอยู่โรงพยาบาล หรือ long-term care facilities มาก่อน under/sub-therapeutic dosage of antibiotic

2.**สภาพของผู้ป่วย** ได้แก่ ผู้ป่วยที่มีโรคประจำตัวรุนแรงต่างๆ (เบาหวาน หัวใจวาย โรคหลอดเลือดสมอง) ผู้ป่วยที่มี functional status ไม่ดี

3 **การติดเชื้อจากการรักษา** ได้แก่ การใส่สายสวนต่างๆ, การปนเปื้อนจากการดูแลของบุคลากรทางการแพทย์ กลไกการควบคุมการติดเชื้อที่ไม่ดีพอ

กลวิธีในการลดการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรียในโรงพยาบาล

การดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียเป็นปัญหาใหญ่ที่ส่งผลกระทบไปทั่วโลกในขณะนี้ โดยความรุนแรงและความชุก ในแต่ละพื้นที่จะต่างกันไป สำหรับปัจจัยเสี่ยงของการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียจะแตกต่างไปแล้วแต่การศึกษา และเชื้อที่ศึกษา แต่โดยรวมแล้วที่สำคัญ ได้แก่ การได้รับยาปฏิชีวนะมาก่อน การได้ยาปฏิชีวนะในขนาดที่ไม่เพียงพอ การอยู่ในโรงพยาบาล หรือ long term care facilities มาก่อน โรคประจำตัวของผู้ป่วยหรือความรุนแรงโรคที่ผู้ป่วยมี การใส่สายสวนต่างๆ และการปนเปื้อน และเนื่องจากยาปฏิชีวนะแต่ละขนานใช้เวลาในการคิดค้นนาน และการที่เชื้อดื้อยาจะสามารถเปลี่ยนกลับมาเป็นเชื้อที่ไวต่อยานั้นใช้เวลานานมาก ดังนั้นการป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยา และการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างมีแบบแผน จึงเป็นสิ่งสำคัญที่สุดในการควบคุม และป้องกันการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรีย

ในสภาพที่ไม่มีการใช้ยาปฏิชีวนะ (คือ ไม่มีความกดดันจากการใช้ยาปฏิชีวนะ) เชื้อดื้อยาจะสามารถเปลี่ยนกลับมาเป็นเชื้อที่ไวต่อยาได้ แต่ต้องใช้เวลานานมาก ดังนั้นการป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยา และการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างมีแบบแผน จึงเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อที่จะชะลอการดื้อยา การควบคุมยาปฏิชีวนะกระทำได้ในหลายระดับ ดังนี้

1 **ระดับของผู้ป่วยและประชาชนทั่วไป**

- การให้การศึกษาเรื่องการป้องกันตัวเองจากการติดเชื้อ, สุขอนามัยทั่วไป
- สนับสนุนการให้วัคซีน เช่น pneumococal vaccine
- หลีกเลี่ยงการซื้อยาปฏิชีวนะกินเอง
- เน้นการใช้ยาตามคำแนะนำของแพทย์ และให้ครบตามที่กำหนด (compliance)

2. **แพทย์และบุคลากรทางการแพทย์**

- ใช้ยาปฏิชีวนะในเฉพาะกรณีที่จำเป็น และพยายามจำกัดการใช้
- ใช้ยาปฏิชีวนะในระยะเวลาสั้นๆ เท่าที่จำเป็น และทบทวนซ้ำถึงความจำเป็นและชนิดของยาปฏิชีวนะ ตามภาวะของผู้ป่วยทุกๆ 2-3 วัน
- วิธีการกำจัดเชื้อ (disinfection technique) และการแยกผู้ป่วย เนื่องจากสาเหตุที่สำคัญของการติดเชื้อในโรงพยาบาล คือ การปนเปื้อนจากมือบุคลากรทางการแพทย์และอุปกรณ์ต่าง ๆ ดังนั้น การล้างมือ, sterile technique การแยกผู้ป่วยและอุปกรณ์เครื่องใช้ จึงเป็นสิ่งที่สำคัญ
- การให้ความรู้เพื่อเปลี่ยนแปลงลักษณะการจ่ายยาของแพทย์ เช่น การนำเสนอโดยตรงต่อแพทย์ที่จ่ายยา การนำเสนอข้อมูลโดยผ่านคอมพิวเตอร์ การรายงานข้อมูลรายการยาที่มีค่าใช้จ่ายยาสูงสุด 100 อันดับแรก

3. **ระดับโรงพยาบาล**

- มีการพัฒนา guideline การใช้ยาปฏิชีวนะตามพื้นฐานของระบาดวิทยาและความไวของเชื้อต่อยาของบริเวณนั้นๆ
- มีการประสานงานระหว่างหน่วยงานต่าง ๆ ของทีมรักษาอันได้แก่ แพทย์ พยาบาล ห้องปฏิบัติการ และเภสัชกร
- จัดระบบการเฝ้าระวังการติดเชื้อ, การใช้ยาปฏิชีวนะ, disinfection technique และการดื้อยาปฏิชีวนะ หากพบข้อผิดพลาดต้องมีการแจ้งกลับไปยังทีมการรักษา

- มีการหมุนเวียนสลับเปลี่ยนการใช้ยาต้านจุลชีพแต่ละชนิดในกลุ่มเภสัชวิทยาเดียวกัน พบว่าในการวิจัย หลายรายงานสามารถลดการใช้ยาปฏิชีวนะและลดความชุกของการดื้อยาที่ควบคุมได้อย่างชัดเจน แต่ผลที่ตามมา คือ จะมีการใช้ยาปฏิชีวนะตัวอื่นเพิ่มมากขึ้นแทนตัวเดิมและเกิดการดื้อยาใหม่ตามมา เปรียบเทียบว่า เหมือนการบีบลูกโป่ง (squeezing the balloon effect) คือ ถ้าเราไปจำกัดด้านหนึ่งก็เหมือนกับไปบีบลูกโป่งไว้ มัน จะไปโป่งออกที่อีกด้านแทนซึ่งอาจจะไม่ใช่การแก้ปัญหาที่ถูกจุดนัก

- มีการใช้ antibiotic order forms ในการสั่งใช้ยาปฏิชีวนะ เพื่อดูความเหมาะสมของการสั่งใช้ยาในด้านต่างๆ

- มีการใช้คำสั่งหยุดยาต้านจุลชีพ (antibiotic stop orders) เพื่อใช้ในการรักษาโรคหรือใช้ในการป้องกันโรค

- การจำกัดการใช้ยาต้านจุลชีพ เช่น มีเกณฑ์ในการสั่งใช้ยาต้านจุลชีพ หรือการสั่งใช้ยาต้านจุลชีพบางตัวต้องผ่านการอนุมัติจากผู้เชี่ยวชาญในหน่วยงาน

- การนำยาต้านจุลชีพบางชนิดออกจากรายการยาของโรงพยาบาล

- การทบทวนเวชระเบียนโดยเภสัชกร เช่น การทบทวนเวชระเบียนในห้องยาประจำหอผู้ป่วยใน หรือการปฏิบัติบริบาลเภสัชกรรมที่ประสานงานกับแพทย์

- การสะท้อนการใช้ยาต้านจุลชีพให้แพทย์ทราบ เช่น ค่าใช้จ่ายราคายาของยาต้านจุลชีพ ปริมาณการใช้ยาต้านจุลชีพในแต่ละปี หรือผลของความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ

- การทบทวนการสั่งใช้ยาต้านจุลชีพโดยใช้ระบบคอมพิวเตอร์

- การใช้ยาตามชื่อสามัญทดแทนยาต้นแบบ (original) ในตัวยาตัวเดียวกัน (generic substitution)

- การประเมินการใช้ยาโดยใช้แนวทางการสั่งใช้ยาอย่างเหมาะสมและสมเหตุผล เช่น การทำงานร่วมกันแบบสหสาขา (multidisciplinary teams) เพื่อช่วยกันในการประเมินการใช้ยาต้านจุลชีพ

- การกำหนดให้มีการปรึกษาผู้เชี่ยวชาญทางโรคติดเชื้อ สำหรับการใช้ยาต้านจุลชีพบางชนิด เช่น การ ปรึกษาผ่านทางโทรศัพท์ หรือผ่านการเขียน

- การรายงานร้อยละความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพชนิดต่างๆ ในแต่ละปี เช่น การจัดทำ antibiogram

- การลดการประชาสัมพันธ์ยาของบริษัทยา

โดยสรุป การดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ส่งผลให้การรักษาล้มเหลว และอาจนำไปสู่การเสียชีวิตของผู้ป่วยได้ ความเข้าใจถึงกลไกการดื้อยาต้านจุลชีพ และการถ่ายทอดการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อแต่ละชนิดที่เป็นปัญหาสำคัญของประเทศไทย จะช่วยทำให้การเลือกใช้ยาต้านจุลชีพเป็นไปอย่างเหมาะสม และเอื้อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการรักษา อย่างไรก็ตาม การป้องกันเชื้อดื้อยายังคงเป็นวิธีการที่ดีที่สุดในการจัดการกับปัญหาเชื้อดื้อยา ซึ่งจำเป็นต้องใช้วิธีการหลายๆ วิธีร่วมกัน เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการป้องกันการดื้อยาของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ

Antibiograms

Antibiograms เป็นแหล่งข้อมูลที่สำคัญสำหรับบุคลากรทางการแพทย์ ซึ่งการพัฒนา antibiogram ขึ้นนั้นต้องอาศัยความร่วมมือระหว่างนักจุลชีววิทยา เภสัชกร แพทย์และคณะกรรมการทางด้านนโยบายของโรงพยาบาล เช่น งานป้องกันและควบคุมการติดเชื้อในโรงพยาบาล (infection control) และอนุกรรมการด้านการป้องกันการติดเชื้อ (anti-infective subcommittees)

Antibiogram มีความหมายแตกต่างกันออกไป สำหรับ NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) ได้ให้ความหมายไว้ว่า Antibiograms คือ การรวบรวมข้อมูลความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะแต่ละชนิด ซึ่งข้อมูลที่ได้จาก Antibiograms จะมีประโยชน์มากที่สุดเมื่อเริ่มต้นการรักษาแบบ empiric therapy และใช้ในการติดตามแนวโน้มการดื้อยาภายในโรงพยาบาล

วิธีการทดสอบความไว

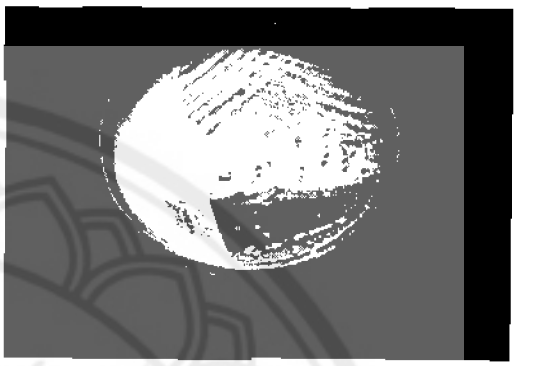
ตารางที่ 2-4 วิธีการทดสอบความไว

Method	*Advantage*	*Disadvantage*	*Measure*	*Comments*
Disk diffusion (various)	• Inexpensive except for technician time • NCCLS standards and breakpoints available	Manual setup and manual or automated interpretation	Qualitative*	• Commonly used in small laboratories • Incubation period of 24 hours for some drug-pathogen combinations • Detects mixed population of bacteria
Broth dilution (various)	NCCLS standards and breakpoints available	• Laborious and supply intensive • Manual setup and manual or automated interpretation	Quantitative†	• Large inoculum tested. • Incubation of 18 to 24 hours required
Agar screen (various)	Quick indication of resistance mechanisms (ie, VRE, MRSA)	No quantitation	Qualitative	Often used for surveillance of patients with VRE or MRSA
Etest (AB Biodisk)	• Convenient and flexible • Ease of setup	• Cost • Manual setup and interpretation • No NCCLS approved breakpoints‡	Quantitative	Need experienced technician to read endpoints to avoid reporting errors
Vitek; *Vitek 2* (bioMerieux) *MicroScan* (Dade Behring) Various others	• Automated set up and interpretation • Computer generated information	• Expensive start up and materials • No NCCLS-approved breakpoints but each instrument and panels have FDA approval	Semi-quantitative§	• Testing of large number of isolates needed to make system cost effective • 8 to 16 hour incubation for results
Beta lactamase (various)	• Simple • Manual	• Does not classify specific type of beta lactamase produced • Manual setup and interpretation	Qualitative	Results available the same day

*Qualitative results are expressed as susceptible (S), intermediate (I), or resistant (R) based on established criteria from NCCLS. Beta-lactamase results are reported as presence or absence of beta-lactamase enzyme.
†Quantitative results are expressed as minimal inhibitory concentration (MIC) for each drug. Susceptibility reports should include interpretation of MIC such as S, I, or R.
‡NCCLS breakpoints not available for single vendor sources.
§Semi-quantitative results are expressed as MIC using three to four antimicrobial dilution covering the NCCLS dilution for each drug. Precise MIC values cannot be established if the MIC falls below or above the three to four dilutions used in the test panel. Susceptibility reports include interpretation of breakpoint MIC as S, I, or R.

จากตารางที่ 2-4 แสดงวิธีการทดสอบความไวที่มีการใช้มากในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา โดยวิธีการทดสอบจะได้ข้อมูลเชิงคุณภาพและ/หรือข้อมูลเชิงปริมาณ สำหรับข้อมูลเชิงคุณภาพจะแสดงในรูปแบบ susceptible (S), intermediate (I) หรือ resistant (R) ซึ่งขึ้นอยู่กับเกณฑ์ของ NCCLS สำหรับข้อมูลเชิงปริมาณจะแสดงในรูปแบบ minimal inhibitory concentration (MIC, mcg/mL) ของยาแต่ละตัว

ตัวอย่างวิธีการทดสอบความไวที่มีการใช้ในประเทศไทย จากศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ (NARST)



<u>การทดสอบความไวโดยวิธี Disc diffusion</u>

โดยใช้เทคนิคของ Kirby-Bauer

1 การเตรียม Mueller-Hinton agar

- เตรียม Mueller-Hinton agar ตามที่ผู้ผลิตได้กำหนดไว้ พร้อมทั้งทำการควบคุมคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่ละ Lot (pH 7.2-7.4)

- เทอาหารเลี้ยงเชื้อลงใน Plate สำหรับPlate เส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร เทประมาณ 25-30 มิลลิลิตร สำหรับ Plate เส้นผ่านศูนย์กลาง 14 เซนติเมตร เทประมาณ 60-70 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้วุ้นอาหารที่ความหนา 4 มม. ทิ้งไว้ให้แข็ง

- เก็บ Plate ที่อุณหภูมิ 2-8 ฐ C ในถุงพลาสติกปิดผนึก

2. Antimicrobial discs

แผ่นยาที่ยังไม่เปิดใช้ ควรเก็บไว้ที่ -20 C และเมื่อจะทดสอบควรนำออกมาวางไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อน เพื่อให้แผ่นยามีอุณหภูมิเท่ากับสิ่งแวดล้อม เมื่อใช้แผ่นยาแต่ละชนิดเสร็จแล้วควรเก็บไว้ที่ 4 C

3. ความขุ่นมาตรฐาน

ใช้ 0.5 McFarland เทียบความขุ่นมาตรฐานโดย เตรียมจาก Barium chloride dihydrate กับ Sulfuric acid ใส่ในหลอดแก้วประมาณ 4-6 มิลลิลิตร และควรเก็บไว้ในที่มืด

<u>วิธีทดสอบ (direct colony suspension)</u>

1. เตรียม Inoculum จากเชื้อบริสุทธิ์จาก primary culture แล้วใช้ loop แตะโคโลนีที่ลักษณะคล้ายกัน 4-5 colony นำมาทวนใน Saline broth ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

2 นำมาเทียบความขุ่นให้ได้กับความขุ่นมาตราฐาน 0.5 McFarland

3 ใช้ไม้พันปลายสำลีปราศจากเชื้อ จุ่มลงใน Inoculum ที่เตรียมไว้ และนำไม้พันปลายสำลี แตะที่ข้างหลอดหมุนบิดน้ำส่วนเกินออก

4.Streak 3 ระนาบ ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ปิดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อและวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2-3 นาที เพื่อให้แห้ง

5 ใช้ Sterile forceps คีบแผ่นยา (ตามที่ระบุในตารางที่ 1) วางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อในข้อ 4 สำหรับ Plate ขนาด 9 เซนติเมตร ให้วางไม่เกิน 5 แผ่น (สำหรับเชื้อกลุ่ม Fastidious ให้วาง 4 แผ่น) ถ้า Plate ขนาด 14 เซนติเมตร ให้วางอย่างมาก 12 แผ่น (สำหรับเชื้อกลุ่ม Fastidious ให้วาง 9 แผ่น)

6.นำ Plate ไปบ่มที่ 35ฐ C ระยะเวลาในการบ่มขึ้นอยู่กับเชื้อแต่ละชนิด เช่น

- *staphylococci* และ *enterococci* ใช้เวลาบ่ม 24 ชั่วโมง
- *Haemophilus influenzae* ,*Streptococcus pneumoniae* และ *Neisseria gonorrhoeae* ใช้เวลาบ่ม 20-24 ชั่วโมง ใน 5-7 % คาร์บอนไดออกไซด์ หรือ Candle Jar
- เชื้ออื่นๆใช้เวลาบ่ม 16-18 ชั่วโมง

7 อ่านผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Zone of Inhibition หน่วยเป็นมิลลิเมตร แปลผลเทียบกับตารางมาตราฐานของ NCCLS บันทึกผลที่อ่านได้พร้อมทั้งเชื้อ Control เป็น zone size ในคอมพิวเตอร์โปรแกรม WHONET

การจัดทำ antibiogram

ตารางที่ 2-5 ข้อมูลที่ใช้ในการจัดทำ antibiogram

Data Analysis Recommendations
Include only final verified results. Raw data should not be reported.
Separate antibiograms should be prepared for each hospital, even if a single laboratory serves more than one healthcare facility.
Analyze data at least on a yearly basis.
Include the first isolate of a given species per patient per analysis period regardless of body site or susceptibility profile; avoid duplicate isolates from the same patient.
Only include organisms with ≥ 10 isolates per analysis period.
Do not include surveillance cultures or cultures from nonpatient sources on the antibiogram.
Do not include results for antibiotics that are selectively or supplementally tested only in cases where significant resistance to other agents has first resulted. If these are included then they should be footnoted.
Validate calculations on the antibiograms; this includes those generated by analytical software programs used by microbiology.

Data Presentation Recommendations
Antibiogram data should be presented in tabular form.
Inclusive dates of data collection should be clearly marked on the antibiogram.
Comment on whether duplicate isolates have been excluded or indicate for which organisms they have been excluded.
Separate tables should be used for Gram-positive, Gram-negative, and anaerobic bacteria.
Report percent of isolates that were beta-lactamase positive for *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* when 10 isolates are collected in a single analysis period.
Report total number of isolates collected for each bacterial species included on the antibiogram.
Use complete antibiotic names or use abbreviations listed in appendix F of the M39-A guidelines or abbreviations used on patient reports in the institution.
All data in the antibiogram tables should reflect "percent susceptible" for each bacteria–antibiotic combination.
Printed antibiograms should be provided to clinicians even if the antibiogram is included as a part of the institution's Intranet or Internet site.
Printed antibiograms should use a font size of 8 or larger for ease of readability.
Printed antibiograms should be readily made available to clinicians prescribing antibiotics, microbiology, and pharmacy personnel, and to infection control personnel.

ส่วนประกอบของ antibiogram

ตารางที่ 2-6 ส่วนประกอบของ antibiogram

REQUIRED	*OPTIONAL*		
Basic Elements	*Antibiotic Information*	*Policy Issues*	*Additional Information*
Antibiotics tested	Formulary drugs	Restricted drugs	Body surface area
Organisms tested	Cost data	Protocol drugs	Metric conversions
Number of isolates for each organism	Common oral and IV dosing	Nonformulary requests required	Temperature conversions
Percent susceptible data for each drug-pathogen combination	Oral bioavailability	Automatic substitution policies	Equations (eg. Cockroft-Gault)
Specimen sites notations (eg urine or other)	Renal dosing	IV-to-oral conversion criteria	Ideal and adjusted body weight equations
Specific unit notations (eg. compartment intensive care unit)	Dosing nomograms (eg. aminoglycosides)		Unit-specific (eg. MICU, SICU) antibiograms
	Hepatic dosing		Footnotes in each section

จากตารางที่ 2-6 แสดงส่วนประกอบของ antibiogram โดยอย่างน้อยข้อมูลควรประกอบด้วย ชื่อยาปฏิชีวนะ ชื่อเชื้อแบคทีเรีย จำนวนสิ่งส่งตรวจของแต่ละเชื้อ, ร้อยละความไวของเชื้อต่อยาแต่ละชนิด แหล่งที่เก็บสิ่งส่งตรวจ (เช่น จากปัสสาวะ) และสถานที่ที่เก็บสิ่งส่งตรวจ (เช่น แผนกผู้ป่วยนอก หรือหอผู้ป่วยวิกฤต) ในขณะเดียวกันศูนย์การแพทย์หลายๆ แห่งอาจมีการจัดทำ antibiogram อย่างละเอียด หรืออาจจัดทำเป็นเอกสารขนาดพกพาซึ่งมีการรวมรวมข้อมูลชนิดของยาปฏิชีวนะจำนวนมาก ดังนั้นนอกจากจะมีข้อมูลผลความไวของเชื้อต่อยาแล้ว ข้อมูลอื่น ๆ ที่มีประโยชน์อาจถูกเพิ่มเข้ามาใน antibiogram ด้วย เช่น formulary policy, dosing monograms, ขนาดยาในผู้ที่มีอวัยวะบกพร่อง, ราคายา เป็นต้น

การนำ antibiogram ไปใช้ในทางคลินิก

จากรายงานพบว่ามีการนำ antibiogram ไปใช้ในทางคลินิกในหลาย ๆ ด้าน เช่น การหาอัตราการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย การใช้ยาแบบ empiric therapy เป็นต้น

<u>การหาอัตราการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย</u>

จากข้อมูลของ antibiogram ที่มีการรายงานในรูปแบบร้อยละความไวของเชื้อต่อยา สามารถนำมาคำนวณเพื่อหาอัตราการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียภายในช่วงเวลาที่ทำการเก็บข้อมูลได้ ตัวอย่างเช่น การคำนวณร้อยละความไวของเชื้อต่อยา oxacillin หรือ methicillin ในการหาอัตราการเกิด MRSA และ MRSE นอกจากนี้ยังมีการใช้ร้อยละความไวของ ceftazidime ในการบ่งชี้การเกิดการดื้อยาจากการสร้างเอนไซม์ extended-spectrum β-lactamases (ESBLs) ของเชื้อต่าง ๆ และการติดตามการเปลี่ยนแปลงความไวหรือแนวโน้มของอัตราการดื้อยา ซึ่งสามารถทำได้โดยการเปรียบเทียบอัตราการดื้อยาในแต่ละปี

<u>การใช้ยาแบบ empiric therapy</u>

Antibiogram สามารถเป็นแนวทางสำหรับแพทย์ในการเลือกใช้ยาปฏิชีวนะแบบ empiric therapy ได้ ตัวอย่างเช่น การใช้ vancomycin แบบ prophylactic สำหรับการผ่าตัดที่ต้องใช้วัสดุเทียมหรืออุปกรณ์ในโรงพยาบาลที่มีอัตราการเกิด MRSA หรือ MRSE สูง ซึ่งขึ้นอยู่กับการตัดสินใจของแพทย์จากแนวโน้มร้อยละความไวของเชื้อต่อยาของแต่ละโรงพยาบาล

ตัวอย่างการศึกษาเกี่ยวกับการนำ antibiogram ไปใช้ในทางคลินิก

Effectiveness of education and an antibiotic-control program in a tertiary care hospital in Thailand

Apisarnthanarak A และคณะ ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพของการให้ความรู้และการนำ antibiotic-control program มาประยุกต์ใช้ในโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ และนำ antibiogram มาเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินการใช้ยาปฏิชีวนะ ปริมาณการใช้ยาปฏิชีวนะ การดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรียและค่าใช้จ่ายในการใช้ยาปฏิชีวนะ

สำหรับวิธีการศึกษา เป็นการเก็บรวบรวมข้อมูลเป็นระยะเวลา 1 ปีก่อนและหลังการประยุกต์ใช้กลวิธี โดยทำการเก็บข้อมูลแบบไปข้างหน้าของลักษณะพื้นฐานของประชากร หอผู้ป่วย ข้อบ่งใช้ในการสั่งใช้ยา ความเหมาะสมของการใช้ยา เหตุผลสำหรับการใช้ยาที่ไม่เหมาะสม ปริมาณการใช้ยา (เช่น อัตราการใช้ยาปฏิชีวนะ) การดื้อยา และราคายา สำหรับกลวิธีที่ใช้ในการศึกษาประกอบด้วยการให้ความรู้ การนำ antibiogram มาใช้ การใช้ antibiotic prescription forms และการควบคุมการสั่งใช้ยา

จากผลการศึกษา พบว่า การให้ความรู้ การนำ antibiotic-control program และ antibiogram มาใช้เป็นเครื่องมือในการควบคุมการใช้ยาปฏิชีวนะ ทำให้อัตราการสั่งใช้ยาปฏิชีวนะลดลง 24% อุบัติการณ์การสั่งใช้ยาที่ไม่เหมาะสมลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (42% เป็น 20%; P <0.001) มีอุบัติการณ์การลดลงอย่างมีนัยสำคัญของการติดเชื้อกลุ่ม MRSA (48% เป็น 33.5%; P <0.001) เชื้อ *E. coli* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL (33% เป็น 21%, P <0.001) *Klebsiella pneumoniae* (30% เป็น 20%, P <0.001) *Acinetobactor baumanii* ที่ดื้อต่อ third generation cephalosporin (27% เป็น 19%, P <0.001)

โดยสรุปการนำ antibiogram มาใช้ในโรงพยาบาลดังกล่าว สามารถทำให้การสั่งใช้ยาปฏิชีวนะมีประสิทธิภาพมากขึ้น อีกทั้งสามารถลดค่าใช้จ่ายในการใช้ยาปฏิชีวนะได้ถึง 1,289,240 บาท ภายในระยะเวลา 1 ปี