ผลงานประกอบการพิจารณาประเมินบุคคล
เพื่อขอรับเงินประจำตำแหน่ง

ตำแหน่ง นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการ (ด้านบริการทางวิชาการ)

เรื่องที่เสนอให้ประเมิน

1. ผลงานที่เป็นผลการดำเนินงานที่ผ่านมา

   เรื่อง การสำรวจหาชนิดของยีนดื้อยากลุ่ม Carbapenems ของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* และ *Escherichia coli* ในโรงพยาบาลตากสิน ระหว่างเดือนสิงหาคม ปี พ.ศ. 2558 ถึงเดือนพฤษภาคม ปี พ.ศ. 2560

2. ข้อเสนอ แนวคิด วิธีการเพื่อพัฒนางานหรือปรับปรุงงานให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

   เรื่อง การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียและทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพโดยใช้เครื่องอัตโนมัติ MicroScan WalkAway

เสนอโดย

นายยุคล อภัยยะกุล

ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการ (ด้านบริการทางวิชาการ)

(ตำแหน่งเลขที่ รพต. 339)

กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ กลุ่มภารกิจด้านบริการตติยภูมิ

โรงพยาบาลตากสิน สำนักการแพทย์

ผลงานที่เป็นผลการดำเนินงานที่ผ่านมา

1. **ชื่อผลงาน** การสำรวจหาชนิดของยีนดื้อยากลุ่ม Carbapenems ของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* และ *Escherichia coli* ในโรงพยาบาลตากสิน ระหว่างเดือนสิงหาคม ปี พ.ศ. 2558 ถึงเดือนพฤษภาคม ปี พ.ศ. 2560
2. **ระยะเวลาที่ดำเนินการ** กรกฎาคม 2560 – ตุลาคม 2560
3. **ความรู้ทางวิชาการหรือแนวคิดที่ใช้ในการดำเนินการ**

ยากลุ่ม carbapenems มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียครอบคลุมเชื้อหลายกลุ่ม โครงสร้างของยามีนิวเคลียสเป็นวงแหวนคู่ที่มีวงแหวน β-lactam เป็นส่วนประกอบ ยาที่ใช้ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลตากสินได้แก่ imipenem, ertapenem, meropenem และ doripenem ซึ่งทำการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาโดยวิธี disk diffusion method และแปลผลการทดสอบตามมาตรฐานของ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การแปลผลความไวของเชื้อต่อยากลุ่ม carbapenems ตามมาตรฐาน CLSI 2012 - 2017

Antimicrobial	การแปลผล		
	Susceptible (mm)	Intermediate (mm)	Resistant (mm)
Imipenem	≥23	20-22	≤19
Ertapenem	≥22	19-21	≤18
Meropenem	≥23	20-22	≤19
Doripenem	≥23	20-22	≤19

การดื้อต่อยากลุ่ม carbapenems ซึ่งเป็นยาต้านแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ในวงกว้าง โดยการสร้างเอนไซม์ที่มีฤทธิ์ทำลายยาหรือเรียกว่าเอนไซม์ carbapenemase ถือเป็นปัญหาที่อุบัติใหม่ในแบคทีเรียแกรมลบ โดยพบเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในเชื้อกลุ่มที่ไม่สามารถหมักน้ำตาลแลคโตสได้ (non-lactose fermenter) เช่น *Pseudomonas aeruginosa* และ *Acinetobacter baumannii* ซึ่งเชื้อดังกล่าวเป็นสาเหตุสำคัญของการก่อโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลหรือก่อโรคติดเชื้อฉวยโอกาส จึงทำให้เป็นปัญหาในการรักษา อีกทั้งในปัจจุบันเริ่มมีรายงานการอุบัติของเอนไซม์ดังกล่าวในเชื้อวงศ์ *Enterobacteriaceae* ซึ่งโดยทั่วไปแล้วเชื้อจะมีความไวต่อยากลุ่ม carbapenems ในระดับที่สูงมาก ส่วนหนึ่งเชื่อว่าเป็นผลมาจากการใช้ยากลุ่ม carbapenems มากขึ้น เนื่องจากการแพร่กระจายอย่างรวดเร็วของเชื้อแกรมลบชนิดที่สร้างเอนไซม์ extended-spectrum β-lactamase (ESBL) และ AmpC β-lactamase ซึ่งเชื้อเหล่านี้นอกจากจะดื้อยาในกลุ่ม cephalosporin ส่วนใหญ่แล้ว ยังมักดื้อต่อยากลุ่มอื่นๆ นอกเหนือจากยากลุ่ม β-lactam ด้วย ทำให้เกิดปัญหาในการรักษาและนำไปสู่การเลือกใช้ยากลุ่ม carbapenms เพิ่มขึ้น

4. สรุปสาระสำคัญของเรื่องและขั้นตอนการดำเนินการ

การดื้อยาในเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่เป็นปัญหาอุบัติใหม่และน่ากลัวมากที่สุดปัญหาหนึ่งคือการระบาดของเชื้อในวงศ์ *Enterobacteriaceae* ที่สามารถสร้างเอนไซม์ carbapenemase เนื่องจากยากลุ่ม carbapenems ถือได้ว่าเป็นยากลุ่มสุดท้ายที่มีฤทธิ์กว้างที่สุดสำหรับการรักษาโรคติดเชื้อดื้อยาในวงศ์นี้

เชื้อวงศ์ *Enterobacteriaceae* ส่วนใหญ่จะเป็นเชื้อก่อโรคในโรงพยาบาลที่เป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อในอวัยวะต่างๆ ปัจจุบันยากลุ่ม carbapenems ถือได้ว่าเป็นยาที่มีศักยภาพสูงและดีที่สุดในการรักษาการติดเชื้อวงศ์นี้ เพราะเป็นยาที่ออกฤทธิ์กว้างในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย มีความคงตัวสูงและไม่ถูกสลายด้วยเอนไซม์ β-lactamase ส่วนใหญ่ รวมถึงเอนไซม์ ESBL และ AmpC β-lactamase

เอนไซม์ของเชื้อวงศ์ *Enterobacteriaceae* ที่สามารถสลายยากลุ่ม carbapenems ได้ ได้แก่ Imipenemase metallo-β-lactamase (IMP), Verona integron-encoded metallo-β-lactamase (VIM), *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC), Oxacillinase (OXA) และ New Delhi metallo-β-lactamase (NDM) โดยการตรวจหาชนิดของยีนดื้อยาทั้ง 5 ชนิด ใช้วิธี Multiplex PCR โดยใช้ไพรเมอร์ตามวิธีของ Nordmann และคณะ ดังแสดงใน ตารางที่ 2 ซึ่งสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข จัดทำโครงการ การพัฒนาระบบเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพระดับชาติสู่ระดับโลก (EIGNA) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเชื่อมประสานระบบการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพของประเทศและของโลกให้สามารถเตรียมแผนรับมือได้อย่างทันสถานการณ์ รวมถึงศึกษาอุบัติการณ์เชื้อดื้อยาในภาพรวมของประเทศ

ตารางที่ 2 ลำดับเบสของไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษา

Primer	Sequence (5' to 3')	Gene	Product size (bp)
NDM-F	5'- AAC GGT TTG GCG ATC TGG TTT TC -3'	bla_{NDM}	621
NDM-R	5'- GGCGGAATGGCTCATCACGATC -3'		
IMP-F	5'- GCGGAATAGAGTGGCTTAAYTCTC -3'	bla_{IMP}	232
IMP-R	5'- GTA CGGTTTAAYAAAACAACCACC -3'		
OXA48-F	5'- GGGCGTGGTTAAGGATGAACAC -3'	bla_{OXA-48}	438
OXA48-R	5'- TTA TCATCAAGTTCAACCCAACCG -3'		
VIM-F	5'- GATGGTGTTTGGTCGCATA -3'	bla_{VIM}	390
VIM-R	5'- CGAATGCGCAGCACCAG -3'		
KPC-F	5'- CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG -3'	bla_{KPC}	798
KPC-R	5'- CTTGTCATCCTTGTTAGGCG -3'		

ขั้นตอนการดำเนินการ

1. ศึกษาอัตราการพบเชื้อวงศ์ *Enterobacteriaceae* โดยทำการรวบรวมข้อมูลจากการรายงานผลการเพาะเชื้อซึ่งทำการวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียจากสิ่งส่งตรวจทุกชนิดที่ส่งมายังห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก และถูกบันทึกข้อมูลในโปรแกรม MLAB ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2555 ถึงปี พ.ศ. 2559

2. ศึกษาอัตราการพบเชื้อ Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae (CRE) โดยทำการรวบรวมข้อมูลจากการรายงานผลการเพาะเชื้อซึ่งทำการวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียและทดสอบความไวของเชื้อต่อยาจากสิ่งส่งตรวจทุกชนิดที่ส่งมายังห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2555 ถึงปี พ.ศ. 2559 โดยเชื้อทุกตัวอย่างต้องให้ผลความไวของเชื้อต่อยาเป็น resistant หรือ intermediate ต่อยากลุ่ม carbapenems ชนิดใดชนิดหนึ่งหรือทั้ง 4 ชนิด และถูกบันทึกข้อมูลในโปรแกรม MLAB

3. เก็บตัวอย่างเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* และ *Escherichia coli* ที่เป็นเชื้อ CRE จากสิ่งส่งตรวจทุกชนิดที่ไม่ซ้ำรายกัน ตั้งแต่เดือนสิงหาคม ปี พ.ศ. 2558 ถึงเดือนพฤษภาคม ปี พ.ศ. 2560 จำนวน 356 ตัวอย่าง ใส่ใน nutrient agar เพื่อส่งตรวจยืนยันผลการดื้อยากลุ่ม carbapenems และตรวจหาชนิดของยีนดื้อยาตามลำดับที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

4. นำรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข มารวบรวม จัดเรียง วิเคราะห์ และอธิบายเชิงพรรณนา โดยใช้ค่าสถิติร้อยละในการบรรยาย

5. ผู้ร่วมดำเนินการ

" ไม่มี "

6. ส่วนของงานที่ผู้เสนอเป็นผู้ปฏิบัติ

6.1 ศึกษาอัตราการพบเชื้อวงศ์ *Enterobacteriaceae* โดยทำการรวบรวมข้อมูลจากการรายงานผลการเพาะเชื้อซึ่งทำการวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียจากสิ่งส่งตรวจทุกชนิดที่ส่งมายังห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก และถูกบันทึกข้อมูลในโปรแกรม MLAB ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2555 ถึงปี พ.ศ. 2559

6.2 ศึกษาอัตราการพบเชื้อ Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae (CRE) โดยทำการรวบรวมข้อมูลจากการรายงานผลการเพาะเชื้อซึ่งทำการวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียและทดสอบความไวของเชื้อต่อยาจากสิ่งส่งตรวจทุกชนิดที่ส่งมายังห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2555 ถึงปี พ.ศ. 2559 โดยเชื้อทุกตัวอย่างต้องให้ผลความไวของเชื้อต่อยาเป็น resistant หรือ intermediate ต่อยากลุ่ม carbapenems ชนิดใดชนิดหนึ่งหรือทั้ง 4 ชนิด และถูกบันทึกข้อมูลในโปรแกรม MLAB

6.3 เก็บตัวอย่างเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* และ *Escherichia coli* ที่เป็นเชื้อ CRE จากสิ่งส่งตรวจทุกชนิดที่ไม่ซ้ำรายกัน ตั้งแต่เดือนสิงหาคม ปี พ.ศ. 2558 ถึงเดือนพฤษภาคม ปี พ.ศ. 2560 จำนวน 356 ตัวอย่าง ใส่ใน nutrient agar เพื่อส่งตรวจยืนยันผลการดื้อยากลุ่ม carbapenems และตรวจหาชนิดของยีนดื้อยาตามลำดับที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

6.4 นำรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข มารวบรวม จัดเรียง วิเคราะห์ และอธิบายเชิงพรรณนา โดยใช้ค่าสถิติร้อยละในการบรรยาย

6.5 ผลการวิเคราะห์

จากการศึกษาอัตราการพบเชื้อก่อโรควงศ์ *Enterobacteriaceae* จากการเพาะเชื้อสิ่งส่งตรวจทุกชนิดในโรงพยาบาลตากสิน ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2555 - 2559 พบว่าเชื้อวงศ์ *Enterobacteriaceae* ที่เป็นปัญหาสำคัญได้แก่ *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis* และ *Enterobacter cloacae* เป็นต้น ซึ่งในทุกๆ ปี เชื้อ *E.coli* เป็นเชื้อวงศ์ *Enterobacteriaceae* ที่พบมากเป็นลำดับที่ 1 และเชื้อ *K.pneumoniae* พบมากเป็นลำดับที่ 2 ดังแสดงในภาคผนวก(ตารางที่ 3)

และเมื่อทำการศึกษาอัตราการพบเชื้อ Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae (CRE) พบว่ามีแนวโน้มสูงขึ้นทุกปี ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 อัตราการพบเชื้อ Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae (CRE) ในโรงพยาบาลตากสิน ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2555 - 2559

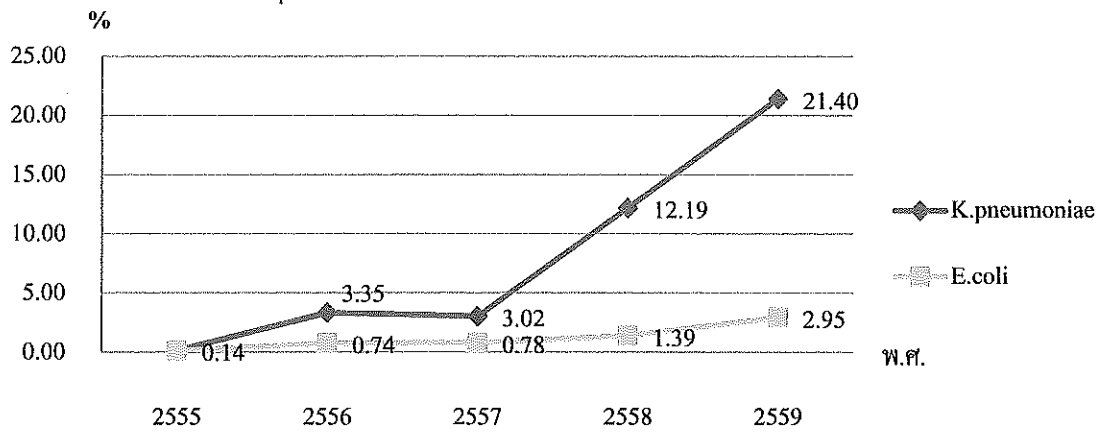
ปี พ.ศ.	Total Enterobacteriaceae (Isolates)	CRE	
		(Isolates)	%
2555	2,895	29	1.00
2556	3,367	61	1.81
2557	3,524	74	2.10
2558	4,446	247	5.56
2559	4,625	391	8.45

จากแนวโน้มการพบเชื้อ CRE ที่เพิ่มสูงขึ้น ได้ทำการศึกษาเชื้อ CRE ที่พบมากที่สุด 2 ลำดับแรก พบว่าเชื้อ *K.pneumoniae* ที่เป็น CRE มีอัตราการเพิ่มขึ้นมากกว่าเชื้อ *E.coli* ที่เป็น CRE ซึ่งมีแนวโน้มเหมือนกับศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ (NARST) ดังแสดงในตารางที่ 5, กราฟที่ 1, กราฟที่ 2 และ กราฟที่ 3

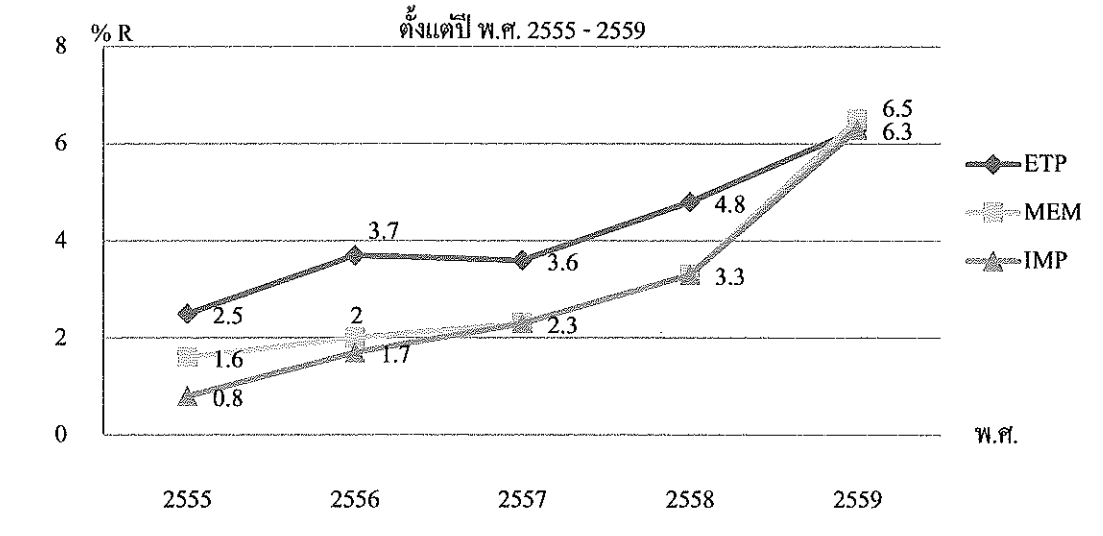
ตารางที่ 5 อัตราการพบเชื้อ *K.pneumoniae* และ *E.coli* ที่ดื้อต่อยากลุ่ม Carbapenems ในโรงพยาบาลตากสิน ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2555 - 2559

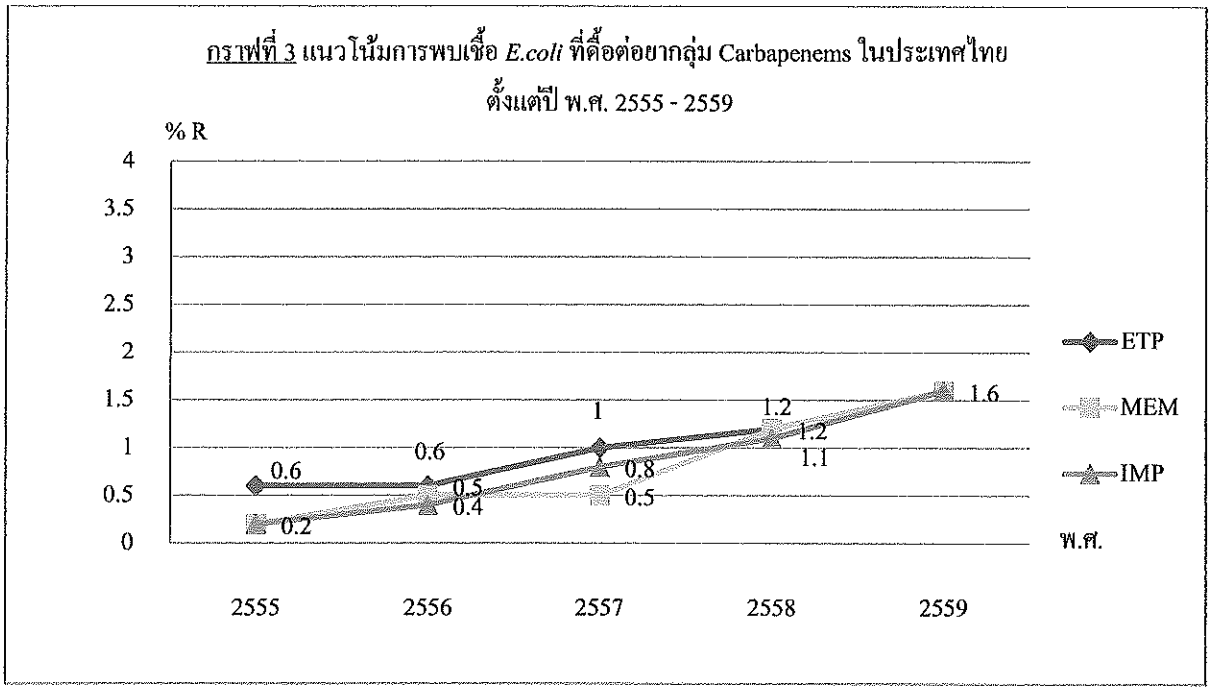
ปี พ.ศ.	*K.pneumoniae*			*E.coli*		
	Isolates	CRE	%	Isolates	CRE	%
2555	709	1	0.14	1,399	2	0.14
2556	837	28	3.35	1,614	12	0.74
2557	893	27	3.02	1,670	13	0.78
2558	1,296	158	12.19	2,019	28	1.39
2559	1,416	303	21.40	2,104	62	2.95

กราฟที่ 1 แนวโน้มการพบเชื้อ *K.pneumoniae* และ *E.coli* ที่ดื้อต่อยากลุ่ม Carbapenems ในโรงพยาบาลตากสิน ตั้งแต่ปีพ.ศ. 2555 - 2559



กราฟที่ 2 แนวโน้มการพบเชื้อ *K.pneumoniae* ที่ดื้อต่อยากลุ่ม Carbapenems ในประเทศไทย ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2555 - 2559





จากอัตราการเพิ่มขึ้นของเชื้อ *K.pneumoniae* และ *E.coli* ที่เป็น CRE จึงได้ทำการศึกษาเพิ่มเติม ในช่วงเวลาตั้งแต่เดือนสิงหาคม ปี พ.ศ. 2558 ถึงเดือนพฤษภาคม ปี พ.ศ. 2560 โดยศึกษาอัตราการพบเชื้อ CRE แยกตามชนิดสิ่งส่งตรวจ พบว่า จากเชื้อ CRE ที่แยกได้ทั้งหมด 695 isolates เป็นเชื้อ *K.pneumoniae* มากที่สุด 520 isolates คิดเป็น 74.82% รองลงมาคือเชื้อ *E.coli* 110 isolates คิดเป็น 15.83% โดยเชื้อ CRE ส่วนใหญ่เป็นเชื้อที่แยกได้จากปัสสาวะ (urine) 342 isolates คิดเป็น 49.21% รองลงมาเป็นเชื้อที่แยกได้จากเสมหะ (sputum) 238 isolates คิดเป็น 34.24% ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 อัตราการพบเชื้อ Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae (CRE) แยกตามชนิดสิ่งส่งตรวจ ในโรงพยาบาลตากสิน ตั้งแต่เดือนสิงหาคม ปี พ.ศ. 2558 – เดือนพฤษภาคม ปี พ.ศ. 2560

Organisms	CRE		Specimen Type					
	Isolates	%	Urine	Sputum	Blood	Pus	Sterile Site	Other
K.pneumoniae	520	74.82	219	211	41	33	13	3
E.coli	110	15.83	78	12	3	9	5	3
E.cloacae	53	7.63	39	9	3	1	1	0
C.fruendii	5	0.72	5	-	-	-	-	-
Other	7	1.01	1	6	-	-	-	-
Total	695	100	342	238	47	43	19	6
(%)			49.21	34.24	6.76	6.19	2.73	0.86

เมื่อทำการศึกษาผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *K.pneumoniae* และ *E.coli* จากตารางที่ 6 พบว่าเชื้อ *K.pneumoniae* ที่เป็น CRE ให้ผลดื้อต่อยาปฏิชีวนะเกือบทุกชนิดที่ทดสอบ ยกเว้นยากลุ่ม aminoglycosides ที่ยังให้ผลความไวอยู่ โดยยา amikacin ให้ผลความไว 69.23%, ยา gentamicin ให้ผลความไว 65% และยา netilmicin ให้ผลความไว 56.54% ส่วนเชื้อ *E.coli* ที่เป็น CRE ให้ผลดื้อต่อยาปฏิชีวนะเป็นส่วนใหญ่เช่นกัน แต่ยังให้ผลความไวต่อยา imipenem, meropenem, doripenem และ gentamicin ในระดับต่ำ โดยยา imipenem ให้ผลความไว 28.18%, ยา meropenem ให้ผลความไว 29.09%, ยา doripenem ให้ผลความไว 33.64% และ ยา gentamicin ให้ผลความไว 23.64% ส่วนยา amikacin และ netilmicin ยังให้ผลความไวในระดับสูง คือ 99.09% และ 83.64% ตามลำดับ ดังแสดงในภาคผนวก (ตารางที่ 7)

ในส่วนของผลการศึกษาชนิดของยีนดื้อยากลุ่ม carbapenems ของเชื้อ *K.pneumoniae* และ *E.coli* ที่เก็บตั้งแต่เดือนสิงหาคม ปี พ.ศ. 2558 ถึงเดือนพฤษภาคม ปี พ.ศ. 2560 จำนวน 356 ตัวอย่าง ที่ส่งไปตรวจ ณ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ด้วยวิธี Multiplex PCR พบว่า ตรวจพบยีน bla_{NDM} มากที่สุดจำนวน 196 ตัวอย่าง คิดเป็น 55.06% เป็นเชื้อ *K pneumoniae* 155 ตัวอย่าง และเชื้อ *E.coli* 41 ตัวอย่าง รองลงมาตรวจพบยีน bla_{OXA-48} จำนวน 184 ตัวอย่าง คิดเป็น 51.69% เป็นเชื้อ *K.pneumoniae* 171 ตัวอย่าง และเชื้อ *E.coli* 13 ตัวอย่าง โดยในจำนวนทั้งหมด 356 ตัวอย่างตรวจพบทั้งยีน bla_{NDM} และยีน bla_{OXA-48} จำนวน 43 ตัวอย่าง นอกจากนี้ตรวจพบยีนอื่นที่ไม่ใช่ bla_{NDM}, bla_{OXA-48}, bla_{IMP}, bla_{KPC}, bla_{VIM} จำนวน19 ตัวอย่าง คิดเป็น 5.34% เป็นเชื้อ *K.pneumonia* 13 ตัวอย่าง และเชื้อ *E.coli* 6 ตัวอย่าง ส่วนยีน bla_{IMP}, bla_{KPC} และbla_{VIM} ไม่พบในตัวอย่างใดเลย ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ผลการตรวจหาชนิดของยีนดื้อยากลุ่ม Carbapenems ของเชื้อ *K.pneumoniae* และ *E.coli* จำนวน 356 ตัวอย่าง ที่เก็บตั้งแต่เดือนสิงหาคม ปี พ.ศ. 2558 - เดือนพฤษภาคม ปี พ.ศ. 2560

Organisms	No. of Isolates	Multiplex PCR					
		bla_{NDM}	bla_{OXA-48}	bla_{IMP}	bla_{KPC}	bla_{VIM}	Other gene
K.pneumoniae	296	155*	171*	0	0	0	13
E.coli	60	41	13	0	0	0	6
Total	356	196	184	0	0	0	19
%		55.06	51.69	0.00	0.00	0.00	5.34

* พบ 43 ตัวอย่างที่มีทั้งยีน bla_{NDM} และ bla_{OXA-48}

7. ผลสำเร็จของงาน

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าอัตราการพบเชื้อวงศ์ *Enterobacteriaceae* ที่ดื้อต่อยากลุ่ม carbapenems ในโรงพยาบาลตากสินเพิ่มสูงขึ้นตลอดระยะเวลา 5 ปีที่ผ่านมา โดยเชื้อที่พบมากที่สุด 2 ลำดับแรก คือ *K.pneumoniae* และ *E.coli* พบว่า เชื้อ *K.pneumoniae* ที่ดื้อต่อยากลุ่ม carbapenems มีอัตราการเพิ่มขึ้นสูงกว่าเชื้อ *E.coli* ที่ดื้อต่อยากลุ่ม carbapenems และเมื่อทำการศึกษาอัตราการพบเชื้อ Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae (CRE) แยกตามชนิดสิ่งส่งตรวจพบเชื้อที่แยกได้จากปัสสาวะมากที่สุด รองลงมาเป็นเชื้อที่แยกได้จากเสมหะและยังพบได้ในสิ่งส่งตรวจต่างๆ เช่น เลือด หนอง เป็นต้น

เมื่อศึกษาแบบแผนความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *K.pneumoniae* และ *E.coli* ที่ดื้อต่อยากลุ่ม carbapenems จำนวน 356 ตัวอย่าง ที่เก็บในช่วงเดือนสิงหาคม ปี พ.ศ. 2558 ถึงเดือนพฤษภาคม ปี พ.ศ. 2560 พบว่า เชื้อ *K.pneumoniae* มีอัตราการดื้อต่อยากลุ่ม carbapenems มากกว่า เชื้อ *E.coli* แต่เชื้อทั้ง 2 ชนิด ยังไวต่อยากลุ่ม aminoglycosides อยู่ ยกเว้นเชื้อ *E.coli* ที่ไวต่อยา gentamicin ในระดับต่ำ และเมื่อนำเชื้อจำนวน 356 ตัวอย่างนั้นไปตรวจหาชนิดของยีนดื้อยากลุ่ม carbapenems ด้วยวิธี Multiplex PCR พบยีน bla_{NDM} มากที่สุด รองลงมา คือ ยีน bla_{OXA-48} และตรวจพบยีนอื่นที่ไม่ใช่ bla_{NDM}, bla_{OXA-48}, bla_{IMP}, bla_{KPC}, bla_{VIM} ด้วย ส่วนยีน bla_{IMP}, bla_{KPC} และbla_{VIM} ไม่พบในตัวอย่างใดเลย

8. การนำไปใช้ประโยชน์

1. เพื่อเป็นแนวทางในการติดตามอัตราความชุกและเฝ้าระวังเชื้อ CRE ในโรงพยาบาลตากสิน
2. เพื่อเป็นแนวทางในการวางแผนควบคุมการแพร่กระจายเชื้อ CRE ในโรงพยาบาลตากสิน

เมื่อห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิกรายงานผลเชื้อ CRE จะเพิ่มการรายงานข้อความ * Report Immediately to IC Nurse * ลงไปในใบรายงานผล พร้อมกับโทรแจ้งให้หอผู้ป่วยพิมพ์ผลทันที และทำการพิมพ์ใบรายงานผลส่งให้กับคณะกรรมการป้องกันและควบคุมการติดเชื้อในโรงพยาบาล (IC) เพื่อทำการบันทึกแจ้งเตือนในระบบคอมพิวเตอร์ของโรงพยาบาล (HIS)

เมื่อหอผู้ป่วยได้รับการรายงานผล จะมีแนวทางการปฏิบัติดังต่อไปนี้

- ทำการแยกผู้ป่วยโดยจัดให้ผู้ป่วยที่มีเชื้อดื้อยาชนิดเดียวกันอยู่โซนเดียวกัน
- แจ้งผู้ป่วยและญาติรับทราบ เพื่อขอความร่วมมือในการจำกัดการเยี่ยม ผู้เยี่ยมและการปฏิบัติที่ถูกต้อง
- มีการแยกอุปกรณ์/เครื่องมือเครื่องใช้ของผู้ป่วยแต่ละราย ไม่ใช้ร่วมกับผู้ป่วยรายอื่น
- ติดสัญลักษณ์เชื้อดื้อยาที่จำเป็นต้องควบคุมเป็นกรณีพิเศษในเอกสารต่างๆ

- ทำความสะอาดห้องอย่างน้อยวันละ 2 ครั้ง เน้นบริเวณใกล้ผู้ป่วย ผ้าสำหรับถูพื้นห้องและเครื่องใช้สำหรับทำความสะอาดให้แยกเฉพาะบริเวณโซนของผู้ป่วยติดเชื้อดื้อยา
- การส่งตัวอย่างทางห้องปฏิบัติการให้พนักงานทั่วไปส่งตัวอย่าง โดยระบุในใบนำส่งสิ่งส่งตรวจด้วยตราประทับ Strictly CP "MDRO" และใส่ตัวอย่างในถุงซิปหรือถุงพลาสติก เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการปฏิบัติตามหลักการป้องกันการแพร่กระจายเชื้อจากการสัมผัสอย่างเคร่งครัด
- มีการติดตามผู้ป่วยเชื้อดื้อยาโดยการส่งตรวจ clinical specimen จนกว่าผลเป็นลบ และก่อนจำหน่ายผู้ป่วยให้ส่ง stool culture เพื่อตรวจหาเฉพาะเชื้อ CRE

3. เพื่อเป็นข้อมูลให้กับแพทย์ในการเลือกให้ยาปฏิชีวนะในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ CRE โดยสาเหตุสำคัญประการหนึ่งที่ทำให้การดื้อยาของเชื้อก่อโรคมีแนวโน้มสูงขึ้น มาจากการใช้ยาต้านจุลชีพที่มากขึ้น ทั้งที่เป็นการใช้อย่างไม่จำเป็นและเกินความจำเป็น จึงมีแนวทางการเลือกใช้ยาต้านจุลชีพ ดังนี้

- เชื้อวงศ์ *Enterobacteriaceae* ที่ไม่สร้างเอนไซม์ ESBL ยาที่ควรเลือกใช้ก่อน ได้แก่ ceftriaxone, cefotaxime, ciprofloxacin, gentamicin ส่วนยาที่อาจใช้ได้ ได้แก่ amoxicillin/clavulanic acid, levofloxacin, amikacin
- เชื้อวงศ์ *Enterobacteriaceae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ยาที่ควรเลือกใช้ก่อน ได้แก่ ertapenem ส่วนยาที่อาจใช้ได้ ได้แก่ imipenem, meropenem, piperacillin/tazobactam
- เชื้อ CRE ยาที่ควรเลือกใช้ก่อน ได้แก่ colistin ยาที่อาจใช้ได้ ได้แก่ tigecycline, fosfomycin

ทั้งนี้ควรพิจารณาร่วมกับผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพจากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก

4. เพื่อเป็นแนวทางในการติดตามอัตราความชุกของยีนดื้อยาของเชื้อ CRE ในโรงพยาบาลตากสิน
5. เพื่อเป็นแนวทางในการทำงานวิจัยอื่นต่อไป

9. ความยุ่งยาก ปัญหา อุปสรรคในการดำเนินการ

เนื่องจากการรวบรวมข้อมูลทางสถิติต้องใช้โปรแกรม MLAB ในการสืบค้นและประมวลผล ดังนั้นผู้ทำการค้นคว้าจำเป็นต้องผ่านการอบรมการใช้โปรแกรมทั้งภาคทฤษฎีและภาคปฏิบัติ เพื่อพัฒนาทักษะในการใช้โปรแกรมให้มีความชำนาญ

10. ข้อเสนอแนะ

การจำแนกเชื้อโดยปฏิกิริยาชีวเคมีและการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพจำเป็นต้องทำการควบคุมคุณภาพ โดยใช้เชื้อมาตรฐานตามที่ CLSI กำหนด เพื่อให้ได้ผลการทดสอบที่ถูกต้อง

ขอรับรองว่าผลงานดังกล่าวข้างต้นเป็นความจริงทุกประการ

ลงชื่อ .....ยุคล.....อภัยยะกุล.....

(นายยุคล อภัยยะกุล)

ผู้ขอรับการประเมิน

วันที่ ...../.....11 ส.ค. 2561...../.....

ได้ตรวจสอบแล้วขอรับรองว่าผลงานดังกล่าวข้างต้นถูกต้องตรงกับความเป็นจริงทุกประการ

ลงชื่อ .....กู้เกียรตินันท์.....

(นางสาวนภาพร กู้เกียรตินันท์)

ตำแหน่ง นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ (ด้านบริการทางวิชาการ)

หัวหน้ากลุ่มงานเทคนิคการแพทย์

กลุ่มภารกิจด้านบริการตติยภูมิ โรงพยาบาลตากสิน

วันที่ ...../.....11 ส.ค. 2561...../.....

ลงชื่อ .....

(นางสิรินาถ เวทยะเวทิน)

ตำแหน่ง ผู้อำนวยการโรงพยาบาลตากสิน

วันที่ ...../.....11 ส.ค. 2561...../.....

ภาคผนวก

ตารางที่ 3 อัตราการพบเชื้อวงศ์ *Enterobacteriaceae* 4 ลำดับแรกในโรงพยาบาลตากสิน ตั้งแต่ ปี พ.ศ. 2555 - 2559

ลำดับ	พ.ศ. 2555 (Total 2,895 Isolates)		
	Organism	Isolates	%
1	*Escherichia coli*	1,399	48.32
2	*K.pneumoniae*	709	24.49
3	*Proteus mirabilis*	262	9.05
4	*Enterobacter cloacae*	157	5.42

ลำดับ	พ.ศ. 2556 (Total 3,367 Isolates)		
	Organism	Isolates	%
1	*Escherichia coli*	1,614	47.94
2	*K.pneumoniae*	837	24.86
3	*Proteus mirabilis*	287	8.52
4	*Enterobacter cloacae*	162	4.81

ลำดับ	พ.ศ. 2557 (Total 3,524 Isolates)		
	Organism	Isolates	%
1	*Escherichia coli*	1,670	47.39
2	*K.pneumoniae*	893	25.34
3	*Proteus mirabilis*	359	10.19
4	*Enterobacter cloacae*	147	4.17

ลำดับ	พ.ศ. 2558 (Total 4,446 Isolates)		
	Organism	Isolates	%
1	*Escherichia coli*	2,019	45.41
2	*K.pneumoniae*	1,296	29.15
3	*Proteus mirabilis*	383	8.61
4	*Enterobacter cloacae*	232	5.22

ลำดับ	พ.ศ. 2559 (Total 4,625 Isolates)		
	Organism	Isolates	%
1	*Escherichia coli*	2,104	45.49
2	*K.pneumoniae*	1,416	30.62
3	*Proteus mirabilis*	441	9.54
4	*Enterobacter cloacae*	177	3.83

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบความไวของเชื้อ *K.pneumoniae* และ *E.coli* ที่ดื้อต่อยากลุ่ม Carbapenems ในโรงพยาบาลตากสิน ตั้งแต่เดือนสิงหาคม ปี พ.ศ. 2558 - เดือนพฤษภาคม ปี พ.ศ. 2560

กลุ่มยา	ชื่อยา	***K.pneumoniae***		***E.coli***	
		Total 520 Isolates		Total 110 Isolates	
		Isolates	**%**	**Isolates**	**%**
Aminoglycosides	Amikacin	360	69.23	109	99.09
	Gentamicin	338	65.00	26	23.64
	Netilmicin	294	56.54	92	83.64
Penicillins	Ampicillin	0	0	1	0.91
Cephalosporins	cefuroxime	5	0.96	1	0.91
	Cefotaxime	3	0.58	4	3.64
	Ceftazidime	5	0.96	9	8.18
	Cefepime	6	1.15	9	8.18
Cephamycins	Cefoxitin	10	1.92	10	9.09
Carbapenems	Imipenem	23	4.42	31	28.18
	Ertapenem	2	0.38	2	1.82
	Meropenem	17	3.27	32	29.09
	Doripenem	14	2.69	37	33.64
Quinolones	Ciprofloxacin	9	1.73	14	12.73
β-Lactam	Amoxicillin/Clavulanic acid	2	0.38	2	1.82
+ Inhibiter	Cefoperazone/Sulbactam	4	0.77	4	3.64
	Piperacillin/Tazobactam	3	0.58	4	3.67
อื่นๆ	Trimethoprim/Sulfa*	51	9.81	13	11.82

*Sulfa = Sulfamethoxazole

ข้อเสนอ แนวคิด วิธีการเพื่อพัฒนางานหรือปรับปรุงงานให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

ของ นายยุคล อภัยยะกุล

เพื่อประกอบการขอรับเงินประจำตำแหน่ง นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการ (ด้านบริการทางวิชาการ)
(ตำแหน่งเลขที่ รพต. 339) สังกัด กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ กลุ่มภารกิจด้านบริการตติยภูมิ
โรงพยาบาลตากสิน สำนักการแพทย์

เรื่อง การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียและทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพโดยใช้เครื่องอัตโนมัติ MicroScan WalkAway

หลักการและเหตุผล

การวินิจฉัยชนิดของเชื้อแบคทีเรีย (Bacterial Identification) โดยทั่วไปทำได้จากเชื้อที่เจริญจากการเพาะเชื้อ ซึ่งอาศัยการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ในบางกรณีอาจทำได้จากการตรวจสิ่งส่งตรวจโดยตรง เช่น การตรวจหาแอนติเจนและการตรวจหากรดนิวคลิอิกของเชื้อแบคทีเรียโดยเฉพาะสำหรับเชื้อที่ไม่สามารถทำการเพาะเชื้อได้หรือการเพาะเชื้อทำได้ยาก การวินิจฉัยชนิดของเชื้อมีความสำคัญในการยืนยันการวินิจฉัยโรคและการเลือกใช้ยาต้านเชื้อแบคทีเรียสำหรับการรักษา ห้องปฏิบัติการจะทำการวินิจฉัยชนิดของเชื้อในระดับสปีชีส์หรือจีนัสเฉพาะเชื้อที่คาดว่าจะเป็นเชื้อก่อโรค ยกเว้นในกรณีที่แพทย์สงสัยว่าผู้ป่วยอาจมีการติดเชื้อฉวยโอกาสจากเชื้อประจำถิ่นหรือเชื้อที่พบได้ไม่บ่อย หรือเชื้อที่โดยทั่วไปมักพบเป็นเชื้อปนเปื้อน ซึ่งแพทย์ควรแจ้งให้ห้องปฏิบัติการทราบล่วงหน้า วิธีการวินิจฉัยชนิดของเชื้อที่สำคัญได้แก่ การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี (Biochemical test)

ลักษณะของเชื้อแบคทีเรียที่เห็นได้จากการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์และโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถช่วยในการจำแนกชนิดหรือกลุ่มของเชื้อในเบื้องต้นได้ แต่การวินิจฉัยชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่แน่นอนส่วนใหญ่ต้องทำการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ซึ่งโดยทั่วไปสามารถทำการวินิจฉัยเชื้อได้ในระดับจีนัสหรือสปีชีส์ ถึงแม้ว่าการทดสอบทางชีวเคมีถือเป็นวิธีการพื้นฐานในการวินิจฉัยแยกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย ข้อจำกัดในการทดสอบยังมีอยู่มาก เช่น วิธีทดสอบอาจมีความยุ่งยากในเชื้อกลุ่ม Non-fermentative Gram Negative Bacilli ซึ่งใช้เวลานานในการ incubate คือประมาณ 24-48 ชั่วโมง และต้องใช้การทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมีหลายชนิดในการทดสอบ ซึ่งในบางครั้งทางห้องปฏิบัติการมีชุดทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมีไม่เพียงพอ หรือในบางกรณีนั้นเชื้อบางชนิดไม่สามารถจำแนกชนิดได้ด้วยการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี การวินิจฉัยแยกชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่มีข้อจำกัดในการทดสอบด้วยวิธีทางชีวเคมีเหล่านี้จึงจำเป็นต้องอาศัยการทดสอบอื่นร่วมด้วย

การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพ (Antimicrobial Susceptibility Testing) เป็นกระบวนการสำคัญสำหรับการประเมินความสามารถของยาในการยับยั้งการเจริญหรือฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจ เพื่อให้แพทย์ใช้เป็นข้อมูลประกอบการตัดสินเลือกชนิดและระดับของยาต้านเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมสำหรับการรักษาผู้ป่วย ซึ่งวิธีการทดสอบที่นิยมใช้ทั่วไปได้แก่ disk diffusion method เนื่องจากเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย สะดวก ผลที่ได้มีค่าสอดคล้องกับค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารต้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้

(Minimum Inhibitory Concentration : MIC) โดยมีหลักการคือ สารต้านจุลชีพจำนวนแน่นอนจะแพร่ออกจากแผ่นกระดาษกรองรูปกลมทุกทิศทาง เพื่อไปยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงบนผิวหน้าอาหารแข็ง ความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพสูงสุดจะอยู่ใกล้แผ่นกระดาษ และลดลงตามระยะห่างจากแผ่นกระดาษ โดยหลังจากบ่มเชื้อในสภาวะที่เหมาะสมแล้ว จะนำอาหารออกมาตรวจวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงกลมใส รอบแผ่นกระดาษที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียถูกยับยั้งการเจริญ (inhibition zone) เป็นหน่วยมิลลิเมตร และนำมาแปลผลตามมาตรฐานของ CLSI guideline รายงานผลเชิงคุณภาพเป็น susceptible intermediate หรือ resistant ซึ่งวิธีนี้ไม่เหมาะที่จะทำการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียที่ใช้เวลาเจริญนานกว่า 24 ชั่วโมง อีกทั้งยังไม่ทราบระดับการไวและการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียเป็นตัวเลขอย่างชัดเจน และอาจเกิดความผิดพลาดได้ง่ายจากการปฏิบัติงานของบุคลากร (human error) จากการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง การแปลผลและการรายงานผล

วัตถุประสงค์และหรือเป้าหมาย

1. เพื่อให้ทราบชนิดของเชื้อแบคทีเรียและแบบแผนความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพอย่างรวดเร็ว
2. เพื่อช่วยแพทย์ให้สามารถเลือกใช้ยาต้านจุลชีพที่เหมาะสมได้เร็วขึ้น
3. เพื่อลดความเสี่ยงของผู้ป่วยจากการติดเชื้อได้รวดเร็วมากยิ่งขึ้น
4. เพื่อลดปริมาณขยะติดเชื้อในโรงพยาบาล
5. เพื่อลดความผิดพลาดจากการปฏิบัติงานของบุคลากร

กรอบการวิเคราะห์ แนวคิด ข้อเสนอ

การเพาะเลี้ยงเชื้อจากสิ่งส่งตรวจชนิดต่างๆ ได้แก่ urine, sputum, pus, stool, sterile body fluid, positive hemoculture ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม แล้วนำมา Incubate ที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 12-18 ชั่วโมง จากนั้นจะทำการจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียโดยนำมาทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมี ดังนี้

1. เชื้อกลุ่ม gram positive rod ทำการทดสอบ TSI, SIM (indole/motile), citrate, urea, LIA, OF glucose, malonate, bile esculin, 6.5% NaCL, CAMP test, motile ที่อุณหภูมิห้อง
2. เชื้อกลุ่ม Staphylococcus ทำการทดสอบ coagulase test, Dnase test, ชุด STAPHYLO LA "SEIKEN"
3. เชื้อกลุ่ม Streptococcus ทำการทดสอบ bacitracin disk, optochin disk, PPR, bile esculin, 6.5% NaCl, PYR test, Streptococal Grouping
4. เชื้อกลุ่ม Vibrionaceae ทำการทดสอบ TSI, SIM, citrate, urea, lysine decarboxylase, arginine dihydrolase, ornithine decarboxylase, 0% NaCl, 8% NaCl
5. เชื้อกลุ่ม Enterobacteriaceae ทำการทดสอบ TSI, SIM, citrate, urea, LIA, malonate, mannitol, sorbitol
6. เชื้อกลุ่ม Non-fermentative Gram Negative Bacilli ทำการทดสอบ TSI, SIM, citrate, urea, LIA, OF glucose, malonate

และทำการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพตามชนิดของเชื้อนั้นๆ ซึ่งมีขั้นตอนการทดสอบ ดังนี้

1. เขี่ย colony ของเชื้อที่ต้องการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ ใส่ในหลอดที่มี 0.85% NaCl แล้ววัดความขุ่นโดยใช้เครื่องวัดความขุ่น (Nephelometer) ให้ได้ 0.5 McFarland

2. วางอาหารเลี้ยงเชื้อบนแท่นรองรับของเครื่องเกลี่ยเชื้อ เปิดสวิตซ์ของเครื่องให้อาหารเลี้ยงเชื้อหมุน จากนั้นใช้ไม้พันสำลี sterile จุ่มเชื้อในข้อ 1 นำมาลากผ่านกึ่งกลางอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อให้เชื้อกระจายสม่ำเสมอทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ (จำนวนและชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อขึ้นอยู่กับกลุ่มของชนิดของเชื้อแบคทีเรีย)

3. ใช้ forceps คีบ disk ยา หรือใช้เครื่องปล่อยแผ่นยาวาง disk ยาลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ตามกลุ่มของชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

หลังจากทำการทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมีและทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพเสร็จแล้ว นำมา Incubate ที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 16-24 ชั่วโมง จากนั้นอ่านผลจากปฏิกิริยาชีวเคมีที่ทดสอบไว้เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งหากเป็นเชื้อกลุ่ม non-ferment gram negative bacilli บางชนิดที่ยากต่อการจำแนก อาจต้องใช้ปฏิกิริยาชีวเคมีเพิ่ม และต้อง incubate ต่อไปอีก 12-24 ชั่วโมง จึงจะสามารถอ่านผลปฏิกิริยาได้ ส่วนผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพทำได้โดยการวัดขนาดของ zone รอบแผ่นยา บันทึกลงในใบบันทึกผลแล้วจึงนำค่าที่วัดได้บันทึกลงในโปรแกรม MLAB ซึ่งจะแปลผลตามมาตรฐานของ CLSI guideline รายงานผลเชิงคุณภาพเป็น susceptible(S) intermediate(I) หรือ resistant(R) เท่านั้น แต่การใช้เครื่องอัตโนมัติ MicroScan WalkAway นั้นสามารถจำแนกชนิดของเชื้อและทำการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพได้อย่างรวดเร็ว และสามารถรายงานผลความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพในเชิงปริมาณ (MIC) ซึ่งทำให้ทราบระดับการดื้อยาของแบคทีเรียเป็นตัวเลขอย่างชัดเจน โดยหลักการที่ใช้ ได้แก่ Colorimetry เป็นหลักการที่วัดสีของ chromogenic tests / biochemical test ที่เปลี่ยนแปลงไปเพื่อจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย และ Turbidity เป็นหลักการที่ใช้ในการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพด้วยวิธีการหาค่า MIC โดยการวัดความขุ่นของ antimicrobial ที่ละลายอยู่ใน Mueller-Hinton broth โดยอาศัยหลักการในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อที่ความเข้มข้นของยาที่น้อยที่สุด ซึ่งมีขั้นตอนการทำดังนี้

1. ใช้ไม้เขี่ยเชื้อหรือ loop ที่ฆ่าเชื้อแล้ว เขี่ยที่ผิวของโคโลนีขนาดใหญ่ 4-5 โคโลนี หรือโคโลนีขนาดเล็ก 5-10 โคโลนีและเป็นโคโลนีเดี่ยวๆ ที่มีลักษณะเหมือนกัน ควรใช้โคโลนีที่มีอายุ 18-24 ชั่วโมง และเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากสารยับยั้งการเจริญเติบโต

2. ละลายเชื้อใน inoculum water 3 mL เขย่าให้เข้ากันและปรับให้มีความขุ่น 0.5 McFarland

3. ไปเปตเชื้อที่เตรียมไว้แล้ว (ตามข้อ 2) 100 µL ใส่ลงใน inoculum water with PLURONIC 25 mL และเขย่าแบบ inversion 8-10 ครั้ง

4. เปิดฝา inoculator – D และเทสารแขวนลอยของเชื้อ (ตามข้อ 3) ลงในส่วนที่เป็นถาดให้ทั่วทั้งถาด แล้วปิดฝา

5. ใช้ RENOK ในการไปเปตเชื้อในถาด inoculator – D ใส่ลงไปใน panel ที่ติดสติกเกอร์บาร์โคดในการสั่งตรวจไว้แล้ว จากนั้นปิดฝา panel ด้วย tray lid

6. นำเข้าเครื่อง MicroScan WalkAway เครื่องจะทำการหยดน้ำยา(ถ้ามี), incubate และอ่านผลโดยอัตโนมัติ

7. เครื่องจะบอกข้อมูลผลการทดสอบจำแนกชนิดของเชื้อ (Identification) ในรูปแบบร้อยละของความน่าจะเป็น และบอกผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพด้วยการรายงานค่า MIC รวมทั้งแปลผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพแต่ละชนิดให้ด้วย

สำหรับค่าใช้จ่ายในการจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียและทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพด้วยวิธี manual ราคาประมาณ 80 บาท/เชื้อ จะได้การรายงานผลความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพเป็น S, I หรือ R เท่านั้น หากต้องการทราบค่า MIC จะต้องทำการทดสอบเพิ่ม ซึ่งจะมีค่าใช้จ่ายประมาณ 140 บาท/ชนิดของสารต้านจุลชีพ ส่วนการจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียและทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพโดยใช้เครื่องอัตโนมัติ MicroScan WalkAway ราคาประมาณ 270 บาท/เชื้อ จะได้การรายงานผลความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพเป็นค่า MIC ของสารต้านจุลชีพทุกชนิดที่ทำการทดสอบ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียและแบบแผนความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพได้ถูกต้องและรวดเร็วมากขึ้น
2. แพทย์สามารถเลือกใช้ยาต้านจุลชีพที่เหมาะสมได้รวดเร็วมากยิ่งขึ้น
3. สามารถแยกผู้ป่วยติดเชื้อที่มีความเสี่ยงในการแพร่กระจายเชื้อได้อย่างรวดเร็ว ทำให้ช่วยลดการแพร่กระจายเชื้อในโรงพยาบาล
4. สามารถลดปริมาณขยะติดเชื้อในโรงพยาบาลได้
5. สามารถลดความผิดพลาดจากการปฏิบัติงานของบุคลากรได้

ตัวชี้วัดความสำเร็จ

1. ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิกสามารถรายงานผลชนิดของเชื้อและผลความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพในกรณีที่ต้องการทราบค่า MIC ได้เร็วขึ้น มากกว่า 20%
2. อัตราการรายงานผลผิดพลาดลดลง มากกว่า 20%

ลงชื่อ.....ยุคล อภัยยะกุล.....

(นายยุคล อภัยยะกุล)

ผู้ขอรับการประเมิน

...../ ก.ย. /2561.....