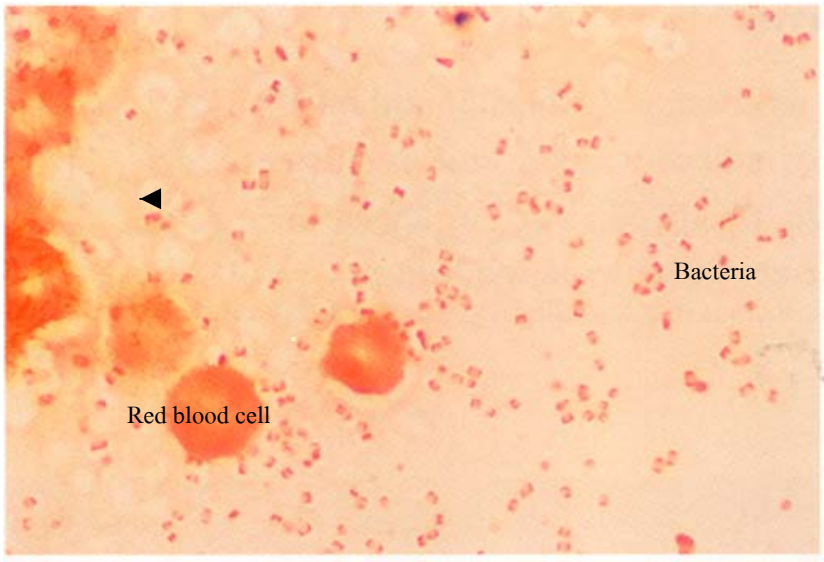
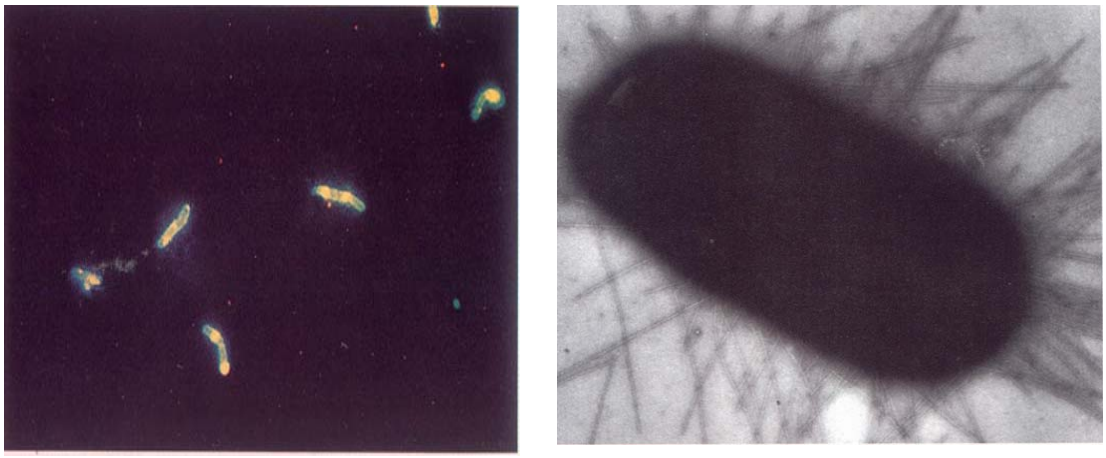
บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

2.1 เชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL



ภาพประกอบที่ 1 เชื้อแบคทีเรียกลุ่ม gram negative bacilli กลุ่ม *Enterobacteriaceae*



ภาพประกอบที่ 2 เชื้อ *E. coli*; ซ้าย: จำนวนหลายเซล; ขวา: จำนวนเซลเดียว

ภาพประกอบที่ 3 เชื้อ *K. pneumoniae*

ตั้งแต่ต้นปี ค.ศ.1980 มีการใช้ยากลุ่ม extended spectrum cephalosporins อย่างกว้างขวางทั่วโลก เนื่องจากมีการเพิ่มขึ้นของเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacteriaceae*, non glucose fermenting gram negative bacilli และเชื้อก่อโรคติดเชื้อระบบทางเดินหายใจบางชนิด เช่น *Haemophilus influenzae* และ *Morganella catarrhalis* ซึ่งเชื้อแบคทีเรียต่าง ๆ เหล่านี้มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ดื้อยาชนิด ampicillin-hydrolysing β-lactamase (Rupp and Fey, 2003) กระทั่ง ปี ค.ศ.1983 มีรายงานจากประเทศเยอรมนีจากผลการศึกษาของ Knothe และคณะ (1983) พบว่ามีเชื้อ *K. pneumoniae* สร้างเอนไซม์ดื้อยาชนิดที่สามารถทำลายยากลุ่ม extended spectrum cephalosporins ได้ หลังจากนั้นมีรายงานในลักษณะเดียวกันนี้จากยุโรป (Jacoby, *et al*., 1988) และสหราชอาณาจักรตามมา (Quinn, *et al*., 1989) การที่เอนไซม์ดังกล่าวสามารถทำลายยาในกลุ่ม oxyiminocephalosporins ได้จึงเป็นที่รู้จักกันในชื่อของ extended spectrum β-lactamase (ESBL) มีเชื้อก่อโรคอีกหลายชนิดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ ESBL ได้แก่ *Capnocytophaga ochracea*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Salmonella* spp., *Serratia* spp., *Morganella* spp. และ *Proteus mirabilis* แต่เชื้อแบคทีเรียที่กล่าวมานี้เป็นเพียงส่วนน้อยเท่านั้นที่สร้างเอนไซม์ ESBL เชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่สร้างเอนไซม์ ESBL และมักทำให้เกิดการระบาดคือ เชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacteriaceae* โดยเฉพาะ *E. coli*, *K. pneumoniae* และ *K. oxytoca* นอกจากเอนไซม์ ESBL จะสามารถทำลายยากลุ่ม aminopenicillins, ureidopenicillins และ narrow spectrum cephalosporins แล้วยังทำให้เกิดการดื้อยากลุ่ม extended spectrum

cephalosprins รวมถึงยากลุ่ม monobactams คือยา aztreonam ด้วย (Beringer, 2001) อย่างไรก็ตาม ยากลุ่ม carbapenems และ cephamycins ไม่ถูกทำลายจากเอนไซม์ ESBL และเอนไซม์ ESBL ถูกยับยั้งได้โดย clavulanic acid ซึ่งเมื่อแบ่งตามเกณฑ์ของ Bush-Jacoby-Medeiros พบว่าเอนไซม์ ESBL ถูกจัดอยู่ใน functional class 2be (Bush, *et al.*, 1995) ซึ่งเป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่มีลักษณะคือสามารถทำลายยา กลุ่ม oxyiminocephalosporins และยากลุ่ม β–lactams ชนิดอื่น ๆ ยกเว้นยากลุ่ม cephamycins และยากลุ่มcarbapenems อย่างไรก็ตามเอนไซม์กลุ่มนี้ยังคงไวต่อยากลุ่ม β-lactamase inhibitors (Nathisuwan, *et al*.,2001)

2.2 ชนิดของเอนไซม์ ESBL

เอนไซม์ ESBL เป็นผลจากการกลายพันธุ์ของเอนไซม์ TEM-1 β–lactamase, TEM–2 β–lactamase และ SHV–1 β–lactamase ซึ่งเอนไซม์ β–lactamase เหล่านี้เป็นเอนไซม์ที่พบว่าถูกสร้างได้บ่อยจากเชื้อในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* (Nathisuwan, *et al*., 2001) โดยปกติแล้วเอนไซม์β–lactamase ทั้งสามชนิดนี้มีการดื้อในระดับสูงต่อยากลุ่ม penicillins ชนิดแรก ๆ และมีการดื้อในระดับต่ำต่อยากลุ่ม first generation cephalosporins (Medeiros, 1997) แต่เชื่อว่าการใช้ยากลุ่ม third generation cephalosporins และยา aztreonam อย่างกว้างขวางเป็นสาเหตุหลักของการกลายพันธุ์ของเชื้อก่อโรคที่สร้างเอนไซม์ β–lactamase ทั้ง 3 ชนิดนี้ ทำให้เกิดเป็นเอนไซม์ ESBL ขึ้นมา (Brun–Buisson, *et al*., 1987; Rice, *et al*., 1990; Naumovski, *et al*., 1992; Meyer, *et al*., 1993) มีการจัดชนิดของเอนไซม์ ESBL โดยแบ่งเป็นกลุ่มต่าง ๆ ตามเกณฑ์การแบ่งของ Bush และ Ambler ดังแสดงในตารางที่ 3 จากที่กล่าวไปข้างต้นว่าเอนไซม์ ESBL ส่วนใหญ่เป็นอนุพันธ์ของเอนไซม์ β-lactamase ชนิด TEM หรือ SHV (Bush, *et al.*, 1995; Jacoby and Medeiros, 1991) ปัจจุบันพบว่า มีเอนไซม์ β-lactamase ชนิด TEM มากกว่า 90 ชนิดและชนิด SHV มากกว่า 25 ชนิด โดยเมื่อเอนไซม์ β-lactamase ทั้งชนิด TEM และSHV เกิดการกลายพันธุ์ในตำแหน่ง 2-3 จุดภายในยีนของเชื้อแบคทีเรียในส่วนที่เพิ่มการทำลายยาต้านจุลชีพ ส่งผลให้เกิดเป็นยีนซึ่งควบคุมการสร้างเอนไซม์ ESBL ถึงแม้ว่าเอนไซม์ ESBL ทั้งชนิด TEM และ SHV ส่วนมากพบในเชื้อ *E. coli* และ*K. pneumoniae* แต่อย่างไรก็ตามยังพบได้จากเชื้อ *Protues* spp., *Providencia* spp. และเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์อื่น ๆ ในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* ด้วย (Bradford, 2001)

ตารางที่ 3 ชนิดของเอนไซม์ ESBL โดยแบ่งตามเกณฑ์การแบ่งของ Bush และ Ambler

Type	Classification	Preferred Substrates	β-lactamase Inhibitors	Location
TEM and SHV	Bush: Class 2be Ambler: Class A	Oxyiminocephalosporins and other β-lactam except cephamycins and carbapenems	Susceptible	Worldwide
Inhibitors-resistant TEMs	Bush: Class 2br Ambler: Class A	Penicillins	Resistant	Worldwide
PER	Bush: Class 2be Ambler: Class D	Oxyiminocephalosporins and other β-lactam except cephamycins and carbapenems	Susceptible	Turkey, South America
OXA	Bush: Class 2d Ambler: Class D	Oxyiminocephalosporins, cephamycins, and other β-lactam except carbapenems	Resistant	Turkey
Plasmid-mediated AmpC	Bush: Class 1 Ambler: Class C	Oxyiminocephalosporins, cephamycins, and other β-lactam except carbapenems	Resistant	Worldwide
Plasmid-mediated carbapenems	Bush: Class 3 Ambler: Class B	All β-lactam, including carbapenems	Resistant	Japan, Italy, and Singapore, not yet reported in the U.S.

ที่มา: Nathisuwan, *et al.*, 2001

2.2.1 TEM–Type ESBL

เริ่มแรกพบเอนไซม์ β-lactamase ชนิด native TEM–1 β-lactamase ซึ่งดื้อต่อยากลุ่ม ampicillin และ first generation cephalosporins เช่น cephalothin ประมาณร้อยละ 90 ของเอนไซม์ชนิดนี้ถูกสร้างจากเชื้อ ampicillin–resistance *E. coli*, penicillin–resistance *H. influenzae* และ *0N. gonorrheae* (Livermore, 1995) ดังกล่าวไปข้างต้นแล้วว่าเดิมทีเอนไซม์ชนิด TEM–1 มีความสามารถในการทำลายยากลุ่ม penicillins และกลุ่ม cephalosporins ชนิดแรก ๆ เช่น cephalothin และ cephaloridine เท่านั้น (Bradford, 2001) แต่ต่อมาเกิดการกลายพันธุ์ภายใน bla_{tem-1}

structural gene ซึ่งเชื่อว่าเกิดจาก antibiotic selection ทำให้เอนไซม์นี้มีความสามารถในการทำลายยาต้านจุลชีพได้กว้างขึ้น ในขณะที่ความสามารถในการทำลายยากลุ่ม narrow spectrum antibiotics ก็ยังคงอยู่ การที่ยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ TEM–1 β–lactamase เกิดการกลายพันธุ์โดยการแทนที่กรดอะมิโน (amino acid) ในตำแหน่งที่ 39 เพียงตำแหน่งเดียวนี้ (Rupp and Fey, 2003) ที่จากเดิมคือ lysine เป็น glutamine ทำให้เกิดเป็นเอนไซม์ชนิดใหม่เรียกว่า TEM–2 β-lactamase และเอนไซม์ชนิดนี้ถูกจัดเป็นอนุพันธุ์ของเอนไซม์ TEM–1 β-lactamase (Bradford, 2001) แต่อย่างไรก็ตามเอนไซม์ TEM–2 β-lactamase ยังไม่ถูกจัดเป็นเอนไซม์ ESBL เพราะถึงแม้จะพบว่ามีการเลื่อนของ isoelectric point (pI) จาก pI 5.4 เป็น pI 5.6 เมื่อเปรียบเทียบกับเอนไซม์ TEM–1 β–lactamase แต่เอนไซม์ TEM–2 β-lactamase ยังคงมี substrate profile เหมือนกับ substrate profile ของ TEM–1 β-lactamase (Bradford, 2001) แต่ต่อมามีการกลายพันธุ์ต่อโดยการแทนที่กรดอะมิโนในตำแหน่งที่ 12 และ/หรือร่วมกับการเกิด structural gene mutation อย่างอื่นอีกร่วมด้วยจึงเกิดเป็นที่มาของเอนไซม์ ESBL ซึ่งเป็นอนุพันธุ์ของเอนไซม์ TEM–1 หรือเอนไซม์ ESBL ซึ่งเป็นอนุพันธุ์ของเอนไซม์ TEM–2 อีกมากกว่า 90 ชนิด (Knothe, *et al.*, 1983) เอนไซม์ TEM–3 β-lactamase เป็นอนุพันธุ์ของเอนไซม์ TEM ชนิดแรกที่ถูกจัดว่าเป็นเอนไซม์ ESBL (TEM–derived ESBL) (Bradford, 2001) เนื่องจากเอนไซม์ ESBL ซึ่งเป็นอนุพันธุ์ของเอนไซม์ TEM แต่ละชนิดมีความแตกต่างกันเล็กน้อยในเรื่องของ substrate profile จึงพบว่าเอนไซม์ ESBL ชนิดหนึ่งสามารถทำลายยากลุ่ม extended spectrum cephalosporins บางชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าเอนไซม์ ESBL อีกชนิดหนึ่ง

การแทนที่กรดอะมิโนในตำแหน่งต่าง ๆ ภายในโครงสร้างของยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ TEM β-lactamase เกิดขึ้นในจำนวนจำกัด การเปลี่ยนแปลงการแทนที่กรดอะมิโนในตำแหน่ง ต่าง ๆ ร่วมกันในโครงสร้างของยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ทำให้เกิดเป็นเอนไซม์ ESBL phenotype ต่าง ๆ ขึ้น จึงส่งผลให้เกิดความแตกต่างกันของความสามารถในการทำลายยากลุ่ม oxyiminocephalosporins ชนิดต่าง ๆ เช่น ยา ceftazidime และยา cefotaxime หรือทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ isoelectric point จาก pI 5.4 ถึง 6.5 ตาม phenotype ต่าง ๆ ของเอนไซม์ TEM β-lactamase ดังแสดงในตารางที่ 4 จำนวนของกรดอะมิโนที่เหลืออยู่ในโครงสร้างของยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ TEM β-lactamase มีความสำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อการเกิดเป็นเอนไซม์ ESBL phenotype ต่าง ๆ การแทนที่ของกรดอะมิโนในตำแหน่งต่าง ๆ ได้แก่ การแทนที่ของ glutamate ด้วย lysine ในตำแหน่ง 104 การแทนที่ของ arginine ด้วย serine หรือ histidine ใน

ตำแหน่ง 164 การแทนที่ของ glycine ด้วย serine ในตำแหน่ง 238 และการแทนที่ glutamate ด้วย lysine ในตำแหน่ง 240 (Bradford, 2001) ดังแสดงในภาพประกอบที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงลักษณะของเอนไซม์ TEM-type-β-lactamases[a]

pI	Enzyme	Enzyme type		
		Broad spectrum	**ESBL**	**IRT**
5.2	TEM-12, TEM-55, TEM-57, TEM-58		X	
	TEM-30, TEM-31, TEM-35, TEM-36, TEM-37, TEM-38, TEM-41, TEM-45, TEM-51, TEM-73, TEM-74			X
5.3	TEM-25		X	
5.4	TEM-1	X		
	TEM-7, TEM-19, TEM-20, TEM-65		X	
	TEM-32, TEM-33, TEM-34, TEM-39, TEM-40, TEM-44			X
5.42	TEM-29		X	
5.55	TEM-5, TEM-17		X	
5.59	TEM-9		X	
5.6	TEM-2	X		
	TEM-10, TEM-11, TEM-13, TEM-16, TEM-63		X	
	TEM-50		X	X
	TEM-59			X
5.7	TEM-68		X	X
5.8	TEM-42		X	
5.9	TEM-4, TEM-6, TEM-8, TEM-27, TEM-72		X	
6.0	TEM-15, TEM-47, TEM-48, TEM-49, TEM-52, TEM-66, TEM-92		X	
6.1	TEM-28, TEM-43		X	
6.3	TEM-3, TEM-16, TEM-21, TEM-22		X	

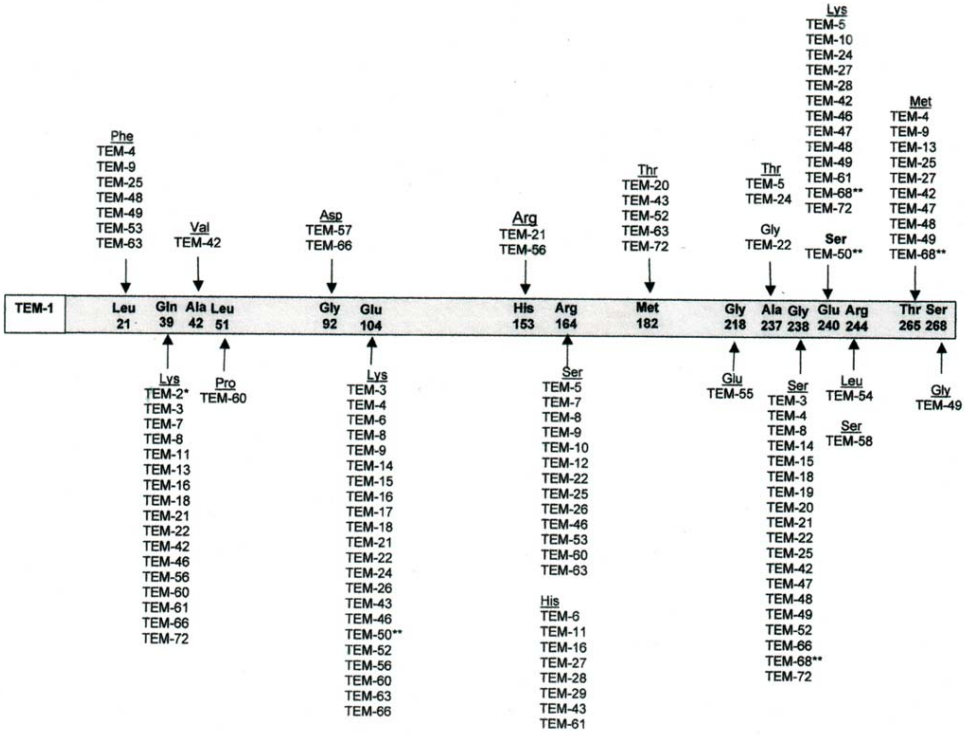
ตารางที่ 4 (ต่อ)

pI	Enzyme	Enzyme type		
		Broad spectrum	ESBL	IRT
6.4	TEM-56, TEM-60		X	
6.5	TEM-24, TEM-46, TEM-61		X	
Not determined	TEM-14, TEM-53, TEM-54		X	
	TEM-76, TEM-77, TEM-78, TEM-79 TEM-81, TEM-82, TEM-83, TEM-84			X

ที่มา: ดัดแปลงจากตารางที่ 1 ของ Bradford, 2001

[a] Amino acid sequences for TEM, SHV, and OXA extended-spectrum and inhibitor-resistant β-lactamases may be found at http://www.lahey.org/studies/webt.htm.

All enzymes listed are naturally occurring mutants.

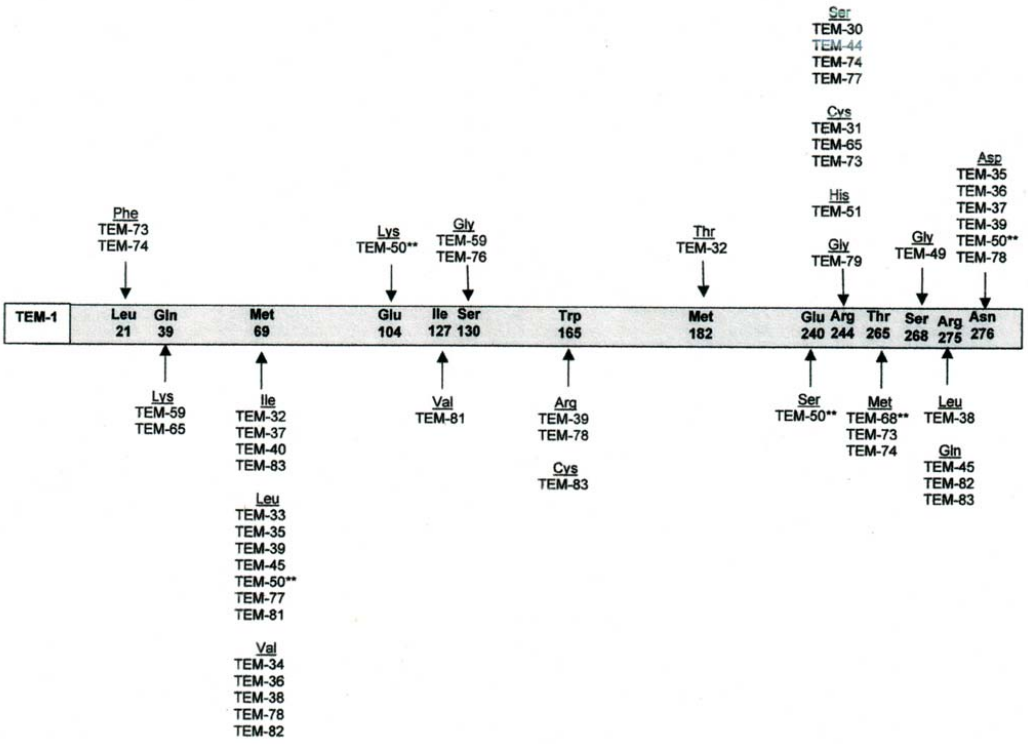


ภาพประกอบที่ 4 แสดงการแทนที่ของกรดอะมิโนภายในยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ชนิด TEM ทำให้เกิดเป็นเอนไซม์ ESBL ที่เป็นอนุพันธุ์ของเอนไซม์ชนิด TEM (TEM ESBL derivatives)

ที่มา: ภาพประกอบที่ 1 ของ Bradford, 2001

แม้ว่าเอนไซม์ β-lactamase ที่ดื้อต่อสารยับยั้ง (β-lactamase inhibitors) จะไม่ถูกจัดว่าเป็นเอนไซม์ ESBL แต่เอนไซม์ชนิดนี้ถูกกล่าวถึงในเชิงเปรียบเทียบกับเอนไซม์ ESBL บ่อย ๆ เป็นเพราะเอนไซม์ดังกล่าวนี้เป็นอนุพันธุ์ของเอนไซม์ TEM β-lactamase หรือ SHV β-lactamase เช่นเดียวกัน ในช่วงต้น ปี ค.ศ.1990 มีการค้นพบเอนไซม์ β-lactamase ชนิดที่ดื้อต่อการยับยั้งของ clavulanic acid เมื่อพิจารณายีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ดื้อยาจากลำดับกรดอะมิโนภายในสาย nucleotide บ่งว่าเอนไซม์ชนิดดังกล่าวแตกต่างจากเอนไซม์ β-lactamase ชนิด TEM-1 β-lactamase หรือ TEM-2 β-lactamase ครั้งแรกเอนไซม์ชนิดนี้ถูกเรียกว่า inhibitor-resistant TEM β-lactamase หรือ IRT แต่ต่อมาได้รับการเปลี่ยนชื่อเป็นเอนไซม์ชนิด TEM ต่าง ๆ จำนวนมาก และยังพบอีกว่ามี inhibitor-resistant TEM β-lactamase อย่างน้อยที่สุด 19 ชนิด ส่วนใหญ่พบว่า inhibitor-resistant TEM β-lactamase มักถูกสร้างจากเชื้อ *E. coli* แต่พบว่าเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ เช่น *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *P. mirabilis* และ *Citrobacter freundii* สามารถสร้างเอนไซม์ชนิดนี้ได้เช่นกัน (Bret, *et al.*, 1996; Lemozy, *et al.*, 1995) เนื่องจาก inhibitor-resistant TEM ชนิดต่าง ๆ ดื้อต่อการยับยั้งของ clavulanic acid และ sulbactam ด้วยเหตุนี้ทางคลินิกจึงพบว่าเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ชนิด inhibitor-resistant TEM ดื้อต่อยากลุ่ม β-lactam/β-lactamase inhibitors เช่น amoxicillin/clavulanate, ticarcillin/clavulanate และ ampicillin/sulbactam แต่อย่างไรก็ตามเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ชนิด inhibitor-resistant TEM ยังคงไวต่อการยับยั้งด้วย tazobactam และ piperacillin/tazobactam (Bradford, 2001) เอนไซม์ชนิด inhibitor-resistant TEM ถูกพบเริ่มแรกในประเทศฝรั่งเศสและอีก 2-3 ประเทศในทวีปยุโรป (Chaibi, *et al.*, 1999) มีการสำรวจเชื้อ *E. coli* ซึ่งดื้อต่อ amoxicillin/clavulanate ในโรงพยาบาลของประเทศฝรั่งเศสโดย Leflon-Guibout และคณะ (2000) พบว่ามีเชื้อ *E. coli* ที่สร้างเอนไซม์ชนิด inhibitor-resistant TEM สูงถึงร้อยละ 41

เอนไซม์ TEM β-lactamase ชนิด inhibitor-resistant TEM เกิดจากการกลายพันธุ์ของเอนไซม์ TEM β-lactamase โดยการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนที่ตำแหน่งเฉพาะ 2-3 ตำแหน่งภายใน structure gene ของยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ TEM β-lactamase ได้แก่ การถูกแทนที่ของ Met ที่ตำแหน่ง 69 การถูกแทนที่ของ Arg ที่ ตำแหน่ง 244 การถูกแทนที่ของ Arg ที่ตำแหน่ง 275 และการถูกแทนที่ของ Asn ที่ตำแหน่ง 276 การแทนที่กรดอะมิโนที่ตำแหน่งเหล่านี้นำไปสู่การเกิดเป็น phenotype ต่าง ๆ ของ inhibitor-resistant ของเอนไซม์ TEM β-lactamase ซึ่งแตกต่างจาก phenotype ของเอนไซม์ ESBL (Bradford, 2001) ดังแสดงในภาพประกอบที่ 5



ภาพประกอบที่ 5 แสดงการแทนที่ของกรดอะมิโนภายในยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ TEM ทำให้เกิดเป็นเอนไซม์ TEM IRT (TEM IRT derivatives)
ที่มา: ภาพประกอบที่ 2 ของ Bradford, 2001

การศึกษาการกลายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการซึ่งโดยทั่วไปมีการแทนที่กรดอะมิโนในตำแหน่งที่สร้างให้เกิดเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์ ESBL และสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดเอนไซม์ IRT แต่ไม่ใช่สายพันธุ์ที่สามารถสร้างได้ทั้งเอนไซม์ ESBL ร่วมกับเอนไซม์ IRT อย่างไรก็ตามเมื่อไม่นานมานี้มีการค้นพบเอนไซม์ชนิด TEM-50 β-lactamase ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้มีตำแหน่งของกรดอะมิโนที่ถูกแทนที่ได้บ่อย ๆ ในการกลายพันธุ์เกิดเป็นเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์ ESBL และในเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์ชนิด inhibitor-resistant TEM เอนไซม์ชนิด TEM-50 β-lactamase ดื้อต่อ clavulanic acid และดื้อเล็กน้อยต่อยากลุ่ม extended spectrum cephalosporins ด้วย (Sirot, *et al.*, 1997) การค้นพบนี้เป็นสิ่งหนึ่งที่บ่งถึงความเป็นไปได้ว่ามีการเกิดเอนไซม์ β-lactamase ชนิดใหม่ ๆ ซึ่งมี phenotype ที่ซับซ้อนโดยเป็นเอนไซม์ β-lactamase ชนิดที่มีลักษณะร่วมของเอนไซม์ ESBL และเอนไซม์ inhibitor-resistant นอกจากนี้พบความสัมพันธ์ของเอนไซม์ TEM β-lactamase ชนิดต่าง ๆ กับเอนไซม์ inhibitor-resistant SHV-1 ชนิดต่าง ๆ และเอนไซม์ OHIO-1 ด้วย (Bradford, 2001)

สิ่งที่น่าสนใจอีกอย่างคือการพบว่า การกลายพันธุ์ภายในยีนของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ TEM β-lactamase ที่พบในห้องปฏิบัติการพบว่า มีการกลายพันธุ์หลายตำแหน่งมากกว่าที่เกิดขึ้นในธรรมชาติจึงเป็นสิ่งที่บ่งว่า การเกิดขึ้นตามธรรมชาติของเอนไซม์ ESBL ชนิด TEM เป็นผลมาจากการใช้หรือการเหนี่ยวนำจากยากลุ่ม β-lactam หลายชนิดภายในสถานที่หนึ่ง ๆ มากกว่าที่จะเกิดจากการเหนี่ยวนำของยาเพียงชนิดเดียว (Bradford, 2001)

ถึงแม้ว่าเอนไซม์ ESBL ชนิด TEM β-lactamase พบได้บ่อยที่สุดว่าถูกสร้างจากเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* แต่เอนไซม์ ESBL ชนิด TEM β-lactamase ยังสามารถถูกสร้างจากแบคทีเรียกลุ่มกรัมลบสายพันธุ์อื่น ๆ ได้บ่อยขึ้นด้วย เอนไซม์ ESBL ชนิด TEM β-lactamase ถูกพบจากแบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacteriaceae* ชนิดอื่น ๆ ได้แก่ *Enterobacter aerogenes*, *Morgelnella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Proteus rettgeri* และ *Salmonella* spp. (Bradford, 2001) ยิ่งไปกว่านั้นเอนไซม์ ESBL ชนิด TEM β-lactamase สามารถถูกสร้างได้จากแบคทีเรียกรัมลบที่ไม่ใช่กลุ่ม *Enterobacteriaceae* ด้วย เช่น TEM-42 β-lactamase ซึ่งพบว่าถูกสร้างโดยเชื้อ *P. aeruginosa* (Mugnier, *et al.*, 1996) รวมทั้งมีรายงานเมื่อเร็ว ๆ นี้ว่าพบยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ชนิด TEM-17 β-lactamase บน plasmid ของเชื้อ *Capnocytophaga ochracea* ที่แยกได้จากตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยด้วย (Rosenau, *et al.*, 2000)

2.2.2 SHV–Type ESBL

ที่มาของ SHV-type ESBL มีลักษณะคล้ายกับกรณีของ native TEM–1 β-lactamase กล่าวคือ ครั้งแรกพบว่าเชื้อ *K. pneumoniae* สร้างเอนไซม์ชนิด native SHV–1 β-lactamase ซึ่งเกิดการดื้อยากลุ่ม penicillins และ first generation cephalosporins ต่อมาเกิดการกลายพันธุ์ภายใน bla_{SHV-1} structural gene ทำให้ความสามารถในการทำลายยาของเอนไซม์ SHV–1 β-lactamase มีมากขึ้น ส่งผลให้สามารถดื้อต่อยากลุ่ม extended spectrum cephalosporins และ monobactam ได้ (Rupp and Fey, 2003) อนุพันธุ์ของเอนไซม์ SHV-1 β-lactamase แต่ละชนิดมีความสัมพันธ์กันเพียงเล็กน้อย ซึ่งประเด็นนี้เป็นประเด็นที่แตกต่างจากเอนไซม์ชนิด TEM β-lactamase ดังแสดงในตาราง 5 ยิ่งไปกว่านั้นการเปลี่ยนแปลงที่สังเกตได้ภายในยีน bla_{SHV-1} โดยการแทนที่กรดอะมิโน 2-3 ตำแหน่งภายใน structural gene ทำให้เกิดเป็นยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ SHV β-lactamase ชนิดต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 5 และภาพประกอบที่ 6 การแทนที่ของกรดอะมิโนในตำแหน่งหลัก ๆ ที่ทำให้เกิดเป็นเอนไซม์ ESBL phenotype ต่าง ๆ ชนิด SHV

β-lactamase ได้แก่ การแทนที่ glycine ด้วย serine ในตำแหน่ง 238 ส่วนการแทนที่ glutamate ด้วย lysine ในตำแหน่ง 240 ทำให้เกิดยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ชนิด SHV–5 β-lactamase เป็นที่น่าสนใจว่าหากมีการแทนที่กรดอะมิโนในตำแหน่ง 238 Gly238Ser (หมายถึง การแทนที่ Glysine ในตำแหน่ง 238 ด้วย Serine) และตำแหน่ง 240 Glu240Lys (หมายถึง การแทนที่ Glutamine ในตำแหน่ง 240 ด้วย Lysine) เป็นเสมือนภาพสะท้อนของยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ ESBL ชนิด TEM นอกจากนี้ส่วนของ serine ที่เหลืออยู่ (serine residue) ที่ตำแหน่ง 238 เป็นตำแหน่งซึ่งได้รับการวิจารณ์ว่าเป็นตำแหน่งสำคัญสำหรับการทำลายยา ceftazidime และส่วน lysine ที่เหลืออยู่ (lysine residue) เป็นตำแหน่งซึ่งได้รับการวิจารณ์ว่าเป็นตำแหน่งสำคัญสำหรับการทำลายยา cefotaxime (Bradford, 2001)

ปัจจุบันอนุพันธุ์หลักของเอนไซม์ชนิด SHV β-lactamase มี phenotype เป็นแบบ ESBL อย่างไรก็ตามมีเอนไซม์ SHV β-lactamase จำนวน 1 ชนิดคือ SHV-10 β-lactamase ที่รายงานว่ามี phenotype เป็นแบบ inhibitor-resistant โดยพบว่าเอนไซม์ชนิดนี้พัฒนาจากเอนไซม์ชนิด SHV-5 β-lactamase โดยการแทนที่ serine ในตำแหน่ง 130 ด้วย glycine (Ser130Gly) (Prinarakis, *et al.*, 1997) เอนไซม์ ESBL ชนิด SHV โดยทั่วไปพบว่าถูกสร้างจากเชื้อ *K. pneumoniae* เป็นหลัก แต่ก็มีรายงานว่าสร้างได้จากเชื้อ *Citrobacter diversus*, *E. coli* และ *P. aeruginosa* ด้วยเช่นกัน (Bradford, 2001)

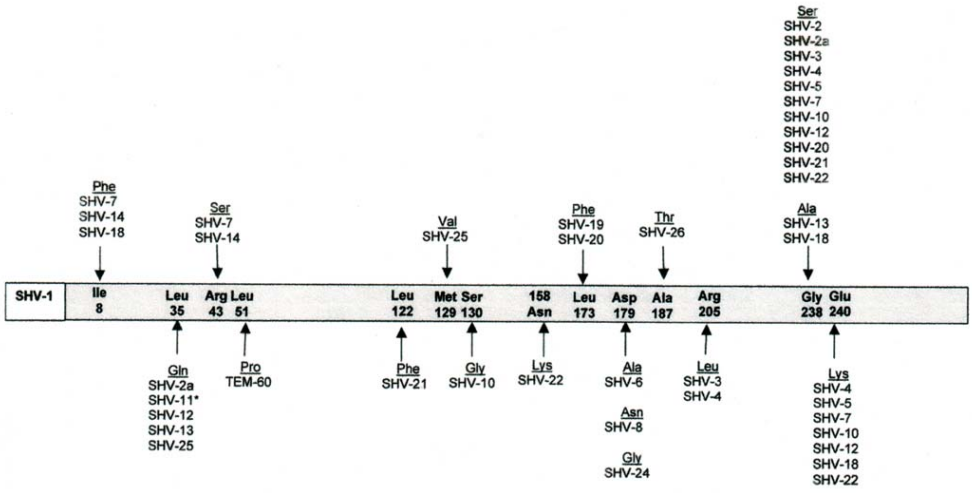
ตารางที่ 5 แสดงลักษณะของเอนไซม์ชนิด SHV-β-lactamases[a]

pI	Enzyme	Enzyme type		
		Broad spectrum	ESBL	Inhibitor resistant
7.0	OHIO-1, LEN-1	X		
	SHV-3, SHV-14		X	
7.5	SHV-24		X	
7.6	SHV-1, SHV-11	X		
	SHV-2, SHV-2a, SHV-6, SHV-8, SHV-13, SHV-19, SHV-20, SHV-21, SHV-22		X	
7.8	SHV-4, SHV-7, SHV-18		X	
8.2	SHV-5, SHV-9, SHV-12		X	
	SHV-10			X

ที่มา: ดัดแปลงจากตารางที่ 2 ของ Bradford, 2001

[a] Amino acid sequenceS for TEM, SHV, and OXA extended-spectrum and inhibitor-resistant β-lactamases may be found at http://www.lahey.org/studies/webt.htm.

All enzymes listed are naturally occurring mutants.



ภาพประกอบที่ 6 แสดงการแทนที่ของกรดอะมิโนภายในยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ SHV ทำให้เกิดเป็นเอนไซม์ ESBL ซึ่งเป็นอนุพันธุ์ของเอนไซม์ชนิด SHV (SHV ESBL derivatives)

ที่มา: ภาพประกอบที่ 3 ของ Bradford, 2001

2.2.3 CTX-M–Type ESBL

เมื่อไม่นานมานี้มีการพบเอนไซม์ชนิดใหม่ ๆ ในกลุ่ม plasmid-mediated ESBL ซึ่งถูกเรียกว่าเอนไซม์ชนิด CTX-M ซึ่งเป็นชนิดที่ชอบทำลายยา cefotaxime เอนไซม์ CTX-M มักพบว่าถูกสร้างจากเชื้อ *Salmonella enterica* และ *E. coli* แต่พบว่าเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์อื่น ๆ ของกลุ่ม *Enterobacteriaceae* สามารถสร้างเอนไซม์ CTX-M ได้ด้วยเช่นกัน เอนไซม์ในกลุ่ม CTX-M มีหลายชนิดได้แก่ CTX-M -1 (ชื่ออย่างเป็นทางการเรียกว่า MEN-1) ชนิด CTX-M -2 ถึง CTX-M -10 และชนิด Toho-1 และชนิด Toho-2 พบว่าเอนไซม์ชนิด CTX-M ไม่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเอนไซม์ TEM β-lactamase หรือ SHV β-lactamase (Bradford, 2001) การศึกษาด้าน phylogenetic ของเอนไซม์ β-lactamase ชนิด CTX-M พบว่าเอนไซม์ชนิด CTX-M แบ่งเป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ ได้แก่ กลุ่ม CTX-M-1 (ประกอบด้วย CTX-M-1 และ CTX-M-3) กลุ่ม CTX-M-2 (ประกอบด้วย CTX-M-2, CTX-M-4, CTX-M-5, CTX-M-6, CTX-M-7 และ Toho-1) กลุ่ม Toho-2 และกลุ่ม CTX-M-8 โดยสองกลุ่มสุดท้ายประกอบด้วยสมาชิกเพียงหนึ่งชนิดเท่านั้น (Bonnet, *et al.,* 2000) ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงลักษณะของเอนไซม์ชนิด CTX-M-ESBL

β-lactamase	Alternative name	pI	Country of origin	Bacterial species
CTX-M-1	MEN-1	8.9	Germany, Italy	*E. coli*
CTX-M-2		7.9	Argentina	*S. enterica*[a]
CTX-M-3		8.4	Poland	*C. freundii*, *E. coli*
CTX-M-4		8.4	Russia	*S. enterica*
CTX-M-5	CTX-M-3	8.8	Latvia	*S. enterica*
CTX-M-6		8.4	Greece	*S. enterica*
CTX-M-7	CTX-M-5	8.4	Greece	*S. enterica*
CTX-M-8		7.6	Brazil	*P. mirabilis, E. cloacae, E. aerogenes, C. amalonaticus*
CTX-M-9		8.0	Spain	*E. coli*
CTX-M-10		8.1	Spain	*E. coli*
Toho-1		7.8	Japan	*E. coli*
Toho-2		7.7	Japan	*E. coli*

ที่มา: ดัดแปลงจากตารางที่ 3 ของ Bradford, 2001

[a]All strains of *S. enterica* were serover Typhimurium

การศึกษาของ Pai H และคณะ (2001) พบชนิดของเอนไซม์ ESBL เพิ่มเติมอีก คือ ชนิด CTX–M–14 ซึ่งถูกสร้างจากเชื้อ *E. coli*, *Shigella sonnei* และ *K. pneumoniae* การศึกษาทางจลนศาสตร์ (kinetic studies) แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ชนิด CTX-M ทำลายยา cephalothin หรือ cephaloridine ได้มากกว่ายา benzylpenicillin และเอนไซม์ชนิดนี้มีความสามารถในการทำลายยา cefotaxime มากกว่ายา ceftazidime ถึงแม้ว่าเอนไซม์ชนิด CTX-M สามารถทำลายยา ceftazidime ได้บางส่วนแต่ก็ไม่เพียงพอที่ทำให้เกิดการดื้อยาดังกล่าวทางคลินิกได้ มีคำแนะนำว่า serine residue ที่ตำแหน่ง 237 ซึ่งพบได้ในเอนไซม์ CTX-M ทุกชนิดมีบทบาทสำคัญต่อการออกฤทธิ์ของเอนไซม์ชนิด CTX-M ถึงแม้ผลการศึกษาจาก molecular model จะไม่ได้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า Arg-276 residue ของเอนไซม์ CTX-M ตั้งอยู่ในตำแหน่งเทียบเท่ากับ Arg-244 ในเอนไซม์ ESBL ชนิด TEM หรือชนิด SHV รวมทั้งอาจมีบทบาทในการทำลายยากลุ่ม oxyiminocephalosporins

ด้วยหรือไม่ แต่เอนไซม์ชนิดนี้สามารถทำลายยา cefotaxime ได้อย่างรวดเร็วและถูกยับยั้งด้วย tazobactam ได้มากกว่า sulbactam และ clavulanate เชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ชนิด CTX-M พบได้จากทุกพื้นที่ของโลกแต่ส่วนใหญ่พบว่า มีความสัมพันธ์กับการระบาดเฉพาะพื้นที่ในแถบยุโรปตะวันออก แถบอเมริกาใต้และญี่ปุ่น มีรายงาน 2-3 ฉบับรายงานว่าพบเอนไซม์ชนิดนี้จากตัวอย่างเชื้อที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยในแถบยุโรปตะวันตก อย่างไรก็ตามมีรายงานเมื่อไม่นานมานี้โดย Sebete และคณะ (2000) ว่ามีเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* spp. จำนวน 23 สายพันธุ์สร้างเอนไซม์ CTX-M-9 β-lactamase จึงเป็นสิ่งที่บ่งว่าบริเวณพื้นที่ดังกล่าวอาจเป็นพื้นที่ที่มีการระบาดของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ CTX-M-9 β-lactamase มีการพบเชื้อ *Enterobacter cloacae* ซึ่งสร้างเอนไซม์ CTX-M-3 ในประเทศฝรั่งเศสด้วยเช่นกัน (Doucet-Populaire, *et al.*, 2000) เป็นที่น่าสนใจว่ามีเอนไซม์ CTX-M หลายชนิดถูกสร้างจากเชื้อ *Salmonella enterica* นอกจากนี้พบว่า มีการระบาดครั้งใหญ่ของเชื้อ *S. enterica* ที่สร้างเอนไซม์ CTX-M β-lactamase ทั้งในแถบอเมริกาใต้และยุโรปตะวันออก ซึ่งพบว่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวสามารถสร้างเอนไซม์ CTX-M ได้หลายชนิดด้วยกัน (Bradford, 2001)

2.2.4 OXA–Type ESBL

เอนไซม์ชนิด OXA เป็นอีกชนิดหนึ่งของเอนไซม์ ESBL แต่แตกต่างจากชนิด TEM และ SHV เนื่องจากเอนไซม์ OXA อยู่ใน class D และ functional group 2d (Bush, *et al.*, 1995) ซึ่งเป็นกลุ่มของเอนไซม์ ESBL ที่มีลักษณะ คือ ทำลายยากลุ่ม cephamycins และยากลุ่ม β-lactam อื่น ๆ แต่ไม่สามารถทำลายยากลุ่ม carbapenems ได้ (Nathisuwan, *et al.*, 2001) เอนไซม์ชนิด OXA เป็นเอนไซม์ที่ดื้อต่อยา ampicillin และ cephalothin รวมถึงมีความสามารถในการทำลายยา oxacillin และ cloxacillin รวมทั้งเอนไซม์ชนิดนี้ยังถูกยับยั้งได้น้อยมากด้วย clavulanic acid (Bush, *et al.*, 1995) ในขณะที่เอนไซม์ ESBL ส่วนใหญ่พบว่าถูกสร้างจากเชื้อ *E. coli*, *K. pneumoniae* และเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* แต่เอนไซม์ ESBL ชนิด OXA ส่วนใหญ่พบว่าถูกสร้างจากเชื้อ *P. aeruginosa* เป็นหลักดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงลักษณะของเอนไซม์ชนิด OXA ESBL

β-lactamase	Derivation	pI	Amino acid substitutions vs. OXA-10	Country of origin	Bacterial species
OXA-11	OXA-10	6.4	Asn143Ser, Gly157Asp	Turkey	*P. aeruginosa*
OXA-13	OXA-10	8.0	Ile10Thr, Gly20Ser, Asp55N, Asn73Ser, Thr10Ser, Tyr174Phe, Glu229Gly, Ser245Asn, Glu259Ala	France	*P. aeruginosa*
OXA-14	OXA-10	6.2	Gly157Asp	Turkey	*P. aeruginosa*
OXA-15	OXA-2	8.7, 8.9 doublet	NA[a]	Turkey	*P. aeruginosa*
OXA-16	OXA-10	6.2	Ala124Thr, Gly157Asp	Turkey	*P. aeruginosa*
OXA-17	OXA-10	6.1	Asn73Ser	Turkey	*P. aeruginosa*
OXA-18	OXA-9, OXA-12	5.5	NA	France	*P. aeruginosa*
OXA-19	OXA-10	7.6	Ile10Thr, Gly20Ser, Asp55Asn, Thr107Ser, Gly157Asp, Thy174Phe, Glu229Gly, Ser245Asn, Glu259Ala	France	*P. aeruginosa*
OXA-28	OXA-10	7.6	Ile10Thr, Gly20Ser, Thr107Ser, Trp157Gly, Gly157Asp, Tyr174Phe, Glu229Gly, Ser245Asn, Glu259Ala	France	*P. aeruginosa*

ที่มา: ดัดแปลงจากตารางที่ 4 ของ Bradford, 2001

[a] NA, not applicable; these enzymes do not originate from OXA-10

เอนไซม์ ESBL ชนิด OXA ส่วนใหญ่พัฒนามาจากเอนไซม์ชนิด OXA-10 พบว่ายีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ OXA-14 แตกต่างจากยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ OXA-10 ที่กรดอะมิโนเพียงส่วนเดียว (amino acid residue) เท่านั้น ยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ชนิด OXA-11 และ OXA-16 แตกต่างกันที่กรดอะมิโน 2 ส่วน แต่ยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ชนิด OXA-13 และ OXA-19 แตกต่างกันที่กรดอะมิโน 9 ส่วน เมื่อพิจารณาคุณสมบัติเอนไซม์ ESBL ที่เกิดขึ้น โดยเกี่ยวเนื่องจากการแทนที่ของกรดอะมิโนภายในโครงสร้างของยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ OXA-10 เช่น การแทนที่ของ serine ด้วย asparagine ที่ตำแหน่ง 73 หรือการแทนที่ของ glycine ด้วย aspartate ที่ตำแหน่ง 157 โดยเฉพาะอย่างยิ่งการแทนที่ของ glycine ด้วย aspartate ที่ตำแหน่ง 157 (Gly157Asp) อาจเป็นสิ่งจำเป็นต่อความสามารถในการดื้ออย่างสูงต่อยา ceftazidime (Danel, *et al.*, 1999) พบว่ายีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ ESBL ชนิด OXA ที่พบจากเชื้อ *E. coli* ทำให้เกิดการดื้อต่อยา oxyiminocephalosporins ในระดับต่ำ แต่หากยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ ESBL ชนิด OXA ดังกล่าวถูกส่งต่อไปยังเชื้อ *P. aeruginosa* กลับพบว่าทำให้เกิดการดื้อในระดับสูงต่อยา oxyiminocephalosporins (Bradford, 2001) ในประเด็นของการถูกยับยั้งโดยสาร β-lactamase inhibitors พบว่าเอนไซม์ OXA ตัวตั้งต้นไม่ถูกยับยั้งด้วย clavulanic acid อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าเอนไซม์ OXA-18 β-lactamase ถูกยับยั้งด้วย clavulanic acid แต่โดยทั่วไปพบว่า เอนไซม์ ESBL ชนิด OXA มักจะดื้อต่อยา ceftazidime (Philippon, *et al.*, 1997) มีการพบเอนไซม์ OXA อีกชนิดหนึ่งเพิ่มขึ้นคือ OXA-21 เอนไซม์ชนิดนี้พบว่าถูกสร้างจากเชื้อ *Acinetobacter baumannii* ซึ่งถือเป็นการพบยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ชนิด OXA ครั้งแรกในเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้และพบว่าเชื้อ *A. baumannii* ยังมีการสร้างเอนไซม์ β-lactamase อีก 2 ชนิดรวมทั้งยังไม่มีความชัดเจนว่าเอนไซม์ OXA-21 เป็นเอนไซม์ ESBL หรือเป็นเอนไซม์ original-spectrum (Vila, *et al.*, 1997) ถึงแม้ว่าจะมีเอนไซม์ OXA ชนิดที่เป็นถูกจัดว่าเป็นเอนไซม์ ESBL แต่มีอนุพันธุ์ของเอนไซม์ OXA อีกหลายชนิดที่ไม่จัดว่าเป็นเอนไซม์ ESBL ด้วยเช่นกัน ได้แก่ OXA-20, OXA-22, OXA-24, OXA-25, OXA-26, OXA-27 และ OXA-30 นอกจากนี้พบอีกว่าเอนไซม์ชนิดใหม่ ๆ ที่เป็นสมาชิกในกลุ่ม OXA β-lactamase ถือกำเนิดจากเชื้อแบคทีเรียในประเทศตุรกีและฝรั่งเศส (Bradford, 2001)

2.2.4 Other Type of ESBL

มีการพบเอนไซม์ ESBL ชนิดที่ต่างไปจาก TEM–type ESBL และ SHV–type ESBL จากเชื้อกลุ่ม *Enterobacteriacea* และ *P. aeruginosa* ได้แก่ ชนิด PER–type β-lactamase โดย substrate ของเอนไซม์ ESBL ต่าง ๆ เหล่านี้แตกต่างไปจากเดิมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Rupp and Fey, 2003) มีเอนไซม์ ESBL 2-3 ชนิดที่ไม่มีความเกี่ยวเนื่องใกล้ชิดกับกับกลุ่มของเอนไซม์ β-lactamase ดังแสดงในตารางที่ 8

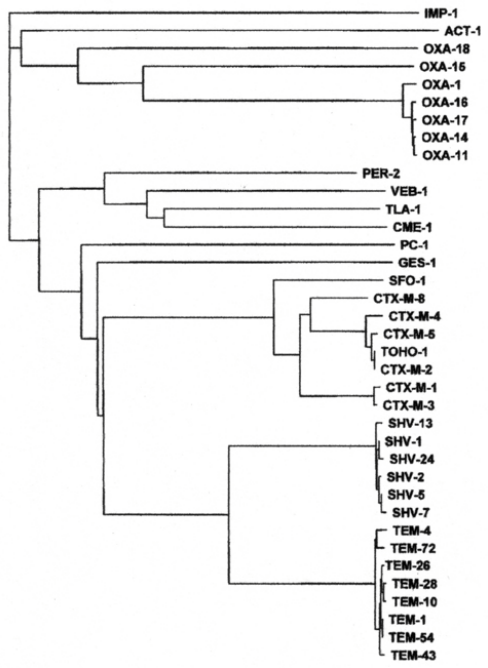
ตารางที่ 8 แสดงลักษณะของเอนไซม์ ESBL ชนิดใหม่ ซึ่งไม่มีความเกี่ยวเนื่องใกล้ชิดกับเอนไซม์ β-lactamase

β-lactamase	Closest relative	pI	Preferred substrate[a]	Country of origin	Bacterial species
BES-1	Penicillinase from *Yersinia enterocolitica*	7.5	CTX, CAZ, ATM	Brazil	*S. marcescens*
FEC-1		8.2	CTX	Japan	*E. coli*
GES-1	Penicillinase from *P. mirabilis*	5.8	CAZ	French Guiana	*K. pneumoniae*
CME-1	VEB-1	>9.0	CAZ	Isolated from reference strain	*Chryseobacterium meningosepticum*
PER-1	PER-2	5.4	CAZ	France	*P.aeruginosa*
PER-2	PER-1	5.4	CAZ	Argentina	*S. enterica* serover Typhimurium
SFO-1	AmpC from *S. fonticola*	7.3	CTX	Japan	*E. cloacae*
TLA-1	CME-1	9.0	CAZ, CTX, ATM	Mexico	*E. coli*
VEB-1	PER-1, PER-2	5.35	CAZ, ATM	Vietnam / Thailand	*E. coli*

ที่มา: ดัดแปลงจากตารางที่ 5 ของ Bradford, 2001

[a] CTX, cefotaxime; CAZ, ceftazidime; ATM, aztreonam

เอนไซม์ PER-1-β-lactamase พบครั้งแรกว่าถูกสร้างจากเชื้อ *P. aeruginosa* ในประเทศตุรกี ต่อมาพบว่าเชื้อ *S. enterica* และ *A. baumannii* สามารถสร้างเอนไซม์ PER-1-β-lactamase ได้เช่นเดียวกัน (Bradford, 2001) เอนไซม์ PER-1-β-lactamase พบได้ทั่วประเทศตุรกีและพบได้สูงถึงร้อยละ 60 ว่าถูกสร้างจากเชื้อ *A. baumannii* ที่ดื้อต่อยา ceftazidime (Vahaboglu, *et al.*, 1997) พบว่ายีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ชนิด PER-1-β-lactamase อยู่บน plasmid ของเชื้อ *S. enterica* ที่เป็นเชื้อก่อโรคในโรงพยาบาลจำนวนมาก จึงเป็นสิ่งที่บ่งว่าเอนไซม์ชนิดดังกล่าวทำให้เกิดปัญหาการดื้อยาในโรงพยาบาลได้ เอนไซม์อีกชนิดที่เกี่ยวข้องกันคือเอนไซม์ PER-2-β-lactamase ซึ่งพบว่ายีนควบคุมการสร้างเอนไซม์มีกรดอะมิโนคล้ายคลึงกับยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ PER-1-β-lactamase ถึงร้อยละ 86 โดยที่เอนไซม์ PER-2-β-lactamase พบว่าถูกสร้างจากเชื้อ *S. enterica* ในประเทศอาร์เจนตินา (Bauernfeind, *et al.*, 1996) มีสิ่งที่น่าสนใจว่าเอนไซม์ชนิด PER-1-β-lactamase พบมากในประเทศตุรกีในขณะที่เอนไซม์ชนิด PER-2-β-lactamase พบมากในแถบอเมริกาใต้ (Bradford, 2001) ซึ่งจะเห็นว่าพื้นที่ทั้งสองนี้อยู่ห่างไกลกันแต่กลับพบเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ดื้อยาที่มีความเกี่ยวเนื่องกันกับเอนไซม์ PER-1-β-lactamase ได้แก่ เอนไซม์ VEB-1 β-lactamase (Poirel, *et al.*, 1999) เอนไซม์ VEB-1 พบครั้งแรกว่าถูกสร้างจากเชื้อ *E. coli* ซึ่งแยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยในประเทศเวียดนาม แต่มีรายงานว่าเอนไซม์ชนิดนี้ถูกสร้างได้จากเชื้อ *P. aeruginosa* ซึ่งแยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยในประเทศไทยด้วย มีเอนไซม์อีกชนิด คือ CME-1 ซึ่งพบว่าถูกสร้างจากเชื้อ *Chryseobacterium meningosepticum* และเอนไซม์ชนิดอื่น ๆ ดังแสดงในตาราง 8 ข้างต้น นอกจากนี้ภาพประกอบที่ 7 สรุปความสัมพันธ์ของเอนไซม์ ESBL phenotype ต่าง ๆ (Bradford, 2001)



ภาพประกอบที่ 7 แสดงความสัมพันธ์ของเอนไซม์ ESBL phenotype ต่าง ๆ

ที่มา: ภาพประกอบที่ 4 ของ Bradford, 2001

การศึกษาของ Jacoby และ Medeirous ในปี ค.ศ.1991 สำรวจสถิติการติดเชื้อในโรงพยาบาลพบว่า เอนไซม์ ESBL ชนิดที่เด่น ๆ ในแต่ละพื้นที่แตกต่างกันออกไปดังแสดงใน ตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ตัวอย่างชนิดของเอนไซม์ ESBL ที่เด่นในแต่ละประเทศ

ประเทศ	ชนิดของเอนไซม์ ESBL
สหรัฐอเมริกา	SHV–4, SHV–5
เยอรมันนี	SHV–2, SHV–5
ฝรั่งเศส	SHV–3, SHV–4, TEM–3
เกาหลี	TEM–52, SHV–12, TEM–88, TEM–15
ทั่วโลก	SHV–2

ที่มา: Jacoby and Medeiros, 1991

มีความน่าสนใจเกี่ยวกับชนิดของเอนไซม์ ESBL ที่พบเฉพาะในแต่ละประเทศ ตัวอย่างเช่นชนิด TEM-10 เป็นชนิดที่พบว่าไม่เคยมีความสัมพันธ์กับการระบาดของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL ในประเทศสหรัฐอเมริกาเลยในหลายปีที่ผ่านมา แต่เชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBLชนิด TEM-10 พบได้บ่อยในแถบยุโรป เช่นเดียวกันกับเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBLชนิด TEM-3 ซึ่งเป็นชนิดที่พบได้บ่อยในประเทศฝรั่งเศส แต่ไม่เคยพบในประเทศสหรัฐอเมริกา มีการศึกษาเมื่อไม่นานมานี้พบว่า มีการระบาดของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL ชนิด TEM-47 ในประเทศโปแลนด์ และเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL ส่วนใหญ่ในประเทศเกาหลีเป็นชนิด TEM–52 และมีอีกการสำรวจหนึ่งเมื่อไม่นานมานี้ในประเทศเกาหลีรายงานว่าเอนไซม์ ESBL ชนิด SHV–12 และ SHV–2a เป็นชนิดของเอนไซม์ ESBL ที่พบได้บ่อยมากในประเทศเกาหลีเช่นกัน ในขณะที่เอนไซม์ ESBL ชนิด SHV–5 เป็นเอนไซม์ ESBL อีกชนิดหนึ่งที่พบได้ทั่วโลกโดยมีรายงานการพบเอนไซม์ชนิดดังกล่าวจากประเทศคอสตาริกา ฝรั่งเศส กรีก ฮังการี โปแลนด์ แอฟริกาใต้ สหราชอาณาจักรและสหรัฐอเมริกา (Bradford, 2001)

นอกจากนี้พบว่า เดิมทีการระบาดของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL ในช่วงแรกเป็นการระบาดของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเฉพาะเอนไซม์ β-lactamase เพียงชนิดเดียวแต่การระบาดในปัจจุบันนี้พบว่า เป็นการระบาดของเชื้อแบคทีเรียชนิดที่สร้างเอนไซม์ β-lactamase หลายชนิดร่วมกัน (Bradford, *et al.*, 1994; Bradford, *et al.*, 1995; Yang Y, *et al.*, 1998) ในปัจจุบันพบว่ามีเชื้อแบคทีเรียจำนวนมากที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL ชนิด class A และเอนไซม์ชนิด AmpC ร่วมกันด้วย ซึ่งมีผลทำให้เกิดการดื้อต่อยา กลุ่ม β-lactam/β-lactamase inhibitors, cephamycins และ carbapenems รวมทั้งยากลุ่ม oxyiminocephalosporins และ aztreomen ด้วย (Bradford, *et al.*, 1997) นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์กันอย่างสูงระหว่างการดื้อต่อยา ciprofloxacin ของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL (Paterson, *et al.*, 2000)

สำหรับการศึกษาในประเทศไทยเกี่ยวกับเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL ในทางคลินิกมีเพียงการศึกษาของ Sookpranee และคณะ (1993) ที่โรงพยาบาลศรีนครินทร์ จังหวัดขอนแก่น ศึกษาเชื้อ *K. pneumoniae* จำนวน 30 สายพันธุ์ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ระหว่าง ปี ค.ศ.1988-1990 โดยที่เชื้อ *K. pneumoniae* ดังกล่าวมีคุณสมบัติดื้อต่อยาหลายชนิดแล้วนำมาศึกษาหาค่า MIC ต่อยา ampicillin, amoxycillin, cefotaxime, ceftazidime, imipenem, ciprofloxacin, clavulanic acid, sulbactam, clavulanic acid ร่วมกับ amoxicillin, cefotaxime หรือ ceftazidime, sulbactam ร่วมกับ ampicillin, cefotaxime หรือ ceftazidime ผลการ

ศึกษาของ Sookpranee และคณะ (1993) พบว่าเชื้อดังกล่าวดื้อต่อยา ampicillin, amoxycillin (MIC_{90} > 256 mcg/ml), cefotaxime (MIC_{90} = 64 mcg/ml) และยา ceftazidime (MIC_{90} > 128 mcg/ml) แต่ไวต่อยา imipenem (MIC = 0.5 mcg/ml) และยา ciprofloxacin (MIC_{90} = 1.0 mcg/ml) ส่วนยาผสมระหว่าง cefotaxime หรือ ceftazidime กับ clavulanic acid พบว่ามีประสิทธิภาพดีมากกับเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ทำการศึกษาทุกสายพันธุ์ อย่างไรก็ตามการศึกษาดังกล่าวสรุปได้เพียงว่าเชื้อเหล่านี้สร้างเอนไซม์ β-lactamase ซึ่งน่าเชื่อว่าเป็นสาเหตุที่ทำให้ดื้อต่อยา cefotaxime, ceftazidime และ aztreonam (Sookpranee, *et al.*, 1993) และคาดเดาว่าอาจเป็นเอนไซม์ extended spectrum β-lactamase กระทั่ง ปี ค.ศ.2001 มีการศึกษาของ Chanawong และคณะ (2001) ทำการศึกษาที่โรงพยาบาลศรีนครินทร์ จังหวัดขอนแก่น โดยเก็บรวบรวมสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยระหว่างเดือนพฤศจิกายน ปี ค.ศ.1994 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ ปี ค.ศ.1996 พบเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacteriaceae* จำนวน 43 ตัวอย่างสร้างเอนไซม์ ESBL ชนิดต่าง ๆ ดังแสดงในตาราง ที่ 10

ตารางที่ 10 ชนิดของเอนไซม์ ESBL ซึ่งสร้างโดยเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม ***Enterobacteriaceae*** ที่พบในประเทศไทย

ชนิดของเอนไซม์ ESBL	**จำนวนเชื้อที่พบ/จำนวนเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacteriaceae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL**	**ร้อยละของชนิดของเอนไซม์ ESBL แต่ละชนิดที่พบ**
SHV-12	26/43	60.5
SHV-5	13/43	30.2
SHV-2a	2/43	4.7
VEB-1	1/43	2.3
Unidentified	1/43	2.3

ที่มา: Chanawong, *et al.*, 2001

เมื่อไม่นานมานี้มีรายงานจากงานประชุมใหญ่วิชาการประจำปีของสมาคมโรคติดเชื้อแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 30 เมื่อวันที่ 9-12 ตุลาคม ปีค.ศ.2004 เป็นรายงานผู้ป่วยจากคณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดีโดยอุบลวรรณและคณะ (2004) พบเชื้อ *Salmonella choleraesuis* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL จากสิ่งส่งตรวจที่ได้จากตัวอย่างกระดูกของผู้ป่วย (bone biopsy) และเมื่อศึกษา gene sequence ของเอนไซม์ดังกล่าวพบว่า เป็นชนิด CTX-M-type-

β-lactamase ซึ่งผู้ป่วยรายนี้เป็นผู้ป่วยรายแรกที่มีรายงานการสร้างเอนไซม์ ESBL จากเชื้อ *Salmonella* spp. ในประเทศไทย ยิ่งไปกว่านั้นผู้ป่วยรายนี้ไม่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL คือไม่ได้รับยาต้านจุลชีพใดมาก่อน ไม่เข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลมาก่อน ไม่ได้สัมผัสใกล้ชิดกับสัตว์ และไม่มีโรคประจำตัว นอกจากนั้นผู้ป่วยรายนี้มีปัญหาในการรักษาคือมีการกลับเป็นซ้ำหลายครั้งขณะที่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพ (อุบลวรรณ ฉิมสุข, กำธร มาลาธรรมและชาญวิทย์ ตรีพุทธรัตน์, 30th Infect conf., abstr., 2004)

2.3 ความชุกของเอนไซม์ ESBL

ปัจจุบันเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL กลายเป็นปัญหาของผู้ป่วยที่รักษาตัวในโรงพยาบาลทั่วโลก การเกิดเอนไซม์ ESBL เริ่มขึ้นครั้งแรกในแถบยุโรปตะวันตก แต่ไม่นานก็พบปัญหาแถบอเมริกา และเอเชียก็มีปัญหาดังกล่าวเช่นกัน ความชุกของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL มีความแตกต่างกันในแต่ละประเทศและในแต่ละพื้นที่ แต่อย่างไรก็ตามความชุกของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL บอกได้ไม่แน่ชัดและมีความเป็นไปได้ว่ารายงานการพบเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL ต่ำกว่าความเป็นจริง เพราะเป็นการยากสำหรับบางสถานที่ในการตรวจยืนยันว่าเชื้อแบคทีเรียสร้างเอนไซม์ ESBL หรือไม่ แต่ยังคงมีความชัดเจนว่าเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL มีกระจายอยู่ทั่วโลกและมีความชุกเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ นอกจากนี้ ถึงแม้ว่าในบางสถานที่ไม่มีการตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL แต่ร้อยละของเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อต่อยา ceftazidime เป็นสิ่งหนึ่งที่สะท้อนภาพคร่าว ๆ ของปริมาณเชื้อแบคทีเรียซึ่งสร้างเอนไซม์ ESBL ได้ว่ามีอยู่มากน้อยเพียงใด

2.3.1 ทวีปยุโรป

เอนไซม์ ESBL ถูกพบครั้งแรกในโลกเมื่อ ปี ค.ศ.1983 ในประเทศเยอรมนี ความชุกของเชื้อแบคทีเรียกรัมลบกลุ่ม *Klebsiella* spp. ซึ่งสร้างเอนไซม์ ESBL มีความแตกต่างกันในแต่ละประเทศ (Babini and Livermore, 2001) การสำรวจทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาของโรงพยาบาลจำนวน 11 แห่งในประเทศเนเธอแลนด์พบว่า มีปริมาณเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumomiae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL น้อยกว่าร้อยละ 1 (Stobberingh, *et al.*, 1999) ในขณะที่ประเทศสหราชอาณาจักรและประเทศอิตาลีพบเชื้อ *K. pneumoniae* ซึ่งดื้อยา ceftazidime มากถึงร้อยละ 40 (Branger, *et al.*, 1998)

2.3.2 ทวีปอเมริกาเหนือ

ความชุกของเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacteriaceae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ในประเทศสหรัฐอเมริกาพบตั้งแต่ร้อยละ 0 ถึงร้อยละ 25 แตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ แต่โดยภาพรวมพบว่า มีค่าเฉลี่ยประมาณร้อยละ 3 (Bradford, 2001) เนื่องจากบางโรงพยาบาลมีความชุกของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ EBSL อยู่ในระดับต่ำมากจึงดูเหมือนจะไม่คุ้มค่าสำหรับการตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ EBSL ในลักษณะที่เป็นงานประจำของหน่วยจุลชีววิทยาคลินิกของโรงพยาบาลนั้น ๆ แต่อย่างไรก็ตามถึงจะไม่ตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ EBSL จากตัวอย่างเชื้อของผู้ป่วยในลักษณะที่เป็นงานประจำ แต่โรงพยาบาลดังกล่าวควรติดตามอัตราการดื้อยาและเฝ้าระวังการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียในโรงพยาบาลด้วย (Bradford, 2001) นอกจากนี้มีข้อมูลจาก the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) รายงานว่าผลการสำรวจแผนกอภิบาลผู้ป่วยหนักของโรงพยาบาลในประเทศสหรัฐอเมริกาใน ปี ค.ศ.1999 พบว่าเชื้อ *E. coli* ดื้อต่อยากลุ่ม extended spectrum cephalosporins มีปริมาณเพิ่มขึ้นร้อยละ 48 เมื่อเปรียบเทียบกับใน ปี ค.ศ.1994–1998 รวมทั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ดื้อต่อยากลุ่ม extended spectrum cephalosporins มีปริมาณเพิ่มขึ้น ร้อยละ 10.4 เมื่อเปรียบเทียบกับใน ปี ค.ศ.1994–1998 (Rupp and Fey, 2003)

2.3.3 แถบละตินอเมริกา

เชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacteriaceae* พบได้ทั่วไปในหลาย ๆ ประเทศแถบละตินอเมริกาโดยพบเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL มีประมาณร้อยละ 45 และเชื้อ *E. coli* สร้างเอนไซม์ ESBL มีประมาณร้อยละ 8.5 (Pfaller, *et al.*, 1999)

2.3.4 ทวีปเอเชียและออสเตเลีย

ความชุกของเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacteriaceae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL แตกต่างกันใน แต่ละประเทศในแถบเอเชียดังแสดงในตารางที่ 11 ซึ่งประเทศที่มีปัญหาของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL น้อยที่สุดคือ ประเทศญี่ปุ่นซึ่งพบว่า มีเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ดื้อต่อยากลุ่ม β-lactams ด้วยการสร้างเอนไซม์ ESBL อยู่ในระดับต่ำมาก โดยการสำรวจเมื่อไม่นานมานี้จากสถานพยาบาล 196 แห่งทั่วประเทศญี่ปุ่นพบว่า มีเชื้อ *E. coli* สร้างเอนไซม์ ESBL ต่ำกว่าร้อยละ 0.1 และมีเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ต่ำกว่าร้อยละ 0.3 ในขณะที่พบเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* สร้างเอนไซม์ ESBL ถึงร้อยละ 12 ในฮ่องกง (Bradford, 2001) ส่วนประเทศไต้หวันพบเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* สร้างเอนไซม์ ESBL ร้อยละ 8.5 (Yan , *et al.*, 2000)

ตารางที่ 11 ความชุกของเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ในแต่ละประเทศในแถบเอเชีย

ประเทศ	ความชุก	
	ร้อยละของเชื้อ *E. coli* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL	**ร้อยละของเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL**
เกาหลี	4.8–7.5 (สำรวจปี ค.ศ.1999)	22.5–22.8 (สำรวจปี ค.ศ.1999)
อินโดนีเซีย	47 (สำรวจปี ค.ศ.1999)	no data
แถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ รวมถึงจีนและญี่ปุ่น	no data	20 – 40 (สำรวจปี ค.ศ.1999)
จีน	23.6 (สำรวจปี ค.ศ.1999)	51 (สำรวจปี ค.ศ.1999)

ที่มา: Pai, *et al*., 1999; Jones, *et al*., 1999; Xiong, *et al*., 2002

ส่วนทวีปออสเตเลียพบว่า มีเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL ได้ในพื้นที่ทั่ว ๆ ไปของทวีป

2.3.5 ทวีปแอฟริกาและตะวันออกกลาง

ถึงแม้ว่าไม่มีข้อมูลการสำรวจของแต่ละประเทศของทวีปแอฟริกาและแถบตะวันออกกลาง แต่มีรายงานจากบางประเทศของทวีปแอฟริกาว่ามีการระบาดของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL (Cotton, *et al.*, 2000)

2.3.6 ประเทศไทย

เนื่องจากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาของโรงพยาบาลส่วนใหญ่ในประเทศไทย รวมถึงโรงพยาบาลสงขลานครินทร์และโรงพยาบาลหาดใหญ่ยังไม่มีการตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL ซึ่งปัญหานี้ไม่ได้พบเฉพาะในประเทศไทยเท่านั้น การศึกษาของ Tenover และคณะ (1999) ณ มลรัฐคอนเนคติกัสประเทศสหรัฐอเมริกาพบว่า ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาจำนวนร้อยละ 21 ไม่มีการตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL และ AmpC อย่างมีประสิทธิภาพจากเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacteriaceae* รวมทั้งรายงานการสำรวจทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาของสหรัฐอเมริกาจำนวน 369 แห่งพบว่า มีเพียงร้อยละ 32 (117 แห่งจากจำนวน 369 แห่ง) เท่านั้นที่มีการทดสอบอย่างมีประสิทธิภาพเพื่อตรวจหาการสร้างเอนไซม์ ESBL จากเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม

Entero-bacteriaceae (Rupp and Fey, 2003) อย่างไรก็ตามร้อยละการดื้อต่อยา ceftazidime เป็นสิ่งหนึ่งที่ช่วยในการคาดคะเนอย่างคร่าว ๆ ถึงปริมาณหรือความชุกของเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacteriaceae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL จากการสำรวจตามโรงพยาบาลขนาดใหญ่บางแห่งในภาคใต้ของประเทศไทยพบปริมาณการดื้อยา ceftazidime ของเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacteriaceae* ดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ปริมาณการดื้อยา ceftazidime ของเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* จากทุกสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยจากโรงพยาบาลขนาดใหญ่ต่าง ๆ ในภาคใต้ของประเทศไทย

โรงพยาบาล	**ร้อยละการดื้อยา ceftazidime**	
	E. coli	***K. pneumoniae***
โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ (ข้อมูล ม.ค.–มิ.ย.ปี ค.ศ.2002)	12	32
โรงพยาบาลหาดใหญ่ (ข้อมูล ม.ค.–พ.ค.ปี ค.ศ.2003)	0	21.05
โรงพยาบาลสุราษฎร์ธานี (ข้อมูลปี ค.ศ.2002)	13	26
โรงพยาบาลมหาราชนครศรีธรรมราช (ข้อมูล ม.ค.–มี.ค.ปี ค.ศ.2001)	10	21

ที่มา: กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิก, โรงพยาบาลสงขลานครินทร์; กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิก, โรงพยาบาลหาดใหญ่; กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิก, โรงพยาบาลสุราษฎร์ธานี, กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิก, โรงพยาบาลมหาราชนครศรีธรรมราช

อย่างไรก็ตามมีข้อมูลความชุกของเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL จากโรงพยาบาลระดับมหาวิทยาลัยของในประเทศไทยรายงานอยู่บ้างดังแสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ความชุกเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL จากทุกสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย ของโรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ กับโรงพยาบาลสงขลานครินทร์

โรงพยาบาล	**จำนวนตัวอย่างเชื้อที่พบว่าสร้างเอนไซม์ ESBL/ จำนวนตัวอย่างเชื้อทั้งหมด** (ร้อยละ)	
	E. coli	***K. pneumoniae***
โรงพยาบาลสงขลานครินทร์[a]	96/500	129/400
(ข้อมูล ม.ค.–ธ.ค.ปี ค.ศ. 2002)	(19.2)	(32.25)
โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่	398/2662	359/1343
(ข้อมูล ม.ค.–ธ.ค ปี ค.ศ. 2003)[b]	(14.95)	(26.73)
โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่	368/2022	390/1023
(ข้อมูล ม.ค.–ก.ย.ปี ค.ศ. 2004)[b]	(18.20)	(38.12)

[a] Ingviya, *et al*., 2003

[b] ที่มา: กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิก, โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่

นอกจากนี้มีข้อมูลซึ่งได้รับการรวบรวมแต่ไม่ได้เผยแพร่เกี่ยวกับความชุกของเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ของโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ในช่วงเดือนมกราคมถึงธันวาคม ปี ค.ศ.2002 โดยคุณราตรี หอทิวากุล จากหน่วยโรคติดเชื้อ ภาควิชาอายุรศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ แยกตามสิ่งส่งตรวจชนิดต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 14

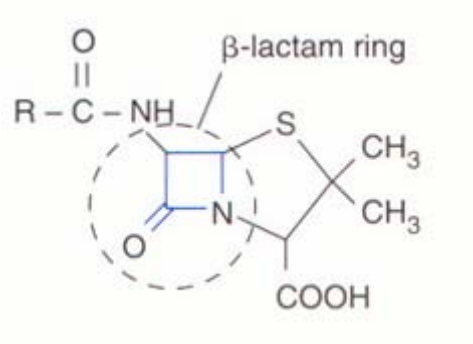
ตารางที่ 14 ความชุกเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL แยกตามสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยของโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ใน ปี ค.ศ.2002

ชนิดของสิ่งส่งตรวจ	จำนวนตัวอย่างเชื้อที่พบว่าสร้างเอนไซม์ ESBL/ จำนวนตัวอย่างเชื้อทั้งหมด (ร้อยละ)	
	E. coli (n = 511)	***K. pneumoniae*** (n = 357)
Blood	27/144 (18.75)	25/92 (27.17)
Body fluid	32/98 (32.65)	33/69 (47.83)
Urine	14/128 (10.94)	21/45 (46.67)
Pus	14/98 (14.29)	19/72 (26.39)
Tissue	9/32 (28.12)	5/16 (31.25)
Sputum	4/11 (36.36)	14/51 (27.45)
CSF	-	3/12 (25.00)

ที่มา: Hortivakul, 2002, Department of Medicine, Faculty of Medicine, Songklanagarind Hospital, Prince of Songkla University (unpublished).

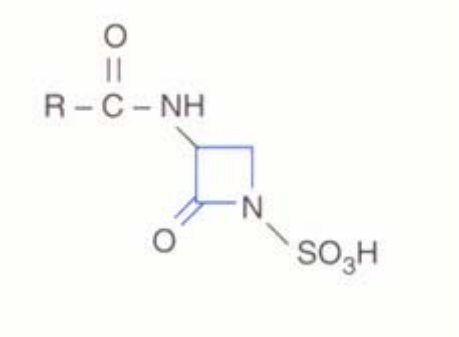
2.4 กลไกการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL

เอนไซม์ ESBL มีความสามารถในการทำลายและยับยั้ง (hydrolyzing and inactivating) ยา ต้านจุลชีพกลุ่ม β–lactams หลายชนิด เช่น กลุ่ม third generation cephalosporins และ monobactam เช่น ยา aztreonam (Nathisuwan, *et al.*, 2001) โดยการทำลาย amine bond ภายใน β–lactam ring ในโครงสร้างของยาดังกล่าว แต่เอนไซม์ ESBL ไม่สามารถทำลายยากลุ่ม cephamycins ได้ เนื่องจากยากลุ่มนี้มีสูตรโครงสร้างต่างไปจากกลุ่มที่เป็น true cephalosporins จึงสามารถทนต่อเอนไซม์ ESBL ได้ ส่วนยากลุ่ม carbapenems สามารถทนต่อการทำลายของเอนไซม์ ESBL ได้เช่นกันเป็นเพราะตำแหน่งที่ C–6 ในสูตรโครงสร้างของ carbapenems เป็น trans–6–hydroxyethyl group จึงทำให้ทนต่อการย่อยสลายของเอนไซม์ ESBL ได้ (Nathisuwan, *et al.*, 2001)

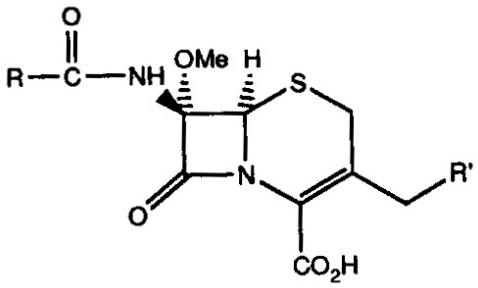


penicillins

cephalosporins (true cephalosporins)



monobactam



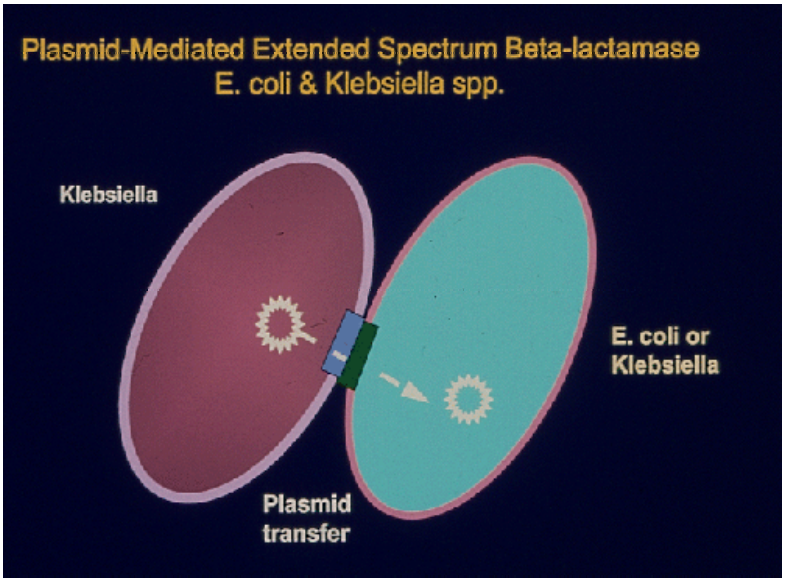
cephamycins

carbapenems

ภาพประกอบที่ 8 สูตรโครงสร้างทั่วไปของยาต้านจุลชีพกลุ่มต่าง ๆ

2.5 ความแตกต่างระหว่างเอนไซม์ AmpC β–lactamase และเอนไซม์ ESBL

เอนไซม์ AmpC β–lactamase มียีนซึ่งกำหนดการสร้างเอนไซม์นี้อยู่บนโครโมโซม จากคุณลักษณะนี้ ทำให้การส่งผ่านยีนดื้อยาชนิด AmpC β–lactamase ไปยังแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นเป็นไปได้ไม่ง่ายนัก เชื้อแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ AmpC β–lactamase ที่พบบ่อยได้แก่ *Enterobacter* spp., *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens* และ *P. aeruginosa* (Bush, *et al.*, 1995) ถึงแม้ว่ารูปแบบการดื้อยาของเอนไซม์ AmpC β–lactamase จะใกล้เคียงกับรูปแบบการดื้อยาของเอนไซม์ ESBL แต่อย่างไรก็ตาม ยังคงมีความแตกต่างกันบ้าง เพราะเอนไซม์ AmpC β–lactamase ถูกยับยั้งจากยากลุ่ม β–lactamase inhibitors ได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น และโดยทั่วไปมักดื้อต่อยากลุ่ม cephamycins ตรงข้ามกับเอนไซม์ ESBL ซึ่งโดยทั่วไปถูกยับยั้งได้อย่างเต็มที่ด้วยยากลุ่ม β–lactamase inhibitors และยังคงไวต่อยากลุ่ม cephamycins (Nathisuwan, *et al.*, 2001) นอกจากนี้เนื่องจากยีนซึ่งกำหนดการสร้างเอนไซม์ ESBL ไม่ได้อยู่บนโครโมโซมแต่อยู่บน plasmid ซึ่งมีลักษณะเป็น mobile genetic elements จึงเป็นคุณลักษณะที่เอื้อต่อการส่งผ่านยีนดื้อยาของเอนไซม์ ESBL จากแบคทีเรียสายพันธุ์หนึ่งไปยังแบคทีเรียอีกสายพันธุ์หนึ่งได้ จึงกล่าวได้ว่าเป็นสภาวะที่เสี่ยงต่อการระบาดของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL ด้วย (Beringer, 2001) การส่งผ่านยีนดื้อยาในรูปแบบนี้เรียกว่า plasmid–mediated transfer มีลักษณะ ดังแสดงในภาพประกอบที่ 9



ภาพประกอบที่ 9 การส่งผ่านยีนดื้อยาแบบ plasmid–mediated

2.6 วิธีการตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL

เนื่องจากการตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL ของห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาในประเทศไทยไม่ได้ทำเป็นงานประจำ แต่จากการศึกษาของ Rupp และ Fey (2003) มีคำแนะนำว่าเมื่อทำการทดสอบทางห้องปฏิบัติเกี่ยวกับความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียควรคำนึงถึงเชื้อแบคทีเรียซึ่งสามารถสร้างเอนไซม์ ESBL เมื่อพบสองปรากฏการณ์ดังต่อไปนี้ คือ

1. ยังมีการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียให้เห็น ถึงแม้จะอยู่ในสภาวะที่มียาต้านจุลชีพ ชนิดใดชนิดหนึ่งอย่างน้อย 1 ใน 3 ชนิด ดังต่อไปนี้ คือ ยา ceftazidime, ceftriaxone หรือ cefotaxime หรือ aztreonam ที่ความเข้มข้น 1 mcg/ml
2. ยังคงมีการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียให้เห็นถึงแม้จะอยู่ในสภาวะที่มียา cefpodoxime ความเข้มข้น 4 mcg/ml

นอกจากนี้ยังมีคำแนะนำว่า ควรใช้ยาต้านจุลชีพมากกว่า 1 ชนิดในการตรวจหาเอนไซม์ ESBL แต่ทั้งหมดที่กล่าวมานี้อาจไม่ง่ายที่จะนำมาใช้จริงในทางปฏิบัติ อย่างไรก็ตามมีข้อสังเกตที่สามารถนำมาใช้ได้ในทางปฏิบัติ คือ หากพบว่าเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacteriaceae* ดื้อต่อยา ceftazidime แสดงว่ามีความเป็นไปสูงที่เชื้อแบคทีเรียดังกล่าวจะสร้างเอนไซม์ ESBL ต่อจากนั้นจึงทำการตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL ตามวิธีการต่าง ๆ ดังจะกล่าวถึงต่อไป

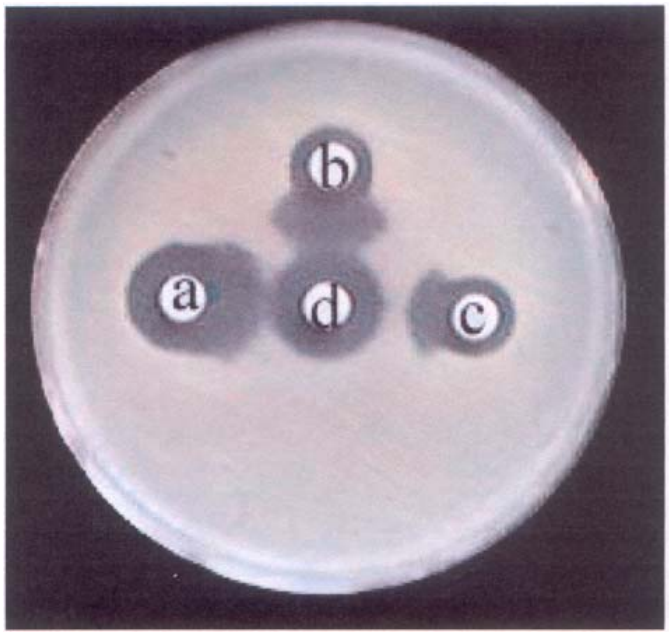
2.6.1 Clinical microbiology technique

2.6.1.1 Double disc diffusion method

การทดสอบวิธีนี้มีการกล่าวถึงครั้งแรกโดย Jarlier และคณะ (1988) เป็นวิธีที่เชื่อว่ามีความน่าเชื่อถือและได้รับการรับรองให้ใช้เป็นหนึ่งในวิธีการตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL จาก National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1990 วิธีนี้อาศัยหลักว่า เอนไซม์ ESBL ถูกยับยั้งได้ด้วยสาร β–lactamase inhibitor (Rupp and Fey, 2003; Teangrem, 2002) มีวิธีการดังต่อไปนี้คือ ป้าย inoculum ของเชื้อที่จะใช้ในการทดสอบลงบน mueller-hinton agar แล้วจึงวาง disc ยา Augmentin® (ประกอบด้วยยา amoxicillin 20 mcg และ clavulanate 10 mcg) ไว้ตรงกลาง plate หลังจากนั้นวาง disc ยา cefotaxime 30 mcg, ceftriaxone 30 mcg, ceftazidime 30 mcg และ cefodoxime 10 mcg วางลงบน plate เดียวกัน โดยวางแต่ละ disc

ให้ห่างจาก disc ยา Augmentin® ไม่น้อยกว่า 30 มิลลิเมตร (จากจุดศูนย์กลางถึงจุดศูนย์กลางของ disc) หลังจากนั้นจึงนำไปเข้าเครื่อง incubation ที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลาข้ามคืนแล้วจึงแปลผล

วิธีการแปลผลการตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL ด้วยวิธี double disc diffusion โดยพิจารณาจากลักษณะ inhibition zone ที่เกิดขึ้น หาก inhibition zone ของ disc ยาแต่ละชนิดที่ใช้ทดสอบมีการแพร่เข้าหา disc ยา Augmentin® แสดงว่าเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบมีการสร้างเอนไซม์ ESBL เพราะเมื่อเอนไซม์ ESBL ถูกยับยั้งโดย clavulanic acid ใน disc ยา Augmentin® ทำให้เห็นว่า inhibition zone มีการแพร่เข้าหา disc ยา augmentin ซึ่งอ่านผลได้ว่า “บวก” (Rupp and Fey , 2003; Teangrem, 2002) ดังแสดงในภาพประกอบที่ 10



ภาพประกอบที่ 10 การตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL ด้วยวิธี double disc diffusion และแสดงผลว่า เชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบมีการสร้างเอนไซม์ ESBL (a, disc ยา ceftriaxone 30 mcg; b, disc ยา aztreonam 30 mcg; c, disc ยา cefpodoxime 10 mcg และ d, disc ยา amoxicillin 20 mcg/clavulanic acid 10 mcg)

ข้อดีของวิธีนี้ คือ เป็นวิธีที่ง่าย ราคาถูก และการใช้ disc ยามากชนิดขึ้นสามารถช่วยให้ตรวจพบเอนไซม์ ESBL ประเภทอื่น ๆ นอกจากเอนไซม์ ESBL ชนิด TEM และ SHV ก็ได้ เช่น ชนิด CTX-M ได้ดีขึ้น เพราะเอนไซม์ ESBL ชนิดนี้จะให้ผลบวกต่อ disc ยา cefotaxime และ cefpodoxime แต่ให้ผลลบต่อ disc ยา ceftazidime (Rupp and Fey, 2003;Teangrem, 2002)

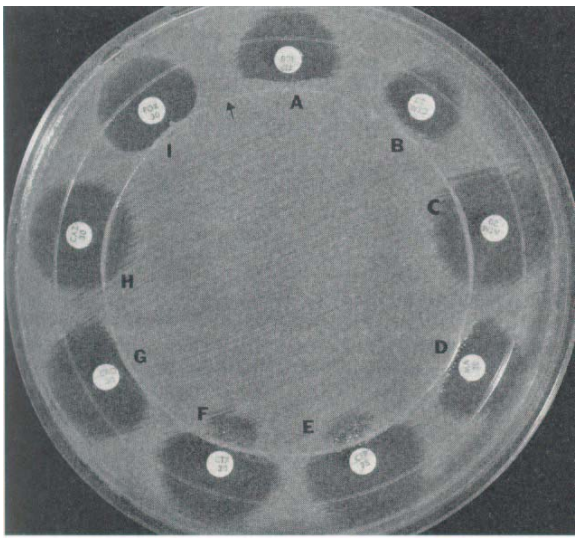
ข้อเสียของวิธีนี้ คือ ระยะห่างระหว่าง disc ที่เหมาะสมยังไม่เป็นที่ตกลงและเนื่องจากมีความแตกต่างกันของเชื้อแบคทีเรียในแต่ละสายพันธุ์และชนิดของเอนไซม์ ESBL มีหลายชนิด อาจทำให้วินิจฉัยเอนไซม์ ESBL ได้ไม่ครบทุกชนิด การใช้ disc ยาที่มีสาร β–lactamase inhibitor ชนิดอื่น เช่น sulbactam หรือ tazobactam ให้ผลไม่ดีเท่า clavulanate (Teangrim, 2002) นอกจากนั้นวิธีนี้ยังคงมีความยุ่งยากในการอ่านผลและไม่สามารถทราบค่า MIC ของเชื้อดังกล่าวด้วย (Rupp and Fey, 2003)

2.6.1.2 Three dimensional test

วิธีนี้มีความไวในการตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL เทียบเท่ากับวิธี double disc diffusion และเป็นวิธีการที่พัฒนามาจากวิธี double disc diffusion นั่นเอง แต่มีวิธีการทำที่มีความยุ่งยากมากกว่าและไม่สามารถทราบค่า MIC ของเชื้อด้วยเช่นกัน (Rupp and Fey, 2003) โดยมีวิธีการดังต่อไปนี้คือป้าย inoculum ของเชื้อที่จะทดสอบลงบน mueller-hinton agar เช่นเดียวกับวิธี double disc diffusion แล้วกรีดอาหารเลี้ยงเชื้อให้เป็นวงกลมรอบถาดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อให้ห่างจากตำแหน่งที่จะวาง disc ยาที่จะใช้ทดสอบ 3 มิลลิเมตร หลังจากนั้นใช้ pipette ปราศจากเชื้อดูดสารละลาย inoculum ของเชื้อใส่ไปในรอยตัดที่ทำขึ้นให้พอดีชุ่มแต่ต้องไม่เปียกเกินไป วาง disc ยาที่ใช้ทดสอบรอบนอกรอยตัดดังกล่าวเป็นระยะห่าง 3 มิลลิเมตรแล้วนำถาดอาหารเลี้ยงเชื้อนี้ไปเข้าเครื่อง incubation ที่อุณหภูมิ 35 $^{\circ}$C เป็นเวลาข้ามคืนเช่นเดียวกับวิธี double disc diffusion แล้วจึงทำการแปลผล (Thomson and Sanders, 1992)

การแปลผลอาศัยลักษณะของ inhibition zone ที่เกิดขึ้น หาก inhibition zone มีลักษณะบิดเบี้ยวไปตรงบริเวณรอยตัดที่ใส่สารละลาย inoculum ของเชื้อแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบมีการสร้างเอนไซม์ ESBL จึงสามารถยับยั้งยาต้านจุลชีพใน disc ยานั้นได้ เรียกว่าให้ผลการทดสอบเป็นบวก (positive three dimension test) ซึ่งบ่งว่ามีการสร้างเอนไซม์ ESBL แต่ถ้า inhibition zone ไม่มีการบิดเบี้ยวไปตรงบริเวณรอยตัดที่ใส่สารละลาย inoculum ของเชื้อ แสดงว่าเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบไม่สร้างเอนไซม์ ESBL จึงไม่สามารถยับยั้งยาต้านจุลชีพใน disc ยานั้นได้

เรียกว่าให้ผลการทดสอบเป็นลบ (negative three dimension test) ซึ่งบ่งว่าไม่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL (Thomson and Sanders, 1992) ดังแสดงในภาพประกอบที่ 11



ภาพประกอบที่ 11 การตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL ด้วยวิธี three dimensional test (A, disc ยา piperacillin; B, disc ยา cefuroxime; C, disc ยา aztreonam; D, disc ยา cefamandole; E, disc ยา cefoperazone; F, disc ยา cefotaxime; G, disc ยา ceftriaxone; H, disc ยา ceftazidime, I, disc ยา cefoxitin; ลูกศร, ช่องที่ถูกตัดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ)
ที่มา: Thomson and Sanders, 1992

จากภาพประกอบที่ 11 แสดงว่าเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบมีการสร้างเอนไซม์ ESBL เมื่อตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL ด้วยวิธี three dimensional test

2.6.1.3 Combination disc diffusion

การตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL ด้วยวิธี combination disc diffusion เป็นวิธีที่พัฒนาขึ้นเมื่อไม่นานมานี้ และได้รับการรับรองจาก NCCLS ให้ใช้เป็นหนึ่งในวิธีการตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL ตั้งแต่ ปี ค.ศ.2000 ใช้หลักการเดียวกับวิธี double disc diffusion เป็นวิธีการทดสอบโดยการเปรียบเทียบ inhibition zone ของ disc ยา single cephalosporins กับ inhibition zone ของ combination disc (Teangrem, 2002) ปัจจุบัน combination disc มี 3 ชนิดและมีความไวในการทดสอบการสร้างเอนไซม์ ESBL ดังแสดงในตารางที่ 15

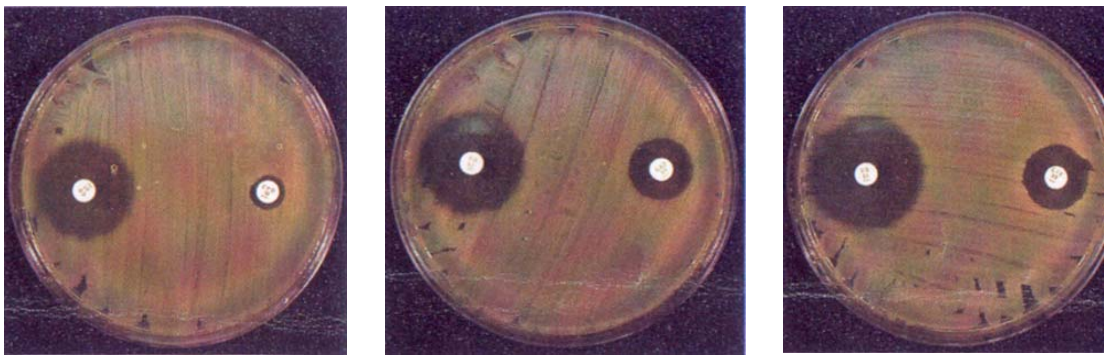
ตารางที่ 15 ชนิดของ combination disc และความไวโดยรวมของ combination disc แต่ละชนิดในการทดสอบการสร้างเอนไซม์ ESBL ของเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacteriaceae*

ชนิดของ combination disc	ส่วนประกอบ	ร้อยละความไว
CD01	cefpodoxime 10 mcg และ clavulanic acid 1 mcg	100
CD02	ceftazidime 30 mcg และ clavulanic acid 10 mcg	92
CD03	cefotaxime 30 mcg และ clavulanic acid 10 mcg	82

หากใช้ combination disc ทั้งสามชนิดในการตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL ของเชื้อ การสรุปว่าเชื้อแบคทีเรียชนิดที่ทดสอบสร้างเอนไซม์ ESBL หรือไม่ พิจารณาจากการแปลผลของ combination disc ทั้ง 3 ชนิด โดยหากพบว่าแปลผลเป็น ESBL positive อย่างน้อย 1 คู่ สรุปว่าเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ดังกล่าวสร้างเอนไซม์ ESBL และพบว่าการใช้คู่เปรียบเทียบของ disc ยา cefotaxime หรือ ceftazidime เพียงคู่เดียวให้ความไวต่อการทดสอบการสร้างเอนไซม์ ESBL ของเชื้อ *Klebsiella* spp. ร้อยละ 66 และร้อยละ 86 ตามลำดับ การใช้คู่ของ CD02 ร่วมกับ CD03 พบว่าความไวต่อการทดสอบการสร้างเอนไซม์ ESBL ของเชื้อ *Klebsiella* spp. เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 93 และการใช้คู่เปรียบเทียบของ cefpodoxime ร่วมด้วยเพิ่มขึ้นอีกหนึ่งคู่ จะให้ความไวและความจำเพาะ (specificity) ถึงร้อยละ 100 เป็นเพราะการลดขนาดยา cefpodoxime ใน disc ยาจาก 30 mcg เป็นขนาด 10 mcg และการลดขนาดยา clavulanic acid จาก 10 mcg เป็น 1 mcg ทำให้ตรวจหาเอนไซม์ ESBL ได้ถูกต้องแม่นยำมากขึ้น

ตารางที่ 16 ผลการตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL ด้วยวิธี combination disc diffusion ซึ่งแสดงว่าเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* สร้างเอนไซม์ ESBL

ชนิดของ combination disc	ความแตกต่างของ inhibition zone (mm) (combination disc zone – single cephalosporin disc zone)	
	E. coli	***K. pneumoniae***
CD01	$\geq$ 5 mm	$\geq$ 5 mm
CD02	$\geq$ 5 mm	$\geq$ 5 mm
CD03	$\geq$ 5 mm	$\geq$ 3 mm



(a) **(b)** **(c)**

ภาพประกอบที่ 12 การตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL ด้วยวิธี combination disc diffusion และเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบมีการสร้างเอนไซม์ ESBL (a, disc CD01 และ disc ยา cefodoxime 10 mcg; b, disc CD02 และ disc ยา ceftazidime 30 mcg; c, disc CD03 และ disc ยา cefotaxime 30 mcg)

สำหรับ combination disc ชนิด CD02 และ CD03 ได้รับการรับรองให้เป็นวิธีหนึ่งในการตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL จาก NCCLS ตั้งแต่ ปี ค.ศ.2000 ส่วน CD01 เป็นนวัตกรรมใหม่ของบริษัทผู้ผลิตแต่ยังไม่ได้การรับรองจาก NCCLS

2.6.1.4 Dilution method

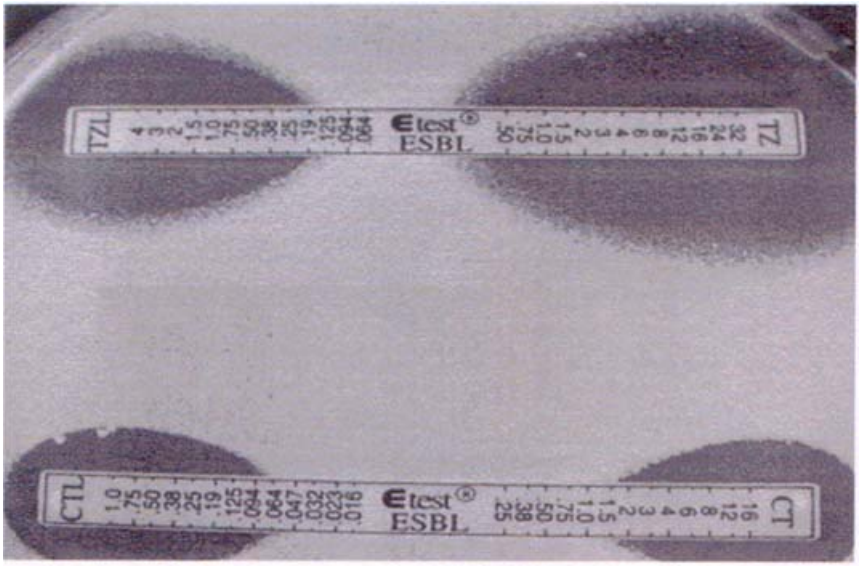
เป็นวิธีการตามมาตรฐาน broth dilution ของ NCCLS วิธีการนี้ทำโดยเปรียบเทียบค่า MIC ของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ เมื่อเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวอยู่ในสภาวะที่แตกต่างกัน 2 สภาวะคือ สภาวะที่ประกอบด้วยยา ceftazidime หรือยา cefotaxime เดี่ยว ๆ กับสภาวะที่ประกอบด้วยยา ceftazidime หรือยา cefotaxime ร่วมกับ clavulanic acid สำหรับการหาค่า MIC ทำโดยการเจือจางสารต้านจุลชีพในหลอดทดลองจากความเข้มข้นมากไปน้อยแล้วใส่ clavulanic acid ความเข้มข้น 4 mcg/ml ลงในทุกหลอดทดลอง การแปลผลการสร้างเอนไซม์ ESBL พิจารณาจากค่า MIC ที่ลดลงจากการใส่ clavulanic acid ถ้าค่า MIC ลดลง $\geq$ 3 twofold dilution แสดงว่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวสร้างเอนไซม์ ESBL

วิธีการนี้ไม่ยุ่งยาก แต่จะต้องมีผงยามาตรฐาน (standard powder) การใช้สาร β–lactamase inhibitors ชนิดอื่น เช่น sulbactam หรือ tazobactam ไม่สามารถตรวจหาเอนไซม์ ESBL ที่ถูกสร้างจากเชื้อแบคทีเรียบางสายพันธุ์ และเชื้อที่สร้างเอนไซม์ AmpC β–lactamase บางสายพันธุ์ก็ให้ผลบวกด้วยวิธีนี้ได้เช่นกัน (Teangrem, 2002)

2.6.1.5 E–test

E-test เป็น strip สำหรับทดสอบว่าเชื้อแบคทีเรียมีการสร้างเอนไซม์ ESBL หรือไม่ มีชื่อการค้าว่า AB Biodisk® ผลิตโดยบริษัท solna ประเทศสวีเดน strip ดังกล่าวมีลักษณะเป็น two–sided ESBL E–test strip ซึ่งด้านหนึ่งประกอบด้วย combination ของยา ceftazidime/clavulanic acid หรือ combination disc ของยา cefotaxime/clavulanic acid ส่วนอีกด้านหนึ่งประกอบด้วยยา ceftazidime หรือยา cefotaxime เดี่ยว ๆ และแปลผลโดยการเปรียบเทียบค่า MIC ของยา cefotaxime หรือ ceftazdime ของด้าน combination กับ clavulanic acid ที่ลดลงมากกว่า 3 log ของอีกด้านหนึ่ง (ค่า MIC ลดลง $\geq$ 8 หรือลดลง $\geq$ 3 twofold dilution) ซึ่งถ้าเป็นไปตามที่กล่าวมานี้ถือว่าเชื้อแบคทีเรียชนิดที่ทดสอบมีการสร้างเอนไซม์ ESBL จากการศึกษาของ Cormicon และคณะ (1996) พบว่าวิธี E–test มีความไวมากกว่าวิธี double disc diffusion test แต่การศึกษาของ Vercauteren และคณะ (1997) รายงานว่าวิธี E–test มีความไวน้อยกว่าวิธีอื่น ๆ อย่างไรก็ตามวิธีนี้เป็นวิธีที่สามารถทำให้ทราบค่า MIC ของเชื้อแบคทีเรียได้ด้วย

อย่างไรก็ตาม วิธีนี้ทำได้ง่ายและมีความไวพอ ๆ กับวิธี double disc diffusion แต่ราคาแพงและการอ่านผลอาจมีปัญหาเมื่อค่า MIC ต่อยา cefotaxime หรือยา ceftazidime มีค่าต่ำกระทั่งอ่านค่า MIC ไม่ได้ เพราะต่ำกว่าระดับที่มีค่าให้อ่านหรือเนื่องจากมีการกระจายของ clavulanic acid จากด้านหนึ่งซึมผ่านอาหารเลี้ยงเชื้อไปรบกวนการอ่านผลของอีกด้านหนึ่งเนื่องจากแถบ E-test สั้นเกินไป (Teangrem, 2002)

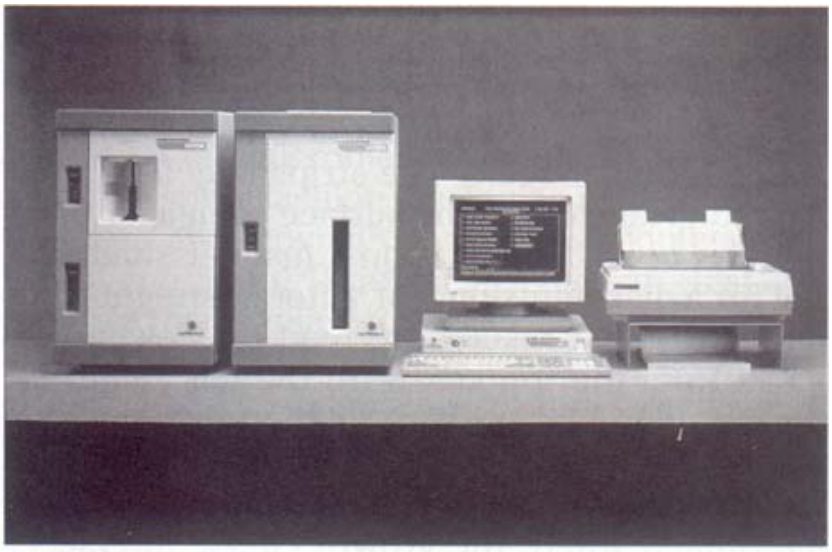


ภาพประกอบที่ 13 การตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL ด้วยวิธี E-test แสดงความแตกต่างของค่า MIC ระหว่าง ceftazidime (TZ) และ ceftazidime+ clavulanic acid (TZL) กับ cefotaxime (CT) และ cefotaxime + clavulanic acid (CTL)

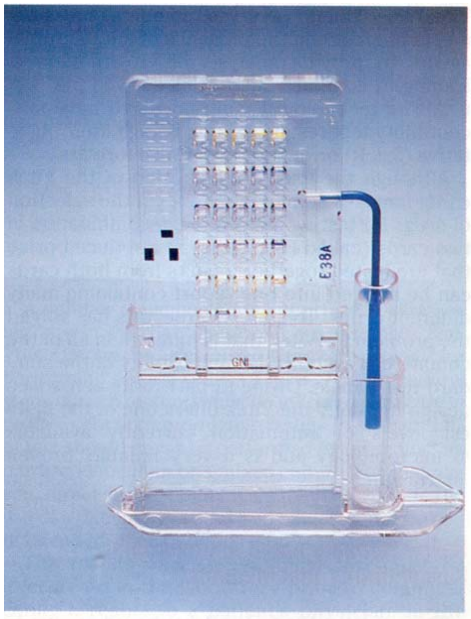
ที่มา: Teangrem, 2002

2.6.1.6 Vitek

Vitek เป็นวิธีการตรวจหาเอนไซม์ ESBL ด้วยระบบอัตโนมัติจากการเปรียบเทียบสภาวะสองสภาวะคือ ระหว่างสภาวะที่มียา ceftazidime หรือยา cefotaxime เดี่ยว ๆ กับสภาวะที่เป็น combination ระหว่าง ceftazidime หรือ cefotaxime กับ clavulanic acid แล้วแปลผลจากการลดการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียในสภาวะที่มี clavulanic acid เปรียบเทียบกับสภาวะที่ไม่มี clavulanic acid และต่อมามีการพัฒนาเป็น the Vitex 2 Advanced Expert System software ซึ่งพบว่าเป็นวิธีที่มีความไวสูงมาก (Sanders, *et al*., 1996; Sanders, *et al*., 2000; Livermore, *et al*., 2002)



ภาพประกอบที่ 14 เครื่อง Vitex สำหรับตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL



ภาพประกอบที่ 15 Vitex test card ที่บรรจุอยู่ภายในเครื่อง Vitex ซึ่งภายใน card ประกอบด้วยยาต้านจุลชีพแบบแห้งเชื่อมต่ออยู่กับ inoculum ของเชื้อแบคทีเรียที่จะทดสอบ

เชื้อ *K. pneumoniae* และ *E. coli* ที่ตรวจพบว่าสร้างเอนไซม์ ESBL ไม่ว่าด้วยวิธีใดก็ตามดังที่กล่าวมาแล้วนี้ ถือว่าเชื้อดื้อต่อยากลุ่ม extended spectrum cephalosporins โดยไม่ต้องคำนึงถึงรายงานผลการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ (sensitivity test)

การตรวจหาเอนไซม์ ESBL อาจพบผลบวกลวง (false-positive) จากการทดสอบเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ชนิด SHV-1 ในปริมาณที่สูงมากกระทั่งทำให้ค่า MIC ต่อยา ceftazidime สูงด้วย ค่า MIC ที่สูงอาจเกิดจากปริมาณเชื้อที่มากเกิน (inoculum effect) เชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ชนิด SHV-1 และขาด outer membrane porin protein ทำให้มีความแตกต่างของค่า MIC ระหว่างของยา β–lactam ที่ใส่และไม่ใส่ clavulanic acid ส่วนผลลบลวง (false-negative)พบได้ในเชื้อที่สร้างเอนไซม์ β–lactamase มากกว่า 1 ชนิดในเชื้อแบคทีเรียชนิดนั้น เช่น ไม่สามารถตรวจพบเอนไซม์ ESBL จากเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ AmpC β–lactamase ด้วย (Teangrem, 2002) นอกจากนี้ Steward และคณะ (2001) พบว่า clavulanic acid ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ ESBL ที่สร้างโดยเชื้อ *K. pneumoniae* ประมาณร้อยละ 5

ในปัจจุบัน NCCLS ระบุให้ทำการตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL จากเชื้อแบคทีเรียสาม ชนิดคือ *E. coli*, *K. pneumoniae* และ *K. oxytoco* เท่านั้น (Rupp and Fey, 2003) เนื่องจากเชื้อกลุ่ม *Enterobacteriaceae* อื่น ๆ นอกจากเชื้อ *K. pneumoniae* และ *E. coli* สามารถถูกตรวจพบเอนไซม์ ESBL ได้น้อยและตรวจได้ยากมากโดยเฉพาะเชื้อ *Enterobacter* spp., *C. freundii*, *Morganella morganii*, *Providencia* spp. และ *Serratia* spp. เป็นเพราะเชื้อแบคทีเรียที่กล่าวมานี้มักมี inducible AmpC chromosomal enzyme ซึ่งจะถูกชักนำให้สร้างเอนไซม์นี้ด้วย เมื่อ clavulanic acid ออกมาจับกับสารต้านจุลชีพที่ใช้ทดสอบหาเอนไซม์ ESBL ทำให้ไม่สามารถเห็นผลการเสริมฤทธิ์ (synergy) จากการยับยั้งเอนไซม์ ESBL ด้วย clavulanic acid และการดื้อยา ceftazidime และยา cefpodoxime มักจะเกิดจากการสร้างเอนไซม์ chromosomal AmpC ในปริมาณมาก ๆ มากกว่าการสร้างเอนไซม์ ESBL (Teangrem, 2002) การที่เอนไซม์ AmpC β–lactamase สามารถถูกสร้างโดยเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacteriaceae* เช่น *Enterobacter cloaceae* และ *C. freundii* ซึ่งเอนไซม์ AmpC β–lactamase สามารถรบกวน clavulanic acid ในการยับยั้งเอนไซม์ ESBL ได้ และเนื่องจากเชื้อ *E. cloacae* และ *C. freundii* เป็นเชื้อก่อโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลที่สำคัญ ดังนั้น NCCLS จึงมีแนวทางเฉพาะว่าจำเป็นต้องตรวจหาเชื้อแบคทีเรียซึ่งสร้างเอนไซม์ ESBL จากเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ AmpC β–lactamase ได้ด้วย (Rupp and Fey, 2003) ส่วนการตรวจหาเอนไซม์ ESBL จากเชื้อ *P. aeruginosa* (OXA-type ESBL) ยิ่งยุ่งยากเพราะนอกจากการสร้างเอนไซม์ inducible AmpC แล้วยังมีกลไกการดื้อยาอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่น impermeability และ efflux เป็นต้น (Teangrem, 2002)

ตารางที่ 17 สรุปวิธีการตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL ด้วยวิธีต่าง ๆ ในระดับ clinical microbiology technique

Test	Advantages	Disadvantages
Double-disc diffusion test	Easy to use, easy to interpret	Distance of disc placement for optimal sensitivity not standardized
Three-dimensional test	Sensitive, easy to interpret	Not specific for ESBL, labor intensive
Combination disc diffusion (NCCLS ESBL confirmatory test)	Easy to use and interpret	Sensitivity depends on choice of oxyiminocephalosporin
Dilution method (standard NCCLS interpretive criteria)	Easy to use, performed in every lab	ESBL not always “resistant”
E-test	Easy to use	Not always easy to interpret, not as sensitive as double-disc test
Vitek ESBL test	Easy to use, easy to interpret	Reduced sensitivity

ที่มา: ดัดแปลงจากตารางที่ 6 ของ Bradford, 2001

2.6.2 Molecular detection method

การตรวจหาเอนไซม์ ESBL ในระดับโมเลกุลเพื่อให้ทราบชนิดของยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ ESBL มีหลายวิธี วิธีที่ถูกพัฒนาขึ้นเป็นวิธีแรกของตรวจหาชนิดของยีนซึ่งควบคุมการสร้างเอนไซม์ β–lactamase คือวิธี DNP probes โดยที่ DNP probes เป็นวิธีที่จำเพาะต่อเอนไซม์ TEM และเอนไซม์ SHV วิธีนี้อาศัย oligonucleotides probes ซึ่งออกแบบให้บ่งชี้ตำแหน่งบนยีนที่เกิดการกลายพันธุ์ของยีนซึ่งส่งผลให้มีการสร้างเอนไซม์ ESBL ภายใต้สภาวะ stringent hybridization (Bradford, 2001) ต่อมามีการพัฒนาต่อเป็นวิธีอื่น ๆ เพิ่มขึ้นเพื่อให้มีความสามารถในการตรวจหาตำแหน่งของยีนที่กลายพันธุ์ทำให้เกิดการสร้างเอนไซม์ ESBL ชนิดต่าง ๆ ได้มากขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 18

ตารางที่ 18 แสดงการตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL ด้วยวิธีต่าง ๆ ในระดับ molecular detection method

Test	Advantages	Disadvantages
DNA probes	Specific for gene family (e.g.,TEM or SHV)	Labor intensive, cannot distinguish between ESBL and non-ESBL, cannot distinguish between variants of TEM or SHV
PCR	Easy to perform, specific for gene family (e.g.,TEM or SHV)	Cannot distinguish between ESBL and non-ESBL, cannot distinguish between variant of TEM or SHV
Oligotyping	Detects specific TEM variants	Requires specific oligonucleotide probes, Labor intensive, cannot detect new variants
PCR-RFLP	Easy to perform, can detect specific nucleotide changes	Nucleotide changes must result in altered restriction site for detection
PCR-SSCP	Can distinguish between a number of SHV variants	Requires specific electrophoresis conditions
LCR	Can distinguish between a number of SHV variants	Requires a large of oligonucleotide primers
Nucleotide sequencing	The gold standard, can detect all variants	Labor intensive, can be technically challenging can be difficult to interpret manual methods

ที่มา: ดัดแปลงจากตารางที่ 6 ของ Bradford, 2001

2.7 ปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL

มีการศึกษาหลายการศึกษาที่พยายามค้นหาหรือวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL จากการรวบรวมการศึกษาต่าง ๆ ทำให้ทราบว่าปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อหรือเกิด colonization จากเชื้อที่สร้างเอนไซม์ ESBL ได้แก่ การเข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลเป็นเวลานาน การเข้ารับการรักษาตัวในหอผู้ป่วยหนักเป็นเวลานาน การเข้ารับการรักษาตัวในสถานพยาบาลเป็นเวลานาน การได้รับยา ceftazidime หรือยา aztreonam มาก่อน การได้รับยากลุ่ม aminoglycosides มาก่อน การได้รับยาต้านจุลชีพชนิดต่าง ๆ มาก่อน จำนวนยาต้านจุลชีพที่ได้รับ การได้รับการผ่าตัดมาก่อน การมี colonization ของเชื้อในทางเดินอาหาร (gut colonization) การได้รับการคาสายสวนต่าง ๆ (indwelling catheter) การคาสายสอดทางกระเพาะอาหาร (gastrostomy tube) การได้รับเครื่องช่วยหายใจ การมีอายุ 12 สัปดาห์หรือต่ำกว่า (Age $\leq$ 12 wks) การมีน้ำหนักแรกคลอดต่ำกว่าปกติ การได้รับการใส่สายทางจมูกไปยังกระเพาะอาหาร (nasogastric tube) การมีสภาวะการเจ็บป่วยอยู่ในระดับรุนแรง การได้รับการทำหัตถการที่ invasive การได้รับสารอาหารทางหลอดเลือด (administration of total parenteral nutrition) การได้รับการทำ haemodialysis และการมีแผลนอนตะแคงจากการกดทับ (decubitus ulcers)

ปัจจัยเสี่ยงต่าง ๆ ที่กล่าวมาข้างต้นได้จากการรวบรวมผลการศึกษาต่าง ๆ ที่พยายามค้นหาหรือวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL ซึ่งจะยกตัวอย่างถึงบางการศึกษาต่อไปนี้

1. การศึกษาของ Kang และคณะ (2004) เป็นการศึกษาซึ่งมีรูปแบบการวิจัยเป็นแบบ case- control study เป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง (retrospective study) เก็บข้อมูลและตัวอย่างเชื้อจากตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย ศึกษาในโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยขนาด 1,500 เตียง ระหว่างเดือนมกราคม ปี ค.ศ.1998 ถึงเดือนเมษายน ปี ค.ศ.2002 ศึกษาในผู้ป่วยติดเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL จำนวน 60 รายซึ่งเรียกว่ากลุ่มศึกษา เปรียบเทียบกับผู้ป่วยในกลุ่มควบคุมคือผู้ป่วยติดเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ไม่สร้างเอนไซม์ ESBL จำนวน 60 ราย ซึ่งเรียกว่ากลุ่มควบคุม โดยกลุ่มตัวอย่างและกลุ่มควบคุมจับคู่กันในอัตราส่วน 1:1 เกณฑ์การจับคู่คือ เพศ อายุ ชนิดของการติดเชื้อว่าเป็นการติดเชื้อจากชุมชนหรือการติดเชื้อในโรงพยาบาล และหอผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษา สำหรับการศึกษานี้หากเชื้อ *K. pneumoniae* สร้างเอนไซม์ AmpC β-lactamase จะถูกจัดว่าเป็นเชื้อก่อโรคที่สร้างเอนไซม์ ESBL ด้วยเช่นกัน ผลการศึกษาเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี univariate analysis พบ

ปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ได้แก่ การเข้ารับการรักษาตัวในหอผู้ป่วยหนัก การอยู่ในภาวะหลังการผ่าตัด การได้รับการทำหัตถการที่ invasive ภายใน 72 ชั่วโมงก่อนการติดเชื้อในกระแสเลือด การคาสายสวนปัสสาวะ และการได้รับยาต้านจุลชีพมาก่อนภายใน 30 วันก่อนเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด ($p < 0.05$) แต่เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี multivariate analysis โดยใช้ logistic regression model พบว่า ปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดที่มีสาเหตุจากเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ได้แก่ การคาสายสวนปัสสาวะ [OR 5.23, 95% CI 1.29–21.25, $p = 0.021$] การได้รับการทำหัตถการที่ invasive ภายใน 72 ชั่วโมงก่อนการติดเชื้อในกระแสเลือด [OR 9.34, 95% CI 2.76–31.65, $p < 0.001$] และจำนวนชนิดของยาต้านจุลชีพที่ผู้ป่วยได้รับมาก่อนภายใน 30 วันก่อนเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด [OR 1.55 for an increment of 1 in the number of antibiotics used, 95% CI 1.01–2.40, $p = 0.047$] นั่นคือหากผู้ป่วยได้รับยาต้านจุลชีพเพิ่มขึ้นจำนวน 1 ชนิดภายในเวลา 30 วันก่อนเกิดการติดเชื้อจะมีโอกาสเสี่ยงต่อการติดเชื้อในกระแสเลือดจากเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL เพิ่มเป็น 1.55 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่ไม่ได้รับยา ต้านจุลชีพเพิ่มขึ้นก่อนเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด

2. การศึกษาของ Lautenbach และคณะ (2001) เป็นการศึกษาซึ่งมีรูปแบบการวิจัยเป็นแบบ case-control study เก็บข้อมูลและตัวอย่างเชื้อจากโรงพยาบาลขนาด 725 เตียงแห่งหนึ่ง ณ เมืองฟิลาเดลเฟีย ประเทศสหรัฐอเมริกา ระหว่างเดือนมิถุนายน ปี ค.ศ.1997 ถึงเดือนพฤษภาคม ปี ค.ศ.1998 ศึกษาในผู้ป่วยติดเชื้อ *E. coli* หรือ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL จำนวน 33 รายซึ่งเรียกว่ากลุ่มศึกษา เปรียบเทียบกับผู้ป่วยในกลุ่มควบคุมคือผู้ป่วยติดเชื้อ *E. coli* หรือ *K. pneumoniae* ที่ไม่สร้างเอนไซม์ ESBL จำนวน 66 ราย ซึ่งเรียกว่ากลุ่มควบคุม ตัวอย่างเชื้อที่ศึกษาได้มาจากสิ่งส่งตรวจทุกอย่างของผู้ป่วย นั่นคือผู้ป่วยในการศึกษานี้มีการติดเชื้อที่ตำแหน่งต่าง ๆ ทั่วร่างกายไม่ใช่เฉพาะในกระแสเลือด ซึ่งถ้าแยกตามตำแหน่งของการติดเชื้อพบว่า มีผู้ป่วยติดเชื้อที่ระบบทางเดินปัสสาวะจำนวน 17 ราย คิดเป็นร้อยละ 51.5 ติดเชื้อที่แผลจำนวน 5 ราย คิดเป็นร้อยละ 15.2 ติดเชื้อที่สายสวนหลอดเลือดดำใหญ่ส่วนกลางจำนวน 4 ราย คิดเป็นร้อยละ 12.1 ติดเชื้อในกระแสเลือดจำนวน 3 ราย คิดเป็นร้อยละ 9.1 ติดเชื้อที่ทางเดินหายใจจำนวน 3 ราย คิดเป็นร้อยละ 9.1 และติดเชื้อในช่องท้องจำนวน 1 ราย คิดเป็นร้อยละ 3 ผลการศึกษาเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี multivariable analysis พบปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดการติดเชื้อ *E. coli* หรือ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ได้แก่ การที่ผู้ป่วยได้รับการคาสายสวนหลอดเลือดดำใหญ่ส่วนกลาง (central venous catheter) [OR 9.85, 95% CI 0.87–111.34, $p = 0.06$] และการเป็นโรค

เบาหวาน [OR 5.10, 95% CI 0.87–30.0, $p = 0.07$] แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และบ่งชี้ว่ามีเพียงระยะเวลาของการได้รับยาต้านจุลชีพ (total duration of antibiotic therapy) [OR for each additional day of antibiotic therapy, 1.10, 95% CI 1.03–1.18, $p = 0.006$] เป็นปัจจัยเสี่ยงเพียงอย่างเดียวสำหรับการติดเชื้อ *E. coli* หรือ *K. pneumoniae* ซึ่งสร้างเอนไซม์ ESBL

3. การศึกษาของ Schiappa และคณะ (1996) ศึกษาในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อในกระแสเลือดจำนวน 31 ราย มีรูปแบบการวิจัยเป็นแบบ case-control study เก็บข้อมูลและตัวอย่างเชื้อจากโรงพยาบาลขนาด 900 เตียงแห่งหนึ่ง ณ เมืองชิกาโก้ ประเทศสหรัฐอเมริกา ระหว่างปี ค.ศ.1992-1994 มีผู้ป่วยจำนวน 15 รายจาก 31 รายมีการติดเชื้อจากชุมชน มีผู้ป่วย 11 รายเป็นผู้ป่วยจากสถานพักฟื้น (nursing home resident) และผู้ป่วยอีก 5 รายเป็นผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อในกระแสเลือดภายในโรงพยาบาล (hospital-acquired bacteremia) เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี univariate analysis พบว่าปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้มีผลเพิ่มความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่ดื้อต่อยา ceftazidime ในกระแสเลือด (เป็นเชื้อก่อโรคซึ่งมีแนวโน้มว่าจะสร้างเอนไซม์ ESBL) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ การเข้าพักรักษาตัวในสถานพักฟื้น [OR 9.96, 95% CI 2.24–59.38, $p = 0.001$] การได้รับยาต้านจุลชีพชนิดอื่นมาก่อนภายใน 14 วันก่อนเกิดการติดเชื้อ [OR 7.19, 95% CI 2.00–27.22, $p = 0.001$] การได้รับยา ceftazidime หรือ aztreonam มาก่อน ($p = 0.009$) การที่ผู้ป่วยมีสภาวะการเจ็บป่วยอยู่ในระดับรุนแรง (high APACHE II score) ($p < 0.001$) การได้รับการคาสายสวนปัสสาวะ [OR 21.67, 95% CI 5.04–103.5, $p < 0.001$] การได้รับการคาสายสอดทางกระเพาะอาหารหรือลำไส้ (gastrostomy or jejunostomy tube) [OR 24.71, 95% CI 3.1–1078.4, $p < 0.001$] การได้รับการคาสายสวนหลอดเลือดดำใหญ่ส่วนกลาง (central venous catheter) [OR 12.27, 95% CI 3.01–58.22, $p < 0.001$] แต่เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี multivariate analysis พบว่า ปัจจัยเสี่ยงที่มีนัยสำคัญมากที่สุดต่อการเกิดการติดเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่ดื้อต่อยา ceftazidime ในกระแสเลือด (ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคที่มีแนวโน้มว่าจะสร้างเอนไซม์ ESBL) คือ การได้รับคาสายสวนหลอดเลือดดำใหญ่ส่วนกลาง นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี subset analysis ในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อในกระแสเลือดซึ่งเกิดจาก *K. pneumoniae* และ *E. coli* ที่ดื้อยา ceftazidime และมีการคาสายสวนหลอดเลือดดำใหญ่ส่วนกลางไว้ พบว่าสำหรับผู้ป่วยกลุ่มนี้พบว่าการเข้าพักรักษาตัวในสถานพักฟื้นเป็นปัจจัยเสี่ยงหลักที่ทำให้เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดซึ่งเกิดจาก *K. pneumoniae* และ *E. coli* ที่ดื้อยา ceftazidime ในขณะที่ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี subset analysis ในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อในกระแสเลือดซึ่งเกิดจาก *K. pneumoniae* และ *E. coli* ที่ดื้อยา ceftazidime แต่ไม่ได้รับการคาสายสวนหลอดเลือดดำใหญ่ส่วนกลาง พบว่าการได้รับการคาสาย

สวนปัสสาวะและการมีสภาวะการเจ็บป่วยอยู่ในระดับรุนแรงเป็นปัจจัยเสี่ยงสำคัญที่ทำให้เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดซึ่งเกิดจาก *K. pneumoniae* และ *E. coli* ที่ดื้อยา ceftazidime อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4. การศึกษาของ Weiner และคณะ (1999) ศึกษาในโรงพยาบาลระดับตติยภูมิขนาด 400 เตียงและสถานพักพื้น 6 แห่ง (community nursing home) ณ เมืองชิกาโก้ ประเทศสหรัฐอเมริกาเก็บตัวอย่างเชื้อจากสิ่งส่งตรวจทุกอย่างของผู้ป่วยและเก็บข้อมูลตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน ปี ค.ศ.1990 ถึงเดือนกรกฎาคม ปี ค.ศ.1992 เป็นการศึกษาแบบไปข้างหน้า (prospective study) และมีรูปแบบการวิจัยเป็นแบบ case-control study เปรียบเทียบผู้ป่วยจำนวน 24 ราย ซึ่งเดิมทีผู้ป่วยเหล่านี้อาศัยอยู่ในสถานพักพื้น แต่เมื่อเข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลพบว่ามี colonization หรือติดเชื้อ *E. coli* หรือ *K. pneumoniae* ที่ดื้อต่อยา ceftazidime เปรียบเทียบกับผู้ป่วยจำนวน 16 รายซึ่งเดิมทีผู้ป่วยเหล่านี้อาศัยอยู่ในสถานพักพื้นเช่นกันแต่ไม่พบว่ามีการ colonization หรือติดเชื้อในตอนที่เข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาล เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี multivariate analysis พบว่า ปัจจัยเสี่ยงของการเกิด colonization ของเชื้อ *E. coli* หรือ *K. pneumoniae* ที่ดื้อต่อยา ceftazidime ได้แก่ การมีแผลนอนตะแคงจากการกดทับ (decubitus ulcers) และ/หรือมีการคาสายสอดทางกระเพาะอาหาร (gastrostomy tube) ระดับความสามารถด้านการทำงานของร่างกายของผู้ป่วย (patient's functional level) และการได้รับยา trimethoprim–sulfamethoxazole และ/หรือยา ciprofloxacin มาก่อนภายในเวลา 4 เดือนก่อนเกิดการ colonization ของเชื้อ *E. coli* หรือ *K. pneumoniae* ที่ดื้อต่อยา ceftazidime

5. การศึกษาของ Du และคณะ (2002) เป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง ศึกษาในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ *E. coli* หรือ *K. pneumoniae* ในกระแสเลือด (retrospective, single center study of consecutive bacteremia patient) ศึกษาในโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยขนาด 1,200 เตียง ณ กรุงปักกิ่ง ประเทศจีน เก็บตัวอย่างเชื้อและเก็บข้อมูลตั้งแต่เดือนมกราคม ปี ค.ศ.1997 ถึงเดือนธันวาคม ปี ค.ศ.1999 มีผู้ป่วยในการศึกษาจำนวน 85 ราย ซึ่งผู้ป่วยทั้งหมดนี้มีการติดเชื้อในกระแสเลือดภายในโรงพยาบาล (hospital-acquired bacteremia) ทั้งสิ้น พบว่าการที่ผู้ป่วยได้รับยากลุ่ม third generation cephalosporins มาก่อนภายใน 2 สัปดาห์ก่อนเกิดการติดเชื้อเป็นปัจจัยเสี่ยงเพียงอย่างเดียวต่อการติดเชื้อในกระแสเลือดจากเชื้อ *E. coli* หรือ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL [OR 4.146, 95% CI 1.448–11.875, $p = 0.008$] อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

6. การศึกษาของ Kim และคณะ (2002) เป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง (retrospective study) ทำการศึกษาในโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยซึ่งเป็นโรงพยาบาลเด็กขนาดใหญ่มากกว่า 300 เตียง ณ กรุงโซล ประเทศเกาหลีใต้ เก็บตัวอย่างเชื้อและเก็บข้อมูลตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน ปี ค.ศ.1993 ถึงเดือนธันวาคม ปี ค.ศ.1998 ศึกษาในผู้ป่วยเด็กอายุ 0-17 ปี จำนวน 142 ราย แบ่งเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อในกระแสเลือดที่มีสาเหตุจากเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL จำนวน 49 ราย และกลุ่มผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อในกระแสเลือดที่มีสาเหตุจากเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่ไม่สร้างเอนไซม์ ESBL จำนวน 93 ราย พบว่าปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดที่มีสาเหตุจากเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ได้แก่ การเข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลภายในระยะเวลา 1 เดือนก่อนเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด (*p=0.001*) การได้รับยาต้านจุลชีพชนิดใด ๆ ก็ตามภายในระยะเวลา 1 เดือนก่อนเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด (*p=0.001*) การได้รับยากลุ่ม extended spectrum cephalosporins ภายในระยะเวลา 1 เดือนก่อนเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด (*p=0.001*) การติดเชื้อที่เกิดขึ้นในระหว่างที่ผู้ป่วยได้รับยาต้านจุลชีพ (*p=0.001*) การติดเชื้อที่เป็นเชื้อก่อโรคในโรงพยาบาล (nosocomial acquisition, *p=0.001*) การเข้ารับการรักษาตัวในแผนกอภิบาลผู้ป่วยหนักภายในระยะเวลา 1 เดือนก่อนเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด (*p=0.001*) การได้รับเครื่องช่วยหายใจภายในระยะเวลา 1 เดือนก่อนเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด (*p=0.003*) และการได้รับการคาสายสวนหลอดเลือดดำใหญ่ไว้ในร่างกาย (*p=0.009*)

ถึงแม้ว่าประเด็นของการเข้าพักรักษาตัวในโรงพยาบาลก่อนการติดเชื้อซึ่งถือเป็นปัจจัยเสี่ยงอย่างหนึ่งของการเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดจากเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL แต่เมื่อพิจารณาเฉพาะกลุ่มผู้ป่วยที่เป็นการติดเชื้อในโรงพยาบาลพบว่า ระยะเวลาการเข้าพักรักษาตัวในโรงพยาบาลของกลุ่มที่ติดเชื้อซึ่งเชื้อก่อโรคสร้างเอนไซม์ ESBL กับกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อซึ่งเชื้อก่อโรคไม่สร้างเอนไซม์ ESBL ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p=0.683*)

อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลต่อโดยอาศัยวิธี logistic regression analysis พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของสิ่งต่อไปนี้คือ ความสัมพันธ์ระหว่างการเกิด sepsis ที่มีสาเหตุจากเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL กับการเข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลภายในระยะเวลา 1 เดือนก่อนเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด [OR 4.52, 95% CI 1.6-13.1] ความสัมพันธ์ระหว่างการเกิด sepsis ที่มีสาเหตุจากเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์

ESBL กับการเคยได้รับยากลุ่ม extended spectrum cephalosporins ภายในระยะเวลา 1 เดือนก่อนเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด [OR 5.56, 95% CI 1.9-16.0] และความสัมพันธ์ระหว่างการเกิด sepsis ที่มีสาเหตุจากเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL กับการเข้ารับการรักษาตัวในแผนกอภิบาลผู้ป่วยหนักภายในระยะเวลา 1 เดือนก่อนเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด [OR 35.7, 95% CI 6.0-214.1]

โดยสรุปการศึกษาของ Kim และคณะ (2002) พบว่าการเข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลมาก่อนภายในระยะเวลา 1 เดือนก่อนเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด [OR 4.52, 95% CI 1.6-13.1] การได้รับยากลุ่ม extended spectrum cephalosporins มาก่อนภายในระยะเวลา 1 เดือนก่อนเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด [OR 5.56, 95% CI 1.9-16.0] และการที่ผู้ป่วยเข้ารับการรักษาตัวในแผนกอภิบาลผู้ป่วยหนักมาก่อนในช่วง 1 เดือนก่อนเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด [OR 35.7, 95% CI 6.0-214.1] มีความสัมพันธ์หรือเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดที่มีสาเหตุจากเชื้อ *E. coli* หรือ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL

7. การศึกษาของ Ariffin และคณะ (1999) เป็นการศึกษาแบบไปข้างหน้า ทำการศึกษาที่แผนกโรคมะเร็งในเด็กของโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยกัวลาลัมเปอร์ เก็บตัวอย่างเชื้อจากตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย และเก็บข้อมูลตั้งแต่เดือนมกราคม ปี ค.ศ.1996 ถึงเดือนธันวาคม ปี ค.ศ.1997 ศึกษาในผู้ป่วยเด็กที่มีภาวะ febrile neutropenia จำนวน 29 ราย ผู้ป่วยมีอายุอยู่ในช่วง 7-156 เดือน อายุเฉลี่ย 76.9 เดือนหรือประมาณ 6 ปี จากการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี univariate analysis พบว่าการเข้ารักษาตัวในโรงพยาบาลเป็นระยะเวลานานกว่า 2 สัปดาห์ก่อนเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด (*p=0.005*) และการได้รับยาต้านจุลชีพชนิดอื่นมาก่อนภายใน 2 สัปดาห์ก่อนเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด มีผลเพิ่มโอกาสเสี่ยงต่อการติดเชื้อในกระแสเลือดที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ดื้อต่อยา ceftazidime อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [OR 28.0, 95% CI 4.0-194.5, *p = 0.0008*] ในขณะที่การได้รับยา co–trimoxazole เพื่อป้องกันการติดเชื้อฉวยโอกาส *Pneumocystic carrinii* ไม่เพิ่มโอกาสเสี่ยงต่อการติดเชื้อในกระแสเลือดจากเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ดื้อต่อยา ceftazidime

อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลต่อโดยวิธี logistic regression analysis พบว่าการเข้ารักษาตัวในโรงพยาบาลเป็นระยะเวลานานกว่า 2 สัปดาห์ก่อนเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด [OR 14.9, 95% CI 2.3-99.6, *p = 0.02*] และการได้รับยากลุ่ม broad spectrum หรือ third generation

cephalosporins มาก่อนภายในระยะเวลา 2 สัปดาห์ก่อนเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด เป็นปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อในกระแสเลือดจากเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ดื้อยา ceftazidime [OR 11.1, 95% CI 1.3-95.2, $p = 0.03$] อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

8. การศึกษาของ Piroth และคณะ (1998) เป็นการศึกษาที่มีรูปแบบการวิจัยเป็นแบบ case control study ทำการศึกษาที่หออภิบาลผู้ป่วยหนักแผนกอายุรกรรมขนาด 11 เตียงของโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยแห่งหนึ่งในประเทศฝรั่งเศส เก็บตัวอย่างเชื้อจากสิ่งส่งตรวจทุกอย่างของผู้ป่วยซึ่งพบว่า เป็นตัวอย่างเชื้อที่เก็บได้จากตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยเพียงประมาณร้อยละ 7 เท่านั้น เก็บข้อมูลตั้งแต่เดือนมกราคม ปี ค.ศ.1994 ถึงเดือนกันยายน ปี ค.ศ.1996 ซึ่งในช่วงระยะเวลาดังกล่าวมีผู้ป่วยเข้ารับการรักษาตัวในแผนกอภิบาลผู้ป่วยหนักนี้จำนวน 1,533 ราย ศึกษาเปรียบเทียบผู้ป่วยกลุ่มศึกษาจำนวน 51 ราย ซึ่งมีการติดเชื้อหรือมี colonization ของเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL โดยที่เป็นการการติดเชื้อหรือ colonization ในโรงพยาบาล ทั้งสิ้น กับผู้ป่วยในกลุ่มควบคุมจำนวน 51 รายซึ่งไม่มี colonization ของเชื้อ เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี univariate analysis พบว่า ผู้ป่วยกลุ่มศึกษาได้รับเครื่องช่วยหายใจเป็นเวลานานกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.006$) แต่กลับพบว่า ระยะเวลาการได้รับยากลุ่ม β-lactamase inhibitors มาก่อนเกิดการติดเชื้อหรือมี colonization ของเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ของกลุ่มศึกษาสั้นกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.03$) เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลต่อด้วยวิธี multivariate analysis with logistic regression พบว่า การได้รับเครื่องช่วยหายใจเป็นปัจจัยเสี่ยงหลักเพียงอย่างเดียวที่ทำให้เกิดการการแพร่กระจายของเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL [OR 1.19, $p = 0.03$] อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การที่ผู้ป่วยได้รับยากลุ่ม β-lactamase inhibitors มาก่อนเป็นปัจจัยที่ช่วยลดโอกาส ติดเชื้อหรือ colonization (protective factor) ของเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL [OR 0.849, $p = 0.04$] อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่ง Piroth และคณะ (1998) อธิบายว่าเป็นเพราะการที่ผู้ป่วยมี colonization ของเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL แล้วได้รับยากลุ่ม β-lactamase inhibitors ซึ่งเชื้อไวต่อยานี้แล้ว ดังนั้นผู้ป่วยก็ไม่เกิดการติดเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ขึ้นเพราะเชื้อดังกล่าวได้ถูกกำจัดไปก่อนแล้วนั่นเอง

การศึกษานี้จึงสรุปว่าตลอดช่วงเวลาที่มีการระบาดของเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ที่มียีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ชนิด SHV-4 ในแผนกอภิบาลผู้ป่วยหนัก การเลือกใช้ยากลุ่ม β-lactamase inhibitors อาจช่วยควบคุมการระบาดและการแพร่กระจายของเชื้อดังกล่าว

ได้ รวมทั้งการล้างมือของบุคลากรทางการแพทย์ที่สัมผัสผู้ป่วยก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่น่าจะช่วยได้เช่นกัน อย่างไรก็ตาม Piroth และคณะ (1998) กล่าวว่าผลการศึกษานี้อาจไม่สามารถนำไปใช้ได้อย่างกว้างขวางเนื่องจากข้อจำกัดของการวิจัยคือ เป็นการศึกษาในเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ที่มียีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ชนิด SHV-4 เท่านั้น และการศึกษาดังกล่าวมีจำนวนกลุ่มตัวอย่างขนาดเล็กด้วย

9. การศึกษาของ Pena และคณะ (2001) เป็นการศึกษาแบบไปข้างหน้า มีรูปแบบการวิจัยเป็นแบบ prospective cohort study ทำการศึกษาในโรงพยาบาลซึ่งเป็นโรงเรียนแพทย์ขนาด 1,000 เตียง ณ ประเทศสเปน เก็บตัวอย่างเชื้อจากตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยและเก็บข้อมูลตั้งแต่เดือนพฤษภาคม ปี ค.ศ.1993 ถึงเดือนมิถุนายน ปี ค.ศ.1995 ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่มีการระบาดของเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ในโรงพยาบาลแห่งนี้ มีผู้ป่วยในการศึกษาทั้งสิ้นจำนวน 92 ราย แบ่งเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อในกระแสเลือดที่มีสาเหตุจากเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL เรียกว่ากลุ่มศึกษาจำนวน 49 ราย และกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อในกระแสเลือดที่มีสาเหตุจากเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ไม่สร้างเอนไซม์ ESBL เรียกว่ากลุ่มควบคุมจำนวน 43 ราย พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่างทั้งสองกลุ่มดังนี้ คือ ผู้ป่วยกลุ่มศึกษามีการเข้ารับการรักษาตัวในหออภิบาลผู้ป่วยหนักมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ร้อยละ 90 และร้อยละ 46 ตามลำดับ, $p < 0.001$) ผู้ป่วยกลุ่มศึกษาได้รับการคาสายสวนปัสสาวะมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ร้อยละ 90 และร้อยละ 63 ตามลำดับ, $p = 0.03$) ผู้ป่วยกลุ่มศึกษาได้รับยาต้านจุลชีพชนิดอื่น ๆ มาก่อนภายใน 14 วันก่อนเกิดการติดเชื้อ *K. pneumoniae* ในกระแสเลือดมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ร้อยละ 86 และร้อยละ 39 ตามลำดับ, $p < 0.001$) ผู้ป่วยกลุ่มศึกษาได้รับการคาสายสวนหลอดเลือดมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ร้อยละ 56 และร้อยละ 30 ตามลำดับ, $p = 0.01$) และผู้ป่วยกลุ่มศึกษาได้รับการผ่าตัดก่อนหน้านี้มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ร้อยละ 71 และร้อยละ 28 ตามลำดับ, $p < 0.001$)

อย่างไรก็ตาม เนื่องจากการศึกษานี้ไม่ได้ใช้สถิติวิเคราะห์ข้อมูลเกี่ยวกับการหาปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อในกระแสเลือดที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL จึงไม่อาจสรุปได้ว่าข้อมูลของการศึกษาที่พบเป็นปัจจัยเสี่ยงของการเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL หรือไม่ คณะผู้วิจัยสรุปได้เพียงว่า การระบาดของการติดเชื้อในกระแสเลือดที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์

ESBL ซึ่งพบมากในหออภิบาลผู้ป่วยหนักนั้น มีสาเหตุหลักจากการที่ผู้ป่วยได้รับการคาสายสวนหลอดเลือดนั่นเอง

2.8 การศึกษาความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ภายนอกร่างกาย (In vitro susceptibility test)

มีการศึกษาภายนอกกายหลายการศึกษาที่ทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพชนิดต่าง ๆ ต่อเชื้อ *E. coli* หรือ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL หรือดื้อต่อยา ceftazidime ซึ่งรวบรวมมาดังในตารางที่ 19

ตารางที่ 19 แสดงร้อยละความไวต่อยาต้านจุลชีพชนิดต่างๆ ของเชื้อ *E. coli* หรือ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL

ยาต้านจุลชีพ	ร้อยละความไวต่อยาต้านจุลชีพ		
	ESBL–producing	**ESBL–producing**	**Ceftazidime–resistance**
	K. pneumoniae* and *E. coli	***K. pneumoniae***	***K. pneumoniae***
Imipenem	100[e]	100[c]	100[b]
Cefepime		79.2[d]	79[b]
Cefotetan		95.8[d]	
Cefoxitin		80.6[d]	
Cefotaxime		48.6[d]	
Ceftriaxone		36.1[d]	
Ceftazidime		19.4[d]	
Levofloxacin	43.8[e]		
Amikacin	43.5[e]		
Gentamicin	27[e]		
Tobramycin	24.4[e]		
Co–trimoxazole	19.6[e]		
Tetracycline	32.5[e]		
Amoxycillin/ clavulanic acid		38[c]	
Piperacillin/ tazobactam		45[c]	
Third generation cephalosporins	96.8[a]	91.1[a]	
Fluoroquinolones			

ที่มา: [a] Du, *et al.*, 2002; [b] Ariffin, *et al.*, 1999; [c] Pena, *et al.*, 2001; [d] Paterson, *et al.*, 2001; [e] Lautenbach, *et al.*, 2001

นอกจากนี้มีรายงานความไวต่อยาต้านจุลชีพชนิดต่างๆ ต่อเชื้อ *E. coli* หรือ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ของโรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ทั้งกรณีที่ตัวอย่างเชื้อรวบรวมได้จากสิ่งส่งตรวจทุกอย่างของผู้ป่วยและกรณีที่ตัวอย่างเชื้อรวบรวมได้จากตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยดังแสดงในตารางที่ 20 และ 21 ตามลำดับ

ตารางที่ 20 แสดงร้อยละความไวต่อยาต้านจุลชีพชนิดต่างๆ ของเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ของโรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่กรณีตัวอย่างเชื้อรวบรวมได้จากทุกสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย

ยาต้านจุลชีพ	ร้อยละความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL			
	ปี ค.ศ.2003		ม.ค. – ก.ย. ปี ค.ศ.2004	
	เชื้อ ***E. coli***	เชื้อ *K. pneumoniae*	เชื้อ ***E. coli***	เชื้อ *K. pneumoniae*
Imipenem	100 (n = 395)	100 (n = 356)	99 (n = 364)	99 (n = 395)
Meropenem	100 (n = 328)	100 (n = 292)	100 (n = 287)	100 (n = 277)
Cefoxitin	74 (n = 300)	85 (n = 291)	80 (n = 360)	86 (n = 397)
Cefotaxime	0 (n = 397)	0 (n = 356)	1 (n = 366)	0 (n = 399)
Cefpirome	0 (n = 343)	8 (n = 313)	9 (n = 268)	10 (n = 313)
Cefipime	N/A	N/A	24 (n = 51)	21 (n = 47)
Cefphalaxin	0 (n = 396)	0 (n = 356)	0 (n = 368)	0 (n = 399)
Piperacillin	1 (n = 157)	1 (n = 122)	N/A	N/A
Piperacillin/ tazobactam	62 (n = 172)	12 (n = 165)	62 (n = 225)	21 (n = 233)
Amoxycillin/ clavulanic acid	2 (n = 397)	1 (n = 356)	5 (n = 276)	3 (n = 313)
Amikacin	76 (n = 396)	30 (n = 355)	90 (n = 363)	52 (n = 392)
Gentamicin	23 (n = 397)	8 (n = 359)	19 (n = 367)	13 (n = 399)
Ampicillin	0 (n = 396)	0 (n = 358)	0 (n = 367)	0 (n = 398)
Co–trimoxazole	21 (n = 398)	13 (n = 358)	22 (n = 323)	18 (n = 366)
Ofloxacin	14 (n = 395)	34 (n = 350)	19 (n = 364)	52 (n = 399)

ที่มา: กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิก, โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่, 2004

ตารางที่ 21 แสดงร้อยละความไวต่อยาต้านจุลชีพชนิดต่างๆ ของเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ของโรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่กรณีตัวอย่างเชื้อรวบรวมได้จากตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย ปี ค.ศ.2003

ยาต้านจุลชีพ	ร้อยละความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL	
	เชื้อ ***E. coli***	เชื้อ *K. pneumoniae*
Imipenem	100 (n = 11)	100 (n = 12)
Cefoxitin	67 (n = 12)	85 (n = 13)
Cefotaxime	0 (n = 13)	0 (n = 12)
Ceftazidime	13 (n = 8)	17 (n = 12)
Cefpirome	17 (n = 12)	0 (n = 12)
Cefphalexin	0 (n = 13)	0 (n = 13)
Piperacillin/ tazobactam	25 (n = 8)	0 (n = 8)
Amoxycillin/ clavulanic acid	8 (n = 13)	0 (n = 13)
Amikacin	77 (n = 13)	8 (n = 13)
Gentamicin	38 (n = 13)	0 (n = 13)
Ampicillin	0 (n = 13)	8 (n = 13)
Co–trimoxazole	58 (n = 12)	8 (n = 13)
Ofloxacin	38 (n = 13)	46 (n = 13)

ที่มา: กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิก, โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่, 2004