

บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. การแยกเชื้อ *E. coli* จากกลุ่มตัวอย่าง

ในการศึกษารุ่นนี้ได้ทำการแยกเชื้อ *E. coli* ที่เป็น commensal จากอุจจาระของอาสาสมัครสุขภาพดีที่มีประวัติไม่ได้รับประทานยาปฏิชีวนะก่อนการเก็บตัวอย่างเป็นเวลาอย่างน้อย 1 เดือน และจากผู้ป่วยนอกของโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ที่มีอาการผิดปกติในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งจัดเป็น community isolates เพื่อเปรียบเทียบอัตราการดื้อยา แบบแผนการดื้อยา และอัตราการพบ class 1 integron ซึ่งเกี่ยวข้องกับการดื้อยา เพื่อเป็นแนวในการเฝ้าระวังการดื้อยาในชุมชน ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้เป็นแหล่งของยีนส์ดื้อยาที่สำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อ *E. coli* ซึ่งพบมากที่สุดคนในบรรดา facultative anaerobic Gram-negative bacteria ในลำไส้ของคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (10^7 cfu/g ของอุจจาระ) (Kariuki and Hart, 2001) นอกจากนี้แล้ว *E. coli* ยังสามารถถ่ายทอดยีนส์ดื้อยาไปยังเชื้อแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae อื่นๆ ได้รวมทั้ง *E. coli* สายพันธุ์ก่อโรคด้วย (Tauxe *et al.*, 1989) ดังนั้นอัตราการดื้อยาในเชื้อ commensal *E. coli* จึงเป็นตัวบ่งชี้การดื้อยาของแบคทีเรียในชุมชนด้วย (Levy *et al.*, 1988; Levin *et al.*, 1997)

รายงานการดื้อยาของเชื้อ *E. coli* ส่วนใหญ่มุ่งเน้นไปที่กลุ่มเชื้อจากแหล่งใดแหล่งหนึ่งเท่านั้น เช่น ในกลุ่มเชื้อก่อโรค (Cao *et al.*, 2002; Mathai *et al.*, 2004) ในประเทศไทยก็เช่นเดียวกัน มีการรายงานการเฝ้าระวังการดื้อยาของเชื้อก่อโรคเป็นส่วนใหญ่ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *E. coli* ที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ ซึ่งมีอัตราการพบถึง 40% (Ratchtrachenchai *et al.*, 2004) แต่ในต่างประเทศมีการศึกษาในกลุ่มเชื้อดื้อยาที่แยกได้จากอาสาสมัครสุขภาพดีโดยที่เชื้อประจำถิ่นเหล่านี้ อาจเป็นสาเหตุก่อโรคได้ (Bartoloni *et al.*, 1998; Okeke *et al.*, 2000; Infante *et al.*, 2005; Skurnik *et al.*, 2005) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Shanahan และคณะ (1995) รายงานว่าสาเหตุของการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารส่วนใหญ่มักเกิดจากเชื้อ *E. coli* ซึ่งเป็นเชื้อประจำถิ่นที่พบได้บ่อยในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ เช่นเดียวกับรายงานในประเทศเม็กซิโกโดย Calva และคณะ (1996) ได้ทำการแยกหาเชื้อจากตัวอย่างอุจจาระเด็กที่มีสุขภาพดี 20 คน ทุกสัปดาห์รวม 13 สัปดาห์ จำนวนทั้งสิ้น 260 ตัวอย่างสามารถตรวจพบเชื้อ *E. coli* ที่ดื้อยาได้ในทุกๆ ตัวอย่าง คิดเป็น 100% และเป็นเชื้อที่ดื้อยาหลายชนิดสูงถึง 88.5% ในขณะที่พบเชื้ออื่นๆ เช่น *Klebsiella* และ *Shigella* เพียง 21% และ 1.5% แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *E. coli* ที่ดื้อยาพบได้บ่อย และคงอยู่ได้นานใน

ระบบทางเดินอาหารของเด็กเล็ก ทำให้มีโอกาสที่จะแพร่กระจายแบคทีเรียไปยังคนอื่นๆ ในชุมชนได้

2. การทดสอบความไวต่อยาต้านจุลินทรีย์ของเชื้อ *E. coli*

การศึกษาความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลินทรีย์ในครั้งนี้ ได้ทำการศึกษาความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลินทรีย์จำนวน 12 ชนิด ที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อ *E. coli* จากการศึกษาพบว่า เชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากผู้ป่วยนอกที่เข้ามารับการรักษาที่โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ มีอัตราการคือยาสูงกว่าในอาสาสมัครสุขภาพดีอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้น การคือยา amikacin และ amoxicillin-clavulanate ยาต้านจุลินทรีย์เป็นสาเหตุสำคัญที่ชักนำให้แบคทีเรียเกิดการคือยาได้ ในกลุ่มผู้ป่วยไม่สามารถสืบค้นประวัติได้ว่าเคยได้รับยาต้านจุลินทรีย์มาก่อนหรือไม่ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าผู้ป่วยเหล่านี้อาจได้รับยามาก่อนเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล จึงทำให้เชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากกลุ่มนี้มีอัตราการคือยาที่สูงกว่ากลุ่มอาสาสมัครสุขภาพดีที่ไม่ได้รับยามาเป็นเวลาอย่างน้อย 1 เดือนอย่างมีนัยสำคัญ เชื้อ *E. coli* มีอัตราการคือยา tetracycline สูงกว่ายาชนิดอื่นมาก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะยาชนิดนี้มีการนำเข้ามาใช้ก่อนยาชนิดอื่น สามารถหาซื้อได้ง่าย เนื่องจากเป็นที่รู้จักของประชาชนทั่วไป ทำให้มีการใช้อย่างกว้างขวาง ผิดกับยาในกลุ่มของ aminoglycoside ที่นิยมใช้กันมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2528 แต่เนื่องจากการใช้ยาต้องใช้การฉีด ทำให้ไม่มีการใช้อย่างกว้างขวาง การคือยาในกลุ่มนี้จึงพบได้น้อย (สิลม และคณะ, 2531) ยกเว้น streptomycin เนื่องจากยาชนิดนี้ถูกนำมาใช้เป็นเวลาานาน และใช้กันอย่างแพร่หลายจนเกิดการระบาดของยีนส์คือยา ซึ่งพบใน plasmid หลายชนิด และอยู่บน transposon ที่แพร่กระจายและอยู่ในตำแหน่งที่เอื้ออำนวยที่จะไปแทรกในยีนส์ที่นำการคือยา ดังนั้นการใช้ยาอื่นๆ จะช่วยคัดเลือกยีนส์ที่นำการคือยา streptomycin ให้มีความชุกสูง ทั้งๆที่มีการหยุดใช้ streptomycin ไปนานแล้ว จึงทำให้โอกาสที่การคือยาจะกลับคืนเป็นการไวต่อยาเป็นไปได้ยาก (นลินี, 2538) ส่วน nalidixic acid เป็นยาที่ถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ รวมทั้ง *E. coli* ด้วย แต่ยังไม่นำมาใช้กันไม่แพร่หลาย จึงทำให้การแพร่กระจายของยีนส์คือยายังมีน้อย สำหรับ norfloxacin และ ciprofloxacin ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม fluoroquinolones ปัจจุบันนี้ในเวชปฏิบัตินิยมใช้ยาในกลุ่มนี้ในการรักษาโรคติดเชื้อซึ่งเกิดจาก *E. coli* โดยเฉพาะ norfloxacin ซึ่งถือว่าเป็นยาที่มีฤทธิ์แรงมาก (highly potent) ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบทุกชนิด การศึกษาในครั้งนี้พบว่า *E. coli* คือยาดังกล่าว 29.7 และ 30.1% ซึ่งสูงกว่ารายงานในต่างประเทศที่พบเพียง 4.5% (Hryniewicz *et al.*, 2001) แต่พบว่ามีอัตราการคือยาดำกว่าเมื่อเทียบกับรายงานการคือยาของมยुरา และสุรางค์ (2546) ที่พบอัตราการคือยากลุ่มนี้สูงถึง 37-40% ทั้งนี้ น่าจะเป็น

ผลมาจากการบริหารจัดการในการเลือกใช้ยาที่เหมาะสม ตลอดจนการควบคุมระมัดระวังการใช้ยามากขึ้น

รายงานจากหลายประเทศแสดงให้เห็นว่าระดับการดื้อยาของเชื้อ *E. coli* แตกต่างกันไปในแต่ละประเทศ เช่น อังกฤษ เยอรมัน และฟินแลนด์ พบว่า *E. coli* ดื้อต่อยา ampicillin 50, 40 และ 30% ตามลำดับ ในขณะที่สหรัฐอเมริกา และแคนาดา ซึ่งรายงานผ่าน SENTRY Antimicrobial Surveillance Program Report พบการดื้อยา 43% (Orenstein and Wong., 1999; Zhanel *et al.*, 2000; Felmingham and Arakawa, 2001; Hryniewicz *et al.*, 2001) สำหรับประเทศไทย ผลจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเชื้อ *E. coli* ดื้อต่อยา ampicillin สูงถึง 67.4% ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาในประเทศที่ผ่านมา (มยุรา และสุรางค์, 2546) สำหรับ amikacin และ amoxicillin-clavulanate พบว่า เชื้อยังคงไวต่อ ยา ดังจะเห็นได้จากผลการศึกษาในครั้งนี้ พบเชื้อเพียง 2.5 และ 5.1% ดื้อต่อยาดังกล่าว ซึ่งสาเหตุที่เชื้อยังคงไวต่อยาอาจเนื่องมาจาก การดื้อยาที่เกิดขึ้นกับ amikacin เป็นการดื้อยาที่เพิ่งปรากฏขึ้น และยังไม่แพร่ไปไม่ไกล (นลินี, 2538) ซึ่งถูกควบคุมทางพันธุกรรมโดยเป็นยีนส์ที่พบในความชุกต่ำมาก นอกจากนี้ยา amikacin ยังมีสูตรโครงสร้างที่ป้องกันการดื้อยาโดยการทำลายด้วยเอนไซม์มากกว่ายาตัวอื่น จึงทำให้เชื้อส่วนใหญ่ยังคงไวต่อยาชนิดนี้ เช่นเดียวกับ amoxicillin-clavulanate โดยพบว่าสาเหตุที่เชื้อไวต่อยานอกจากจะเกิดจากการดื้อยาที่แพร่ไปไม่ไกลแล้ว ยังพบว่ามีสาเหตุมาจากขอบข่ายการออกฤทธิ์ของยาซึ่งมีฤทธิ์ค่อนข้างแคบ (มาลิน, 2532) และผลของ clavulanate ที่ทำหน้าที่ยับยั้งเอนไซม์ β -lactamase ด้วย การดื้อยานี้จะถูกควบคุมทางพันธุกรรมโดยยีนส์ประเภทเดี่ยว ซึ่งอยู่บน plasmid ชนิดเดี่ยว ซึ่งเป็นแบบ nontransmissible และแพร่กระจายไปในวงจำกัด นอกจากนี้จากการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่า *E. coli* ที่นำมาศึกษาคือต่อยาร่วมกัน 2 ชนิด คือ sulphamethoxazole และ trimethoprim ซึ่งถูกนำมาใช้ร่วมกันอย่างแพร่หลายภายใต้ชื่อ co-trimoxazole ในอัตราที่สูงถึง 62.7% ซึ่งในหลายๆ ประเทศก็มีรายงานการดื้อยา sulphamethoxazole-trimethoprim เช่น ในประเทศแอมะซอน พบว่าเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากผู้ป่วยใน และผู้ป่วยนอกของโรงพยาบาลมีอัตราการดื้อยาดังกล่าวสูง ถึง 70.9 และ 72.8% ตามลำดับ (Piéboji *et al.*, 2004) สอดคล้องกับรายงานในประเทศไทยซึ่งได้มีการนำเอายา sulphamethoxazole และ trimethoprim มาใช้ร่วมกันในการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อ *E. coli* เช่นเดียวกัน ดังรายงานการศึกษาการดื้อยาของเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากผู้ป่วยในและผู้ป่วยนอกของโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ในช่วงเดือน มกราคมถึงธันวาคม พ.ศ. 2530 พบว่าเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากผู้ป่วยในและผู้ป่วยนอกคือต่อยาดังกล่าวถึง 44.39 และ 39.1% (พอพิศ และคณะ, 2530) และจากการเฝ้าระวังการดื้อยาของโรคติดเชื้อทางเดินปัสสาวะในประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2541-2543 พบว่าเชื้อ *E. coli* มีอัตราการดื้อยา co-trimoxazole 72-80% (มยุรา และสุรางค์, 2546) จะเห็นได้ว่าอัตราการดื้อยาดัง

กล่าวของคอนสุภาพดี และผู้ป่วยใน และผู้ป่วยนอกไม่มีความแตกต่างกัน เช่นเดียวกับรายงานของ Hryniewicz และคณะ (2001) ก็พบว่าอัตราการดื้อต่อยาดังกล่าวของคนในชุมชนเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยก็ไม่มี ความแตกต่างกันด้วยเช่นกัน

สำหรับยา kanamycin และ gentamicin ในการศึกษาที่พบอัตราการดื้อต่อยาดังกล่าวค่อนข้างต่ำ (17.8 และ 10.6%) ทั้งๆ ที่ยานี้เป็นที่นิยมใช้กันมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2526 แต่กลับพบการดื้อยา tetracycline และ sulphamethoxazole มากที่สุดคือ 80.9 และ 76.7% ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาในประเทศที่ผ่านมา (ลีลม และคณะ, 2531; Jungthirpanich *et al.*, 2000) และสูงกว่ารายงานในต่างประเทศ เช่น ในแคนาดา และ จาไมก้า พบเพียง 33.3, 43.8% และ 9.0, 7.0% ตามลำดับ (Maynard *et al.*, 2004; Miles *et al.*, 2006) โดยเฉพาะ tetracycline จะเห็นได้ว่าอัตราการดื้อต่อยา tetracycline นั้นค่อนข้างสูงกว่ายาชนิดอื่นทั้งนี้อาจเป็นเพราะยาชนิดนี้นำเข้ามาใช้ก่อนยาอื่น หาซื้อรับประทานได้ง่าย นอกจากนี้การดื้อต่อยา tetracycline มีลักษณะการดื้อยาแบบ active efflux ซึ่งเป็นกลไกการขับยาออกจากเซลล์โดยอาศัยพลังงาน ซึ่งแบคทีเรียหลายชนิดรวมทั้ง *E. coli* มีการดื้อยาแบบนี้ โดยอาศัยยีนส์ที่เรียกว่า ยีนส์ *tet* ซึ่งถูกควบคุมทางพันธุกรรมโดย plasmid และสามารถถ่ายทอดโดยวิธี conjugation ได้ (Jamieson *et al.*, 1979) นอกจากนี้เชื้ออื่นๆ ก็ดื้อต่อยาทั้งสองในระดับสูงมากเช่นกัน แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพของ tetracycline และ sulphamethoxazole ที่เคยใช้ในการรักษาการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะในอดีตมีประสิทธิภาพน้อยลงมากไม่เหมาะสมที่จะใช้เป็นยาเบื้องต้นในการรักษาการติดเชื้อที่เกิดจาก *E. coli*

3. การดื้อยาหลายชนิด และแบบแผนการดื้อยาของเชื้อ *E. coli*

จากการทดสอบความไวของเชื้อ *E. coli* ต่อยาต้านจุลินทรีย์ 12 ชนิด พบว่า เชื้อมีการดื้อยาตั้งแต่ 1 ถึง 10 ชนิด เชื้อส่วนใหญ่มีการดื้อต่อยาต้านจุลินทรีย์ร่วมกันหลายชนิด (multiple drugs resistance; MDR) คิดเป็น 87.7% ซึ่งพบว่าดื้อต่อยา 5 ชนิดมากที่สุด 25.4% รองลงมาคือดื้อยา 8 ชนิด (11.0%) บางสายพันธุ์พบว่าดื้อยามากถึง 10 ชนิด ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานการศึกษาการดื้อยาของเชื้อ *E. coli* ในประเทศไทยโดย อรอนงค์ และคณะ (2546) พบว่า เชื้อ *E. coli* มากกว่า 70% มีการดื้อต่อยาแบบ MDR โดยดื้อต่อยา 4 ชนิดมากที่สุด (28.6%) รองลงมาคือ ดื้อยา 3 ชนิด (23.2%) ดื้อยา 5 ชนิด (15.2%) และดื้อยามากที่สุดที่จำนวน 8 ชนิด ซึ่งก็สอดคล้องกับรายงานในประเทศตุรกี โดย Kurutepe และคณะ (2005) พบว่าเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากระบบทางเดินอาหารของชาวตุรกี มีการดื้อต่อยาต้านจุลินทรีย์สูงสุด 8 ชนิด เช่นเดียวกัน โดยเฉพาะยา sulphamethoxazole-trimethoprim และ ampicillin พบว่าเชื้อมักมีการดื้อต่อยาดังกล่าวรวมอยู่ด้วย รายงานในประเทศชู

ดาน พบว่า 39% ของเชื้อ *E. coli* คือยาร่วมกัน 6 ชนิด และ 80% คือยาร่วมกันอย่างน้อย 4 ชนิด (Shears *et al.*, 1998)

นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาในประเทศเม็กซิโก พบว่าเชื้อ *E. coli* มีการคือยาร่วมกัน 2 ชนิดมากที่สุด รองลงมาคือ คือยา 3, 4, 5 และ 6 ชนิด คิดเป็น 32.3, 28.1, 23.8, 3.5 และ 0.8% ตามลำดับ (Calva *et al.*, 1996) อัตราการคือยาที่เกิดขึ้นของเชื้อ *E. coli* มีการพัฒนาความสามารถในการคือยาเพิ่มมากขึ้น ดังจะเห็นได้จากรายงานการศึกษาคือยาของเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากอุจจาระของอาสาสมัครสุขภาพดีในประเทศไนจีเรียในปี ค.ศ. 1996-1998 พบว่า เชื้อ *E. coli* มีการพัฒนาความสามารถในการคือยาเพิ่มมากขึ้น จากเดิมที่เชื้อมีการคือยาร่วมกันจำนวน 3 และ 6 ชนิด เพียง 30.2 และ 1.6% ในปี ค.ศ. 1986 ต่อมาเพิ่มเป็น 70.5 และ 15.9% ในปี ค.ศ. 1998 ตามลำดับ (Okeke *et al.*, 2000)

สำหรับแบบแผนการคือยาของเชื้อ *E. coli* พบว่า เชื้อส่วนใหญ่มีแบบแผนการคือต่อยาต้านจุลินทรีย์ร่วมกันหลายชนิด ซึ่งพบแบบแผนการคือยาทั้งหมด 52 แบบแผน โดยแบบแผนที่พบมากที่สุดคือ sulphamethoxazole, sulphamethoxazole-trimethoprim, ampicillin, tetracycline และ streptomycin (21.2%) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานในประเทศอินเดีย ที่เชื้อ *E. coli* ส่วนใหญ่ (75%) คือต่อยาต้านจุลินทรีย์หลายชนิดเช่นเดียวกัน โดยเฉพาะ sulphamethoxazole-trimethoprim และ ampicillin ซึ่งเชื้อคือยาแบบ MDR ส่วนใหญ่คือยา 2 ชนิดนี้ (Mathai *et al.*, 2004) Bartoloni และคณะ (1998) ศึกษาเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากเด็กที่มีสุขภาพดีในประเทศโบลีเวีย พบว่ามีเด็ก 63.0% ที่มีเชื้อ *E. coli* ที่คือต่อยา ampicillin, sulphamethoxazole-trimethoprim, ampicillin และ chloramphenicol เมื่อศึกษาถึงการใช้ยาในประเทศนี้ ก็พบว่ามีการใช้ยาต้านจุลินทรีย์ที่ไม่เหมาะสมในผู้ใหญ่ และเด็กที่มีอาการอุจจาระร่วงถึง 92 และ 40% ตามลำดับ

เมื่อวิเคราะห์จากการศึกษาในหลายๆ ประเทศตลอดจนการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่าเชื้อ *E. coli* ส่วนใหญ่มีการคือยามากกว่า 1 ชนิดเพิ่มมากขึ้น ปัจจุบันมีการนำเอายามาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *E. coli* ร่วมกันหลายชนิด โดยขาดทักษะ ความรู้ และความชำนาญอย่างเพียงพอ หรืออาจมาจากการขาดการควบคุมคุณภาพของยา สาเหตุต่างๆ เหล่านี้ล้วนส่งผลต่ออัตราการคือยาที่เพิ่มขึ้นของเชื้อนั่นเอง (Piéboji *et al.*, 2004) จากการศึกษาแบบแผนความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลินทรีย์ในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *E. coli* มีปัญหาการคือยาในระดับที่สูงหากเชื้อเหล่านี้แพร่กระจายไปในชุมชน และทำให้เกิดการติดเชื้อจะทำให้เกิดปัญหาในการรักษาถ้าให้ยาต้านจุลินทรีย์ไม่ตรงกับความไวของเชื้อแล้ว อาจทำให้มีอาการของโรครุนแรงขึ้น และยังส่งผลต่อระยะเวลาในการรักษานานยิ่งขึ้น เพราะฉะนั้นการแก้ปัญหาโดยการให้ยาต้านจุลินทรีย์ใหม่ๆ จึงยังเป็นการแก้ปัญหาที่ปลายเหตุ ควรจะต้องมีการปรับปรุงแก้ไขเรื่องการให้ความรู้แก่บุคลากร

ด้านการแพทย์และประชาชน การเฝ้าระวัง และมีข้อมูลการดื้อยาในเชื้อประจำถิ่น และทั้งที่เป็นการติดเชื้อในชุมชนและการติดเชื้อในโรงพยาบาล การพัฒนาการวินิจฉัยเชื้อ การกำหนดนโยบายด้านยา การควบคุมการใช้ยาในภาคเกษตรกรรม และมาตรการการป้องกันการติดเชื้อ (Smith and Coast, 2002)

4. การศึกษา class 1 integron ในเชื้อ *E. coli*

ผลจากการตรวจหา class 1 integron โดยไซยีนส์เป้าหมาย คือ *qacEΔ1(Q)*, *intI1(I)* และ *sul1(S)* พบรูปแบบยีนส์ทั้งหมด 5 รูปแบบ แต่ละรูปแบบประกอบด้วยยีนส์แตกต่างกัน ซึ่งในการศึกษานี้เป็นการศึกษาในเชื้อ *E. coli* ที่เป็นเชื้อประจำถิ่นในลำไส้ที่แยกจากอาสาสมัครสุขภาพดีที่ไม่ได้สัมผัสยาปฏิชีวนะมาเป็นเวลา 1 เดือน และจากผู้ป่วยนอกที่มารับการรักษาในโรงพยาบาลด้วยปัญหาในระบบทางเดินอาหาร สามารถตรวจพบ class 1 integron ในเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากอาสาสมัครที่สุขภาพดี 16.8% ซึ่งสูงกว่ารายงานของ Skurnik และคณะ (2005) ที่ตรวจพบ class 1 integron ในอาสาสมัครสุขภาพดีชาวฝรั่งเศส โดยตรวจพบ class 1 integron เพียง 11% เช่นเดียวกับในประเทศเนเธอร์แลนด์ Schmitz และคณะ (2001) ตรวจพบ class 1 integron ในผู้ป่วยนอกที่มีอาการผิดปกติอย่างเดียวกันจำนวน 8% ซึ่งถือว่าน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยในซึ่งพบถึง 82% สาเหตุที่พบ class 1 integron น้อยกว่าอาจเนื่องมาจากในประเทศฝรั่งเศส และเนเธอร์แลนด์ มีการควบคุมการใช้ยาปฏิชีวนะที่เข้มงวดกว่าในประเทศไทย ผลการศึกษาในครั้งนี้ยืนยันให้เห็นว่า integron สามารถที่จะอยู่ในแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ได้ แม้ว่าอาสาสมัครจะไม่ได้รับประทานยาปฏิชีวนะมาเป็นเวลาอย่างน้อย 1 เดือน เชื้อเหล่านี้จึงเป็นแหล่งของยีนส์ดื้อยาที่อาจถ่ายทอดไปยังเชื้อก่อโรคได้ และอาจแพร่กระจายในสิ่งแวดล้อมถ้าหากมีการสาธารณสุขที่ไม่ดี นอกจากนี้ยังตรวจพบ integron ในเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยนอกในอัตราที่สูงกว่าที่พบในเชื้อจากอาสาสมัครสุขภาพดีอย่างมีนัยสำคัญ อัตราที่พบนี้อยู่ในช่วงเดียวกับที่พบใน *E. coli* ที่แยกได้จากคนไข้ในของโรงพยาบาล (22-59%) ซึ่งได้รับยาปฏิชีวนะมากกว่าในอาสาสมัครสุขภาพดี (Sallen *et al.*, 1995; Maguire *et al.*, 2001) การได้รับยาปฏิชีวนะเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้ความชุกของ integron เพิ่มขึ้น และเชื้อที่มี class 1 integron เป็นเชื้อที่ดื้อยา อย่างไรก็ตามในการศึกษา class 1 integron ของผู้วิจัยแต่ละกลุ่มใช้ primer และยีนส์เป้าหมายที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 3) อาจทำให้การเปรียบเทียบผลคลาดเคลื่อนได้ เช่น ผลจากการศึกษาในครั้งนี้ถ้าพิจารณาเฉพาะยีนส์ *intI1* จะพบว่าสามารถตรวจพบได้ในกลุ่มอาสาสมัครสุขภาพดี 35.7% และในกลุ่มผู้ป่วยนอกสูงมากถึง 63.4%

ในการศึกษานี้ยังพบว่า *E. coli* ที่มี integron มีอัตราการดื้อยา 97.3% ซึ่งสูงกว่าในกลุ่มที่ไม่มี integron อย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า class 1 integron นั้นเกี่ยวข้องกับการ

ดื้อยา ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ (Boyd *et al.*, 2000; Boyd *et al.*, 2001; Yu, *et al.*, 2003; Reyes, *et al.*, 2003; Mathai, *et al.*, 2004; Nijssen 2005) ดังนั้นการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างเหมาะสม และการสาธารณสุขที่ดีจะช่วยลดปัญหาการดื้อยาได้

5. การศึกษาแบบแผนการดื้อยาในเชื้อ *E. coli* ที่มีและไม่มี class 1 integron

การที่ class 1 integron สามารถที่จะจับกับยีนส์ดื้อยาเกือบทุกชนิด เช่น β -lactams, aminoglycosides, phenicols, sulphonamides, macrolides, rifampicins และ trimethoprim (Lévésqué *et al.*, 1995; White *et al.*, 2001) แล้วนำมาสอดแทรกเข้าไปใน gene cassette และมีการแสดงออกของยีนส์ดื้อยานั้นทำให้เชื้อที่มี class 1 integron มีการดื้อยาแบบ MDR และ integron นี้สามารถถ่ายทอดไปยังแบคทีเรียชนิดอื่นได้ทั้งหมด (Cantón *et al.*, 2003) ทำให้มีการแพร่กระจายการดื้อยาแบบ MDR ได้อย่างกว้างขวาง

จากการศึกษาแบบแผนการดื้อยาในเชื้อ *E. coli* ที่มีและไม่มี class 1 integron ในครั้งนี้พบว่าเชื้อทั้ง 2 กลุ่มมีแบบแผนการดื้อยาทั้งหมด 52 แบบแผน และมีการดื้อยามากที่สุด 10 ชนิด แบ่งเป็น class 1 integron-positive และ integron-negative 25 และ 37 แบบแผน พบแบบแผนการดื้อยาที่เหมือนกันจำนวน 10 แบบแผน โดยมีการดื้อยามากที่สุด 8 ชนิด แบบแผนการดื้อยาที่พบส่วนใหญ่จะเป็นการดื้อยาแบบ MDR แบบแผนที่มีการดื้อยาร่วมกันมากที่สุดในกลุ่มที่มีและไม่มี class 1 integron คือ sulphamethoxazole, sulphamethoxazole-trimethoprim, ampicillin, tetracycline และ streptomycin คิดเป็น 21.2% สอดคล้องกับรายงานของ Leverstein-van Hall และคณะ (2002) ที่พบว่าเชื้อ *E. coli* ที่ให้ผลการทดสอบ class 1 integron-positive มักมีการดื้อยาแบบ MDR เช่นเดียวกันโดยทำการตรวจหา class 1 integron ในเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่างอุจจาระ พบเชื้อชนิดต่างๆ ได้แก่ *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *C. freundii*, *P. mirabilis*, *E. aerogenes* และ *S. marcescens* จำนวนทั้งสิ้น 312 isolates โดยตรวจพบเชื้อ *E. coli* มากที่สุด คือ 122 isolates และมีแบบแผนการดื้อยามากที่สุดคือ 14 แบบแผน ซึ่งแบบแผนที่พบมากที่สุดคือ sulphamethoxazole, trimethoprim และ ampicillin และพบว่าไม่มีเชื้อตัวใดเลยที่ไม่มีดื้อยา ในขณะที่เชื้อที่ให้ผลการทดสอบ class 1 integron-negative มีแบบแผนการดื้อยาเพียง 10 แบบแผน และมีเชื้อที่ไม่ดื้อต่อยาชนิดใดเลยถึง 45 isolates สอดคล้องกับรายงานของ Mathai และคณะ (2004) รายงานว่า พบ *E. coli* ที่มี class 1 integron 36.2% ดื้อยา ampicillin, nalidixic acid, chloramphenicol, tetracycline และ gentamicin มากกว่ากลุ่มที่ไม่มี integron อย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่า class 1 integron น่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับแบบแผนการดื้อยาของเชื้อทั้งนี้เนื่องจาก class 1 integron ของเชื้อ *E. coli* ซึ่งเป็น genetic element ที่สามารถจับกับยีนส์ดื้อยาแปลกล้อมและนำยีนส์ดื้อยานั้นสอดแทรกเข้าไปอยู่

เป็นส่วนหนึ่งของ chromosome (Barlow *et al.*, 2004) จากนั้นก็จะส่งผลให้เกิดการแสดงออกของ ยีนส์คือยาที่สอดแทรกเข้าไป ซึ่งในการทดลองนี้ใช้ยีนส์เป้าหมายคือ *qacEΔ1 intI1* และ *sul1* ซึ่ง ยีนส์ดังกล่าวมีลักษณะทาง phenotype ดังนี้ คือ quaternary ammonium compound, integrase gene และ sulphamethoxazole resistance gene ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าเชื้อบางสายพันธุ์ที่ตรวจไม่พบ class 1 integron คือต่อยา sulphamethoxazole และ co-trimoxazole อาจเป็นไปได้ว่าเชื้อเหล่านี้อาจมี *sul*-gene ชนิดอื่น ที่ทำให้คือต่อยา กลุ่ม sulphonamides ดังเช่น รายงานของ Infante และคณะ (2005) ตรวจพบ *sul*-genes ชนิดใดชนิดหนึ่ง (*sul1*, *sul2* และ *sul3*) ใน commensal *E. coli* ที่แยกได้จากเด็ก ที่มีสุขภาพดีในประเทศโบลิเวียสูงถึง 95% และ Guerra และคณะ (2003) ตรวจพบว่า *E. coli* ที่แยก ได้จากสัตว์มี integron ที่มี *dfrA12-aadA2* คือยา streptomycin, spectinomycin รวมทั้ง sulphamethoxazole กับ co-trimoxazole ด้วย ทั้งๆ ที่ตรวจไม่พบ *qacEΔ1* และ *sul1* gene แต่พบ *sul3* gene นอกจากนี้ Sunde (2005) พบว่าประมาณ 1 ใน 3 ของเชื้อที่มี class 1 integron ที่ทำการ ศึกษาไม่มี *sul1* ดังนั้นจึงแนะนำให้ตรวจหา class 1 integron ในเบื้องต้นโดยการตรวจหา integrase gene ก่อน ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ตรวจพบเชื้อที่มี *intI1* ถึง 162 isolates จากเชื้อทั้งหมด 318 isolates (50.1%)

รายงานการศึกษาความสัมพันธ์ของ class 1 integron กับแบบแผนการคือยาในหลาย ประเทศ เช่น รายงานของ Yu และคณะ (2003) พบว่า gene cassettes ที่พบใน class 1 integron ของ เชื้อ *E. coli* ที่แยกได้ในประเทศเกาหลีมีการเปลี่ยนแปลงยีนส์คือยาอย่างต่อเนื่อง และยังคงพบตรวจ พบ gene cassettes ของ class 1 integron ที่เพิ่มขึ้นด้วยทำให้เชื่อมีการคือยาเพิ่มมากขึ้น เช่นเดียวกับ รายงานของ Reyes และคณะ (2003) ที่ทำการศึกษาความชุกของ class 1 integron ในเชื้อกลุ่ม Enterobacteriaceae โดยเฉพาะเชื้อ *E. coli* พบว่ามี class 1 integron 40% และเชื่อมีการคือยาดังแต่ 6-8 ชนิด ซึ่งสาเหตุหนึ่งอาจมาจากการได้รับ gene cassette ใหม่เพิ่มเข้าไปส่งผลให้รูปแบบการคือ ยาต่างไปจากเดิม อย่างไรก็ตามกลับพบว่า มีเชื้อจำนวน 2 isolates ที่แม้จะให้ผลการทดสอบ class 1 integron-positive แต่กลับไม่มีการคือต่อด้านจุลินทรีย์ชนิดใดเลย อาจเป็นไปได้ว่ายีนส์ในเชื้อ 2 isolates นี้มีความสามารถในการแสดงออกของยีนส์ต่ำ Zhao และคณะ (2001, 2003) พบว่า *E. coli* และ *S. enterica* serotype Newport ที่มี *aadA* gene cassettes (ควบคุมการคือยา aminoglycosides) อยู่ใน integron ไวต่อยา streptomycin เช่นเดียวกับที่ Sunde (2005) พบ นอกจากนี้ยังพบอีกว่า *catB2* cassettes มีการแสดงออกในระดับความเข้มข้นของยา chloramphenicol ที่ต่ำกว่า MIC breakpoint ที่จะประเมินว่าคือยา chloramphenicol การแสดงออกของยีนส์ขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น การที่ integron อยู่บน plasmid ที่มี high-copy number หรือไม่ และตำแหน่งของ promoter ด้วย

Lévésqué และคณะ (1994) พบว่ามี integron promoter หลายชุดอยู่ที่ 5' conserved segment ของ integron ซึ่งทำให้ความแข็งแรงของ promoter แตกต่างกันไป และการที่ integron ได้รับ gene cassette เข้ามามากกว่า 1 cassette ก็มีผลต่อการแสดงออกของยีนส์เช่นเดียวกัน โดยเฉพาะถ้า gene cassette นั้นอยู่ใกล้กับ 3' conserved segment ดังนั้น Guerra และคณะ (2003) จึงเสนอแนะให้มีการกำหนดค่า MIC ที่จะแปลผลว่าเชื้อดื้อยาใหม่ ในกรณีที่ยีนส์อยู่ใน integrons ในการศึกษาครั้งนี้ใช้วิธี standard disk diffusion ในการประเมินการดื้อยา ซึ่งอาจทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนได้มากกว่าวิธีการหาค่า MIC แต่ที่เลือกใช้เพราะเป็นวิธีที่ทำได้ง่ายและประหยัดมากกว่าในทำนองเดียวกัน Martinez-Freijo และคณะ (1998) พบว่าเชื้อบางสายพันธุ์ที่แม้จะดื้อต่อยาต้าน จุลินทรีย์แต่กลับไม่พบ class 1 integron ซึ่งสาเหตุดังกล่าวอาจเนื่องมาจากหลายปัจจัย ได้แก่ การขาดหายไปของ PCR product โดยอาจเกิดความผิดพลาดในขั้นตอนการสกัด DNA ทำให้ไม่สามารถเพิ่มจำนวน PCR product ได้ หรือ เกิดจากการไม่เข้าคู่กันของ primer กับ conserved segment ของ class 1 integron ในขั้นตอนการทำ PCR ซึ่งสาเหตุดังกล่าวนี้มักพบได้บ่อยในอดีตที่ผ่านมา ส่งผลให้การทดลองที่ได้ผิดพลาดไปหรือเกิด false-negative นั่นเอง (Sunde, 2005)

การศึกษา Class 1 integron และแบบแผนการดื้อยาของเชื้อ *E. coli* ในครั้งนี้จึงน่าจะเป็นประโยชน์ช่วยให้ทราบแนวโน้มการดื้อยาที่จะเกิดขึ้นต่อไปในอนาคตเพื่อจะได้หามาตรการต่างๆ มาป้องกันและสามารถเลือกใช้ยาที่เหมาะสมต่อการรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อ *E. coli* ตลอดจนเชื้อก่อโรคตัวอื่นที่เชื้อ *E. coli* ถ่ายทอดยีนส์ดื้อยาไปให้ได้ทันทั่วถึง ดังนั้นจึงควรที่จะศึกษาลึกลงไปถึงชนิดของ gene cassette ในเชื้อที่ตรวจพบ integron ต่อไปในอนาคต