

บทความวิจัย

การสำรวจความชุกของเชื้อสแตปไฟโลคอคคัสออเรียสที่ดื้อยาเมธิซิลลิน ในพื้นที่โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล บ้านบางคู จังหวัดนครศรีธรรมราช Survey of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Area of Tambon Health Promoting Hospital, Ban-Bangkoo, Nakhon Si Thammarat

มณฑล เลิศคณาวณิชกุล^{1*} พวงทิพย์ ภู่งพงษ์²
Monthon Lertcanawanichakul^{1*} Phuangthip Bhoopong²

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเชิงพรรณนาเพื่อหาความชุกของเชื้อเอ็มอาร์เอสเอในพื้นที่โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลบ้านบางคู จังหวัดนครศรีธรรมราช ในตัวอย่างโพรงจมูก ฝ่ามือของประชาชน จำนวน 79 คน ด้วยการเพาะเชื้อลงในจานเพาะเชื้อแมนนิทอลซอลท์ผสมยาออกซาซิลลิน ความเข้มข้น 6 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร ปรากฏว่าตรวจพบเชื้อเอ็มอาร์เอสเอ คิดเป็นร้อยละ 46.9 % (37/79) โดยพบว่าเชื้อทุกไอโซเลทดื้อต่อออกซาซิลลินและไวต่ออะมิคาซิน และดื้อยาแบบหลายชนิดคิดเป็นร้อยละ 5.6-10.9 ดังนั้นควรป้องกันไม่ให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อเอ็มอาร์เอสเอในพื้นที่เพื่อป้องกันโรคที่เกิดจากการติดเชื้อเอ็มอาร์เอสเอ

คำสำคัญ: เซพ्टิอกซินิน เอ็มอาร์เอสเอ โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล

¹ Assoc. Prof. Dr., Division of Medical Technology, Biomedical Science Research Unit, School of Allied Health Sciences and Public Health, Walailak University, Nakhon Si Thammarat 80161

² Dr., Division of Medical Technology, Biomedical Science Research Unit, School of Allied Health Sciences and Public Health, Walailak University, Nakhon Si Thammarat 80161

* Corresponding author: Tel/Fax 075672104 / 075672106 E-mail: lmonthon@wu.ac.th

Abstract

This research is descriptive study to survey of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in area of Tambon Health Promoting Hospital Ban-Bangkoo, Nakhon Si Thammarat. The 79 samples were collected from nasal cavity and palm of people who live in Ban Bangkoo. All samples were investigated for MRSA by plating on mannitol salt agar (MSA) supplemented with 6 µg/ml of oxacillin. The results showed that the isolates of MRSA were detected from people in the percentage of 46.9 % (37/79). All MRSA isolates were resistant to oxacillin but susceptible to amikacin. It found that 5.6%-10.9% of the strains were multidrug-resistant. It should be aware the dispersion of MRSA in the area for preventing the MRSA infections.

Keywords: Cefoxitin, MRSA, Tambon Health Promoting Hospital

บทนำ

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) พบเป็นสาเหตุสำคัญของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล เรียกว่า health care-associated MRSA (HA-MRSA) ผู้ป่วยมักมีปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อ ได้แก่ การผ่าตัด การอยู่โรงพยาบาล หรือการใส่สายสวนเข้าในเส้นเลือด [1-4] MRSA เริ่มพบตั้งแต่ปี พ.ศ. 2504 ซึ่งคือตัวยาในกลุ่ม penicillinase-resistant penicillin โดยการผลิต penicillin binding protein 2' (PBP2') หรือ PBP2a ที่ถูกกำหนดด้วยยีน *mecA* ทำให้จับกับยาในกลุ่ม beta-lactam ทุกชนิดได้ไม่ดี เป็นผลให้ยาในกลุ่ม beta-lactam ออกฤทธิ์ไม่ได้ เชื้อ MRSA มักก่อให้เกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาลโดยร้อยละ 30 ถึง 60 ของ *S. aureus* ที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในโรงพยาบาลในประเทศไทยเป็น MRSA จากข้อมูลของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ที่ได้รับรวบรวมเชื้อและแบบแผนความไวของเชื้อแบคทีเรียจากโรงพยาบาลศูนย์และโรงพยาบาลทั่วไปทั่วประเทศกว่า 30 แห่ง ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2543-2548 พบว่าเชื้อ MRSA มีความชุกร้อยละ 35 ในปี พ.ศ. 2543 และความชุกค่อนข้างคงที่ในระหว่างร้อยละ 30-35 ในช่วง 5 ปี และคาดว่าจะมีอัตราสูงมากขึ้นในโรงพยาบาลที่มี MRSA ได้กลายเป็นเชื้อประจำถิ่น [5] และที่น่าสนใจมากกว่านั้นคือเริ่มมีรายงานการติดเชื้อ MRSA ในชุมชนตั้งแต่ปี พ.ศ. 2523 เรียกว่า community-acquired methicillin-resistant MRSA (CA-MRSA) ซึ่งเป็นการติดเชื้อนอกโรงพยาบาล โดยการติดเชืวดังกล่าวนั้นส่วนหนึ่งเกิดจากการแพร่กระจายของเชื้อ MRSA จากผู้ป่วยที่เคยอยู่ในโรงพยาบาลหรือบุคลากรการแพทย์ที่มีการเกาะรวมกลุ่ม (colonized) ของเชื้อ MRSA ที่ผู้ป่วยได้รับขณะอยู่ในโรงพยาบาลซึ่งสามารถคงอยู่ในผู้ป่วยรายนั้นได้นานหลายเดือน และแพร่กระจายไปยังบุคคลอื่นในครอบครัวได้ แต่เชื้อ MRSA สายพันธุ์เหล่านี้ยังไวต่อยาบางขนาน เช่น คลินดามัยซิน (clindamycin) โค-ไตรม็อกซาโซล (co-trimoxazole) เป็นต้น ส่วนเชื้อ MRSA ที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาลนอกจากจะต่อต่อยาในกลุ่ม beta-lactam ทุกชนิดแล้ว ยังต่อต่อยาอื่นด้วย เช่น อะมิโนกลัยโคไซด์ (aminoglycosides) แมโครไลด์ (macrolides) [6] การติดเชื้อ CA-MRSA มักพบในผู้ป่วยเด็กและส่วนใหญ่เป็นการติดเชื้อที่ผิวหนังและเนื้อเยื่อ เช่น เป็นฝีหรือผิวหนังอักเสบ บางรายอาจพบมีการติดเชื้อที่รุนแรง ได้แก่ ปอดอักเสบ หรือ necrotizing fasciitis นอกจากนี้อาจมีการติดเชื้อที่กระดูก และการติดเชื้อในกระแสเลือดที่รุนแรงและมีรายงานการเสียชีวิตด้วยการติดเชื้อ MRSA ในชุมชน [1-4, 6-9] อย่างไรก็ตามการติดเชื้อ CA-MRSA ของผู้ป่วยในประเทศไทยยังพบน้อยมากและยังไม่มีรายงานความชุกของ MRSA ในโรงพยาบาลระดับอื่นและโรงพยาบาลทั่วไปหรือชุมชน รวมถึงในบริเวณชุมชนรายรอบ ดังนั้นจึงได้สนใจหาความชุกของ MRSA รวมทั้งแบบแผนความไวของเชื้อดังกล่าวต่อยาปฏิชีวนะจากประชาชนในพื้นที่ รพสต.บ้านบางคู อำเภอนวม จังหวัดนครศรีธรรมราช เพื่อเป็นการเฝ้าระวังไม่ให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อรวมทั้งเป็นการป้องกันไม่ให้เกิดโรคติดเชื้อ MRSA ในชุมชนต่อไป

วัสดุและวิธีการ

โครงการนี้ได้รับเอกสารการรับรองโดยคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ เลขที่ 009 ปี พ.ศ. 2556 โดยมีระยะเวลาเข้าชุมชน ในเดือน เมษายน พ.ศ. 2556

1. แบคทีเรีย

S. aureus TISTR517 และ MRSA 334 ใช้เป็นแบคทีเรียควบคุมการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ ด้วยวิธี Kirby-Bauer สำหรับกลุ่มเชื้อที่ไวและดื้อต่อยาออกซาซิลลิน (oxacillin) ตามลำดับ

2. สารต้านจุลชีพ

ได้แก่ ผงยา oxacillin (Sigma-Aldrich, USA) และแผ่นยาต่างๆ (Oxoid, UK) ได้แก่ อะมิคาซิน (amikacin: AK30) คลินดามัยซิน (clindamycin: DA2) เซฟิออกซิทิน (cefotaxime: FOX30) ไนโตรฟลูแรนโตอิน (nitrofurantoin: F300) ออกซาซิลลิน (oxacillin: OX1) เพนิซิลลินจี (penicillin G: P10)

3. การตรวจหาเชื้อ MRSA จากพาหะ

ตรวจหาพาหะของเชื้อ MRSA ในประชาชน (พาหะ หมายถึง บุคคลที่มีเชื้อ MRSA เกาะติดโดยไม่แสดงอาการ) โดยเก็บตัวอย่างบริเวณโพรงจมูกส่วนหน้า และฝ่ามือทั้ง 2 ข้างของประชาชนในหมู่บ้านบางคู หมู่ที่ 3 พร้อมบุคคลในครอบครัวจำนวนรวม 79 คน โดยไม่แบ่งแยกเพศและวัย ด้วยการจุ่มไม้พันสำลีลงในน้ำเกลือ (0.85% NaCl) ไร้เชื้อ เขย่าไม้พันสำลีเล็กน้อย เพื่อให้ น้ำเกลือซึมทั่วไม้พันสำลี แล้วใช้ไม้พันสำลีนี้เช็ดบริเวณโพรงจมูกทั้ง 2 ข้าง 1 swab และฝ่ามือ 2 ข้าง 1 swab เช็ดค่อนข้างแรงแต่ไม่ถึงกับทำให้รู้สึกเจ็บ ประมาณ 5-10 ครั้งและหมุนก้านไม้ไปด้วย เพื่อให้ผิวสัมผัสของไม้พันสำลีได้ใช้ประโยชน์อย่างเต็มที่ จากนั้นป้ายลงบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง mannitol salt agar (MS) ที่เติม 6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (มค.ก./มล.) ของยา oxacillin (MSOX) จากนั้นนำไปบ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส (°ซ.) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ชม.) คัดเลือกโคโลนีสีเหลืองที่มีบริเวณรอบโคโลนีเป็นสีเหลืองจากจานเพาะเชื้อแต่ละจานๆ ละ 1 ไอโซเลท ไปศึกษาความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ

4. การทดสอบความไวของยาต้านจุลชีพอื่นๆ โดยวิธี Kirby-Bauer

สุ่มเลือกโคโลนีเดี่ยวในจานอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MSOX จากข้อ 3 (โคโลนีสีเหลืองที่มีบริเวณรอบโคโลนีเป็นสีเหลือง) จานละ 1 ไอโซเลท ไปย้อมสีแบบแกรม และทดสอบเอนไซม์ coagulase เพื่อยืนยันว่าเป็นเชื้อ *S. aureus*

เพาะเชื้อที่เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปกลมเรียงตัวเป็นกลุ่มและให้ผลบวกกับการทดสอบ coagulase บนจานเพาะเชื้อ Mueller Hinton agar (Difco) ที่ผสม 4 % NaCl และ oxacillin ความเข้มข้น 6 มค.ก. / มล. (MHOX) บ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35 °ซ. เป็นเวลา 24 ชั่วโมงหากปรากฏโคโลนีแสดงว่าเป็นเชื้อ MRSA นำไปทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพชนิดอื่น (ข้อ 2) ด้วยวิธี Kirby-Bauer และแปลผลตามเกณฑ์ของ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [10]

ผลการศึกษา

1. ผลการตรวจหาพาหะของเชื้อ MRSA

จากการตรวจหาพาหะ MRSA ด้วยการป้ายโพรงจมูกและฝ่ามือของประชาชนในพื้นที่ รพสต. บ้านบางคู จำนวน 79 คน ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MSOX พบว่าตรวจพบแบคทีเรียคือยา oxacillin จากกลุ่มประชาชนคิดเป็น 46.9% (37/79) โดยไอโซเลททั้งหมดให้ผลการย้อมสีแกรมเป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปกลมเรียงตัวเป็นกลุ่มและให้ผลการทดสอบบวกกับการทดสอบ coagulase ซึ่งสามารถยืนยันได้ว่าเป็นเชื้อ MRSA จึงเลือกนำไปทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะต่อไป

Thaksin.J., Vol.17 (2) July-December 2014

2. แบบแผนความไวของเชื้อ MRSA ต่อยาต้านจุลชีพ

เชื้อ MRSA ทั้งหมดที่ให้ผลบวกกับการทดสอบ coagulase สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHOX ซึ่งยืนยันได้ว่าเป็น MRSA จึงนำไปทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพอื่นด้วยวิธีของ Kirby-Bauer พบว่าเชื้อ MRSA ทั้งหมดต้องต่อยา oxacillin (100%), cefoxitin (100%) และไวต่อยา amikacin (100%) ดังแสดงในตารางที่ 1 และมีแบบแผนความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ 7 แบบ แบบที่พบมากที่สุดคือคือ oxacillin, penicillin G และ cefoxitin เท่ากับ 97 % (ตารางที่ 2) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ MRSA ที่แยกได้จากพาหะคือ clindamycin คิดเป็น 43.0 % (แบบที่ 2) ตามลำดับ และพบมีเชื้อ MRSA ที่แยกได้จากพาหะ 1 ไอโซเลทแสดงแบบแผนการคือยาหลายชนิดคิดเป็น 5.6-10.9 % (แบบที่ 6 และแบบที่ 7) ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ร้อยละ (%) การคือยาต้านจุลชีพของเชื้อ MRSA

แหล่ง	จำนวนเชื้อ MRSA	ร้อยละ (%) การคือต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ MRSA						
		AK3	C30	DA2	F300	FOX30	OX1	OP10
พาหะ	37	0	16	32	5	100	100	100

P10, penicillin G 10 ยูนิต; C30, chloramphenical 30 มค.น.; OX1, oxacillin 1 มค.น.; AK30, amikacin 30 มค.น.; F300, nitrofurantoin 300 มค.น.; DA, clindamycin 2 มค.น.; FOX; cefoxitin 30 มค.น.

ตารางที่ 2 แบบแผนความไวของเชื้อ MRSA ที่แยกได้จากพาหะต่อยาต้านจุลชีพ

	แบบแผนความไว							ร้อยละ
	AK30	C30	DA2	F300	FOX30	OX100	P10	
แบบที่ 1	S	S	S	S	R	R	R	97.0
แบบที่ 2	S	S	R	S	R	R	R	43.0
แบบที่ 3	S	S	S	S	R	R	R	22.0
แบบที่ 4	S	R	S	S	R	R	R	11.1
แบบที่ 5	S	S	S	S	R	R	S	5.6
แบบที่ 6	S	R	R	S	R	R	R	5.6
แบบที่ 7	S	R	R	R	R	R	R	10.9

MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; R, resistant; S, susceptible

วิจารณ์ผลการศึกษา

การศึกษาในครั้งนี้ได้เลือกใช้อาหารเลี้ยง MSOX เพื่อคัดเลือกเชื้อ MRSA จากพาหะในพื้นที่ รพสต.บ้านบางคู ซึ่งมีรายงานว่ามีความไวสูงถึง 90.7 % และมีความจำเพาะ 96.0 % [11] ในการคัดเลือกเชื้อกลุ่มดังกล่าว ซึ่งโคโลนีที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวจะให้ลักษณะโคโลนีสีเหลืองเปลี่ยนสีอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นสีเหลือง ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะโคโลนีที่คัดแยกได้จากพาหะในการศึกษานี้ และเลือกเฉพาะไอโซเลตที่ให้ผลการทดสอบเป็นบวกกับการทดสอบ coagulase ไปศึกษาแบบแผนความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ โดยมีรายงานว่าหากเป็นเชื้อ MRSA ในโรงพยาบาล (HA-MRSA) มักจะดื้อยาหลายชนิด [6] ส่วน CA-MRSA มักพบมีการดื้อยาขึ้นกับแบบแผนการใช้ยาปฏิชีวนะ [6-8] และมักพบมีความแตกต่างกันออกไปในแต่ละสายพันธุ์ที่แยกได้ในแต่ละส่วนของโลก [12] โดยพบว่ามักไม่ดื้อต่อ vancomycin, linezolid, clindamycin และ gentamycin แต่มักพบดื้อต่อ ciprofloxacin และ co-trimoxazole [13-14] แต่ในการศึกษานี้พบว่าเชื้อ MRSA ดื้อต่อ clindamycin และ chloramphenicol (ตารางที่ 1) ดังนั้นควรป้องกันไม่ให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อ MRSA ด้วยหลักสำคัญคือต้องหมั่นล้างมือให้สะอาดอยู่เสมอ รักษาความสะอาดของบาดแผลและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทำแผล และต้องหลีกเลี่ยงการสัมผัสบาดแผลหรือสิ่งปนเปื้อนของผู้ป่วย และควรมีคำแนะนำในการปฏิบัติตนต่อโรคติดเชื้อ MRSA ตามหลัก standard precaution เพื่อป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อ [15] ให้ได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

สรุปผลการศึกษา

เชื้อ *S. aureus* ที่แยกได้จากพาหะดื้อต่อ oxacillin, cefoxitin และ penicillin G แต่ไวต่อ amikacin (100%) นอกจากนี้บางไอโซเลตดื้อต่อ clindamycin และ chloramphenicol ซึ่งมีแบบแผนความไวต่อยาเหมือนกับ MRSA 334 ที่ใช้เป็นตัวควบคุมผลบวกในการทดสอบ แสดงให้เห็นว่าอาจจะมีพาหะของเชื้อ MRSA ในพื้นที่ รพสต. บ้านบางคู ดังนั้นจึงควรป้องกันไม่ให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อจนกลายเป็น CA-MRSA ด้วยหลักการของ standard precaution [15]

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากหน่วยวิจัยชีวเวชศาสตร์ สำนักวิชาสหเวชศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ขอขอบคุณคุณดารารัตน์ ปันวงศ์ ที่เตรียมอุปกรณ์และเอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- [1] Herold, B., Immergluck, L., Maranan, M., Lauderdale, D., Gaskin, R. and Boyle-Vavra S. (1998). Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children with no identified predisposing risk. *JAMA* 279, 593-598.
- [2] Lindenmayer, J.M., Schoenfeld, S., O'Grady, R. and Carney, J.K. (1998). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a high school wrestling team and the surrounding community. *Arch Intern Med.* 158, 895-899.
- [3] Gorak, E., Yamada, S. and Brown, J. (1999). Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitalized adults and children without known risk factors. *Clin Infect Dis.* 29, 797-800.

Thaksin.J., Vol.17 (2) July-December 2014

- [4] L'Héritau, F., Lucet, J.C., Scanvic, A. and Bouvet, E. (1999). Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and familial transmission. *JAMA* 282, 1038-1039.
- [5] ศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาแห่งชาติ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. **Antimicrobial susceptibility 2000.**
- [6] Thamlikitkul, V., Jintanothaitavorn, D., Sathitmathakul, R., Vaithayapiches, S., Trakulsomboon, S. and Danchaivijitr, S. (2001). Bacterial infections in hospitalized patients in Thailand 1997 & 2000. *J Med Assoc Thailand* 84, 666-672.
- [7] Chambers, H.F. (2001). The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? **Emerg Infect Dis.** 7, 178-182.
- [8] Shopsin, B. and Kreiswirth, B.N. (2001). Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Emerg Infect Dis.** 7, 323-326.
- [9] Shopsin, B., Mathema, B., Martinez, J., Ha, E., Campo, M.L. and Fierman, A. (2000). Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the community. *J Infect Dis.* 182, 359-362.
- [10] Wikler, M.A., Cockerill, F.R., Criag, W.A., Dudley, M.A., Eliospoulos, M.A., Hecht, D.W. et al. (2007). Performance standards for antimicrobial sensitivity testing: Seventeenth Informational Supplement. *CLSI* 26(3), 1-177.
- [11] Smyth, R.W., Kahlmeter, G., Liljequist, B.O. and Hoffman, B. (2001). Methods for identifying methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect.* 48: 103-107.
- [12] Chua, K., Laurent, F., Coombs, G., Grayson, M.L. and Howden, B.P. (2011) "Not community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA)! A clinicians guide to community MRSA-its evolving antimicrobial resistance and implications for therapy". *Clin Infect Dis.* 134, 281-294.
- [13] Mandelia, C., Shenoy, S. and Garg, Y. (2012). **Antibiotic sensitivity pattern of community associated-methicillin resistant *Staphylococcus aureus*.** *Rev Soc Brasil Med Trop.* 45, 418.
- [14] Lowy, F.D. (2003). Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest.* 111, 1265-1273.
- [15] Muto, C.A., Jernigan, J.A., Ostrowsky, B.R. (2003). **Guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus*.** *Infect Contr Hosp Epidem.* 24, 362-386.