โครงการวิจัยปีงบประมาณ พ.ศ. 2549

(สัญญาเลขที่ งป 045/2549)

รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ความชุกของเชื้อเอ็นเตอร์โรค็อคซัยที่ดื้อต่อยาแวนโคมัยซิน ในหอยแครง อาหารสัตว์ และเนื้อสัตว์ในประเทศไทย

(Prevalence of vancomycin-resistant enterococci in ark shell, animal Feeds, and raw meats in Thailand)

โดย

รศ.น.สพ.ดร. ธงชัย เฉลิมชัยกิจ

(ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

สพ.ญ. คนึงนิจ ก่อธรรมฤทธิ

(กองวิเคราะห์คุณภาพอาหารสัตว์

สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์)

นายส่งศักดิ์ ศรีสง่า และนางสาวกนกดล สิริวัฒนชัย

(ศูนย์ติดตามการดื้อยาของเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ คณะสัตวแพทยศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

มกราคม 2550

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง **ความชุกของเชื้อเอ็นเตอร์โรค็อคซัยที่ดื้อต่อยาแวนโคมัยซินในหอยแครง อาหารสัตว์ และเนื้อสัตว์ในประเทศไทย** (Prevalence of vancomycin-resistant enterococci in shellfish, animal feeds, and raw meats in Thailand) ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากเงินวิจัยงบประมาณแผ่นดินปีงบประมาณ พ.ศ. 2549 ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างยิ่งมา ณ โอกาสนี้ รวมทั้งเจ้าหน้าที่กองวิเคราะห์คุณภาพอาหารสัตว์ สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ รองศาสตราจารย์ น.สพ.ดร.สุพล เลื่องยศลือชากุล และผู้ช่วยศาสตราจารย์ น.สพ.ดร.สมศักดิ์ ภัคภิญโญ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาช่วยในการเก็บตัวอย่าง นางสาววรชา สิงห์สุวรรณ ที่กรุณาช่วยในการเก็บตัวอย่างและช่วยงานวิจัยในห้องปฏิบัติการของศูนย์ติดตามการดื้อยาของเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ (โดยความร่วมมือขององค์การอนามัยโลก) คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าข้อมูลจากการวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการเฝ้าระวังและวางแผนแก้ไขปัญหาเชื้อเอ็นเตอโรค็อคซัยที่ดื้อยาแวนโคมัยซินและการดื้อต่อยาด้านจุลชีพไม่มากก็น้อยต่อหน่วยงานของรัฐและเอกชนที่เกี่ยวข้อง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการ : **ความชุกของของเชื้อเอ็นเตอโรค็อคซัยที่ดื้อยาแวนโคมัยซินในหอยแครง อาหารสัตว์ และเนื้อสัตว์ในประเทศไทย**

ชื่อผู้วิจัย : ชงชัย เฉลิมชัยกิจ คนึงนิจ ก่อธรรมฤทธิ ส่งศักดิ์ ศรีสง่า และกนกกล สิริวัฒนชัย

เดือนและปีที่ทำวิจัยสำเร็จ : มกราคม 2550

บทคัดย่อ

ในระหว่างเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2548 ถึงกรกฎาคม พ.ศ. 2549 ได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างหอยแครง 376 ตัวอย่าง จากตลาดในจังหวัดสมุทรสาคร จังหวัดสุทรสงครามและกรุงเทพมหานคร ตัวอย่างเนื้อไก่ เนื้อสุกร และเนื้อโคชนิดตัวอย่างละ 100 ตัวอย่าง จากตลาดและซุปเปอร์มาร์เก็ตในกรุงเทพมหานคร ตัวอย่างอาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ดและชนิดเปียกบรรจุกระป๋องสำหรับสุนัข 107 ตัวอย่าง และสำหรับแมว 100 ตัวอย่าง รวมทั้งตัวอย่างอาหารสำเร็จรูปสำหรับไก่ 112 ตัวอย่าง และสำหรับสุกร 126 ตัวอย่าง พบความชุกของเชื้อเอ็นเตอโรค็อคซัยที่ดื้อยาแวนโคมัยซิน (MIC 8 μg/mL) ในตัวอย่างหอยแครง 6.6 % เนื้อไก่ 5 % เนื้อสุกร 3 % เนื้อโค 13 % อาหารสุนัข 0.93 % อาหารไก่ 0.89 % อาหารแมวและอาหารสุกร 0 % โดยในตัวอย่างหอยแครงพบว่าเป็นเชื้อ *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. gallinarum* และ *E. casseliflavus* จำนวน 15, 5, 3 และ 2 ตัวอย่าง ตามลำดับ ส่วนในตัวอย่างเนื้อไก่ เนื้อสุกร และเนื้อโคพบว่าเป็นเชื้อ *E. gallinarum*, *E. faecalis* และ *E. faecium* จำนวน 12, 7 และ 2 ตัวอย่าง ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างอาหารสุนัขและอาหารไก่พบว่าเป็นเชื้อ *E. gallinarum* ชนิดละหนึ่งตัวอย่าง ทั้งนี้มีเพียง *E. faecalis* 2 ตัวอย่างเท่านั้น (ที่แยกได้จากตัวอย่างเนื้อไก่ในซุปเปอร์มาร์เก็ต) ที่พบว่ามีค่า MIC ต่อยาแวนโคมัยซิน 32 μg/mL และจากผลการทดสอบความไวรับต่อยาไทโคพลานินสรุปได้ว่าเป็นชนิด *van*A เพียง 1 ตัวอย่าง ดังนั้น เชื้อเอ็นเตอโรค็อคซัยที่ดื้อยาแวนโคมัยซินในสิ่งแวดล้อม อาหารสัตว์และเนื้อสัตว์จึงไม่น่าจะเป็นปัญหาทางสาธารณสุขในประเทศไทย อย่างไรก็ดียาต้านจุลชีพอื่นๆ ที่ทดสอบโดยภาพรวมพบว่าเชื้อเอ็นเตอโรค็อคซัยดื้อต่อยาอิริโทรมัยซิน เตตร้าซัยคลิน และไทโลซินค่อนข้างสูง ดังนั้น ยังมีความจำเป็นต้องรณรงค์ในเรื่องการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างรอบคอบและเหมะสมต่อไปทั้งในคนและในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์

คำสำคัญ : เอ็นเตอร์โรค็อคซัย แวนโคมัยซิน เชื้อดื้อยา หอย อาหารสัตว์ เนื้อสัตว์

Project Title : **Prevalence of vancomycin-resistant enterococci in ark shell, animal feeds, and raw meats in Thailand**

Name of the Investigators : Thongchai Chalermchaikit, Kanungnit Korthammarit, Songsuk Srisgha, and Kanokdon Siriwattanachai

Year : January 2007

Abstract

During August 2005-July 2006, 376 samples of ark shell had been randomly collected from local-markets in Samutsakorn, Samutsongkram provinces and Bangkok. One-hundred samples each of chicken meat, pork and beef had been randomly collected from local-markets and supermarkets in Bangkok. As well as, 107 samples of commercial ready-to-eat feed for dog, 100 samples for cat, 112 samples for chicken and 126 samples for pig were tested for vancomycin-resistant enterococci (VRE). The results revealed that enterococci which had MIC 8 μg/mL to vancomycin were found in Ark-shell samples 6.6 %, chicken meat 5 %, pork 3 %, beef 13 %, dog feed 0.93 %, and chicken feed 0.89 %. None of VRE were found in cat and pig feed samples. *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. gallinarum*, and *E. casseliflavus* were identified from Ark-shell samples 15, 5, 3, and 2 samples, respectively. While in chicken meat, pork, and beef samples were found *E. gallinarum*, *E. faecalis*, and *E. faecium* 12, 7, and 2 samples, respectively. In dog and chicken feed samples, *E. gallinarum* was found one strain in each of sample group. In this study, only 2 samples of chicken meat collected from supermarkets had MIC 32 μg/mL to vancomycin which only 1 strain revealed *van*A type enterococci according to teicoplanin susceptibility test. The result from this study, it could be given the preliminary conclusion that VRE is not a public health threat in Thailand. However, the other antimicrobial susceptibility tests in this study revealed that the majority of VRE strains had shown high percentages of resistance to erythromycin, tetracycline, and tylosin. Therefore, the prudent use of antimicrobial in human and animal industries have to be continuing concerned.

Keywords : enterococci, vancomycin, drug resistant, ark shell, animal feed, meat

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	i
บทคัดย่อภาษาไทย	ii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ (abstracts)	iii
สารบัญ	iv
รายการตารางประกอบ	vi
รายการภาพประกอบ	viii
รายการสัญลักษณ์	ix
คำนำ	1
- ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ vancomycin-resitant enterococci (VRE) ในสัตว์และสิ่งแวดล้อม	3
- วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	6
- เป้าหมายของโครงการวิจัย	6
- ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากโครงการวิจัย	6
วิธีดำเนินการวิจัย	7
(1) ตัวอย่างที่จะตรวจหา VRE	7
(2) วิธีการแยกและพิสูจน์เชื้อ VRE	8
(3) การทดสอบความไวรับของเชื้อ (susceptibility test)	9
(4) การวินิจฉัยชนิด *van* ของเชื้อ glycopeptide-resistance *Enterococci*	9
(5) ขอบเขตของการวิจัย	10
ผลการวิจัย	11
- ความชุก (prevalence) ของเชื้อ VRE ในตัวอย่างหอยแครง เนื้อไก่ เนื้อสุกร เนื้อโค อาหารสุนัข อาหารแมว อาหารสุกร และอาหารไก่	11
- รูปแบบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ VRE	12
- การจำแนกชนิดของ *van* ของเชื้อ vancomycin-resistant enterococci โดยวิเคราะห์จากรูปแบบการดื้อยา	13

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิจารณ์ผลการวิจัย 13
- ปัญหาของเชื้อ VRE ในปัจจุบันควรให้ความตระหนักในส่วนใด 14
- รูปแบบการดื้อต่อยาด้านจุลชีพของเชื้อ VRE 14

สรุปผลการวิจัย 16

เอกสารอ้างอิง 28

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการตารางประกอบ

หน้า

ตารางที่ 1 ความชุกของ vancomycin-resistant enterococci (VRE) ในตัวอย่างต่างๆ ที่เก็บจากฟาร์มเลี้ยงไก่และโรงงานแปรรูปเนื้อไก่เพื่อการส่งออก (ข้อมูลจาก กลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์) 5

ตารางที่ 2 ยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการทดสอบการดื้อยาของเชื้อ vancomycin-resistant enterococci 9

ตารางที่ 3 ค่าความไวรับและดื้อต่อยาที่ทดสอบ (mg/L หรือ ppm) ตาม National Committee for Clinical Laboratory Standards 10

ตารางที่ 4 ความสามารถในการถ่ายทอดสายพันธุกรรมที่ดื้อยาของเชื้อ glycopeptide-resistant *Enterococcus* spp. โดยวิเคราะห์จากรูปแบบ (phenotypes) การดื้อต่อยา vancomycin และ teicoplanin 10

ตารางที่ 5 จำนวนชนิดของตัวอย่างที่ตรวจและผลการตรวจพบเชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) 17

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบความชุกของเชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) ที่แยก ได้จากตัวอย่าง**เนื้อไก่ เนื้อสุกร** และ**เนื้อโค** ที่ซื้อจากตลาดสดและซุปเปอร์มาร์เก็ตในเขตกรุงเทพมหานคร 17

ตารางที่ 7 จำนวนตัวอย่าง**หอยแครง**ที่ตรวจพบเชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) แยกตามเดือนที่เก็บตัวอย่าง 18

ตารางที่ 8 จำนวนตัวอย่าง**เนื้อไก่**ที่ตรวจพบเชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) แยกตามเดือนที่เก็บตัวอย่าง 18

ตารางที่ 9 จำนวนตัวอย่าง**เนื้อสุกร**ที่ตรวจพบเชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) แยกตามเดือนที่เก็บตัวอย่าง 19

ตารางที่ 10 จำนวนตัวอย่าง**เนื้อโค**ที่ตรวจพบเชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) แยกตามเดือนที่เก็บตัวอย่าง 19

ตารางที่ 11 จำนวนตัวอย่าง**อาหารสุนัข**ที่ตรวจพบเชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) แยกตามเดือนที่เก็บตัวอย่าง 20

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 12 จำนวนตัวอย่าง**อาหารไก่**ที่ตรวจพบเชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) แยกตามเดือนที่เก็บตัวอย่าง 20

ตารางที่ 13 เชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) แยกตาม spp. ซึ่งได้จากตัวอย่าง**หอยแครง** 21

ตารางที่ 14 เชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) แยกตาม spp.ซึ่งได้จากตัวอย่าง**เนื้อไก่ เนื้อสุกร เนื้อโค อาหารสุนัข** และ**อาหารไก่** 21

ตารางที่ 15 แสดงค่า MIC ของเชื้อ *Enterococcus* spp. 25 ตัวอย่างที่แยกได้จากตัวอย่าง**หอยแครง**ต่อยาต้านจุลชีพ 7 ชนิดที่ทดสอบ 22

ตารางที่ 16 แสดงค่า MIC ของเชื้อ *Enterococcus* spp. 21 สายพันธุ์ที่แยกได้จาก ตัวอย่าง**เนื้อสัตว์**และ**อาหารสัตว์**ต่อยาต้านจุลชีพ 7 ชนิดที่ทดสอบ 23

ตารางที่ 17 รูปแบบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ VRE (*E. faecium, E. faecalis, E. gallinarum* และ *E. casseliflavus*) ที่แยกได้จากตัวอย่าง**หอยแครง** 24

ตารางที่ 18 รูปแบบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ VRE ที่แยกได้จากตัวอย่าง**เนื้อไก่ เนื้อสุกร** และ**เนื้อโค** จำนวน 21 ตัวอย่าง จากจำนวนรวม 300 ตัวอย่าง 25

ตารางที่ 19 ชนิดของเชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) ที่พบในตัวอย่าง**หอยแครง เนื้อไก่ เนื้อสุกร เนื้อโค อาหารสุนัข**และ**อาหารไก่** โดยจำแนกความสามารถในการถ่ายทอดสายพันธุกรรมที่ดื้อยาของเชื้อจากการวิเคราะห์จากรูปแบบ (phenotypes) ของการดื้อต่อยา glycopeptides (vancomycin และ teicoplanin) 26

ตารางที่ 20 เปอร์เซ็นต์การดื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *E. faecalis*, *E.faecium* และ *Enterococcus* spp. อื่นๆ ที่แยกได้จากผู้ป่วยใน 32 โรงพยาบาลของเครือข่ายการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ กระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2541-2547 27

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการภาพประกอบ

หน้า

รูปที่ 1 เปอร์เซ็นต์การตรวจพบเชื้อ VRE ในผู้ป่วยในของโรงพยาบาลในเครือข่ายการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ ประจำปี 2541 และ 2542 3

รูปที่ 2 ระบาดวิทยาของ vancomycin-resistant enterococci (VRE) ซึ่งอาจเกิดจาก พาหะต่าง ๆ เช่น ผู้อมเชื้อ (carrier) ในชุมชนหรือในโรงพยาบาล และสุขศาสตร์ ที่ไม่เหมาะสมในโรงพยาบาล รวมทั้งจากสัตว์ในฟาร์ม อาหารที่ได้จากสัตว์ และอาจจะรวมทั้งสัตว์เลี้ยง 6

รูปที่ 3 เปอร์เซ็นต์การตรวจพบเชื้อ VRE ในผู้ป่วยในของโรงพยาบาลในเครือข่ายการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ ประจำปี 2541 ถึง 2547 26

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการสัญลักษณ์ (List of Symbols)

%	percentage
<	น้อยกว่า
>	มากกว่า
≥	เท่ากับหรือมากกว่า
AM	ampicillin
BEA agar	bile esculin azide agar
BHI agar	brain-heart infusion agar
CP	chloramphenicol
EM	erythromycin
KF	Kenner fecal Streptococcal broth
mg/L	miligram per millilitre
MIC	minimal inhibiton concentration
MRSA	methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*
^{o}C	degree Celcius
ppm	part per million
TC	tetracycline
TN	teicoplanin
TS	tylosin
TSA	tryptic soy agar
VC	vancomycin
VISA	vancomycin-intermediate resistant *Staphylococcus aureus*
VRE	vancomycin-resistant enterococci
VRSA	vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*
µg/mL	microgram per millilitre

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำนำ

Enterococcus spp. เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม (cocci) เรียงตัวอยู่เดี่ยวๆ เป็นคู่หรือเป็นสายสั้นๆ สามารถพบได้ตามธรรมชาติ (Normal flora) ในทางเดินอาหาร ระบบสืบพันธุ์และปัสสาวะของมนุษย์และสัตว์ แต่อาจเป็นแบคทีเรียก่อโรคได้เช่นกันโดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นสาเหตุของการติดเชื้อซ้ำซ้อนในโรงพยาบาล (Nosocomial infection) ซึ่งในทวีปยุโรปพบว่าช่วง 10 ปีที่ผ่านมา *Enterococcus* spp. เป็นเชื้อก่อโรคซ้ำซ้อนที่สำคัญของผู้ป่วยในโรงพยาบาลโดยเป็นสาเหตุอันดับ 3 ที่ทำให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือด (Septicemia) และเป็นสาเหตุอันดับ 2 ที่ทำให้เกิดการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ (Schouten *et al.*, 2000) แต่ที่น่าตระหนักและละมีความสำคัญทางสาธารณสุขมากกว่าก็คือ ปัญหาเชื้อ *Enterococcus* spp. ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ vancomycin (Vancomycin-resistant enterococci หรือ VRE) ซึ่งเป็นยาต้านจุลชีพชนิดสุดท้าย (last line of drug) ที่ใช้รักษาการติดเชื้อจากแบคทีเรียแกรมบวกซึ่งดื้อต่อยาต้านจุลชีพอื่นๆ แล้วโดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อ methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) VRE มีรายงานพบในผู้ป่วยรายแรกเมื่อ ค.ศ. 1986 ในประเทศฝรั่งเศส และในปีถัดมา (ค.ศ. 1987) ก็มีรายงานในผู้ป่วยในของโรงพยาบาลแห่งหนึ่งในประเทศสหรัฐอเมริกา นับจากนั้น ปัญหา VRE ก็มีรายงานในหลายประเทศทั่วโลกและมีความชุกหรืออุบัติการณ์เพิ่มขึ้น เช่น ในเกาะไต้หวันมีรายงานการตรวจพบ VRE ได้ครั้งแรกใน ค.ศ. 1995 จากผู้ป่วยในของโรงพยาบาล และอุบัติการณ์ของ VRE ที่เป็นสาเหตุการติดเชื้อในโรงพยาบาลในไต้หวันเพิ่มจาก 1.8 % ในปี 1995 เป็น 6.7 % ในปี 1997 และ 25.2 % ในปี 1999 (Hsueh *et al.*, 2002.) เช่นเดียวกันกับประเทศสหรัฐอเมริกาที่พบการติดเชื้อ VRE ในผู้ป่วยในโรงพยาบาลเพียง 1 % ใน ค.ศ. 1993 (Coque *et al.*, 1996) และเพิ่มขึ้นถึง 15 % ใน ค.ศ. 1997 (Manson *et al.*, 2003) โดยเฉพาะอย่างยิ่งการติดเชื้อซ้ำซ้อนในโรงพยาบาลในผู้ป่วยวิกฤติ (ICU) จากเชื้อ VRE เพิ่มขึ้นจาก 0.3 % เป็น 25.2 % ในระยะเวลาเพียง 10 ปี (ค.ศ. 1989 -1999) (CDC, 2000) ส่วนรายงานในประเทศอังกฤษพบว่า *Enterococcus faecium* ที่ดื้อต่อยา Vancomycin ซึ่งแยกได้จากกระแสเลือดของผู้ป่วยใน ค.ศ.1993 พบ 6.3 % และเพิ่มขึ้นถึง 20 % ใน ค.ศ. 1995 และ 24 % ใน ค.ศ. 1998 (Reacher *et al.*, 2000)

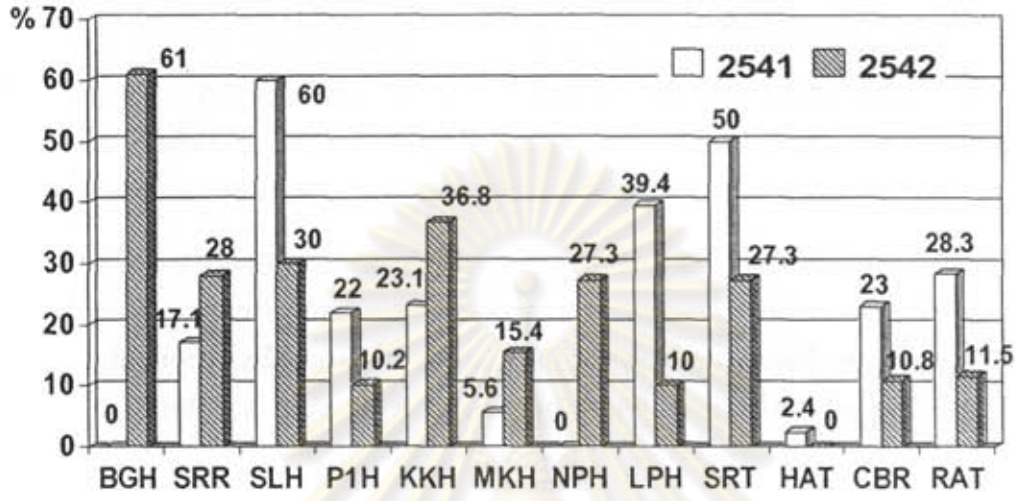
นอกจากนี้ ยังมีรายงานการศึกษาพบว่าผู้ป่วยที่เป็นพาหะหรือมีเชื้อ VRE ในร่างกาย (VRE-colonize) มีโอกาสสูงที่จะติดเชื้อก่อโรคชนิดอื่นๆ ได้มากกว่าผู้ป่วยที่ไม่มี VRE-colonize ในร่างกาย ซึ่งประมาณการว่าผู้ป่วยที่มี VRE-colonize มีโอกาสติดเชื้อ methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* หรือ MRSA ได้ถึง 17 % ขณะที่ผู้ป่วยที่ไม่มี VRE-colonize มีโอกาสติดเชื้อ MRSA เพียง 4 % (Donskey *et al.*, 2003) แต่ทั้งนี้ประเด็นที่สาธารณสุขให้ความตระหนักมากที่สุดคือ การถ่ายทอดสายพันธุกรรมที่ดื้อต่อยา vancomycin จากเชื้อ VRE ไปสู่เชื้อ *Staphylococcus aureus* เนื่องจาก *S. aureus* เป็นสาเหตุสำคัญมากที่สุดในการติดเชื้อซ้ำซ้อนในโรงพยาบาล จากสถิติผู้ป่วยติดเชื้อในโรงพยาบาลในสหรัฐอเมริกาพบว่ามีสาเหตุจาก

S. aureus สูงถึง 13 % และในจำนวนผู้ป่วยเหล่านี้เป็นการติดเชื้อ จาก *S. aureus* ที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพ methicillin (MRSA) ประมาณ 80,000 คน และจะต้องรับการรักษาด้วยยา vancomycin ซึ่งเป็นยาต้านจุลชีพที่ใช้รักษาผู้ป่วยติดเชื้อ MRSA ยาต้านจุลชีพ vancomycin ใช้ได้ผลในการรักษามาตลอดจนกระทั่งปี ค.ศ. 1986 ได้มีรายงานจากประเทศฝรั่งเศสและอังกฤษว่าพบผู้ป่วยรายแรกของโลกที่ติดเชื้อ MRSA ที่ดื้อต่อยา vancomycin (vancomycin-resistant *S. aureus* หรือ VRSA) ในปีถัดมาก็มีรายงานผู้ป่วยติดเชื้อ VRSA ในสหรัฐอเมริกา รายงานอุบัติการณ์ของผู้ป่วยติดเชื้อ VRSA และ VISA (vancomycin-intermediate resistant *S. aureus*) ในโรงพยาบาลได้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เช่น ในสหรัฐอเมริกาเพิ่มจาก 0.3 % ในปี ค.ศ. 1989 สูงขึ้นถึง 25 % ในปี ค.ศ. 1997 (Brown & Grilli, 1998) ส่วนในประเทศอังกฤษเพิ่มจาก 6.3 % ในปี ค.ศ. 1993 เป็น 24 % ในปี ค.ศ 1998 ทั้งนี้ รายงานการศึกษาในประเทศภูมิภาคเอเชียมีรายงานการวิจัยของ National Taiwan University Hospital ในช่วงปี 1981-1999 พบว่าการติดเชื้อที่มีสาเหตุจาก *S. aureus* เพิ่มจาก 5.2 % ในช่วงปี 1981-1986 เป็น 12.1 % ในช่วงปี 1993-1998 นอกจากนี้ยังพบ MRSA เป็นสาเหตุการติดเชื้อในกระแสเลือดเพิ่มสูงขึ้นอย่างชัดเจนในช่วงวิจัยคือจาก 4.3 % ในช่วงปี 1981-1986 เป็น 58.9 % ในช่วงปี 1993-1998 และ 69.2 % ในปี 1999 และพบในผู้ป่วย ICU ได้บ่อยและสูงกว่าผู้ป่วยในหออภิบาลทั่วไป คือ 84.6 % และ 48.3 % ตามลำดับ (Hsueh *et al.*, 2002) ส่วนในประเทศญี่ปุ่นมีการใช้ vancomycin ในการรักษาการติดเชื้อจากแบคทีเรียแกรมบวกมานานกว่า 30 ปี จนกระทั่งช่วงปี 1994-1995 พบ *S. aureus* ที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพ teicoplanin ซึ่งยาในกลุ่ม glycopeptides เช่นเดียวกับ vancomycin โดย *S. aureus* ที่ดื้อต่อ teicoplanin พบว่าดื้อต่อ vancomycin ได้เช่นกัน และในปี 1997 ก็มีรายงานการพบ MRSA ที่ดื้อต่อ vancomycin (VRSA) ได้จากผู้ป่วยชาวญี่ปุ่นที่มีแผลติดเชื้อจากการผ่าตัด (Hiramatsu *et al.*, 1997)

สำหรับประเทศไทยจากรายงานการติดเชื้อ *Enterococcus faecalis*, *E. faecium* และ *Enterococcus* spp. อื่นๆ ที่แยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาล 32 แห่งในโครงการการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ กระทรวงสาธารณสุข พบว่าเชื้อเหล่านี้ดื้อต่อยา vancomycin เท่ากับ 3, 2 และ 13 % ตามลำดับ โดยไม่พบว่าเชื้อ *E. faecalis* และ *E. faecium* ดื้อต่อยา teicoplanin ยกเว้น *Enterococcus* spp. อื่นๆ ซึ่งพบว่าดื้อต่อยา teicoplanin 5 % (ศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ กระทรวงสาธารณสุข, 2544) และก่อนหน้านี้ก็มีรายงานความชุกของ VRE ในผู้ป่วยในของโรงพยาบาลดังแสดงใน**รูปที่ 1**

สาเหตุที่ความชุกของเชื้อ VRE เพิ่มขึ้นเกิดจากใช้ยา vancomycin หรือยาในกลุ่ม glycopeptides ในผู้ป่วยโดยไม่จำเป็นในทางการแพทย์ (irrational use) รวมทั้งเนื่องจากปัญหาสุขศาสตร์ของบุคลากรในโรงพยาบาลโดยเป็นพาหะที่ทำให้เชื้อ VRE จากผู้ป่วยปนเปื้อนเครื่องมือหรือมือของบุคลากรในโรงพยาบาลแล้วไปใช้หรือสัมผัสกับผู้ป่วยรายอื่นๆ นอกจากนี้การใช้สารเร่งการเจริญเติบโต (growth promoter) avoparcin ซึ่งเป็นยาต้านจุลชีพในกลุ่ม glycopeptides เช่นเดียวกับ vancomycin ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์โดยเฉพาะอย่างยิ่งใน

ฟาร์มไก่และสุกร ทำให้เชื้อ *Enterococcus* spp. ที่อาศัยอยู่ในทางเดินอาหารของสัตว์ปกติกำเนิดสายพันธุ์ VRE โดยมีรายงานการตรวจพบ VRE สูงถึง 59 % ในสัตว์จากฟาร์มที่มีการใช้ avoparcin ด้วยเหตุนี้ ประเทศในเครือสหภาพยุโรปได้ยกเลิกการใช้ avoparcin เป็นสารเร่งการเจริญเติบโตโดยเริ่มตั้งแต่ ค.ศ. 1996 เป็นต้นมา



รูปที่ 1 เปอร์เซ็นต์การตรวจพบเชื้อ VRE ในผู้ป่วยในของโรงพยาบาลในเครือข่ายการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ ประจำปี 2541 และ 2542 (ศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ[1])

BGH = โรงพยาบาลกรุงเทพฯ เยเนอรัล, กรุงเทพฯ
SRR = โรงพยาบาลศิริราช, กรุงเทพฯ
SLH = โรงพยาบาลเซนหลุยส์, กรุงเทพฯ
P1H = โรงพยาบาลพญาไท 1, กรุงเทพฯ
KKH = โรงพยาบาลขอนแก่น
MKH = โรงพยาบาลมหาสารคาม
NPH = โรงพยาบาลนครพิงค์, เชียงใหม่
LPH = โรงพยาบาลลำปาง
SRT = โรงพยาบาลสุราษฎร์ธานี
HAT = โรงพยาบาลหาดใหญ่, สงขลา
CBR = โรงพยาบาลชลบุรี
RAT = โรงพยาบาลราชบุรี

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ VRE ในสัตว์และสิ่งแวดล้อม

ในปี ค.ศ. 1996 Stobberingh และคณะ ได้ทำการเก็บตัวอย่างอุจจาระไก่งวงและคนเลี้ยงไก่งวงจาก 47 ฟาร์ม ในประเทศเนเธอร์แลนด์ รวมทั้งเก็บตัวอย่างอุจจาระไก่งวงจากโรงงานฆ่าไก่ 48 โรง และตัวอย่างอุจจาระจากผู้ที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ใกล้เคียงกับฟาร์มเลี้ยงไก่งวงที่ศึกษา 188 ตัวอย่าง สามารถแยกเชื้อ VRE จากตัวอย่างอุจจาระไก่งวงที่ฟาร์มได้ 50 % ตัวอย่างอุจจาระคนเลี้ยงไก่งวง 39 % ตัวอย่างอุจจาระไก่งวงจากโรงงานฆ่าไก่ 20 % และตัวอย่างอุจจาระจากผู้ที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ใกล้เคียงกับฟาร์มเลี้ยงไก่งวง 14 % นอกจากนี้ ในฝูงไก่งวง 12 กลุ่มที่ไม่ได้รับ Avoparcin พบความชุกของเชื้อ VRE 8 % เมื่อเทียบกับ 60 % ในฝูง

ที่ได้รับ avoparcin ($P < 0.001$) โดยเชื้อ VRE เกือบทั้งหมดเป็น *E. faecium* และดื้อต่อยา vancomycin สูง (MIC > 64 mg/L) แต่ดื้อต่อยา teicoplanin แตกต่างกัน (MIC 0.5-8 mg/L) ทั้งนี้ ทุก strains พบว่ามี phenotypes เหมือนกัน จึงอาจเป็นได้ว่า VRE สามารถแพร่กระจายจากไก่งวงไปสู่เกษตรกรผู้เลี้ยงไก่งวงได้ (Stobberingh *et al.*, 1999)

การศึกษาของ Devriese และคณะ (1996) ในประเทศเบลเยี่ยมพบ *E. faecium* ที่แยกจากตัวอย่างอุจจาระไก่และสุกรดื้อต่อยา vancomycin (VanA-mediated glycopeptide resistant) 7 และ 6 % ตามลำดับ และพบว่า *E. faecium* ที่แยกได้จากตัวอย่างอุจจาระสุนัขและม้าในฟาร์มดื้อต่อยา vancomycin สูงถึง 8 % แสดงว่าการดื้อต่อยา vancomycin ของ *E. faecium* สามารถแพร่ระบาดจากปศุสัตว์ไปถึงสัตว์เลี้ยงได้

สำหรับสถานภาพปัญหาของเชื้อ VRE ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ในประเทศไทย พบว่ายังคงมีอยู่ จากการเฝ้าระวังปัญหาเชื้อดื้อยาของศูนย์ติดตามการดื้อยาของเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ (โดยความร่วมมือขององค์การอนามัยโลก) คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี พ.ศ. 2544–2545 ยังคงตรวจพบความชุกของเชื้อ VRE ในอุจจาระไก่พื้นเมืองหรือไก่ที่เลี้ยงปล่อยในชนบท 6.9 % และในอุจจาระไก่เนื้อที่เลี้ยงในระบบฟาร์ม 1.9 % (ธงชัย และคณะ, 2546) และจากรายงานของกรมปศุสัตว์ก่อนปี พ.ศ. 2544 พบเชื้อ VRE ในเนื้อไก่ส่งออกและบริโภคในประเทศประมาณ 17 และ 29 % ตามลำดับ (ศศิธร, 2544) แม้ว่ากระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้มีประกาศห้ามใช้ avoparcin ในการเลี้ยงสัตว์ตั้งแต่สิงหาคม พ.ศ. 2542 ในปัจจุบัน กรมปศุสัตว์มีการเฝ้าระวังปัญหาเชื้อ VRE ในฟาร์มไก่เนื้อ (ตารางที่ 1) เนื่องจาก VRE นอกจากเป็นปัญหาที่เกี่ยวข้องกับสาธารณสุขโดยตรงแล้วยังอาจมีผลกระทบต่อการส่งออกเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้จากสัตว์ถ้าประเทศคู่ค้ายกเรื่อง VRE มาเป็นมาตรการในการกีดกันสินค้าดังกล่าวจากประเทศไทย มาตรการยกเลิกการใช้ยา *avoparcin* ในสัตว์สามารถลดความชุกของ VRE ในทั้งในมนุษย์และในอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ได้ลดลงอย่างรวดเร็ว (Wegener *et al.*, 1999) ยกตัวอย่างเช่น ในประเทศเยอรมันหลังจากระยะเวลาประมาณ 1-2 ปี ในการห้ามใช้ยา avoparcin ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์พบว่าการปนเปื้อนของ VRE บนตัวอย่างเนื้อไก่ลดลงกว่า 75 % นอกจากนี้ ความชุกของการตรวจพบเชื้อ VRE ในชุมชนลดลงจาก 12 % ใน ค.ศ. 1994 เหลือเพียง 3 % ใน ค.ศ. 1997 (Klare *et al.*, 1999) อย่างไรก็ดีมีคำถามว่า "ทำไมปัญหาของ VRE ยังคงมีอยู่ ?" ทั้งนี้มีหลายรายงานพบว่าปัญหา VRE ไม่ได้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญแม้ว่าจะไม่มีการใช้ยา avoparcin ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์นานกว่า 3-5 ปีแล้วก็ตาม เช่น รายงานของ Borgen และคณะ (2001) จาก The Norwegian School of Veterinary Science ประเทศสวีเดน และ Heuer และคณะ จาก Danish Veterinary Institute ประเทศเดนมาร์ค (2002) นอกจากนี้ ยังมีรายงานการพบการปนเปื้อนของเชื้อ VRE ในเนื้อไก่จากตลาดซุปเปอร์มาร์เก็ตในประเทศสเปนสูงถึง 27.2 % (Robredo et al., 2000) และรายงานการแยกเชื้อ VRE ได้จากระบบท่อระบายน้ำในสหรัฐอเมริกา (Harwood, 2001) รวมทั้งรายงานผลการศึกษาความชุกของเชื้อ VRE ในสัตว์

เลี้ยงสุนัขและแมวในประเทศไทยซึ่งพบสูงถึง 12.9 % ในตัวอย่างอุจจาระสุนัข (106 จาก 823 ตัวอย่าง) และ 12.2 % ในตัวอย่างอุจจาระแมว (44 จาก 361 ตัวอย่าง) (ธงชัยและคณะ, 2547)

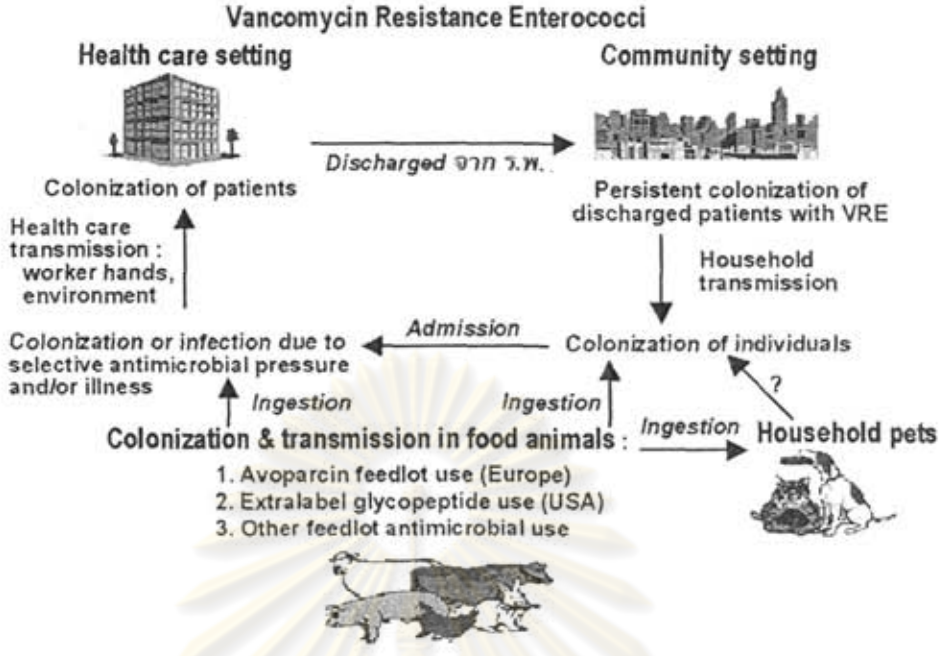
ตารางที่ 1 ความชุกของ vancomycin-resistant enterococci (VRE) ในตัวอย่างต่างๆ ที่เก็บจากฟาร์มเลี้ยงไก่และโรงงานแปรรูปเนื้อไก่เพื่อการส่งออก (สุปราณี, 2547)

ปี พ.ศ. ที่ทำการเฝ้าระวัง	% ความชุกของ Vancomycin-resistant Enterococci (VRE)				
	อุจจาระไก่	เนื้อไก่ดิบ	เนื้อไก่สุก	อาหารไก่	น้ำที่ไก่กิน
2544	10.8	7.7	1.7	2.6	3.3
2545	4.4	1.2	0.5	0.7	0.3
2546	2.6	0.2	0.2	0.3	0.05

เชื้อ VRE นอกจากเป็นปัญหาสาธารณสุข ยังอาจเป็นข้อรังเกียจหรือกีดกันทางการค้าของประเทศผู้นำเข้าอาหาร เช่น ในปี พ.ศ. 2541 มีรายงานจากประเทศญี่ปุ่นกล่าวถึงการตรวจพบเชื้อ VRE ในเนื้อไก่แช่แข็งที่นำเข้าจากประเทศไทยซึ่งวางจำหน่ายในซุปเปอร์มาร์เก็ตในประเทศญี่ปุ่น (Ike *et al.*, 1999) ส่งผลให้กรมปศุสัตว์ต้องแก้ไขสถานการณ์โดยมีประกาศห้ามใช้ยา avoparcin ในการเลี้ยงสัตว์ จากข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้นคือความรู้ปัจจุบันด้านระบาดวิทยาของ VRE ที่ทราบทั้งในโรงพยาบาล และในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ที่ใช้เป็นอาหาร

จากข้อมูลทั้งในและต่างประเทศบ่งบอกว่าปัญหาของเชื้อ VRE ยังคงมีอยู่ซึ่งสามารถคุกคามทั้งต่อสาธารณสุขและการส่งออกสินค้าอาหารของประเทศ การคงอยู่และการเชื่อมโยงด้านระบาดวิทยาของปัญหา VRE เกี่ยวข้องกับชุมชน โรงพยาบาล อุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ และอาจจะรวมทั้งสัตว์เลี้ยง (**รูปที่ 2**) ทั้งนี้ ยังไม่เคยมีการศึกษาความชุกของ VRE ในสิ่งแวดล้อม อาหารสัตว์และเนื้อสัตว์ในประเทศไทย ดังนั้นเพื่อให้ข้อมูลเพียงพอในการประเมินความเสี่ยงของปัญหา VRE ในประเทศไทยจึงควรมี**การเฝ้าระวังและหาความชุกของเชื้อเอ็นเตอร์โรค็อคชัยที่ดื้อต่อยาแวนโคมัยซินในสิ่งแวดล้อม อาหารสัตว์ เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้จากสัตว์ในประเทศไทย**

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2 ระบาดวิทยาของ vancomycin-resistant enterococci (VRE) ซึ่งอาจเกิดจากพาหะต่าง ๆ เช่น ผู้อมเชื้อ (carrier) ในชุมชนหรือในโรงพยาบาล และสุขศาสตร์ที่ไม่เหมาะสมในโรงพยาบาล รวมทั้งจากสัตว์ในฟาร์ม อาหารที่ได้จากสัตว์ และอาจจะรวมทั้งสัตว์เลี้ยง (McDonald et.al., 1997)

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

(1) เพื่อหาความชุก (prevalence) ของเชื้อเอ็นเตอโรคค็อคซัยที่ดื้อยาแวนโคมัยซิน (VRE) ในสิ่งแวดล้อม อาหารสัตว์ เนื้อไก่และเนื้อสุกรในประเทศไทย

(2) เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับมาตรการในการป้องกันปัญหา VRE

(3) เพื่อตอบสนองของรัฐในเรื่องนโยบายความปลอดภัยของอาหาร

เป้าหมายของโครงการวิจัย

มีข้อมูลความชุกของ VRE ในสิ่งแวดล้อม อาหารสัตว์ เนื้อไก่และเนื้อสุกรซึ่งเป็นข้อมูลที่ยังไม่มีการศึกษาในประเทศไทย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากโครงการวิจัย

ทราบสถานภาพของเชื้อเอ็นเตอโรคค็อคซัยที่ดื้อยาแวนโคมัยซิน (VRE) ในสิ่งแวดล้อม อาหารสัตว์ เนื้อไก่และเนื้อสุกรในประเทศไทย ซึ่งผลการวิจัยและศึกษาของโครงการฯ สามารถนำเสนอหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เช่น กระทรวงสาธารณสุข และกรมปศุสัตว์ เพื่อหามาตรการในการป้องกันปัญหา VRE

วิธีดำเนินการวิจัย

(1) ตัวอย่างที่จะตรวจหา VRE

1.1 ตัวอย่างหอยแครง

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างหอยแครงจากตลาดมหาชัย จังหวัดสมุทรสาคร ตลาดในอำเภอเมือง จังหวัดสุทรสงคราม และตลาดยิ่งเจริญในกรุงเทพมหานคร โดยแต่ละครั้งที่ทำการเก็บตัวอย่างให้คิดเป็นหนึ่งตัวอย่าง

1.2 ตัวอย่างอาหารสำเร็จรูปสำหรับสัตว์

1.2.1 ตัวอย่างอาหารอาหารสำเร็จรูปสำหรับสุนัขและอาหารอาหารสำเร็จรูปสำหรับแมว

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ดและชนิดบรรจุกระป๋องสำหรับสุนัขและสำหรับแมว (ซึ่งต่อไปจะเรียกว่า "อาหารสุนัข" และ "อาหารแมว") จากซุปเปอร์มาร์เก็ตในเขตกรุงเทพมหานคร และตัวอย่างอาหารสุนัขและแมวจากโรงงานผลิตอาหารสัตว์ที่สุ่มเก็บโดยกองวิเคราะห์คุณภาพอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์

1.2.2 ตัวอย่างอาหารอาหารสำเร็จรูปสำหรับไก่และอาหารอาหารสำเร็จรูปสำหรับสุกร

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารเม็ดสำหรับไก่และสำหรับสุกร (ซึ่งต่อไปจะเรียกว่า "อาหารไก่" และ "อาหารสุกร") จากฟาร์ม ร้านจำหน่ายอาหารสัตว์ และตัวอย่างไก่และอาหารสุกรจากโรงงานผลิตอาหารสัตว์ที่สุ่มเก็บโดยกองวิเคราะห์คุณภาพอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์

1.3 ตัวอย่างเนื้อสัตว์

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างเนื้อไก่ เนื้อสุกร และเนื้อโคจากซุปเปอร์มาร์เก็ตในเขตกรุงเทพมหานคร

1.4 จำนวนตัวอย่าง

จำนวนของตัวอย่างแต่ละชนิดตัวอย่างที่จะทำการศึกษาจะคำนวณจากสมการ

$$\text{จำนวนตัวอย่าง} \quad n = n_o / \{1+(n_o/N)\}$$

(วีรยา ภัทรอาชาชัย, 2539)

เมื่อ $n_o = (1/4)(Z/d)^2$

Z = 1.96 เมื่อกำหนด $\alpha = 0.05$

N = ประชากรของตัวอย่างแต่ละกลุ่มทั้งประเทศ

d = ค่าความคลาดเคลื่อน 10 %

ผลการคำนวน :

ขนาดตัวอย่างของแต่ละกลุ่มตัวอย่างในการศึกษานี้ = 100 ตัวอย่าง ต่อกลุ่มตัวอย่าง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างในระหว่างเดือนสิงหาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2549 จำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่สุ่มเก็บมาเพื่อใช้ในการศึกษามีดังต่อไปนี้

หอยแครง	376	ตัวอย่าง
เนื้อไก่	100	ตัวอย่าง
เนื้อสุกร	100	ตัวอย่าง
เนื้อโค	100	ตัวอย่าง
เนื้อสุกร	100	ตัวอย่าง
อาหารสุนัข	107	ตัวอย่าง
อาหารแมว	100	ตัวอย่าง
อาหารไก่	126	ตัวอย่าง
อาหารสุกร	112	ตัวอย่าง

ทั้งนี้ ความถี่ในการสุ่มเก็บตัวอย่างจะทำการสุ่มเก็บตัวอย่างหอยแครงทุกเดือนเพื่อดูความชุกของการตรวจพบเชื้อ VRE ส่วนการสุ่มเก็บตัวอย่างชนิดอื่นๆ จะทำการสุ่มเก็บในแต่ละเดือนจนครบ 100 ตัวอย่าง

(2) วิธีการแยกและพิสูจน์เชื้อ VRE (Aarestrup et al., 2001)

2.1 เตรียม sample suspension โดยทำการตีปั่นตัวอย่าง 20 กรัม กับ phosphate buffered saline (PBS) pH 7.2 ปริมาณ 100 มล. ด้วยเครื่องตีชิ้นเนื้อ Masticator (IUL Instruments, Barcelona, Spain)

2.2 ทำการเพิ่มจำนวนเชื้อโดยใส่ sample suspension 1 มิลลิลิตร ใน KF (Kenner fecal) Streptococcal broth แล้วทำการอบเพาะที่ 42 ^{o}C 18-24 ชั่วโมง

2.3 ทำการหยด KF Streptococcal broth (หลังจากการอบเพาะที่ 42 ^{o}C 18-24 ชั่วโมง จากขั้นตอนที่ 2.1) ปริมาณ 0.1 มล. ลงบน bile esculin azide agar (BEA agar) ซึ่งมียาต้านจุลชีพ vancomycin ปริมาณ 6 μg/mL แล้วทำการเกลี่ย KF Streptococcal broth ปริมาณ 0.1 มล. ดังกล่าวให้ทั่วจานเพาะเชื้อ BEA agar แล้วนำไปอบเพาะที่ 37 ^{o}C 24-48 ชั่วโมง

2.4 เชื้อโคโลนีที่มีสีดำบน BEA agar ซึ่งแสดงว่าสามารถ hydrolyze esculin ได้มาเพาะเลี้ยงซ้ำบน KF Streptococcal agar ซึ่งมี vancomycin ปริมาณ 6 μg/mL (ppm) เพื่อเป็นการตรวจสอบยืนยัน

2.5 นำเชื้อโคโลนีจาก KF Streptococcal agar มาเพิ่มจำนวนเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ brain-heart infusion agar (BHI agar) เพื่อใช้สำหรับการทดสอบทางชีวเคมีด้วยชุดทดสอบ api 20 Strep (bioMerieux Industry, ประเทศฝรั่งเศส)

(3) การทดสอบความไวรับของเชื้อ (susceptibility test)

3.1 ทำการถ่ายเชื้อ *Enterococcus* spp. ที่แยกได้ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ tryptic soy agar (TSA) อบเพาะที่ 37 $^{\circ}$C 18-24 ชั่วโมง เพื่อใช้ในการทดสอบหาความไวรับต่อยาต้านจุลชีพ

3.2 ทำการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (minimal inhibition concentration หรือ MIC) ของยาต้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการแบ่งตัวของเชื้อ *Enterococcus* spp. ตามวิธีการ agar dilution technique **(ตารางที่ 2)** ของ National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 1999) โดยทำการทดสอบกับยาต้านจุลชีพ 6 ชนิด ดังนี้

vancomycin	ampicillin	chloramphenicol
erythromycin	tetracycline	tylosin

ตารางที่ 2 ยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการทดสอบการดื้อยาของเชื้อ vancomycin-resistant enterococci

ยาต้านจุลชีพ	ความเข้มข้นที่ทดสอบ (µg/mL หรือ ppm)
Vancomycin	1, 2, 4, 8, 16, 32, 64
Ampicillin	1, 2, 4, 8, 16, 32, 64
Chloramphenicol	1, 2, 4, 8, 16, 32, 64
Erythromycin	0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16
Tetracycline	2, 4, 8, 16, 32, 64,128
Tylosin	1, 2, 4, 8, 16, 32, 64

3.3 ทำการหาค่า MIC ของยาต้านจุลชีพ teicoplanin ต่อเชื้อ *Enterococcus spp.* โดยใช้ E-test (AB-BIODISK, ประเทศสวีเดน) ซึ่งเหตุผลที่ใช้ E-test เนื่องจากเป็นวิธีที่มีการยอมรับในทางวิชาการ (Nilgate et al., 2003) และผู้วิจัยไม่สามารถหาบริษัทที่จำหน่ายสารมาตรฐาน Teicoplanin ได้

3.4 ทำการวิเคราะห์ข้อมูลหาการดื้อยาของเชื้อ โดยกำหนดค่าความไวรับและดื้อต่อยาตาม National Committee for Clinical Laboratory Standards **(ตารางที่ 3)**

(4) การวินิจฉัยชนิด *van* ของเชื้อ glycopeptide-resistant *Enterococci*

การวินิจฉัยความสามารถในการถ่ายทอดสายพันธุกรรมที่ดื้อยาของเชื้อ glycopeptide-resistant *Enterococcus* spp. โดยการพิจารณาจากรูปแบบการดื้อต่อยา vancomycin และ teicoplanin **(ตารางที่ 4)**

ขอบเขตของการวิจัย

เพื่อพิสูจน์หาและความชุก (prevalence) ของเชื้อเอ็นเตอโรค็อคซัยที่ดื้อยาแวนโคมัยซิน (VRE) ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมโดยใช้หอยแครงเป็นตัวบ่งชี้ (biomonitoring) และในอาหารสัตว์ รวมทั้งความชุกของ VRE ในเนื้อไก่และเนื้อสุกรที่จำหน่ายแก่ผู้บริโภคในประเทศไทย

ตัวอย่างเชื้อ *Enterococcus* spp. ที่สามารถขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ BEA agar ซึ่งมียา vancomycin ปริมาณ 6 μg/mL (ppm) สำหรับการตรวจสอบกรองและเมื่อทำการทดสอบหาค่า minimal inhibition concentration (MIC) ต่อยา vancomycin โดยวิธี agar dilution (NCCLS, 1999) อีกครั้งเป็นการตรวจสอบยืนยันซึ่งเชื้อที่พบว่ามีค่า MIC เท่ากับหรือมากกว่า 8 μg/mL จะกำหนดให้เป็นเชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE)

ตารางที่ 3 ค่าความไวรับและดื้อต่อยาที่ทดสอบ (mg/L หรือ ppm) ตาม National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 1999)

Antimicrobial Drugs	Susceptible	Intermediate	Resistant
Vancomycin	< หรือ = 4	8-16	> หรือ = 32
Teicoplanin	< หรือ = 8	16	> หรือ = 32
Ampicillin	< หรือ = 8	-	> หรือ = 16
Chloramphenicol	< หรือ = 8	16	> หรือ = 32
Erythromycin	< หรือ = 0.5	1-4	> หรือ = 8
Tetracycline	< หรือ = 4	8	> หรือ = 16
Tylosin	< หรือ = 4	8	> หรือ = 16

ตารางที่ 4 ความสามารถในการถ่ายทอดสายพันธุกรรมที่ดื้อยาของเชื้อ glycopeptide-resistant *Enterococcus* spp. โดยวิเคราะห์จากรูปแบบ (phenotypes) การดื้อต่อยา vancomycin และ teicoplanin (Cetinkaya et al., 2000; Sebatian et al.,2000)

Types of VRE		ค่า MIC (μg/mL)		ถ่ายยีนดื้อยา	*Enterococcus* spp.
Phenotype	Genotype	Vancomycin	Teicoplanin	(Conjugation)	ที่มีรายงาน
VanA	*vanA*	64 ถึง > 1,000	16 ถึง 152	+ ve	*E.faecium, E.faecalis*
VanB	*vanB*	4 ถึง1,024	0.25 ถึง 2	+ ve	*E.faecium, E.faecalis*
VanC	*vanC-1*	2 ถึง 32	0.12 ถึง 2	- ve	*E.gallinarum,*
VanC	*vanC-2*	2 ถึง 32	0.12 ถึง 2	- ve	*E.casseliflavus,*
VanC	*vanC-3*	2 ถึง 32	0.12 ถึง 2	- ve	*E.flavescens*
VanD	*vanD*	64 ถึง 128	2 ถึง 4	- ve	*E.faecium, E.faecalis*
VanE	*vanE*	16	0.5	- ve	*E.faecalis*

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการวิจัย

ความชุก (prevalence) ของเชื้อ VRE ในตัวอย่างหอยแครง เนื้อไก่ เนื้อสุกร เนื้อโค อาหารสุนัข อาหารแมว อาหารสุกร และอาหารไก่

ผลการศึกษาพบว่าเชื้อ VRE ปนเปื้อนสูงสุดในตัวอย่างเนื้อโค 13 % (13/100 ตัวอย่าง) รองลงมาคือ ตัวอย่างหอยแครง 6.6 % (25/376 ตัวอย่าง) ตัวอย่างเนื้อไก่ 5 % (5/100 ตัวอย่าง) ตัวอย่างเนื้อสุกร 3 % (3/100 ตัวอย่าง) และพบน้อยกว่า 1 % ในแต่ละชนิดตัวอย่างอาหารสุนัข (1/107 ตัวอย่าง) และอาหารไก่ (1/112 ตัวอย่าง) ทั้งนี้ไม่พบเชื้อ VRE ในตัวอย่างอาหารแมวและอาหารสุกร **(ตารางที่ 5)**

ตัวอย่างเนื้อไก่และเนื้อโคที่ซื้อจากซุปเปอร์มาร์เก็ตตรวจพบเชื้อ VRE ปนเปื้อน 5.9 และ 16.7 % ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าการปนเปื้อนที่ตรวจพบในตัวอย่างเนื้อไก่และเนื้อโคที่ซื้อจากตลาดสด (พบเชื้อ VRE 3.1 และ 10.9 % ตามลำดับ) ส่วนตัวอย่างเนื้อสุกรที่ซื้อจากตลาดสดพบเชื้อ VRE ปนเปื้อน 2.7 % ซึ่งสูงกว่าที่ตรวจพบเพียง 1.6 % ในตัวอย่างเนื้อสุกรที่ซื้อจากซุปเปอร์มาร์เก็ต **(ตารางที่ 6)**

ความชุกของเชื้อ VRE ที่แยกได้จากตัวอย่างหอยแครงในแต่ละเดือนตั้งแต่เดือนสิงหาคม 2548 ถึงกรกฎาคม 2549 พบความชุกสูงสุดในเดือนพฤศจิกายน 24.3 % (10/40 ตัวอย่าง) รองลงมาคือเดือนสิงหาคม 20 % (2/10 ตัวอย่าง) เดือนตุลาคม 17.5 % (7/40 ตัวอย่าง) เดือนกันยายน 6.6 % (3/45 ตัวอย่าง) และเดือนพฤษภาคม 4.9 % (2/41 ตัวอย่าง) ทั้งนี้ไม่พบเชื้อ VRE จากตัวอย่างหอยแครงในเดือนมกราคมถึงเมษายน (0/132 ตัวอย่าง) และเดือนมิถุนายนถึงกรกฎาคม (0/40 ตัวอย่าง) **(ตารางที่ 7)**

ตารางที่ 8-10 แสดงความชุกของเชื้อ VRE ที่แยกได้จากตัวอย่างเนื้อไก่ เนื้อสุกรและเนื้อโคในแต่ละเดือนที่ทำการศึกษา แม้ว่าจะไม่ได้ทำการเก็บตัวอย่างตลอดปีเนื่องจากได้จำนวนตัวอย่างครบ 100 ตัวอย่างและไม่คิดว่าความชุกของ VRE จะขึ้นกับฤดูกาล แต่ก็น่าสังเกตุว่าการศึกษาครั้งนี้พบการปนเปื้อนของ VRE ในตัวอย่างเนื้อไก่และเนื้อโคสูงสุดในเดือนกุมภาพันธ์ 15.8 และ 33.3 % ตามลำดับ รองลงมาคือเดือนมีนาคม 12.5 และ 20 % ตามลำดับ

สำหรับตัวอย่างอาหารสุนัขซึ่งสุ่มเก็บตั้งแต่ตุลาคม 2548 ถึงกันยายน 2549 ตรวจพบเชื้อ VRE เพียง 1 ตัวอย่าง **(ตารางที่ 11)** และตัวอย่างอาหารไก่ซึ่งสุ่มเก็บตั้งแต่เมษายนถึงกันยายน 2549 ก็ตรวจพบเชื้อ VRE เพียง 1 ตัวอย่าง **(ตารางที่ 12)** สำหรับตัวอย่างอาหารแมวและอาหารสุกรซึ่งสุ่มเก็บในการศึกษานี้ตรวจไม่พบเชื้อ VRE เลยจึงไม่แสดงตารางให้เห็น

เชื้อ VRE ที่แยกได้จากตัวอย่างหอยแครงพบว่าเป็น *E. faecium* 60 % (15/ 25 ตัวอย่าง) *E. faecalis* 20 % (5/ 25 ตัวอย่าง) *E. gallinarum* 12 % (3/ 25 ตัวอย่าง) และ *E. casseliflavus* 8 % (2/ 25 ตัวอย่าง) **(ตารางที่ 13)** ในขณะที่เชื้อ VRE ที่แยกได้จากตัวอย่าง

เนื้อไก่ เนื้อสุกร เนื้อโค อาหารสุนัขและอาหารไก่พบเพียง 3 species โดยเชื้อ VRE ที่แยกได้จากตัวอย่างเนื้อไก่ เนื้อสุกรและเนื้อโคพบว่าเป็น *E. gallinarum* 12 ตัวอย่าง *E. faecalis* 7 ตัวอย่าง และ *E. faecium* 2 ตัวอย่าง ส่วนเชื้อ VRE ที่แยกได้จากตัวอย่างอาหารสุนัขและอาหารไก่ชนิดละ 1 ตัวอย่างเป็น *E. gallinarum* ทั้งคู่ **(ตารางที่ 14)**

รูปแบบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ VRE

เชื้อ VRE ทั้ง 25 ตัวอย่างที่แยกได้จากตัวอย่างหอยแครงดื้อต่อยา vancomycin ในระดับปานกลาง (intermediate) โดยไม่พบว่าดื้อต่อยา teicoplanin สำหรับยาต้านจุลชีพอีก 5 ชนิดที่ทดสอบพบว่า *E. faecium* ดื้อต่อยา erythromycin 33 % ดื้อต่อยา ampicillin, chloramphenicol, tetracycline และ tylosin 13 % ส่วน *E. gallinarum* ดื้อต่อยา erythromycin และ tetracycline 67 % ดื้อต่อยา chloramphenicol และ tylosin 33 % *E. faecalis* ดื้อต่อยา erythromycin, tetracycline และ tylosin 20 % สำหรับ *E. casseliflavus* พบว่าดื้อต่อยา erythromycin 50 % **(ตารางที่ 15 และ17)** ทั้งนี้การดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิด (multiple-antimicrobial resistance) พบว่า *E. faecium* 13.3 % (2/15 ตัวอย่าง) ดื้อต่อยาที่ทดสอบ 5 ชนิด *E. gallinarum* 33.3 % (1/3 ตัวอย่าง) ดื้อต่อยาที่ทดสอบ 4 ชนิด และ *E. faecalis* 20 % (1/5 ตัวอย่าง) ดื้อต่อยาที่ทดสอบ 3 ชนิด **(ตารางที่ 15)**

เชื้อ VRE (*E. gallinarum*, *E. faecalis* และ *E. faecium*) ที่แยกได้จากตัวอย่างเนื้อไก่ เนื้อสุกร และเนื้อโค จำนวน 21 ตัวอย่าง พบว่า *E. faecalis* ดื้อต่อยา vancomycin 28.6 % (2/7 ตัวอย่าง) ซึ่งเป็นตัวอย่างที่แยกได้จากเนื้อไก่ในซุปเปอร์มาร์เก็ต (หมายเลขตัวอย่าง C45 และ C77) และดื้อต่อยา teicoplanin 11.1 % (1/7 ตัวอย่างซึ่งเป็นตัวอย่าง C77) ส่วนยาต้านจุลชีพอื่นๆ ที่ทดสอบพบว่า *E. faecalis* ดื้อต่อยา erythromycin 42.9 % (3/7 ตัวอย่าง) ดื้อต่อยา tetracycline 57.2 % (4/7 ตัวอย่าง) และดื้อต่อยา tylosin 42.9 % (3/7 ตัวอย่าง) สำหรับ *E. gallinarum* ทั้ง 12 ตัวอย่าง (100 %) พบว่าดื้อต่อยา Vancomycin ในระดับปานกลาง (intermediate) โดยไม่พบว่าดื้อต่อยา teicoplanin ส่วนยาต้านจุลชีพอื่นๆ ที่ทดสอบพบว่า *E. gallinarum* ดื้อต่อยา erythromycin 33.3 % (4/12 ตัวอย่าง) ดื้อต่อยา tetracycline 16.7 % (2/12 ตัวอย่าง) และดื้อต่อยา tylosin 25 % (3/12 ตัวอย่าง) ทั้งนี้การดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิด (multiple-antimicrobial resistance) พบว่า *E. faecalis* ทั้ง 2 ตัวอย่าง (หมายเลขตัวอย่าง C45 และ C77) ที่แยกได้จากตัวอย่างเนื้อไก่ดื้อต่อยาที่ทดสอบ 4-5 ชนิด ส่วน *E. faecalis* ที่แยกได้จากตัวอย่างเนื้อโคและ *E. gallinarum* ที่แยกได้จากตัวอย่างเนื้อไก่ชนิดละ 1 ตัวอย่างดื้อต่อยาที่ทดสอบ 3 ชนิด ส่วน *E. faecium* ทั้ง 2 ตัวอย่างดื้อต่อยา vancomycin ในระดับปานกลางและไม่พบว่าดื้อต่อยาต้านจุลชีพชนิดอื่นๆ ที่ทดสอบ (**ตารางที่ 16 และ 18**)

สำหรับเชื้อ *E. gallinarum* ที่แยกได้จากอาหารสุนัขและอาหารไก่ 2 ตัวอย่างพบว่าดื้อต่อยา vancomycin ในระดับปานกลางโดยไม่พบว่าดื้อต่อยา teicoplanin สำหรับยาต้านจุลชีพ

อีก 5 ชนิดที่ทดสอบพบว่าดื้อต่อยา ampicillin 1 ตัวอย่าง และดื้อต่อยา tetracycline ทั้ง 2 ตัวอย่าง **(ตารางที่ 16)**

การจำแนกชนิดของ *van* ของเชื้อ vancomycin-resistant enterococci โดยวิเคราะห์จากรูปแบบการดื้อยา

เชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) ที่แยกได้จากตัวอย่างหอยแครงจำนวน 25 ตัวอย่าง ตัวอย่างเนื้อไก่ เนื้อสุกร เนื้อโค อาหารสุนัขและอาหารไก่จำนวน 5, 3, 13, 1 และ 1 ตัวอย่าง ตามลำดับ ทั้งนี้ จากการวิเคราะห์จากรูปแบบ (phenotypes) ของการดื้อต่อยาในกลุ่ม glycopeptides (vancomycin และ teicoplanin) ตาม**ตารางที่ 4** พบว่าตัวอย่างเชื้อ VRE ส่วนใหญ่น่าจะเป็นชนิด *van*B 54.2 % (26/ 48 ตัวอย่าง) และ *van*C 43.8 % (21/ 48 ตัวอย่าง) โดยมีเพียง 1 ตัวอย่างที่น่าจะเป็นชนิด *van*A **(ตารางที่ 18)** ซึ่งเป็นเชื้อ *E. faecalis* ที่แยกได้จากตัวอย่างเนื้อไก่ที่แยกได้จากเนื้อไก่ในซุปเปอร์มาร์เก็ต (หมายเลขตัวอย่าง C77)

วิจารณ์ผลการวิจัย

การตรวจพบเชื้อ VRE ในตัวอย่างหอยแครง 6.6 % (25/376 ตัวอย่าง) สะท้อนให้เห็นว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อ VRE ในสิ่งแวดล้อมโดยมีสมมุติฐานว่าอาจมาจากชุมชน โรงพยาบาล สัตว์เลี้ยงและ/หรือฟาร์มเลี้ยงสัตว์ อย่างไรก็ดีจากรายงานของศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ กระทรวงสาธารณสุข พบว่าการติดเชื้อซ้ำซ้อน (nosocomial infection) ที่มีสาเหตุจากเชื้อ VRE ในผู้ป่วยในของโรงพยาบาลระหว่างปี พ.ศ. 2541 ถึง 2547 ลดลงอย่างมากตามลำดับ โดยเชื้อ *E. faecalis* และ *E. faecium* ซึ่งพบสูงถึง 29 และ 23 % ตามลำดับในปี พ.ศ. 2541 ลดลงเหลือเพียง 3 และ 1 % ตามลำดับในปี พ.ศ. 2547 ดังที่แสดงข้อมูลใน**รูปที่ 3** (ศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ[2]) ส่วนในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ก็มีข้อมูลจากกลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ ซึ่งพบว่าการตรวจพบเชื้อ VRE ในอุจจาระไก่ลดลงจาก 10.8 % ในปี พ.ศ. 2544 เหลือเพียง 2.6 % ในปี พ.ศ. 2546 (สุปราณี, 2547) ซึ่งน่าจะเป็นผลจากการที่กระทรวงเกษตรและสหกรณ์โดยกรมปศุสัตว์ห้ามการใช้ยาในกลุ่ม glycopeptides (avoparcin) ในการเลี้ยงสัตว์ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2542 (Ref) และกระทรวงพาณิชย์เข้มงวดในเรื่องการนำเข้าเภสัชเคมีภัณฑ์ 16 รายการซึ่งยา glycopeptides เป็นหนึ่งใน 16 รายการดังกล่าว (ประกาศกระทรวงพาณิชย์, 2545) รวมทั้งข้อมูลจากการศึกษาในครั้งนี้ที่ตรวจพบเชื้อ VRE อาหารไก่เพียง 0.89 % โดยไม่พบเชื้อ VRE ในอาหารสุกร ดังนั้น ในสถานภาพปัจจุบันในประเทศไทยจึงอาจกล่าวว่าปัญหาเชื้อ VRE ในโรงพยาบาลและในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ในประเทศไทยได้รับการป้องกันและดำเนินการไปในทิศทางที่ถูกต้องโดยการรณรงค์เรื่องสุขอนามัยของบุคลากรในโรงพยาบาลและการห้ามการใช้ในกลุ่ม glycopeptides ในสัตว์

ปัญหาของเชื้อ VRE ในปัจจุบันควรให้ความตระหนักในส่วนใด

จากรายงานการศึกษาความชุกของเชื้อ VRE ในสัตว์เลี้ยงในประเทศไทยของธงชัยและคณะ (2547) พบเชื้อ VRE (MIC $\geq$ 8 mg/mL) สูงถึง 12.9 % ในตัวอย่างอุจจาระสุนัข และ 12.2 % ในตัวอย่างอุจจาระแมว ทั้งนี้ ข้อมูลจากการศึกษาหาเชื้อ VRE ในอาหารสัตว์ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงกันยายน 2549 ในครั้งนี้พบเชื้อ VRE เพียง 0.93 และ 0.89 % ในอาหารสุนัขและในอาหารไก่ ตามลำดับ โดยไม่พบเชื้อ VRE ในอาหารสุกรและอาหารแมว ดังนั้น อาหารสัตว์จึงไม่น่าจะเป็นแหล่งของเชื้อ VRE

ทั้งนี้ จากรายงานการตรวจสอบเบื้องต้นเพื่อหาเชื้อ VRE จากอุจจาระของนิสิตสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ชั้นปีที่ 3 ในปีการศึกษา 2548 และ 2549 พบเชื้อ *Enterococcus* spp. ที่สามารถขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ bile esculin azide agar (BEA agar) ซึ่งมียาต้านจุลชีพ vancomycin ปริมาณ 6 μg/mL และบน KF Streptococcal agar ซึ่งมี vancomycin ปริมาณ 6 μg/mL (ppm) 32.2 % (28/87 ตัวอย่าง) และ 52.8 % (38/72 ตัวอย่าง) ในปี 2548 และ 2549 ตามลำดับ (จีรพัฒน์และคณะ, 2548; กมลศิริและคณะ, 2549) แม้ว่ารายงานดังกล่าวไม่ได้ทำการหาค่า MIC ของเชื้อ แต่ก็อาจกล่าวในเบื้องต้นได้ว่า ปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อ VRE ในระบบนิเวศน์ในประเทศไทยในปัจจุบันน่าจะมีสาเหตุจากชุมชนซึ่งหมายถึง ประชาชนที่เป็นพาหะ (carrier) ของเชื้อ VRE ซึ่ง Bonten และคณะ (2001) ได้รายงานว่าเชื้อ VRE ไม่พบในชุมชนซึ่งหมายถึงประชาชนที่มีสุขภาพปกติในประเทศสหรัฐอเมริกา แต่สามารถพบในประชาชนทั่วไปในสหภาพยุโรป เนื่องจากในสหภาพยุโรปเคยมีการใช้ยา avoparcin ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์เช่นเดียวกับประเทศไทย สอดคล้องกับรายงานของ Coque และคณะ (1996) ซึ่งพบเชื้อ VRE ในตัวอย่างอุจจาระจากประชาชนปกติที่ไม่เคยมีประวัติเกี่ยวข้องกับโรงพยาบาล 1.9 % (2/104 ตัวอย่าง) โดยเป็น *van*C1 *E. gallinarum* ทั้ง 2 ตัวอย่าง ส่วนตัวอย่างอุจจาระไก่ฟาร์มพบเชื้อ VRE 16 % (16/100 ตัวอย่าง) ก็เป็น *van*C1 *E. gallinarum* เช่นกันทั้ง 16 ตัวอย่าง อย่างไรก็ดี การที่จะหาสมมติฐานเบื้องต้นในทางระบาดวิทยาของเชื้อ VRE มาน่าจะมาจากแหล่งใดนั้นอาจพิจารณาเพิ่มเติมได้จากข้อมูลรูปแบบการดื้อยาซึ่งจะเสนอต่อไป

รูปแบบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ VRE

รูปแบบการดื้อยาของเชื้อ *Enterococcus* spp.ที่แยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาลซึ่งรายงานโดยศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติตั้งแต่ปี พ.ศ. 2541 ถึง 2547 (**ตารางที่ 20**) พบว่าตลอดระยะเวลา 7 ปี การดื้อต่อยา vancomycin ลดลงตามลำดับ แต่การดื้อต่อยา erythromycin อยู่ในระหว่าง 54-97 % (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 87$\pm$8.9 %) และ tetracycline 50-100 % (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 82.1$\pm$10 %) ซึ่งนับว่าสูงมาก รวมทั้งการดื้อต่อยา chloramphenicol ซึ่งพบ 19-83 % (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 40.6$\pm$13.8 %) แต่ก็มีแนวโน้มลดลงในปี พ.ศ. 2547 ส่วนการดื้อต่อ

ยา ampicillin ของเชื้อ *Enterococcus* spp.ที่แยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาลพบว่าค่อนข้างไม่แน่นอนตลอดระยะเวลา 7 ปี คือ 8-80 % (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 32.8±22.5 %)

ทั้งนี้ เชื้อ VRE ที่แยกได้จากตัวอย่างหอยแครงในการศึกษานี้มีรูปแบบการดื้อต่อยาอื่นๆ ที่ทดสอบต่ำกว่าเชื้อ *Enterococcus* spp.ที่แยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาลดังกล่าวข้างต้นโดยพบว่าดื้อต่อยา erythromycin 20-67 % (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 42.5±20.4 %) และ tetracycline 0-67 % (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 25±29.2 %) ส่วนการดื้อต่อยา chloramphenicol พบ 0-33 % (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 11.5±15.6 %) และการดื้อต่อยา ampicillin 0-13 % (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.3±6.5 %) (**ตารางที่ 17**) ซึ่งเป็นรูปแบบการดื้อยาที่ทดสอบเรียงจากมากไปน้อยคล้ายกับเชื้อ *Enterococcus* spp.ที่แยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาล

ส่วนเชื้อ VRE ที่แยกได้จากตัวอย่างเนื้อไก่ เนื้อสุกร และเนื้อโคในการศึกษานี้มีรูปแบบการดื้อต่อยาอื่นๆ ที่ทดสอบต่ำกว่าเชื้อ *Enterococcus* spp.ที่แยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาลดังกล่าวข้างต้นมาก โดยพบว่าดื้อต่อยา erythromycin 0- 42.9 % (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 25.4±22.5 %) และ tetracycline 0- 57.2 % (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 24.6±29.4 %) โดยไม่พบว่าดื้อต่อยา chloramphenicol และ ampicillin (**ตารางที่ 18**) ซึ่งเป็นรูปแบบการดื้อยาที่น้อยกว่าทั้งเชื้อ *Enterococcus* spp.ที่แยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาลและเชื้อVRE ที่แยกได้จากตัวอย่างหอยแครงในการศึกษานี้

ดังนั้น ผลจากการศึกษานี้จึงยังไม่สามารถสรุปแหล่งที่มาของเชื้อ VRE ที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมได้ชัดเจน แต่น่าจะสามารถให้ข้อมูลเบื้องต้นได้ดังต่อไปนี้

(1) ปัญหาเชื้อ VRE ในสิ่งแวดล้อมในประเทศไทย (โดยใช้ตัวอย่างหอยแครงเป็นตัวอย่างศึกษา) อยู่ในระดับที่ต่ำมาก คือ พบแต่เชื้อ *Enterococcus* spp. ที่ดื้อต่อยา vancomycin ในระดับปานกลางเท่านั้น (MIC = 8 µg/mL) และเพียง 6.6 %

(2) อาหารสัตว์สำเร็จรูป (อาหารไก่และสุกร) ไม่น่าจะเป็นแหล่งหรือสาเหตุของเชื้อ VRE ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ รวมทั้งอาหารสำเร็จรูปสำหรับสัตว์เลี้ยง (อาหารสุนัขและแมว)

(3) ปัญหาเชื้อ VRE ปนเปื้อนในตัวอย่างเนื้อสัตว์ (ตัวอย่างเนื้อไก่ เนื้อสุกร และเนื้อโค) พบว่าต่ำมาก อย่างไรก็ดีการตรวจพบเชื้อ VRE (MIC > 64 µg/mL) จากตัวอย่างเนื้อไก่ที่จำหน่ายในซุปเปอร์มาร์เก็ต 2 ตัวอย่าง ทำให้ต้องตระหนักว่าปัญหาเชื้อ VRE อาจสามารถพบได้ในทุกระดับของผู้บริโภค และสะท้อนถึงอาจมีปัญหาการส่งออกเนื้อไก่ถ้าหากไม่ระมัดระวังในเรื่องสุขอนามัย

(4) การตรวจพบเชื้อ VRE (MIC = 8 µg/mL) สูงมากที่สุดในตัวอย่างเนื้อโค (13 %) น่าจะสะท้อนถึงปัญหาสุขอนามัยของโรงงานแปรรูปหรือฆ่าโคซึ่งเป็นลักษณะโรงงานฆ่าสัตว์ที่มีมาตรฐานต่ำสุดเมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานโรงงานฆ่าไก่และสุกรในปัจจุบัน

(5) น่าจะมีการศึกษาหาความชุกของเชื้อ VRE ในสิ่งแวดล้อมจากระบบบำบัดน้ำเสียต่างๆ และในชุมชนซึ่งหมายถึงประชาชนที่มีสุขภาพปกติ

สรุปผลการวิจัย

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อทราบสถานภาพของเชื้อเอ็นเตอโรคค็อคซัยที่ดื้อยาแวนโคมัยซินในสิ่งแวดล้อม (โดยใช้หอยแครงเป็นตัวแทน) อาหารสัตว์ เนื้อไก่และเนื้อสุกรในประเทศไทย ผลการศึกษาพบว่า ความชุกของเชื้อเอ็นเตอโรค็อคซัยที่ดื้อยาแวนโคมัยซิน (MIC 8 μg/mL) ในตัวอย่างหอยแครง 6.6 % เนื้อไก่ 5 % เนื้อสุกร 3 % เนื้อโค 13 % อาหารสุนัข 0.93 % อาหารไก่ 0.89 % อาหารแมวและอาหารสุกร 0 % ทั้งนี้มีเพียง *E. faecalis* 2 ตัวอย่างเท่านั้น (ที่แยกได้จากตัวอย่างเนื้อไก่ในซุปเปอร์มาร์เก็ต) ที่พบว่ามีค่า MIC ต่อยาแวนโคมัยซิน 32 μg/mL และจากผลการทดสอบความไวรับต่อยาไทโคพลานินสรุปได้ว่าเป็นชนิด *van*A เพียง 1 ตัวอย่าง ดังนั้น เชื้อเอ็นเตอโรค็อคซัยที่ดื้อยาแวนโคมัยซินในสิ่งแวดล้อม อาหารสัตว์และเนื้อสัตว์จึงไม่น่าจะเป็นปัญหาทางสาธารณสุขในประเทศไทย อย่างไรก็ดียาต้านจุลชีพอื่นๆ ที่ทดสอบโดยภาพรวมพบว่าเชื้อเอ็นเตอโรค็อคซัยดื้อต่อยาอิริโทรมัยซิน เตตร้าซัยคลิน และไทโลซินค่อนข้างสูง ดังนั้น ยังมีความจำเป็นต้องรณรงค์ในเรื่องการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างรอบคอบและเหมะสมต่อไปทั้งในคนและในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 จำนวนชนิดของตัวอย่างที่ตรวจและผลการตรวจพบเชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE)

ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ VRE
หอยแครง	376	25 (6.6 %)
เนื้อไก่	100	5 (5 %)
เนื้อสุกร	100	3 (3 %)
เนื้อโค	100	13 (13 %)
อาหารสุนัข	107	1 (0.93 %)
อาหารแมว	100	0 (0 %)
อาหารไก่	112	1 (0.89 %)
อาหารสุกร	126	0 (0 %)

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบความชุกของเชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) ที่แยกได้จากตัวอย่าง**เนื้อไก่ เนื้อสุกร** และ**เนื้อโค** ที่ซื้อจากตลาดสดและซุปเปอร์มาร์เก็ตในเขตกรุงเทพมหานคร

แหล่งที่มาของตัวอย่าง	% การตรวจพบเชื้อ VRE		
	เนื้อไก่	เนื้อสุกร	เนื้อโค
ตลาดสด	3.1 % (1/32 ตัวอย่าง)	2.7 % (1/37 ตัวอย่าง)	10.9 % (7/64 ตัวอย่าง)
ซุปเปอร์มาร์เก็ต	5.9 % (4/68 ตัวอย่าง)	1.6 % (2/63 ตัวอย่าง)	16.7 % (6/36 ตัวอย่าง)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 จำนวนตัวอย่าง**หอยแครง**ที่ตรวจพบเชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) แยกตามเดือนที่เก็บตัวอย่าง

เดือน พ.ศ.	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ VRE
สิงหาคม 2548	10	2 (20 %)
กันยายน 2548	45	3 (6.6 %)
ตุลาคม 2548	40	7 (17.5 %)
พฤศจิกายน 2548	41	10 (24.3 %)
ธันวาคม 2548	27	1 (3.7 %)
มกราคม 2549	31	- (0 %)
กุมภาพันธ์ 2549	35	- (0 %)
มีนาคม 2549	39	- (0 %)
เมษายน 2549	27	- (0 %)
พฤษภาคม 2549	41	2 (4.9 %)
มิถุนายน 2549	20	- (0 %)
กรกฎาคม 2549	20	- (0 %)

ตารางที่ 8 จำนวนตัวอย่าง**เนื้อไก่**ที่ตรวจพบเชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) แยกตามเดือนที่เก็บตัวอย่าง

เดือน พ.ศ.	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ VRE
สิงหาคม 2548	13	0 (0 %)
กันยายน 2548	14	0 (0 %)
ตุลาคม 2548	19	1 (5.26 %)
พฤศจิกายน 2548	17	0 (0 %)
ธันวาคม 2548	0	0 (0 %)
มกราคม 2549	10	0 (0 %)
กุมภาพันธ์ 2549	19	3 (15.79 %)
มีนาคม 2549	8	1 (12.5 %)
เมษายน 2549	0	0 (0 %)
พฤษภาคม 2549	0	0 (0 %)
มิถุนายน 2549	0	0 (0 %)
กรกฎาคม 2549	0	0 (0 %)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 9 จำนวนตัวอย่าง**เนื้อสุกร**ที่ตรวจพบเชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) แยกตามเดือนที่เก็บตัวอย่าง

เดือน พ.ศ.	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ VRE
สิงหาคม 2548	10	0 (0 %)
กันยายน 2548	10	0 (0 %)
ตุลาคม 2548	21	2 (9.52%)
พฤศจิกายน 2548	23	0 (0 %)
ธันวาคม 2548	0	0 (0 %)
มกราคม 2549	9	1 (11.11 %)
กุมภาพันธ์ 2549	18	0 (0 %)
มีนาคม 2549	9	0 (0 %)
เมษายน 2549	0	0 (0 %)
พฤษภาคม 2549	0	0 (0 %)
มิถุนายน 2549	0	0 (0 %)
กรกฎาคม 2549	0	0 (0 %)

ตารางที่ 10 จำนวนตัวอย่าง**เนื้อโค**ที่ตรวจพบเชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) แยกตามเดือนที่เก็บตัวอย่าง

เดือน พ.ศ.	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ VRE
สิงหาคม 2548	6	0 (0 %)
กันยายน 2548	7	0 (0 %)
ตุลาคม 2548	10	2 (20 %)
พฤศจิกายน 2548	20	0 (0 %)
ธันวาคม 2548	0	0 (0 %)
มกราคม 2549	7	0 (0 %)
กุมภาพันธ์ 2549	9	3 (33.33 %)
มีนาคม 2549	5	1 (20 %)
เมษายน 2549	36	7 (19.44 %)
พฤษภาคม 2549	0	0 (0 %)
มิถุนายน 2549	0	0 (0 %)
กรกฎาคม 2549	0	0 (0 %)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 11 จำนวนตัวอย่าง**อาหารสุนัข**ที่ตรวจพบเชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) แยกตามเดือนที่เก็บตัวอย่าง

เดือน พ.ศ.	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ VRE
ตุลาคม 2548	3	0 (0 %)
พฤศจิกายน 2548	0	0 (0 %)
ธันวาคม 2548	0	0 (0 %)
มกราคม 2549	0	0 (0 %)
กุมภาพันธ์ 2549	14	0 (0 %)
มีนาคม 2549	29	0 (0 %)
เมษายน 2549	17	0 (0 %)
พฤษภาคม 2549	19	0 (0 %)
มิถุนายน 2549	2	0 (0 %)
กรกฎาคม 2549	16	1 (6.25 %)
สิงหาคม 2549	5	0 (0 %)
กันยายน 2549	2	0 (0 %)

ตารางที่ 12 จำนวนตัวอย่าง**อาหารไก่**ที่ตรวจพบเชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) แยกตามเดือนที่เก็บตัวอย่าง

เดือน พ.ศ.	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ VRE
เมษายน 2549	15	0 (0 %)
พฤษภาคม 2549	16	1 (6.25 %)
มิถุนายน 2549	7	0 (0 %)
กรกฎาคม 2549	7	0 (0%)
สิงหาคม 2549	73	0 (0 %)
กันยายน 2549	8	0 (0 %)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 13 เชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) แยกตาม spp. ซึ่งได้จากตัวอย่าง**หอยแครง**

***Enterococcus* spp.**	**จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ**	**%**
E. faecium	15	60
E. faecalis	5	20
E. gallinarum	3	12
E. casseliflavus	2	8
รวมจำนวน	**25**	

ตารางที่ 14 เชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) แยกตาม spp.ซึ่งได้จากตัวอย่าง**เนื้อไก่ เนื้อสุกร เนื้อโค อาหารสุนัข** และ**อาหารไก่**

ชนิดตัวอย่าง	**จำนวนตัวอย่างที่พบ**		
	E. gallinarum	***E. faecalis***	***E. faecium***
เนื้อไก่	3	2	-
เนื้อสุกร	2	-	1
เนื้อโค	7	5	1
อาหารสุนัข	1	-	-
อาหารไก่	1	-	-
รวมจำนวน (23 ตัวอย่าง)	**14** (60.9 %)	**7** (30.4 %)	**2** (8.7 %)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 15 แสดงค่า MIC ของเชื้อ *Enterococcus* spp. 25 ตัวอย่างที่แยกได้จากตัวอย่างหอยแครงต่อยาต้านจุลชีพ 7 ชนิดที่ทดสอบ

หมายเลขตัวอย่าง	spp. ของเชื้อ *Enterococcus*	MIC (µg/mL)[1]						
		VC	TN	AM	CP	EM	TC	TS
SN38	*E. casseliflavus*	8	1	≤1	8	**8**	2	4
RS58	*E. casseliflavus*	8	0.75	≤1	4	4	4	1
RA 1	*E. faecalis*	8	0.38	4	16	≤0.25	4	2
LA24	*E. faecalis*	8	0.5	≤1	8	4	2	4
SM93	*E. faecalis*	8	0.75	≤1	8	4	2	2
SM120	*E. faecalis*	8	0.5	1	16	4	2	4
LA155	*E. faecalis*	8	0.38	1	16	**>16**	**16**	**>64**
LA 1	*E. faecium*	8	1	4	16	2	≤2	4
RA49	*E. faecium*	8	1	≤1	4	4	2	2
SM67	*E. faecium*	8	1	≤1	4	4	2	1
SM69	*E. faecium*	8	1	≤1	8	4	2	2
LA73	*E. faecium*	8	0.75	≤1	8	**8**	2	4
RS80	*E. faecium*	8	0.38	≤1	4	2	2	1
LA83	*E. faecium*	8	0.75	≤1	4	2	2	1
SM94	*E. faecium*	8	0.75	≤1	4	**8**	2	2
SN95	*E. faecium*	8	0.75	≤1	8	**8**	2	2
SN96	*E. faecium*	8	0.38	≤1	8	2	2	1
SM121	*E. faecium*	8	0.75	1	16	4	2	2
SN122	*E. faecium*	8	0.75	1	16	2	2	4
SN123	*E. faecium*	8	0.25	1	16	4	2	2
SM129	*E. faecium*	8	0.25	**32**	**>64**	**>16**	**16**	**>64**
SN131	*E. faecium*	8	0.75	**32**	**>64**	**>16**	**16**	**>64**
SP59	*E. gallinarum*	8	0.75	≤1	>16	**>16**	**16**	2
SN324	*E. gallinarum*	8	0.75	1	**64**	**>16**	**64**	**>64**
LA328	*E. gallinarum*	8	0.75	1	8	4	4	4

[1] ดูหมายเหตุท้าย**ตารางที่ 16**

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 16 แสดงค่า MIC ของเชื้อ *Enterococcus* spp. 21 สายพันธุ์ที่แยกได้จากตัวอย่างเนื้อสัตว์และอาหารสัตว์ต่อยาต้านจุลชีพ 7 ชนิดที่ทดสอบ

หมายเลขตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง	spp. ของเชื้อ *Enterococcus*	MIC (μg/mL)[1]						
			VC	TN	AM	CP	EM	TC	TS
C45	เนื้อไก่	*E. faecalis*	**>64**	0.5	1	16	**>16**	**16**	**>64**
C77	เนื้อไก่	*E. faecalis*	**>64**	**>256**	2	16	**>16**	**16**	**>64**
C82	เนื้อไก่	*E. gallinarum*	8	0.75	2	16	**>16**	2	**>64**
C85	เนื้อไก่	*E. gallinarum*	8	0.38	2	16	**>16**	2	**>64**
C99	เนื้อไก่	*E. gallinarum*	8	0.75	1	8	**>16**	**32**	**>64**
P39	เนื้อสุกร	*E. gallinarum*	8	0.25	2	16	0.5	8	2
P41	เนื้อสุกร	*E. gallinarum*	8	0.5	2	16	1	4	2
P73	เนื้อสุกร	*E. faecium*	8	0.38	2	16	1	8	2
M22	เนื้อโค	*E. gallinarum*	8	0.5	2	16	0.25	4	2
M23	เนื้อโค	*E. gallinarum*	8	0.5	2	16	0.25	8	2
M54*	เนื้อโค	*E. faecium*	8	1	4	8	**8**	2	4
M56	เนื้อโค	*E. faecalis*	8	2	2	8	**8**	2	4
M57	เนื้อโค	*E. gallinarum*	8	1	4	8	**>16**	2	4
M64	เนื้อโค	*E. gallinarum*	8	1	1	8	0.5	2	2
M73*	เนื้อโค	*E. faecalis*	8	0.75	1	8	**8**	2	4
M74*	เนื้อโค	*E. faecalis*	8	0.75	1	8	1	**32**	2
M81*	เนื้อโค	*E. faecalis*	8	0.19	1	8	0.25	2	1
M82*	เนื้อโค	*E. faecalis*	8	1.5	1	16	**>16**	**16**	**>64**
M94*	เนื้อโค	*E. gallinarum*	8	0.75	1	8	0.5	2	2
BM75	เนื้อโค	*E. gallinarum*	8	1	1	8	0.5	**64**	2
BM92*	เนื้อโค	*E. gallinarum*	8	0.25	1	8	1	2	1
Pup1	อาหารสุนัข	*E. gallinarum*	8	1	**>64**	8	1	**32**	2
515N	อาหารไก่	*E. gallinarum*	8	1	1	8	<0.25	**64**	2

[1] ยาต้านจุลชีพที่ใช้ทดสอบความไวรับของเชื้อต่อยา Vancomycin (VC), Teicoplanin (TN), Ampicillin (AM), Chloramphenicol (CP), Erythromycin (EM), Tetracycline (TC) และ Tylosin (TS) (**ตัวเลขทึบหนา = ดื้อต่อยาต้านจุลชีพ**)

ตารางที่ 17 รูปแบบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ VRE (*E. faecium, E. faecalis, E. gallinarum* และ *E. casseliflavus*) ที่แยกได้จากตัวอย่าง**หอยแครง** จำนวน 25 ตัวอย่าง จาก 376 ตัวอย่าง (เปอร์เซ็นต์คำนวนจาก VRE แต่ละ spp.)[1]

Antimicrobial Testing	*E. faecium* (15 ตัวอย่าง)		*E. faecalis* (5 ตัวอย่าง)		*E. gallinarum* (3 ตัวอย่าง)		*E. casseliflavus* (2 ตัวอย่าง)	
	R	I	R	I	R	I	R	I
Vancomycin	0	15 (100 %)	0	5 (100%)	0	3 (100 %)	0	2 (100 %)
Teicoplanin	0	0	0	0	0	0	0	0
Ampicillin	2 (13 %)	0	0	0	0	0	0	0
Chloramphenicol	2 (13 %)	3 (2 %)	0	2 (40 %)	1 (33 %)	1 (33 %)	0	0
Erythromycin	5 (33 %)	10 (67 %)	1 (20 %)	3 (60 %)	2 (67 %)	1 (33 %)	1 (50 %)	1 (50 %)
Tetracycline	2 (13 %)	0)	1 (20 %)	0	2 (67 %)	0	0	0
Tylosin	2 (13 %)	0	1 (20 %)	0	1 (33 %)	0	0	0

[1] R = resistance, I = intermediate

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 18 รูปแบบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ VRE ที่แยกได้จากตัวอย่าง**เนื้อไก่ เนื้อสุกร** และ**เนื้อโค** จำนวน 21 ตัวอย่าง จากจำนวนรวม 300 ตัวอย่าง (เปอร์เซ็นต์คำนวนจาก VRE แต่ละ spp.)[1]

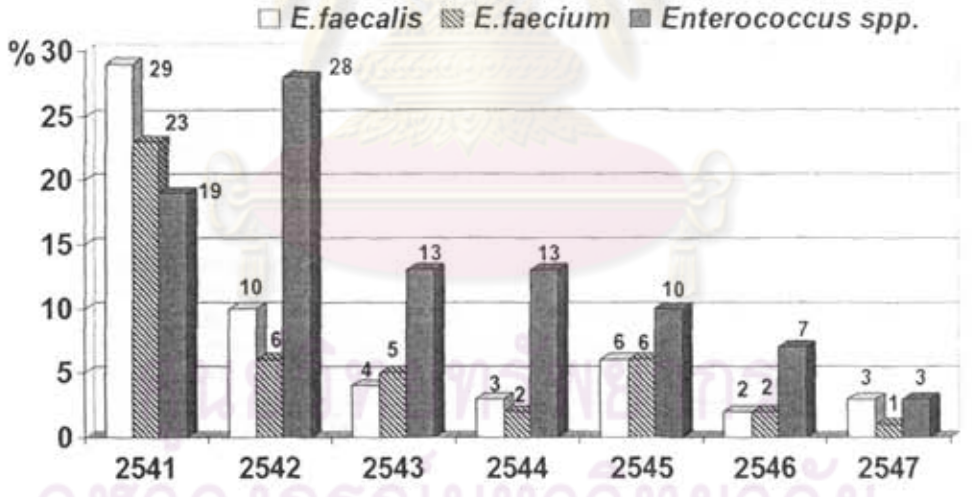
Antimicrobial Testing	***E. gallinarum*** (12 ตัวอย่าง)		***E. faecalis*** (7 ตัวอย่าง)		***E. faecium*** (2 ตัวอย่าง)	
	R	I	R	I	R	I
Vancomycin	0	12 (100 %)	2 (28.6 %)	5 (100%)	0	2 (100%)
Teicoplanin	0	0	1 (11.1 %)	0	0	0
Ampicillin	0	0	0	0	0	0
Chloramphenicol	0	6 (50 %)	0	3 (42.9 %)	0	0
Erythromycin	4 (33.3 %)	1 (8.3 %)	3 (42.9 %)	2 (28.6 %)	0	0
Tetracycline	2 (16.7 %)	2 (16.7 %)	4 (57.2 %)	0	0	0
Tylosin	3 (25 %)	0	3 (42.9 %)	0	0	0

[1] R = resistance, I = intermediate

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 19 ชนิดของเชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) ที่พบในตัวอย่าง **หอยแครง เนื้อไก่ เนื้อสุกร เนื้อโค อาหารสุนัข**และ**อาหารไก่** โดยจำแนกความสามารถในการถ่ายทอดสายพันธุกรรมที่ดื้อยาของเชื้อจากการวิเคราะห์จากรูปแบบ (phenotypes) ของการดื้อต่อยา glycopeptides (vancomycin และ teicoplanin)

	จำนวนเชื้อ VRE ที่แยกได้จากตัวอย่าง						
VRE-Types	**หอยแครง**	**เนื้อไก่**	**เนื้อสุกร**	**เนื้อโค**	**อาหารสุนัข**	**อาหารไก่**	**รวม**
*van*A	-	1	-	-	-	-	1
*van*B	20	1	1	4	-	-	26
*van*C	5	3	2	9	1	1	21
*van*D	-	-	-	-	-	-	-
*van*E	-	-	-	-	-	-	-
รวม	25	5	3	13	1	1	48



รูปที่ 3 เปอร์เซ็นต์การตรวจพบเชื้อ VRE ในผู้ป่วยในของโรงพยาบาลในเครือข่ายการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ ประจำปี 2541 ถึง 2547 (ศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ[2])

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 20 เปอร์เซ็นต์การดื้อต่อยาต้านจุลชีพ[1] ของเชื้อ *E. faecalis*, *E.faecium* และ *Enterococcus* spp. อื่นๆ ที่แยกได้จากผู้ป่วยใน 32 โรงพยาบาลของเครือข่ายการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ กระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2541-2547 (ศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ[2])

		% การดื้อต่อยา[1]					
ปี พ.ศ.	***Enterococcus* spp.**	**VC**	**TN**	**AM**	**CP**	**EM**	**TC**
2541	*E. faecalis*	20	10	26	49	90	71
	E. faecium	23	0	41	60	54	50
	Enterococcus spp. อื่นๆ	19	18	17	43	87	85
2542	*E. faecalis*	10	0	10	41	89	78
	E. faecium	6	0	30	83	97	100
	Enterococcus spp. อื่นๆ	28	6	20	51	89	72
2543	*E. faecalis*	4	2	11	43	88	78
	E. faecium	5	0	54	46	92	84
	Enterococcus spp. อื่นๆ	13	6	21	45	87	84
2544	*E. faecalis*	3	0	8	38	84	80
	E. faecium	2	0	65	40	94	85
	Enterococcus spp. อื่นๆ	13	5	20	45	86	86
2545	*E. faecalis*	6	0	18	35	86	77
	E. faecium	6	0	64	28	92	89
	Enterococcus spp. อื่นๆ	10	14	24	41	81	85
2546	*E. faecalis*	2	2	15	31	89	80
	E. faecium	2	1	78	27	93	91
	Enterococcus spp. อื่นๆ	7	3	37	31	92	83
2547	*E. faecalis*	3	3	14	31	92	83
	E. faecium	1	1	80	19	90	93
	Enterococcus spp. อื่นๆ	3	8	35	25	76	90

[1] vancomycin (VC), teicoplanin (TN), ampicillin (AM), chloramphenicol (CP), erythromycin (EM) และ tetracycline (TC)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

ประกาศกระทรวงพาณิชย์ เรื่อง การนำยา เภสัชเคมีภัณฑ์ เกลือของเภสัชเคมีภัณฑ์ และเภสัชเคมีภัณฑ์กึ่งสำเร็จรูปเข้ามาในราชอาณาจักร พ.ศ. ๒๕๔๕ (ประกาศในราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่ม 119 ตอนพิเศษ 45ง วันที่ 24 พฤษภาคม 2545.

ธงชัย เฉลิมชัยกิจ จิโรจ ศศิปรียจันทร์ และมณฑล เลิศวรปรีชา. 2546. การเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรียเอ็นเตอร์โรค็อคคัสและซาลโมเนลล่าที่ดื้อยาในไก่เนื้อ. ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2545. 103 หน้า.

ธงชัย เฉลิมชัยกิจ และมณฑล เลิศวรปรีชา. 2547. ความชุกของของเชื้อเอ็นเตอโรค็อคชัยที่ดื้อยาแวนโคมัยซินในสัตว์เลี้ยงสุนัขและแมวในประเทศไทย. กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการเงิน 2546. 61 หน้า.

จีรพัฒน์ เสริมวัฒนากุล, เฉลิมศรี จันทร์นาม, ชนิดา ดังศิริรัตน์, ชมนาท ทองกิตติดิลก และชาลินี วิวัฒนะ (ที่ปรึกษา ธงชัย เฉลิมชัยกิจ). 2548. การศึกษาสถานภาพของปัญหาเชื้อ VRE (Vancomycin-resistant Enterococci) ในกลุ่มนิสิตสัตวแพทยศาสตร์ชั้นปีที่ 3. รายงานปัญหาทางจุลชีววิทยา สัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2548. 25 หน้า.

กมลศิริ วิริยะวงศ์ชัย, โชติมา เจริญพงศ์, ปิยวรรณ ภู่ระหงษ์, วรัญญา ธานินทร์ธราธาร, ศุภยา ฉันทศาสตร์รัศมี และสิริวรรณ เกียรติจรุงพร (ที่ปรึกษา ธงชัย เฉลิมชัยกิจ). 2549. การศึกษาสถานภาพของปัญหาเชื้อ VRE (Vancomycin-resistant Enterococci) ในกลุ่มนิสิตสัตวแพทยศาสตร์ชั้นปีที่ 3. รายงานปัญหาทางจุลชีววิทยา สัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2549. 47 หน้า.

รายงานผลการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ ประจำปี 2541 จัดทำโดยคณะกรรมการโครงการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ ศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. ISBN: 974-293-065-1. 77 หน้า

รายงานผลการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ ประจำปี 2542 จัดทำโดยคณะกรรมการโครงการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ ศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. ISBN: 974-9580-04-4. 90 หน้า

วีรยา ภัทรอาชาชัย. 2539. หลักการวิจัยเบื้องต้น (พิมพ์ครั้งที่ 3) จัดพิมพ์โดย มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์ พิมพ์ที่บริษัท อินเตอร์เทค พริ้นติ้ง จำกัด. 567 หน้า

ศศิธร คณะรัตน์, 2544. ปัญหาเชื้อดื้อยาในทางปศุสัตว์. เอกสารการสัมมนาวิชาการเรื่อง โรคติดเชื้ออุบัติใหม่และอุบัติซ้ำ (Emerging and Re-emerging Infectious Diseases), ดำเนินการโดยกรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข และคณะกรรมการสภาวิจัย

แห่งชาติ สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 3-5 เมษายน 2544 ณ ห้องราชเทวีแกรนด์ บอลรูม โรงแรมเอเซีย กรุงเทพฯ, หน้า 367

ศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ[1] สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 2544. เอกสารแผ่นพับรายงาน Percentage of susceptible bacteria, 32 Hospitals, Jan-Dec 2001.

ศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ[2] สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 2549. http://narst.dmsc.moph.go.th/

สุปราณี สีหาราช (กลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์). 2547. โครงการอบรมเพื่อเสริมศักยภาพงานความปลอดภัยของอาหาร เรื่อง "โครงการเนื้ออนามัย" 25-28 เมษายน 2547 จัดโดยสำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ ณ โรงแรมเจ้าพระยาปาร์ค กรุงเทพฯ.

Aarestrup, F.M., A.M. Seyfarth, H.D. Emborg, K. Pedersen, R.S. Hendriksen, F. Bager. 2001. Effect of Abolishment of the Use of Antimicrobial Agents for Growth Promotion on Occurrence of Antimicrobial Resistant in Fecal Enterococci from Food Animal in Denmark. Antimicrob Agents Chemother. 45 (7): 2054-2059.

Brown, J.W. and A. Grilli. 1998. An Emerging Superbug. Medical Lab Observer 30: 26-32.

Bonten, M., R. Willems, and R. Weinstein. 2001. Vancomycin-resistant enterococci: why are they here, and where do they come from ?. Lancet Infectious Diseases. 1:314-25.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2000. National nosocomial infections surveillance (NNIS) system report, data summary from January 1992-April 2000. Am J Infect Control. 28:429-448.

Cetinkaya, Y., F. Pamela, and C.G. Mayhall. 2000. Vancomycin-Resistant Enterococci. Clinical Microbiology Reviews. 13(4): 686-707.

Coombs, G.W., I.D. Kay, R.A. Steven, and J.E. Pearman, D. Bertolatti, and W.B. Grubb. 1999. Should Genotyping Testing Be Done on All Phenotypically Vancomycin-Resistant Enterococci Detected in Hospitals ? (Letter to the Editor). J Clin Microbiol. 37(4): 1129-1130.

Coque, T.M., J.F. Tomayko, S. Ricke, P.C. Okhyusen, and B.E. Murray. 1996. Vancomycin-resistant enterococci from nosocomial, community, and animal sources in the United States. Antimicrob Agents Chemother. 40: 2605-2609.

Devriese, L.C., M. Ieven, H. Goossens, P. Vandamme, B. Pot, J. Hommez, and F. Haesebrouck. 1996. Presence of Vancomycin-Resistant Enterococci in Farm and Pet Animals. Antimicrob Agent and Chemotherapy. 40 (10): 2285-2287.

Donskey, C.J., A.J. Ray, C.K. Hoyen, P.D. Fuldauer, D.C. Aron, A. Salvator, and R.A. Bonomo. 2003. Colonization and infection with multiple nosocomial pathogens among patients colonized with vancomycin-resistant *Enterococcus*. Infect Control Hosp Epidemiol. 24(4): 242-5.

Harwood, V.J., M. Brownell, W. Perusek, and J.E. Whitlock. 2001. Vancomycin-Resistant Enterococcus spp. Isolated from Wastewater and Chicken Feces in the United States. Applied and Environmental Microbiology. 67(10): 4930-4933.

Heuer, O.E., K. Pedersen, J.S. Andersen, and M. Madsen. 2002. Vancomycin-resistant enterococci (VRE) in broiler flocks 5 years after the avoparcin ban. Microb Drug Resist. 2002 Summer;8(2):133-8.

Hiramatsu, K., N. Aritaka, H. Hanaki, S. Kawasaki, Y. Hosoda, S. Hori, Y. Fukuchi, and I. Kobayashi. 1997. Dissemination in Janpanese hospitals of strain of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. Lancet. 350 (9092): 1670-1673.

Hsueh, P.R., M.L. Chen, C.C. Sun, W.H. Chen, H.J. Pan, L.S. Yang, S.C. Chang, S.W. Ho, C.Y. Lee, W.C. Hsieh, and K.T. 2002. Antimicrobial Drug Resistance in Pathogens Causing Nosocomial Infections at a University Hospital in Taiwan, 1981-1999. Emer Infect Dis. 8(1): 63-68.

Ike, Y., K. Tanimoto, Y. Ozawa, T. Nomura, S. Fujimoto, and H. Tomita. 1999. Vancomycin-resistant enterococci in imported chickens in Japan (Letter). Lancet 1999 May 29; 353 (9167): 1854.

Jayaratne, P. and C. Rutherford. 1999. Detection of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) from growth on mannitol salt oxacillin agar using PCR for nosocomial surveillance. Diag Microbiol Infect Dis. 35(1): 13-18.

Kariyama, R., R. Mitsuhata, J.W. Chow, D.B. Clewell, H. Kumon. 2000. Simple and Reliable Multiplex PCR Assay for Surveillance Isolates of Vancomycin-Resistant Enterococci. J Clin Microbiol. 38 (8):3092-3095.

Klare, I., D. Badstubner, C. Konstabel, G. Bohme, H. Claus, and W. Witte. 1999. Decreased incidence of VanA-type vancomycin-resistant enterococci isolated from poultry meat and from fecal samples of humans in the community after

discontinuation of avoparcin usage in animal husbandry. Microb Drug Resist. 5 (1): 45-52.

Lemcke, R. and M. Bulte. 2001. OCCURRENCE OF THE VANCOMYCIN RESISTANT GENES *VANA*, *VANB*, *VANC*1, *VANC*2 AND *VANC*3 IN ENTEROCOCCI ISOLATED FROM POULTRY AND PORK. Second International Virtual Conference on Pork Quality. November 5-December 6. 2001 (Via Internet): 5 pages.

Low, D.E., N. Keller, A. Barth, and R. N. Jones. 2001. Clinical prevalence, antimicrobial susceptibility, and geographic resistance patterns of enterococci: results from the sentry antimicrobial surveillance program, 1997-1999. Clin Infect Dis. 32 (Suppl. 2): S133-S145.

McDonald, L.C., M.J. Kuehnert, F.C. Tenover, W.R. Jarvis. 1997. Vancomycin-resistant enterococci outside the health-care setting: prevalence, sources, and public health implications. Emerg Infect Dis. 3 (3): 311-7.

Manson, J., S. Keis, J. Smith, and G. M. Cook. 2003. A Clonal Lineage of Van–A *Enterococci faecalis* Predominantes in Vancomycin-Resistant Enterococci Isolated in New Zealand. Antimicrob Agents Chemother. 47(1): 204-210.

Murray, B.E. 1990. The life and times of enterococcus. Clin Microbiol Rev. 3: 46-65.

Murray, B.E. 2000. Vancomycin-Resistant Enterococcal Infection. Drug Therapy (Wood, A.J.J. Editor). The New England Journal of Medicine. 342(10), March 9, 2000: 710-721.

NCCLS, Volume 19 No. 1, January 1999. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Ninth Information Supplement.

Nilgate S., Nunthapisud P., and Chongthaleong A. 2003. Vancomycin-resistant enterococci in King Chulalongkorn Memorial Hospital: a 5-year study. J Med Assoc Thai. 2003 Jun; 86 Suppl 2: S224-9

Norris, A.H., J.P. Reilly, P.H. Edelstein, P.J. Brennan, and M.G. Schuster. 1995. Chloramphenicol for the treatment of vancomycin-resistant enterococcal infections. Clin Infect Dis. 20: 1137-1144.

Noskin, G.A., P. Bednarz, T. Suriano, S. Reiner, and L.R. Peterson. 2000. Persitent contamination of fabric-covered furniture by vancomycin-resistant enterococci; Implications for upholstery selection in hospitals. American Journal of Infection Control. 28: 311-313.

Perez, M.S., S. Robinson, and R.E. Begue. 1999. Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* meningitis succusfully treated with chloramphenicol. Pediatr Infect Dis. 18: 483-484.

Reacher, M.H., A. Shah, D.M. Livermore, M.C. Wale, C. Graham, A.P. Johnson, H. Heine, M.A. Monnickendam, K.F. Barker, D. James, and R.C. George. 2000. Bacteraemia and antibiotic resistance of its pathogens reported in England and Wales between 1990 and 1998: trend analysis. BMJ. 320: 213-216.

Schaberg, D.R., D.H. Culver, R.H. Gaynes. 1991. Major trends in microbial etiology of nosocomial infection. Am J med. 91: supl 3B: 72S-75S.

Schouten, M.A., J.A.A. Hoogkamp - Korstanje, J.F.G. Meis, A. Voss, and the European VRE Study Group. 2000. Prevalance of Vancomycin-Resistant Enterococci in Europe. Eur J Clin Microbio. Infect Dis. 19: 816-822.

Sebatian, M.A., P.R. Xiomara, and C.A. Felix. 2000. Glycopeptide resistance in enterococci. Internal Microbiol. 3: 71-80.

Simjee, S., D.G. White, P.F. McDermott, D.D. Wagner, M.J. Zervos, S.M. Donabedian. 2002. Characterization of Tn *1546* in Vancomycin - Resistant *Enterococcus faecium* Isolated from Canine Urinary Tract Infection: Evidence of Gene Exchange between Human and Animal Enterococci. J Clin Microbiol. 40: 4659-4665.

Stobberingh, E.E., A. van den Bogaard, N. London, C. Driessen, J. Top, and R. Willems. 1999. Enterococci with glycopeptide resistance in turkeys, turkey farmers, turkey slaughterers, and (sub)urban residents in the south of The Netherlands: evidence for transmission of vancomycin resistance from animals to humans? Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 43: 2215–21.

Van Belkun A., N. Van Den Braak, R. Thomassen, H. Verbrugh, and H. Endtz. 1996. Vancomycin-resistant enterococci in cats and dogs. Lancet. 348 (9033):1038-1039.

Wagenvoort J.H.T., D.M.T. Burgers, T.H.C. Wagenvoort, and E. Burgers. 2003. Absence of vancomycin-resistant enterococci (VRE) in companion dogs in the conurbation of Parkstad Limburg, The Netherlands. (Correspondence) Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 52 (3): 532.

Wegener, H.C., F.M. Aarestrup, L. Bogo Jensen. 1999. Use of antimicrobial growth promoters in food animals and *Enterococcus faecium* resistance to therapeutic antimicrobial drugs in Europe. Emerg Infect Dis. 5: 329-335.