20/0261/49

DETECTION OF METHICILLIN RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MRSA) IN DORMITORY AT WALAILAK UNIVERSITY CAMPUS, NAKHON SI THAMMARAT PROVINCE

Monthon Lertcanawanichakul[1,*] *Rungruthai Thongsang*[1]
Sakonthakrit Pothikam[1] *Hasisah Lahohya*[1]

Abstract

One hundred samples in dormitory at Walailak University Campus, Nakhon Si Thammarat Province, divided into 2 groups ie., 50 samples from the door-knob and 50 samples from nasal cavity of students who lived in the room were determined for Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). They were cultured on the surface of Mannitol Salt Agar (MSA) or MSA supplemented with 6 μg/ml Oxacillin (MSAox) by spread plate technique. It was found that Methicillin Sensitive *S. aureus* (MSSA) were detected from 26 of 100 samples, in the percentage of 26. They were only found from door-knob, nasal cavity or both of sources, in the percentage of 23 (6/26), 50 (13/26) and 27 (7/26), respectively, however, MRSA were not detected from all of samples. Moreover, Methicillin Resistant Coagulase Negative Staphylococci (MRCoNS) were detected from each of door-knop or nasal cavity. The profiles of antimicrobial susceptibility test by means of Kirby-Bauer method of all tested *S. aureus* from all of samples were the same, including MRCoNS. It implied that those microorganisms were spreaded into environment by humans were act as a carrier.

Key words: *Staphylococcus aureus*, antimicrobial susceptibility, methicillin

[1]School of Allied Health Sciences and Public Health, Walailak University, Nakhon Si Thammarat 80160
*To whom correspondence should be addressed. E-mail: lmonthon@wu.ac.th, Tel: 0 7567 2104-5, Fax: 0 7538 4000 ext. 2106

นิพนธ์ต้นฉบับ

การตรวจหาเชื้อแสตบฟิลโลคอคคัสออเรียสที่ดื้อยาเมธิซิลลินในหอพักนักศึกษามหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์จังหวัดนครศรีธรรมราช

มณฑล เลิศคณาวนิชกุล[1,] รุ่งฤทัย ทองแสง[1] สกลธกฤษณ์ โพธิขำ[1] ฮานีซ๊ะ ลาโห๊ะยา[1]*

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างจากลูกบิดประตูและโพรงจมูกนักศึกษาที่อาศัยอยู่ภายในหอพักนักศึกษามหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จังหวัดนครศรีธรรมราชอย่างละ 50 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 100 ตัวอย่าง เพื่อตรวจหาเชื้อแสตบฟิลโลคอคคัสออเรียสที่ดื้อยาเมธิซิลลิน โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยวิธีการกระจายเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Mannitol Salt Agar (MSA) และ MSA ที่ผสมยา Oxacillin (MSAox) ความเข้มข้น 6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปรากฏว่าตรวจพบเชื้อ Methicillin Susceptibility *Staphylococcus aureus* (MSSA) จำนวน 26 ตัวอย่าง จาก 100 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 26 โดยพบที่ลูกบิดประตูจำนวน 6 ตัวอย่าง นักศึกษาจำนวน 13 ตัวอย่าง และที่ลูกบิดประตูและนักศึกษาจำนวน 7 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 23, 50 และ 27 ตามลำดับจากตัวอย่างที่ตรวจพบ MSSA ทั้งหมด แต่ตรวจไม่พบ Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ในตัวอย่างดังกล่าว เมื่อทดสอบแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อที่พบที่ลูกบิดประตูของห้องพักและนักศึกษาที่อาศัยอยู่ในห้องพักนั้นพบว่าเชื้อที่คัดแยกออกมาได้จากตัวอย่างทั้งสองแหล่งมีแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะที่เหมือนกัน นอกจากนี้ยังตรวจพบ Methicillin Resistant Coagulase Negative Staphylococci (MRCoNS) ที่ลูกบิดประตู และนักศึกษาที่ไม่ได้พักในห้องนั้น แหล่งละ 1 ตัวอย่าง โดยเชื้อดังกล่าวก็ยังคงให้แบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะที่เหมือนกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้ออาจมีการแพร่กระจายจากตัวบุคคลไปสู่สิ่งแวดล้อมหรือจากสิ่งแวดล้อมไปสู่บุคคลและอาจเป็นการยืนยันได้ว่าเชื้อที่แพร่กระจายไปสู่สิ่งแวดล้อมนั้นโดยมีตัวบุคคลเป็นพาหะ

คำสำคัญ: แสตบฟิลโลคอคคัสออเรียส ความไวต่อยาปฏิชีวนะ เมธิซิลลิน

[1]สำนักวิชาสหเวชศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ นครศรีธรรมราช 80160
*ติดต่อได้ที่ lmonthon@wu.ac.th โทรศัพท์ 0 7567 2104-5 โทรสาร 0 7538 4000 ต่อ 2106

บทนำ

ปัจจุบันการดื้อยาของแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะที่เคยรักษาได้ดีมาก่อน เป็นปัญหาที่สำคัญมาก และพบบ่อยในกลุ่มแบคทีเรียก่อโรค ซึ่งคุณสมบัติดื้อยาสามารถถ่ายทอดกันได้ด้วยกระบวนการทางพันธุกรรม และเกิดได้อย่างรวดเร็วเมื่อมีการใช้ยาต้านจุลชีพมากขึ้น ทำให้หายารักษาโรคได้ยากเป็นเหตุให้อัตราการป่วยตายเพิ่มสูงขึ้น รวมถึงการสูญเสียทางเศรษฐกิจของทั้งผู้ป่วยและคนปกติ[1-8] ในเบื้องต้นพบว่า *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อยา Methicilin (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ; MRSA) เป็นเชื้อที่พบเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลในระดับต้น ๆ และสามารถ colonization ภายในคนปกติหรือแม้กระทั่งผู้ป่วยที่มีอาการของโรคเดิมไม่รุนแรง (บริเวณจมูก) โดยไม่ก่ออาการของโรคหรือมีอาการไม่รุนแรงมากเมื่อมีการติดเชื้อที่ผิวหนังแต่ถ้าเชื้อเข้าสู่กระแสเลือดอาจเป็นอันตรายได้ [1-2, 9] สภาพที่ชื้นและอุ่นในบริเวณที่มีขนซึ่งมีต่อมเหงื่อและต่อมไขมัน จะช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อชนิดนี้ ดังนั้นมนุษย์ทั่วไปจึงถือได้ว่าเป็นพาหะ และเมื่อสภาวะแวดล้อมเหมาะสมก็สามารถแพร่กระจายเชื้อไปสู่ผู้อื่นได้ โดยพบอุบัติการณ์ของเชื้อ MRSA มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นในทั่วทุกภูมิภาคของโลกรวมทั้งประเทศไทย[2-12] อันอาจเนื่องมาจากมีการใช้ยาปฏิชีวนะกันอย่างไม่ระมัดระวัง สำหรับประเทศไทยในโรงพยาบาลขนาดใหญ่หลายแห่งเช่น รพ. สงขลานครินทร์ [5, 13] รพ. เลิดสิน[14] ได้มีรายงานการตรวจพบการแพร่ระบาดของเชื้อ MRSA และได้มีการกำจัดแหล่งของโรคไปได้ในระดับหนึ่ง แต่สำหรับโรงพยาบาลขนาดเล็กหรือโรงพยาบาลชุมชนยังไม่มีข้อมูลที่เด่นชัดของแหล่งเชื้อและ/หรือความชุกของเชื้อ MRSA อันอาจเนื่องมาจากยังไม่มีการเฝ้าระวังหรืออาจเนื่องมาจากยังมีการใช้ยาปฏิชีวนะอยู่ในระดับต่ำจึงยังไม่พบมีการแพร่ระบาดของเชื้อ MRSA มากนัก แต่ถ้าหากพิจารณาให้ละเอียดถี่ถ้วนแล้วพบว่าการตรวจไม่พบเชื้อ MRSA ในโรงพยาบาลขนาดเล็ก ไม่ใช่เป็นข้อสรุปที่ชัดเจนว่าจะไม่ปรากฏมีเชื้อ MRSA อยู่ภายในโรงพยาบาลขนาดเล็กเหล่านั้น แต่อาจมีสาเหตุมาจากข้อจำกัดของเทคนิคการตรวจหาเชื้อยังไม่ดีพอ[5-9] หรืออาจเนื่องมาจากคุณสมบัติของเชื้อ MRSA ที่พบว่ามีลักษณะที่เป็น heteroresistant กล่าวคือมีทั้ง population ที่ดื้อและไวต่อยาเจริญปะปนกันอยู่ และใน population ที่ดื้อต่อยามักจะเจริญได้ช้ากว่าทำให้ในการทดสอบหาแบบแผนความไวของยา oxacillin disk ต่อเชื้อกลุ่มนี้มีข้อผิดพลาดได้หากบ่มเลี้ยงในระยะเวลาสั้น ๆ (16-18 ชั่วโมง) นอกจากนี้เชื้อต้องการอุณหภูมิในการเจริญเพียง 30-35 องศาเซลเซียส และควรบ่มเลี้ยงเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง[4-6] ดังนั้นหากไม่มีการเฝ้าระวังเชื้อ MRSA ในโรงพยาบาลขนาดเล็ก อย่างมีประสิทธิภาพเพียงพอก็อาจเป็นไปได้ว่าโรงพยาบาลขนาดเล็กอาจเป็นแหล่งเพาะพันธุ์และแพร่ระบาดของเชื้อ MRSA ออกสู่ชุมชนอย่างไม่ได้ตั้งใจโดยพบมีความสัมพันธ์กับแบบแผนการใช้สิ่งของที่ปนเปื้อนเชื้อโรคหรืออยู่ในชุมชนแออัดและแพร่กระจายได้ด้วยการสัมผัสโดยตรงซึ่งได้มีรายงานว่าเชื้อเหล่านั้นยังคงมีความไวต่อยา penicillin แต่ดื้อยา methicillin ซึ่งแตกต่างจาก MRSA สายพันธุ์ดั้งเดิมที่มักมีการดื้อยาแบบ multiple resistance[9] จึงยังคงเป็นที่สงสัยว่าเชื้อจากแหล่งชุมชนเป็นสายพันธุ์เดียวกับสายพันธุ์ในโรงพยาบาลหรือไม่ แต่ถ้าหากตัดข้อสงสัยจุดนี้ออกไปจะพบว่าปัญหา

ไม่ได้อยู่ที่แหล่งที่มาของเชื้อแต่อยู่ที่ว่าได้เริ่มมีการแพร่ระบาดของเชื้อที่ดื้อต่อยาที่มีการใช้กันอยู่ในปัจจุบันออกสู่ชุมชน[9] และพบว่าเชื้อเริ่มมีการดื้อต่อยา vancomycin ที่ใช้สำหรับการรักษาโรคติดเชื้อ MRSA[5,9] นอกจากนี้ยังพบเชื้อ coagulase-negative *Staphylococcus* ที่ดื้อต่อยา oxacillin[7,15] จากแหล่งที่ตรวจพบ MRSA ดังกล่าวได้ด้วย ด้วยเหตุนี้จึงสนใจศึกษาตรวจหาแหล่งของเชื้อ MRSA จากหอพักนักศึกษามหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จังหวัดนครศรีธรรมราช เพื่อหาความสัมพันธ์ของการแพร่กระจายเชื้อระหว่างสิ่งแวดล้อมและคนที่อาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมนั้นโดยดูจากแบบแผนความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะโดยวิธี Kirby-Bauer[3,16] เพื่อเป็นข้อมูลป้องกันในเบื้องต้นของการแพร่ระบาดของเชื้อในแหล่งชุมชนต่อไป

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

1. การเก็บตัวอย่าง

1.1 ลูกบิดประตู

ใช้สำลีพันก้านไม้ปราศจากเชื้อจุ่ม 0.85% โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) พอชุ่ม แล้วป้ายรอบ ๆลูกบิดประตู จากหอพักนักศึกษามหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จังหวัดนครศรีธรรมราช จำนวนทั้งหมด 4 หอ ได้แก่ 1, 3, 4 และ 5 โดยเก็บหอ 1 และ หอ 5 หอละ 13 ห้อง หอ 3 และหอ 4 หอละ 12 ห้องรวมเป็น 50 ห้องแล้วนำสำลีพันก้านไม้ที่ได้ป้ายจากลูกบิดแล้วเก็บไว้ในหลอดทดลองฝาเกลียวที่มี 0.85% NaCl บรรจุอยู่ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปตรวจทางห้องปฏิบัติการภายในหนึ่งวันต่อตัวอย่างที่เก็บได้ในแต่ละครั้ง

1.2 นักศึกษา

ใช้ไม้พันสำลีจุ่ม 0.85% NaCl พอชุ่ม แล้วป้ายโพรงจมูกของนักศึกษาที่อาศัยอยู่ในห้องที่ป้ายบริเวณลูกบิดประตูจำนวน 1 คน แล้วนำสำลีพันก้านไม้ที่ได้ป้ายจากจมูกแล้วเก็บไว้ในหลอดทดลองฝาเกลียวที่มี 0.85% NaCl ปริมาตร 1 มิลลิลิตรบรรจุอยู่นำไปตรวจทางห้องปฏิบัติการภายในหนึ่งวันต่อตัวอย่างที่เก็บได้ในแต่ละครั้ง

2. การพิสูจน์ยืนยันชนิดเชื้อ

2.1 การเพาะเลี้ยงเชื้อ

เพาะเลี้ยงเชื้อที่เก็บได้จากลูกบิดประตูหรือนักศึกษาโดยนำมากระจายลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Mannitol Salt (MSA) และ MSA ผสมด้วยยา oxacillin เข้มข้น 6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (MSAox) แล้วบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนโคโลนีสีเหลือง กลม นูน ขอบเรียบ ขนาดประมาณ 0.5-1.0 มิลลิเมตรและเปลี่ยนสีอาหารเป็นสีเหลือง ซึ่งสันนิษฐานว่าเป็นเชื้อ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) และเชื้อลักษณะดังกล่าวที่ปรากฏบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ MSAox สันนิษฐานว่าเป็นเชื้อ methicillin resistant *S.*

aureus (MRSA) แล้วนำมาย้อมแกรมเพื่อพิสูจน์กลุ่มเชื้อกล่าวคือจะติดสีแกรมบวกรูปร่างกลมเรียงตัวคล้ายพวงองุ่น และทดสอบทางชีวเคมีเพื่อยืนยันชนิดเชื้อต่อไป

2.2 การทดสอบทางชีวเคมี

เขี่ยเชื้อที่เจริญบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MSA หรือ MSAox ที่มีลักษณะดังที่ได้กล่าวไว้ในข้อ 2.1 มาทดสอบการผลิตเอนไซม์ catalase ซึ่งจะต้องให้ผลบวก กล่าวคือ เมื่อหยด 3% H_2O_2 จะเกิดฟองก๊าซ และการผลิตเอนไซม์ coagulase จะต้องให้ผลบวก กล่าวคือ เกิดการจับตัวเป็นก้อนของ plasma

3. แบบแผนความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ

วิธี Agar diffusion susceptibility test ทำโดยวิธี Kirby Bauer[3] โดยเขี่ยโคโลนีของเชื้อที่ให้ผลการยืนยันเบื้องต้นว่าเป็น *S. aureus* มาทำการแขวนลอยให้มีความขุ่นเทียบเท่ากับความขุ่นมาตรฐาน ของ MacFarland No 0.5 (ควรใช้หลอดทดลองขนาดเดียวกับที่ใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย) จากนั้นใช้สำลีพันก้านไม้ปราศจากเชื้อจุ่มเชื้อแขวนลอยไปป้ายลงบนพื้นผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Mueller Hinton (MHA) ตั้งทิ้งไว้ให้ผิวหน้าแห้งประมาณ 3-5 นาที แล้ววางแผ่นยามาตรฐาน (oxoid) สำหรับเชื้อสกุล Staphylococci (Penicillin G, Cephalothin, Oxacillin, Choramphinicol, Gentamycin และ Nitrofurantonin) ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลโดยนำมาวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณเชื้อที่ถูกยับยั้ง (clear zone) เป็นมิลลิเมตร เปรียบเทียบกับตารางด้านล่าง

ตารางที่ 1 Zone diameter ของยาสำหรับทดสอบแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus*

Antibiotic disc(s)	Zone diameter (mm)		
	Resistance	Intermediated	Susceptibility
Penicillin G (P)	≤ 28	-	≥ 29
Cephalothin (CF)	≤ 14	15-17	≥ 18
Oxacilin (OX)	≤ 10	11-12	≥ 13
Choramphenicol (C)	≤ 12	13-17	≥ 18
Gentamicin (G)	≤ 12	13-14	≥ 15
Nitrofurantoin (F/M)	≤ 14	15-16	≥ 17

ที่มา : National Committee of Clinical Standards (NCCS)[16]

ผล

1. การคัดแยกเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ตรวจหาเชื้อ MRSA ในหอพักนักศึกษาของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์จังหวัดนครศรีธรรมราช ทั้งหมด 4 หอพัก จากตัวอย่างที่ป้ายมาจากลูกบิดประตูห้องและนักศึกษาที่อาศัยอยู่ในห้องดังกล่าว อย่างละ 50 ตัวอย่างปรากฏว่าเชื้อที่สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MSA คือ เชื้อ *S. aureus* รวมทั้งหมด (MSSA+MRSA) ส่วนเชื้อ *S. aureus* ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MSAox จัดว่าเป็นเชื้อ MRSA โดยตรวจพบ *S. aureus* จำนวน 26 ตัวอย่างจาก 100 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 26 โดยพบที่ 1) พบเฉพาะที่ลูกบิดประตูจำนวน 6 ตัวอย่าง, 2) พบเฉพาะที่นักศึกษาจำนวน 13 ตัวอย่าง และ 3) ตรวจพบทั้งที่ลูกบิดประตูห้องและนักศึกษาที่อาศัยอยู่ในห้องดังกล่าวจำนวน 7 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 23, 50 และ 27 จากตัวอย่างที่ตรวจพบ *S. aureus* ทั้งหมด ตามลำดับ แต่จากการศึกษาตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 100 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบเชื้อ MRSA อย่างไรก็ตามได้ตรวจพบเชื้อ MRCoNS จากตัวอย่างลูกบิดประตู (3/203) และนักศึกษาที่ไม่ได้อยู่ในห้องพักดังกล่าว (3/214) ดังแสดงในตารางที่ 2

2. แบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อ

เมื่อทำการเลือกเชื้อที่คัดแยกได้จากทั้งลูกบิดประตูและนักศึกษาทั้ง 7 ตัวอย่าง มาทำการทดสอบแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะด้วยวิธี Kirby-Bauer[3] เพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อที่แยกได้จากลูกบิดประตูและนักศึกษาพบว่ามีเชื้อทดสอบให้แบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะที่เหมือนกันจากทั้งสองแหล่งตัวอย่าง กล่าวคือมีความไวต่อยาปฏิชีวนะ Chloramphenicol, Penicillin G, Oxacillin, Cephalothin, Nitrofurantoin และ Gentamicin ส่วนเชื้อ MRCoNS ที่แยกได้จากลูกบิดประตูหรือตัวนักศึกษาอย่างละ 1 ตัวอย่าง จะให้แบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะเหมือนกันกล่าวคือมีความไวต่อยา Gentamicin และ Chloramphenicol แต่จะดื้อยาต่อยา Penicillin G, Oxacillin, Cephalothin และ Nitrofurantoin ดังแสดงในตารางที่ 3 และ รูปที่ 1 a-b

ตารางที่ 2 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ/หรือ MRCoNS ที่ตรวจพบในหอพักนักศึกษา[1]

หอ/ห้อง*	จำนวนโคโลนีทั้งหมดของเชื้อ		จำนวนโคโลนีของเชื้อ MRSA		หมายเหตุ[2]
	ลูกบิดประตู	นักศึกษา	ลูกบิดประตู	นักศึกษา	
1/102	-	1	-	-	
1/106	3	11	-	-	
1/110	1	-	-	-	
1/114	1	-	-	-	
1/127	2	5	-	-	
1/134	3	1	-	-	
1/208	-	> 300	-	-	
1/235	4	> 300	-	-	
1/330	1	-	-	-	
3/110	2	1	-	-	
3/203	1	7	-	-	MRCoNS 7 โคโลนี
3/214	-	-	-	-	MRCoNS 7 โคโลนี
3/222	1	-	-	-	
3/224	2	1	-	-	
3/314	-	> 300	-	-	
3/333	2	-	-	-	
4/114	-	4	-	-	
4/138	-	1	-	-	
4/208	-	> 300	-	-	
4/211	-	> 300	-	-	
4/215	-	> 300	-	-	
4/230	-	> 300	-	-	
5/111	-	> 300	-	-	
5/134	-	> 300	-	-	
5/207	6	-	-	-	
5/218	-	> 300	-	-	
5/314	-	4	-	-	

[1] *S. aureus* ที่เจริญบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ MSA จะให้โคโลนีสีเหลือง กลม นูน ขอบเรียบ ขนาดประมาณ 0.5-1.0 มิลลิเมตรและเปลี่ยนสีอาหารเป็นสีเหลืองให้ผลบวกกับการทดสอบ Coagulase; MSA (Mannitol Salt Agar); MSAox (Mannitol Salt Agar ที่มีส่วนผสมของยา Oxacillin)

[2] MRCoNS ที่เจริญบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ MSAox จะให้ลักษณะโคโลนีสีชมพู กลม นูน ขอบเรียบ ขนาดประมาณ 0.5-1.0 มิลลิเมตรให้ผลลบกับการทดสอบ Coagulase

*ห้องที่ตรวจพบ *S. aureus* มีเพียง 26 ตัวอย่างจากจำนวนทั้งหมด 100 ตัวอย่าง ตัวอย่างที่เหลือตรวจพบ Coagulase Negative *Staphylococci* และสกุล *Bacillus* sp.

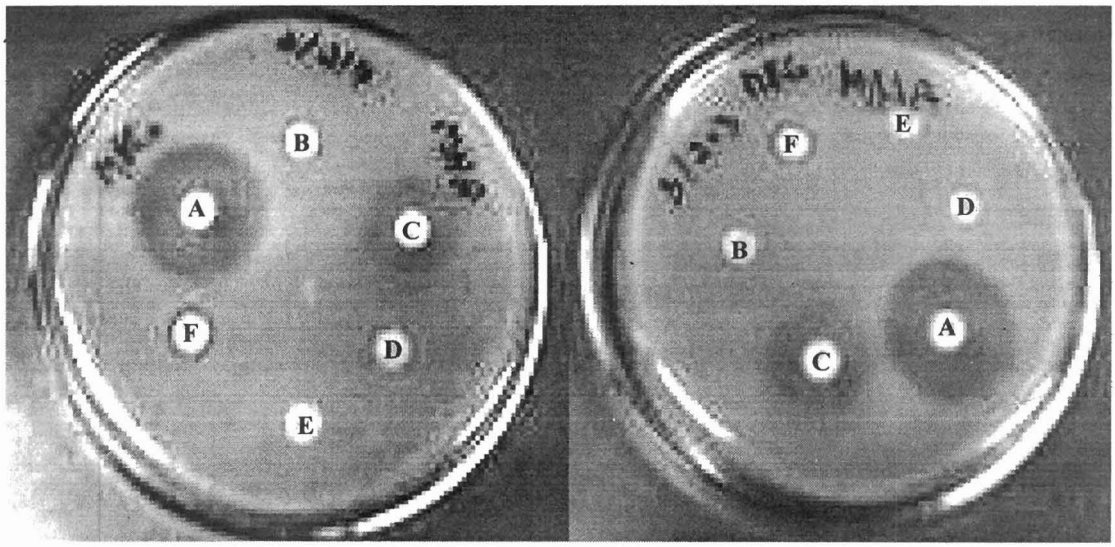
ตารางที่ 3 แบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *S. aureus* หรือ MRCoNS ที่แยกได้จากทั้งลูกบิดประตูและนักศึกษา

หอ/ห้อง	แบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะ[1]											
	Oxacillin		Penicillin G		Cephalothin		Chloramphenicol		Gentamicin		Nitrofurantoin	
	ลบ	นศ	ลบ	นศ	ลบ	นศ	ลบ	นศ	ลบ	นศ	ลบ	นศ
1/106	S(24)	S(21)	S(30)	S(27)	S(23)	S(24)	S(27)	S(28)	S(27)	S(25)	S(30)	S(31)
1/127	S(22)	S(23)	S(29)	S(30)	S(27)	S(25)	S(26)	S(25)	S(26)	S(23)	S(35)	S(38)
1/134	S(19)	S(20)	S(32)	S(33)	S(24)	S(24)	S(30)	S(27)	S(22)	S(20)	S(38)	S(40)
1/235	S(19)	S(21)	S(27)	S(26)	S(25)	S(29)	S(32)	S(30)	S(20)	S(23)	S(41)	S(39)
3/110	S(23)	S(22)	S(35)	S(32)	S(29)	S(30)	S(30)	S(29)	S(28)	S(27)	S(40)	S(40)
3/203	S(20)	S(20)	S(26)	S(27)	S(22)	S(23)	S(27)	S(24)	S(19)	S(19)	S(29)	S(30)
3/224	S(23)	S(22)	S(29)	S(32)	S(30)	S(29)	S(25)	S(27)	S(26)	S(25)	S(40)	S(40)
3/203[2]	R(0)	ND	S(26)	ND	R(0)	ND	S(18)	ND	R(8)	ND	R(0)	ND
3/214[2]	ND	R(0)	ND	S(26)	ND	R(0)	ND	S(18)	ND	R(9)	ND	R(0)
MRSA[3]	R(0)		R(0)		S(29)		S(26)		R(0)		R(0)	

[1]S, Susceptibility; R, Resistance; ( ), ขนาดโซนใสมีหน่วยเป็นมิลลิเมตร;
ลบ, ลูกบิดประตู; นศ, นักศึกษา, ND, ไม่ได้ทำการทดลอง

[2]ตรวจพบ Methicillin resistant Coagulase Negative Staphylococci (MRCoNS)

[3] positive control คือเชื้อ MRSA strain 9



a b

A= Gentamicin
B= Nitrofurantoin
C= Chloramphenicol
D= Cephalothin
E= Oxacillin
F= Penicillin G

รูปที่ 1 แบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อ Methicillin resistant Coagulase Negative Staphylococci (MRCoNS) (a) MRCoNS ที่แยกได้จากนักศึกษาห้อง 3/214 (b) MRCoNS ที่แยกได้จากลูกบิดประตูห้อง 3/203

วิจารณ์

1. การแยกเชื้อ *S. aureus* จากตัวอย่าง

MRSA เป็นแบคทีเรียดื้อยาที่พบได้บ่อยในโรงพยาบาล (Nosocomial Infection) มีความสามารถก่อโรคและก่อปัญหาแพร่ระบาดในโรงพยาบาลรวมไปถึงแหล่งชุมชนแออัด[2, 9-10] ซึ่งหอพักนักศึกษาจัดได้ว่าเป็นแหล่งที่มีคนพักอาศัยอยู่เป็นจำนวนมากมาย จึงน่าจะเป็นไปได้ ที่จะมีการแพร่กระจายของเชื้อ MRSA จากบุคคลไปสู่สิ่งแวดล้อมหรือจากสิ่งแวดล้อมเข้าไป colonize ในตัวบุคคลได้ โดยพบว่าในคนปกติสามารถตรวจพบ MRSA ได้โดยไม่ก่อให้เกิดอันตรายแต่อย่างใด[2] และเนื่องจาก *S. aureus* เป็นเชื้อที่พบได้บริเวณผิวหนังและโ พรงจมูกของบุคคลทั่วไป[1-3] ดังนั้นการหาความสัมพันธ์ที่ชัดเจนที่สุดของกลุ่มเชื้อในสิ่งแวดล้อมกับตัวบุคคลในหอพักก็คือลูกบิดประตูห้องกับบุคคลที่พักอยู่ในห้องดังกล่าว จึงได้ออกแบบการศึกษาด้วยการแยกกลุ่มเชื้อ *S. aureus* รวมทั้งเชื้อที่คาดว่าจะเป็น MRSA จากกลุ่มตัวอย่างข้างต้น โดยทำการป้ายตัวอย่างด้วยสำลีพันก้านไม้ปราศจากเชื้อ และคัดเลือกกลุ่มเชื้อ *S. aureus* หรือ MRSA ในจานเพาะเชื้อ MSA หรือ MSAox ตามลำดับ เพื่อหาเป็นจำนวนร้อยละของ MRSA ต่อเชื้อ *S. aureus* ทั้งหมด แต่ปรากฏว่าตรวจไม่พบเชื้อ MRSA จากตัวอย่างทั้งหมด แต่จะพบกลุ่มของ *S. aureus* ซึ่งเป็นกลุ่ม Methicillin Susceptible *S. aureus* (MSSA) โดยอาจเนื่องมาจากกลุ่มตัวอย่างไม่ใช่ผู้ป่วยและสถานที่ที่ใช้เก็บตัวอย่างไม่ใช่โรงพยาบาล ดังนั้นหากเปลี่ยนกลุ่มเป้าหมายเป็นผู้ป่วยและสถานที่เป็นโรงพยาบาลก็น่าจะตรวจพบ MRSA ได้ดังรายงานของหลาย ๆ งานวิจัยที่มีการศึกษาอุบัติการณ์และการกระจายของการติดเชื้อ MRSA ในโรงพยาบาล[5-8] และผลกระทบด้านค่าใช้จ่ายยาต้านจุลชีพที่ใช้รักษาการติดเชื้อ MRSA ในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล[6, 8, 17] นอกจากนี้ยังพบมีการแพร่กระจายของเชื้อ MRSA มีความสัมพันธ์กับแบบแผนการใช้สิ่งของปนเปื้อนหรืออยู่ในชุมชนแออัด[2, 9, 14]

2. การหาความสัมพันธ์ของเชื้อจากตัวอย่างที่ป้ายได้จากลูกบิดประตูและนักศึกษา

สามารถตรวจพบเชื้อ *S. aureus* จำนวน 26 ตัวอย่างจากตัวอย่างทั้งหมด 100 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 26 โดยพบที่ 1) ลูกบิดประตูจำนวน 6 ตัวอย่าง 2) นักศึกษาจำนวน 13 ตัวอย่าง และ 3) ที่ลูกบิดประตูและนักศึกษาที่อาศัยอยู่ภายในห้องดังกล่าวจำนวน 7 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 23, 50 และ 27 ตามลำดับจาก 26 ตัวอย่าง ที่ตรวจพบ *S. aureus* และเมื่อทำการนำเชื้อที่คัดแยกได้มาจากทั้งลูกบิดประตูและนักศึกษาในห้องดังกล่าวมาทำการทดสอบแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะด้วยวิธี Kirby-Bauer[3] เพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อที่แยกได้จากลูกบิดประตูและนักศึกษาพบว่ามีแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อจากทั้งสองแหล่งเหมือนกันและเมื่อเทียบเคียงจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะทางชีวเคมีและแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะเชื้อดังกล่าวน่าจะเป็นกลุ่มเดียวกัน[2, 5, 10] ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเชื้อสามารถแพร่กระจายจากบุคคลไปสู่สิ่งแวดล้อมโดยเชื้ออาจติดไปกับน้ำมูก น้ำลาย หรือแพร่กระจายไปกับอากาศที่เนื่องมาจากการไอหรือจามอย่างแรง[12,14,16-17] สำหรับตัวอย่างที่ตรวจพบ *S. aureus* เฉพาะจากตัวอย่างที่ป้ายจากลูกบิด

ประตูหรือนักศึกษานั้น คาดว่าน่าจะเกิดจากการที่ไม่มีการแพร่กระจายของ *S. aureus* ออกไปสู่ภายนอก หรือหากมีการแพร่กระจายจริงอาจจะมีบุคคลอื่น ๆนอกจากบุคคลที่ได้ทำการศึกษาในครั้งนี้ได้มีการสัมผัสเชื้อไปจนหมดแล้ว ทำให้ตรวจพบเชื้อดังกล่าวเฉพาะแหล่งใดแหล่งหนึ่งเท่านั้น อย่างไรก็ตามการศึกษาในครั้งนี้ยังได้ตรวจพบเชื้อ Methicillin Resistant Coagulase Negative *Stapaphylococcus* (MRCoNS) จากตัวอย่างที่ป้ายจากลูกบิดประตูและนักศึกษาแหล่งละ 1 ตัวอย่าง ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของวุฒิชัย ขิมลาภและคณะ (2548) ที่ได้ทำการสำรวจพาหะของเชื้อ MRSA ในบุคลากรทางการแพทย์ของโรงพยาบาลศรีนครินทร์ จำนวน 201 คน พบว่าเป็นเชื้อ MRCoNS จากช่องจมูกและมือ จำนวนร้อยละ 3 และ 11.9 ตามลำดับ[8,18] เชื้อ MRCoNS จากตัวอย่างทั้ง 2 แหล่ง พบว่ามีแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะเหมือนกันดังแสดงในรูปที่ 1 แม้ว่าเชื้อจะไม่ได้แยกได้จากลูกบิดประตูและนักศึกษาที่อาศัยอยู่ในห้องดังกล่าว แต่พบว่าเชื้อจากตัวอย่างทั้งสองแหล่งอยู่บริเวณใกล้เคียงกันคืออยู่ในหอพัก 3 ชั้นเดียวกัน (3/203 และ 3/214) จึงอาจเป็นไปได้ว่าเชื้อ MRCoNS มีการแพร่กระจายโดยอาศัยตัวบุคคลและเริ่มมีการดื้อยาอันอาจเนื่องมาจากมีการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมให้แก่กันดังได้มีรายงานใน MRSA[9, 11, 19] ซึ่งมีความจำเป็นต้องศึกษาอย่างละเอียดต่อไป

สรุปและข้อเสนอแนะ

จากตัวอย่างที่ป้ายจากลูกบิดประตูและนักศึกษาอย่างละ 50 ตัวอย่างตรวจไม่พบเชื้อ MRSA ดังนั้นคาดว่าน่าจะยังไม่มีการแพร่กระจายของเชื้อชนิดนี้ภายในหอพักนักศึกษา แต่อย่างไรก็ตามตรวจพบเชื้อ *S. aureus* จำนวน 26 ตัวอย่างจาก 100 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 26 (26/100) โดยพบที่ลูกบิดประตูจำนวน 6 ตัวอย่าง นักศึกษาจำนวน 13 ตัวอย่าง และที่ลูกบิดประตูและนักศึกษาจำนวน 7 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 23 (6/26), 50 (13/26) และ 27 (7/26) ตามลำดับ โดยเชื้อที่พบทั้งจากลูกบิดประตูและนักศึกษามีแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะที่เหมือนกันแสดงให้เห็นว่าเชื้อทั้งสองแหล่งน่าจะมีความสัมพันธ์กันและอาจกล่าวได้ว่าเชื้อสามารถแพร่ออกไปสู่สิ่งแวดล้อมภายนอกได้โดยมนุษย์เป็นสื่อ[8-9] นอกจากนี้ยังตรวจพบ Methicillin Resistant Coagulase Negative Staphylococci (MRCoNS) ได้จากลูกบิดประตูและนักศึกษาที่ไม่ได้อยู่ในห้องพักนั้นแหล่งละ 1 ตัวอย่าง แต่เชื้อจากทั้งสองแหล่งให้แบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะที่เหมือนกัน โดยอาจเป็นข้อยืนยันได้ว่าเชื้อสกุล Staphylococci สามารถแพร่กระจายจากมนุษย์ไปสู่สิ่งแวดล้อมและ/หรือจากสิ่งแวดล้อมไปสู่มนุษย์ได้ซึ่งต้องมีการศึกษาทางด้านพันธุกรรมของเชื้อเพื่อยืนยันต่อไป[9, 12, 17] และควรใช้หลักการของ universal/standard precaution กล่าวคือต้องหมั่นล้างมือให้สะอาดอยู่เสมอ รักษาความสะอาดของบาดแผลและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทำแผล ต้องหลีกเลี่ยงการสัมผัสบาดแผลหรือสิ่งปนเปื้อนของผู้ป่วย[2,17-20] เพื่อป้องกันไม่ให้มีการแพร่ระบาดของ MRSA ในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จังหวัดนครศรีธรรมราช และขอขอบคุณสำนักวิชาสหเวชศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และวัสดุอุปกรณ์บางอย่างในการทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. กนกรัตน์ ศิริพานิชกร. 2541. โรคติดเชื้อ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โฮลิสติก. 88-95.
2. นลินี อัศวโภคี สุรภี เทียนกริม ศศิธร ลิขิตนุกูล และอัษฎา วิภากุล. 2540. ประสบการณ์ด้านโรคติดเชื้อในประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร: บริษัท โฮลิสติก พับลิชชิ่ง จำกัด. 203-214.
3. นลินี อัศวโภคี. 2538. ความก้าวหน้าในการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ. กรุงเทพ: ที.พี.พริ้นท์ หน้า 219-227.
4. จุฑามณี พูลสวัสดิ์ และ มณฑล เลิศคณาวนิชกุล. 2547. การเฝ้าระวังเชื้อ Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ในผู้ป่วยหอผู้ป่วยศัลยกรรมชาย โรงพยาบาลชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร. วารสารการส่งเสริมสุขภาพและอนามัยสิ่งแวดล้อม 27(1): 61-72.
5. สินีนาฏ กาลเนาวกุล และสุมาลี อภิสิริเดช. 2538. ความไวของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อยา methicillin ต่อยาต้านจุลชีพอื่น ๆ. สงขลานครินทร์เวชสาร 8(3): 267-9.
6. วิษณุ ธรรมลิขิตกุล. 2530. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. วารสารโรคติดเชื้อและยาต้านจุลชีพ 4(4): 185-187.
7. Cookson B., Peters B., Webster M., Phillips I., Rahman M. and Noble W. 1989. Staff carriage of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 27: 1471-1476. อ้างถึงใน สุนิสา หนูแก้ว, สุบัณฑิต เมฆขยาย และ บัญญัติ สุขศรีงาม. อุบัติการณ์และแบบแผนความไวของ *Staphylococcus aureus* และ MRSA. วารสารมหาวิทยาลัยบูรพา 2542 ; 4(2) : 2.
8. วุฒิชัย ขิมลาภ, ศิริพร อินทรประสิทธิ์ และ สุภาภรณ์ พัวเพิ่มพูลศิริ. 2548. การสำรวจพาหะของเชื้อ MRSA ในบุคลากรทางการแพทย์ของโรงพยาบาลศรีนครินทร์. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด. 1-2: 80-81.
9. Chambers HF. 2001. The Changing Epidemiology of *Staphylococcus aureus*? Emerg Infect Dis. 7(2):178-182.

10. สุนิสา หนูแก้วขวัญ, สุบัณฑิต เมฆขยาย และ บัญญัติ สุขศรีงาม. 2542. อุบัติการณ์และแบบแผนความไวของ *Staphylococcus aureus* และ MRSA. วารสารมหาวิทยาลัยบูรพา 4(2): 1-10.
11. อภิชัย คงศิริวรกูล. 2540. มหันตภัยในอากาศ. วารสาร UPDATE 12(134): 90-4.
12. O' Brien TF. and Stelling JM. 1995. An Information System for Monitoring Anti microbial Resistance. Emerg Infect Dis 1(2): 66.
13. อำพล ใจเย็น และ พรรณพิศ สุวรรณกูล. 2538. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). จุฬาเวชศาสตร์. 8:137-152.
14. ใยวรรณ ธนะมัย. 2543. การระบาดของเชื้อ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): อุบัติการณ์ในหอผู้ป่วยอายุรกรรมชายโรงพยาบาลเลิดสิน. วารสารกรมการแพทย์. 25(1): 30-39.
15. นิเฮง นิเดร์หะ. 2544. การสำรวจปริมาณแบคทีเรียในอากาศในโรงพยาบาลท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช. ภาคนิพนธ์สาขาอาชีวอนามัยและความปลอดภัย สำนักวิชาสหเวชศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์. (ถ่ายเอกสาร)
16. National Committee of Clinical Standards (NCCS). 2006. Quality Assurance in Bacteriology and Immunology. Available at URL: http://w3.whosea.org/bct/book28/11.htm. Accessed on July 13.
17. The Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2006. MRSA-Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus.* Available at URL: http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar_mrsa_ca_public.html. Accessed on July 13.
18. The Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2006. Laboratory Detection of Oxacillin-resistant Coagulase negative *Staphylococcus* spp. Available at URL: http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar_lab_oxa.html. Accessed on July 13.
19. Shopsin B and Kreiswirth BN. 2001. Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus.* Emer Infect Dis 7(2); 323-326.
20. คณะทำงานจัดทำคู่มือการปฏิบัติงานการป้องกันการติดเชื้อจากการให้บริการทางการแพทย์และสาธารณสุขสำหรับสถานีอนามัย. 2538. คู่มือปฏิบัติงานการป้องกันการติดเชื้อจากการให้บริการทางการแพทย์และสาธารณสุข (Universal Precautions) สำหรับสถานีอนามัย. สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข กระทรวงสาธารณสุข. กรุงเทพ : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ หน้า 5-6, 40.