เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2548;3:5-14.

นิพนธ์ต้นฉบับ

ความชุกของเชื้อเอ็นเตอโรค็อคซัยที่ดื้อต่อยาแวนโคมัยซิน ในสัตว์เลี้ยงสุนัขและแมวจังหวัดเชียงใหม่

ธงชัย เฉลิมชัยกิจ,[1] กนกดล สิริวัฒนชัย,[1] นภาพร เลิศวรปรีชา,[1] วรรณนา สุริยาสถาพร,[2] สิริรัตน์ แก้วท่าไม้[3]

[1]WHO-Global Salmonella Surveillance: Asian-Regional Center, คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, [2]สาขาวิชาคลินิกสัตว์เล็ก, สถานบริการสุขภาพสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทคัดย่อ จากการตรวจสอบกรองตัวอย่างอุจจาระซึ่งสุ่มจากสุนัขและแมวที่มารับบริการตรวจรักษาในโรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ด้วย bile esculin azide agar ซึ่งมียาต้านจุลชีพแวนโคมัยซินปริมาณ 6 μg/mL และทดสอบหาค่า minimal inhibition concentrations (MICs) โดยวิธีการ agar dilution technique พบว่าความชุกของเชื้อ vancomycin-resistant enterococci (VRE) ซึ่งมีค่า MIC > 8 μg/mL ในตัวอย่างอุจจาระสุนัข ร้อยละ 19.5 (41 จาก 210 ตัวอย่าง) และในตัวอย่างอุจจาระแมวร้อยละ 22.8 (26 จาก 114 ตัวอย่าง) โดยเป็นเชื้อ *Enterococcus faecium* ร้อยละ 43.3 E. faecalis ร้อยละ 22.4 E. *gallinarum* ร้อยละ 17.9 E. *avium* ร้อยละ 14.9 และ E. *duran* ร้อยละ 1.5 ทั้งนี้พบเชื้อ E. *faecium* เพียง 2 ตัวอย่าง (ร้อยละ 3) ที่มีค่า MIC ต่อยาแวนโคมัยซิน >32 μg/mL ส่วนที่เหลืออีก 65 ตัวอย่าง (ร้อยละ 97) มีค่า MICs ต่อยาแวนโคมัยซิน 8-16 μg/mL และไม่พบตัวอย่างที่ดื้อต่อยาทัยโคพลานิน สำหรับรูปแบบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพอื่นๆ พบว่ามีอัตราการดื้อต่อยาแอมพิซิลินร้อยละ 56.7 เตตราซัยคลินร้อยละ 46.3 อิริโทรมัยซินร้อยละ 20.9 ไทโลซินร้อยละ 16.4 และดื้อต่อยาคลอแรมเฟนิคอลเพียงร้อยละ 6 เนื่องจากไม่มีการใช้ยาในกลุ่มกลัยโคเพ็บทัยส์ และไทโลซินในสัตว์เลี้ยงสุนัขและแมว ดังนั้นแหล่งหรือสาเหตุของการตรวจพบเชื้อ VRE ในสุนัข และแมวน่าจะมาจากอาหารที่ได้จากสัตว์ทั้งที่ผลิตเป็นอาหารสำเร็จรูปสำหรับสัตว์เลี้ยงหรือเจ้าของเตรียมเอง รวมทั้งจากสิ่งแวดล้อม ผลจากการศึกษานี้ได้แสดงสถานภาพของเชื้อ VRE ในสัตว์เลี้ยงซึ่งสามารถเกี่ยวโยงกับมนุษย์และชุมชน **เชียงใหม่สัตวแพทยสาร** 2548;3:5-14.

คำสำคัญ: สุนัข แมว เอ็นเตอโรค็อคคัส แวนโคมัยซิน ดื้อยา วีอาอี

ติดต่อขอสำเนาบทความได้ที่: ธงชัย เฉลิมชัยกิจ, คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, ถ.อังรีดูนังต์ ปทุมวัน กรุงเทพ 10330; E-mail:thongchai.c@chula.ac.th

ได้รับบทความวันที่ 1 พฤศจิกายน 2547

บทนำ

Enterococcus spp. เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม (cocci) สามารถพบได้ตามธรรมชาติ (normal flora) ในระบบทางเดินอาหาร ระบบสืบพันธุ์ และระบบปัสสาวะของมนุษย์และสัตว์ แต่อาจเป็นแบคทีเรียก่อโรคได้เช่นกันโดยเฉพาะอย่างยิ่ง เป็นสาเหตุของการติดเชื้อซ้ำซ้อนในโรงพยาบาล (nosocomial infection) แต่ที่น่าตระหนักและมีความสำคัญทางสาธารณสุขมากกว่าก็คือปัญหา เชื้อ *Enterococcus* spp. ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะแวนโคมัยซิน (vancomycin-resistant enterococci หรือ VRE) ซึ่งมีรายงานพบในผู้ป่วยรายแรกเมื่อปี ค.ศ.1986 ในประเทศฝรั่งเศส และในปีถัดมาก็มีรายงานในประเทศสหรัฐอเมริกา ปัจจุบัน VRE เป็นปัญหาในเกือบทุกประเทศทั่วโลก และมีความชุกเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการติดเชื้อซ้ำซ้อนในหอผู้ป่วยวิกฤติ (ICU) เช่น รายงานในประเทศสหรัฐอเมริกา พบการติดเชื้อ VRE ในผู้ป่วยจากร้อยละ 0.3 เป็นร้อยละ 25.2 ในระยะเวลาเพียง 10 ปี (ค.ศ. 1989-1999)[1] ส่วนการศึกษาในประเทศอังกฤษพบว่า Vancomycin-resistant *E. faecium* ซึ่งแยกได้จาก กระแสเลือดของผู้ป่วยร้อยละ 6.3 ในปี ค.ศ.1993 เพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 20 ในปี ค.ศ. 1995 และร้อยละ 24 ในปี ค.ศ. 1998[2] สำหรับประเทศไทยจาก รายงานการติดเชื้อ *E. faecalis*, *E. faecium* และ *Enterococcus* spp. อื่นๆ ที่แยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาล 32 แห่งในโครงการการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ กระทรวงสาธารณสุขพบว่าเชื้อเหล่านี้ดื้อต่อยาแวนโคมัยซิน เท่ากับร้อยละ 2 และ 13 ตามลำดับ โดยไม่พบว่าเชื้อ *E. faecalis* และ *E. faecium* ดื้อต่อยา Teicoplanin ยกเว้น *Enterococcus* spp. อื่นๆ ซึ่งพบว่าดื้อ ต่อยา Teicoplanin ร้อยละ 5[3] สาเหตุที่ความชุกของ VRE เพิ่มขึ้นเชื่อว่าเกิดจากการใช้สารเร่งการเจริญเติบโต Avoparcin ในอุตสาหกรรมเลี้ยงสัตว์โดยเฉพาะอย่างยิ่งไก่และสุกร ซึ่งทั้งนี้ Avoparcin เป็นยาต้านจุลชีพในกลุ่ม Glycopeptides เช่นเดียวกับแวนโคมัยซิน จึงทำให้เชื้อ *Enterococus* spp. ที่อาศัยอยู่ในทางเดินอาหารของสัตว์ปกติกำเนิดสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาแวนโคมัยซิน จากรายงานมีการตรวจพบเชื้อ VRE สูงถึงร้อยละ 59 ในสัตว์จากฟาร์มที่มีการใช้ Avoparcin และเชื้อ VRE ที่ปนเปื้อนบนเนื้อสัตว์ หรือสิ่งแวดล้อมสามารถถ่ายทอดสายพันธุกรรม ที่ดื้อยาให้กับเชื้อแบคทีเรียอื่นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Staphylococcus aureus* ด้วยเหตุนี้ ประเทศในเครือสหภาพยุโรปได้ยกเลิกการใช้ Avoparcin เป็นสารเร่งการเจริญเติบโตตั้งแต่ปี ค.ศ. 1996 เป็นต้นมา จากนั้นมาความชุกของ VRE ในทั้งในมนุษย์และในอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ได้ลดลงอย่างรวดเร็ว[4] ยกตัวอย่าง เช่น ในประเทศเยอรมันหลังจากระยะเวลาประมาณ 1-2 ปี ในการห้ามใช้ยา Avoparcin ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์พบว่าการปนเปื้อนของ VRE บนตัวอย่างเนื้อไก่ลดลงกว่าร้อยละ 75 นอกจากนี้ความชุกของการตรวจพบเชื้อ VRE ในชุมชนลดลงจากร้อยละ 12 ในปี ค.ศ. 1994 เหลือเพียงร้อยละ 3 ในปี ค.ศ. 1997[5] ส่วนปัญหา VRE ในประเทศสหรัฐอเมริกามีสาเหตุจากการใช้ยาแวนโคมัยซิน หรือยาในกลุ่ม Glycopeptides ในผู้ป่วยโดยไม่จำเป็นในทางการแพทย์

(Irrational use) มากกว่ามีสาเหตุจากอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ เนื่องจากสหรัฐอเมริกาไม่เคยอนุญาตการใช้ Avoparcin ในสัตว์ นอกจากนี้ปัญหา VRE ยังมีสาเหตุจากสุขศาสตร์ของบุคลากรใน โรงพยาบาลรวมทั้งการปนเปื้อนของเชื้อบนเครื่องมือที่ใช้กับผู้ป่วย

เชื้อ VRE นอกจากเป็นปัญหาสาธารณสุขยังอาจเป็นข้อรังเกียจหรือกีดกันทางการค้าของประเทศผู้นำเข้าอาหาร เช่น ในปี พ.ศ. 2541 มีรายงานจากประเทศญี่ปุ่นกล่าวถึงการตรวจพบเชื้อ VRE ในไก่เนื้อแช่แข็งที่นำเข้าจากประเทศไทย ซึ่งวางจำหน่ายในซุปเปอร์มาร์เก็ตในประเทศญี่ปุ่น[6] ส่งผลให้กรมปศุสัตว์ต้องแก้ไขสถานการณ์ โดยมีประกาศห้ามใช้ยา Avoparcin ในการเลี้ยงสัตว์ จากข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้นคือความรู้ปัจจุบันด้านระบาดวิทยาของ VRE ที่ทราบทั้งในโรงพยาบาล และในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ที่ใช้เป็นอาหาร ทั้งนี้ปัญหา VRE อาจมีด้านระบาดวิทยาที่เกี่ยวข้องกับสัตว์เลี้ยงโดยเฉพาะอย่างยิ่งสุนัข และแมวซึ่งเป็นสัตว์ที่ใกล้ชิดกับมนุษย์และยังพบในฟาร์มเลี้ยงสัตว์เสมอ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยคือ

1. เพื่อหาความชุก (prevalence) ของเชื้อเอ็นเตอโรค็อคซัยที่ดื้อยาแวนโคมัยซิน (VRE) ในสัตว์เลี้ยงสุนัขและแมวในจังหวัดเชียงใหม่

2. เพื่อศึกษารูปแบบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ VRE ที่แยกได้จากสัตว์เลี้ยงสุนัขและแมวในจังหวัดเชียงใหม่

3. เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับมาตรการการป้องกันปัญหา VRE ที่อาจเกิดจากสุนัขและแมว

วิธีการศึกษา

ตัวอย่างอุจจาระของสุนัขและแมว

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างอุจจาระของสุนัขและแมว ที่มารับบริการตรวจสุขภาพหรือรักษาในโรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยใช้สำลีพันปลายไม้ที่ปราศจากเชื้อสอดเข้ารูทวารหนัก (rectal swabs) แล้วนำมาแกว่งในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic soy broth+20% Glycerol และเก็บที่อุณหภูมิ -30 ^{O}ซ จนกว่าจะทำการทดสอบ

โดยจำนวนตัวอย่างคำนวนจากสมการ[7]

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

เมื่อ $n_o=(1/4)\ (Z/d)^2$

Z =1.96 (เมื่อกำหนด α = 0.05)

N = จำนวนสุนัขที่มารับบริการเฉลี่ย 20,000 ตัว/ปี และแมวเฉลี่ย 2,500 ตัว/ปี (http://www.vet.cmu.ac.th/)

d = ค่าความคลาดเคลื่อน

ผลการคำนวณ :

ถ้ากำหนดค่าความคลาดเคลื่อนเป็นร้อยละ 10

ขนาดตัวอย่างสุนัขที่ประมาณการในการศึกษานี้ = 96 ตัวอย่าง

และขนาดตัวอย่างแมวที่ประมาณการในการศึกษานี้ = 92 ตัวอย่าง

ในการศึกษานี้ได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างมากกว่าที่กำหนดโดยจำนวน ตัวอย่างอุจจาระสุนัข 210 ตัวอย่าง และแมว 114 ตัวอย่าง

วิธีการแยก และพิสูจน์เชื้อที่ใช้ในการศึกษา[8]

1. ทำการเพิ่มจำนวนเชื้อโดยใส่ตัวอย่าง

อุจจาระ 1 มิลลิลิตร ลงใน Kenner fecal(KF) Streptococcal broth แล้วทำการอบเพาะที่ 42 ^{O}ซ 18-24 ชั่วโมง

2. ทำการหยด KF Streptococcal broth หลังจากการอบเพาะที่ 42 ^{O}ซ 18-24 ชั่วโมง ปริมาณ 0.1 มล. ลงบน Bile esculin azide agar (BEA agar) ซึ่งมียาแวนโคมัยซิน ปริมาณ 6 μg/mL ทำการเกลี่ย KF Streptococcal broth ให้ทั่วจานเพาะเชื้อ BEA agar แล้วนำไปอบเพาะที่ 37 ^{O}ซ 24-48 ชั่วโมง

3. เชื้อโคโลนีที่มีสีดำบน BEA agar ซึ่งแสดงว่าสามารถ hydrolyze esculin ได้ นำมาเพาะเลี้ยงซ้ำบน KF Streptococcal agar ซึ่งมีแวนโคมัยซิน ปริมาณ 6 μg/mL เพื่อเป็นการตรวจสอบยืนยัน

4. นำเชื้อโคโลนีจาก KF Streptococcal agar มาเพิ่มจำนวนเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Brain-heart infusion agar เพื่อใช้สำหรับการทดสอบทางชีวเคมีด้วยชุดทดสอบ API 20 Strep (bio-Merieux Industry, ประเทศฝรั่งเศส)

การทดสอบความไวรับของเชื้อ (Susceptibility test)

1. ทำการถ่ายเชื้อ *Enterococcus* spp. ที่แยกได้ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI agar อบเพาะที่ 37 ^{O}ซ 18-24 ชั่วโมง เพื่อใช้ในการทดสอบหาความไวรับต่อยาต้านจุลชีพ

2. ทำการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (minimal inhibition concentration; MIC) ของยาต้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการแบ่งตัวของเชื้อ *Enterococcus* spp. ตามวิธีการ agar dilution technique ของ National Committee for Clinical Laboratory Standards[9] โดยทำการทดสอบกับยาต้านจุลชีพ 6 ชนิด ดังต่อไปนี้ แวนโคมัยซิน, แอมพิซิลลิน,คลอแรมเฟนิคอล, อิริโทรมัยซิน, เตตร้าซัยคลินและไทโลซิน

3. ทำการหาค่า MIC ของยาต้านจุลชีพ Teicoplanin ต่อเชื้อ *Enterococcus* spp. โดยใช้ E-test (AB-BIODISK, ประเทศสวีเดน) ซึ่งเหตุผลที่ใช้ E-test เนื่องจากไม่สามารถหาบริษัทที่จำหน่ายสารมาตรฐาน Teicoplanin ได้

4. ทำการวิเคราะห์ข้อมูลหาการดื้อยาของเชื้อโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ WHONET 5[10] โดยกำหนดค่าความไวรับและดื้อต่อยาตาม NCCLS ซึ่งในการศึกษานี้เชื้อ *Enterococcus* spp. ที่พบว่ามีค่า MIC ต่อยาแวนโคมัยซินเท่ากับหรือมากกว่า 8 μg/mL กำหนดให้เป็นเชื้อ VRE เนื่องจากเป็นค่าความไวรับต่อยาในระดับ Intermedaite นั้นหมายถึงการใช้ยาแวนโคมัยซินอาจได้ผลหรืออาจไม่ได้ผลในการยับยั้งเชื้อ

ผลการศึกษา

ความชุกของเชื้อ VRE และ *Enterococcus* spp.

ตัวอย่างอุจจาระซึ่งสุ่มเก็บจากสุนัขและแมวที่มารับบริการตรวจรักษาหรือดูแลสุขภาพในโรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พบเชื้อ VRE ร้อยละ 19.5 ในสุนัข (41 จาก 210 ตัวอย่าง) และร้อยละ 22.8 ในแมว (26 จาก 114 ตัวอย่าง) (ตารางที่ 1) โดยพบว่าเป็น *Enterococcus faecium* สูงสุด (ร้อยละ 48.8 และ 34.6 ในสุนัขและแมว ตาม

ตารางที่ 1. ความชุก (ร้อยละ) ของ vancomycin-resistant enterococci (VRE) ที่พบจากตัวอย่างอุจจาระสุนัขและแมวซึ่งมารับบริการตรวจสุขภาพหรือรักษาที่โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สัตว์เลี้ยง	จำนวนตัวอย่าง	VRE +ve (ร้อยละ)
สุนัข	210	41 (19.5)
แมว	114	26 (22.8)
รวม	324	67 (20.7)

ตารางที่ 2. เชื้อ Vancomycin-resistant enterococci (VRE) ที่พบในตัวอย่างอุจจาระสุนัขและแมวซึ่งมารับบริการตรวจสุขภาพหรือรักษาที่โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ แยกตาม species ของเชื้อ

	สุนัข (ร้อยละ)	แมว (ร้อยละ)	รวม (ร้อยละ)
E.faecium	20(48.8)	9(34.6)	29(43.3)
E.gallinarum	6(14.6)	6(23.1)	12(17.9)
E.faecalis	8(19.5)	7(26.9)	15(22.4)
E.avium	7(17.1)	3(11.5)	10(14.9)
E.duran	0	1(3.8)	1(1.5)

ลำดับ) รองลงมาคือ *E. faecalis* (ร้อยละ 19.5 และ 26.9 ในสุนัขและแมว ตามลำดับ) *E. gallinarum* (14.6 และร้อยละ 23.1 ในสุนัขและแมวตามลำดับ) และ *E. avium* (ร้อยละ 17.1 และ 11.5 ในสุนัขและแมว ตามลำดับ) ส่วน *E. duran* พบเพียง 1 ตัวอย่าง (ตารางที่ 2)

รูปแบบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ VRE

เชื้อ VRE ส่วนใหญ่มีค่า MIC เท่ากับ 8-16 μg/mL ซึ่งหมายความว่าเชื้อมีความไวรับหรือดื้อต่อยาแวนโคมัยซินในระดับปานกลาง (Intermediate) ส่วนเชื้อ VRE ที่มีค่า MIC เท่ากับหรือมากกว่า 32 μg/mL พบว่ามีเพียงร้อยละ 3 (2 จาก 67 strains) ซึ่งเป็น *E. faecium* ทั้ง 2 strains (ตารางที่ 3) ทั้งนี้เชื้อ VRE ทุกตัวอย่างไม่พบว่าดื้อต่อยาทัยโคพลานิน แต่พบว่าเชื้อ VRE ที่แยกได้จากแมวมีอัตราการดื้อ (resistant) ต่อยาแอมพิซิลินสูงมากถึงร้อยละ 96.2 ส่วนเชื้อ VRE ที่แยกได้จากสุนัขมีอัตราการ ดื้อต่อยาแอมพิซิลินร้อยละ 31.7 ส่วนรูปแบบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพที่ทดสอบอื่นๆ พบว่าดื้อต่อยาเตตร้าซัยคลินร้อยละ 51.2 และ 23.1, อิริโทรมัยซินร้อยละ 31.7 และ 15.4, ไทโลซินร้อยละ 31.7 และ 7.7 ในสุนัขและแมวตามลำดับ โดยมีอัตราการดื้อต่อยาคลอแรมเฟนิคอลเพียงร้อยละ 7.3 และ 3.8 ในสุนัข และแมวตามลำดับ (ตารางที่ 4)

บทวิจารณ์

รายงานการตรวจสอบหาเชื้อ (VRE) จากตัวอย่างอุจจาระอาจทำการตรวจสอบกรอง (screening) โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสมของยาแวนโคมัยซิน 10-20 μg/mL[11-12] แต่ก็มีหลายรายงานที่ใช้ปริมาณยาแวนโคมัยซิน 6 μg/mL ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI Agar และ BEA agar สำหรับการกรองเชื้อ VRE เช่น รายงานโดยคณะผู้วิจัยของมหาวิทยาลัย Okama ประเทศญี่ปุ่น มหาวิทยาลัย Wayne State และมหาวิทยาลัย Michigan ประเทศสหรัฐอเมริกา[13-15] ในการศึกษานี้ใช้ปริมาณของยาแวนโคมัยซิน 6 μg/mL ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BEA agar ซึ่งเป็นความเข้มข้นของยาแวนโคมัยซิน ที่สูงกว่าระดับ susceptibility (น้อยกว่าหรือเท่ากับ 4 μg/mL) แต่ต่ำกว่า

ตารางที่ 3. รูปแบบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ Vancomycin-resistant enterococci (VRE) ที่พบในตัวอย่างอุจจาระสุนัขและแมว จำนวน 67 strains จาก 324 ตัวอย่าง ที่เก็บจากโรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (R = Resistant, I = Intermediate)

	E.faecium (29 strains)		*E.gallinarum* (12 strains)		*E.fecalis* (15 strains)		*E.avium* (10 strains)		*E.duran* (1 strains)	
	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I
Vancomycin	2 (6.9%)	27 (93.1%)	0	12 (100%)	0	15 (100%)	0	10 (100%)	0	1 (100%)
Teicoplanin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ampicillin	17 (58.6%)	-	9 (75%)	-	8 (53.3%)	-	3 (30%)	-	1 (100%)	-
Chloramphenicol	2 (6.9%)	3 (10.3%)	0	0	1 (6.7%)	0	1 (10%)	0	0	0
Erythromycin	10 (34.5%)	8 (27.6%)	0	3 (25%)	2 (13.3%)	9 (60%)	1 (10%)	5 (50%)	1 (100%)	0
Tetracycline	12 (41.4%)	5 (17.2%)	5 (41.7%)	1 (8.3%)	6 (40%)	2 (13.3%)	7 (70%)	1 (10%)	1 (100%)	0
Tylosin	6 (20.7%)	2 (6.9%)	0	0	2 (13.3%)	0	2 (20%)	0	1 (100%)	0

ตารางที่ 4. รูปแบบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ Vancomycin-resistant enterococci (VRE) รวมทุก *Enterococcus* spp. จำนวน 41 strains ในสุนัขและ 26 strains ในแมว จากโรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (R = Resistant, I = Intermediate)

	สุนัข	แมว	สุนัข	แมว	รวม (67 strains)	
	Resistant		Intermediate		R	I
Vancomycin	2 (4.9%)	0	39 (95.1%)	26 (100%)	2 (3%)	65 (97%)
Teicoplanin	0	0	0	0	0	0
Ampicillin	13 (31.7%)	25 (96.2%)	-	-	38 (56.7%)	-
Chloramphenicol	3 (7.3%)	1 (3.8%)	3 (7.3%)	0	4 (6%)	3 (4.5%)
Erythromycin	13 (31.7%)	4 (15.4%)	11 (26.2%)	11 (42.3%)	14 (20.9%)	24 (35.8%)
Tetracycline	21 (51.2%)	6 (23.1%)	4 (9.6%)	3 (11.5%)	31 (46.3%)	9 (13.4%)
Tylosin	13 (31.7%)	2 (7.7%)	-	3 (11.5%)	11 (16.4%)	2 (3%)

ค่าความเข้มข้นของยาแวนโคมัยซิน ในระดับปานกลาง (8-16 μg/mL) โดยมีจุดประสงค์เพื่อให้ได้จำนวน เชื้อสำหรับทำการทดสอบยืนยันเพิ่มขึ้น เนื่องจากในการศึกษาเบื้องต้นพบว่าการใช้ความเข้มข้นของยาแวนโคมัยซิน 8 μg/mL ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BEA agar มีโอกาสตรวจพบเชื้อ VRE ค่อนข้างน้อย ซึ่งอาจเนื่องมาจาก BEA agar ไม่เอื้อต่อการแบ่งตัวของเชื้อเท่ากับ MHA agar ในการหาค่า MICs

Enterococcus spp. ที่พบว่าเป็น VRE ในสุนัขและแมว

ความชุกของเชื้อ *E. faecium* และ *E. faecalis* ที่พบในอุจจาระสุนัขและแมวจากการศึกษานี้อาจกล่าวว่ามีบางส่วนแตกต่างจากเชื้อ *Enterococcus* spp. ที่พบในอุจจาระไก่ที่ธงชัย และคณะ ในพ.ศ. 2546[16] รายงานไว้ว่าตรวจพบ *E. faecalis* สูงสุดคือ สามารถแยกได้จากตัวอย่างอุจจาระไก่ฟาร์มที่เลี้ยงในระบบอุตสาหกรรม ร้อยละ 41 รองลงมาคือ *E. faecium* ร้อยละ 36.3 และเป็น *Enterococcus* spp. อื่นๆ ร้อยละ 22.7 ส่วนตัวอย่างอุจจาระไก่ไทยหรือไก่พื้นเมืองที่เลี้ยงปล่อยในชนบทพบ *E. faecalis* ร้อยละ 46.3 รองลงมาคือ *E. faecium* ร้อยละ 42.1 และเป็น *Enterococcus* spp. อื่นๆ เพียงร้อยละ 11.6 อย่างไรก็ดีทั้งสัตว์เลี้ยงไม่ว่าจะเป็น สุนัขและแมว รวมทั้งสัตว์ที่ใช้เป็นอาหารต่าง พบว่ามีความชุกของเชื้อ *E. faecium* ค่อนข้างสูง ซึ่งน่าจะทำการติดตามปัญหาการติดเชื้อซ้ำซ้อนในผู้ป่วย เพื่อเปรียบเทียบต่อไป เพราะมีรายงานในต่างประเทศ ซึ่งอาจเป็นกรณีศึกษาคือ ช่วงต้นปี ค.ศ. 1980 ทั้งในประเทศสหรัฐอเมริกาและยุโรปมีรายงานว่า *E. fecalis* เป็นเชื้อ *Enterococcus* spp. ที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อซ้ำซ้อนในผู้ป่วยในโรงพยาบาลมากที่สุด[17] แต่ปัจจุบันพบว่า *E. faecium* ที่ดื้อต่อยาแวนโคมัยซินในผู้ป่วยเป็นสาเหตุของ การติดเชื้อซ้ำซ้อนที่เกิดขึ้น และเป็นปัญหามากกว่า[18]

รูปแบบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพแวนโคมัยซินและยาต้านจุลชีพชนิดอื่น ๆ ของเชื้อ VRE

เชื้อ VRE ที่พบว่าดื้อต่อยาแวนโคมัยซิน มีเพียง 2 strains อาจเป็นตัวเลขที่มองว่าค่อนข้างต่ำ แต่ถ้าพิจารณาว่า VRE อีก 65 strains มีความไวรับต่อยาแวนโคมัยซิน ในระดับปานกลาง ซึ่งหมายความว่าเชื้ออาจตอบสนองหรือไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาแวนโคมัยซินก็นับได้ว่าความชุกของเชื้อ VRE ร้อยละ 20.8 เป็นตัวเลขที่ควรให้ความตระหนัก อย่างไรก็ดีควรทำการศึกษาในระดับ Genotype ต่อไปเพื่อจำแนกชนิดของ VRE ว่าเป็นชนิด VanA, VanB, VanC, VanD หรือ VanE ซึ่งมีศักยภาพในการถ่ายทอดสายพันธุกรรมที่ดื้อยาแตกต่างกัน ทั้งนี้ประเด็นที่น่าติดตามคือ สัตว์เลี้ยงเหล่านี้ไม่มีประวัติการได้รับยาแวนโคมัยซิน หรือยาชนิดอื่นๆ ในกลุ่ม Glycopeptides เช่นทัยโคพลานิน หรืออโวพาร์ซิน ซึ่งเคยใช้ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ที่ใช้เป็นอาหาร (ไก่และสุกร) ก่อนกระทรวงเกษตรและสหกรณ์มีประกาศห้ามใช้ใน พ.ศ. 2542 อย่างไรก็ดีจากการติดตามปัญหาของเชื้อ VRE ในไก่เนื้อในประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2545-2546 ยังคงพบความชุกของเชื้อ VRE ในอุจจาระ

ไก่พื้นเมืองหรือไก่ที่เลี้ยงปล่อยในชนบทร้อยละ 6.94 และในอุจจาระไก่เนื้อที่เลี้ยงในระบบฟาร์มร้อยละ 1.91[16]

จากการศึกษานี้ โดยภาพรวมของเชื้อ VRE ที่แยกได้จากสุนัขและแมวมีอัตราการดื้อต่อยาแอมพิซิลลินสูงมาก (ร้อยละ 56.7) ส่วนยาต้านจุลชีพที่ดื้อรองลงมาคือเตตร้าซัยคลิน (ร้อยละ 46.3), อิริโทรมัยซิน (ร้อยละ 20.9) และไทโลซิน (ร้อยละ 16.4) ทั้งนี้เชื้อ *E. faecium* และ *E. faecalis* ที่แยกได้จากอุจจาระไก่เนื้อในประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2545-2546 พบว่าดื้อต่อยาสูงกว่าคือ ดื้อต่อยาเตตร้าซัยคลิน (ร้อยละ 61 และ 64), อิริโทรมัยซิน (ร้อยละ 87 และ 85) และไทโลซิน (ร้อยละ 85 และ 84) สำหรับ Penicillin G (ยาในกลุ่ม Beta-lactams เช่นเดียวกับแอมพิซิลิน) มีอัตราการดื้อยาร้อยละ 42 และ 16 ตามลำดับ[20] ส่วนเชื้อ VRE ที่พบในสุนัขและแมวพบว่าดื้อต่อยาคลอแรมเฟนิคอล เพียงร้อยละ 8 ซึ่งเชื้อ *E. faecium* และ *E. faecalis* ที่แยกได้จากอุจจาระไก่เนื้อก็พบว่ามีอัตราการ ดื้อต่อยาคลอแรมเฟนิคอล ร้อยละ 6 และ 12 ตามลำดับ อย่างไรก็ดีจากข้อมูลรูปแบบการดื้อยาของเชื้อ VRE และเชื้อ *E. faecium* และ *E. faecalis* ที่แยกได้จากอุจจาระไก่เนื้อ ดังนั้นแหล่งหรือ สาเหตุของการตรวจพบเชื้อ VRE ในสัตว์เลี้ยง (สุนัขและแมว) จึงน่าจะอนุมานว่ามีสาเหตุจาก อาหารและ/หรือสิ่งแวดล้อม

สรุปผลของการวิจัย

ตัวอย่างอุจจาระสัตว์เลี้ยง (สุนัขและแมว) ที่สุ่มจากโรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พบว่ามีความชุกของเชื้อ VRE ร้อยละ 20.7 โดยเป็นเชื้อ *E. faecium* สูงสุด (ร้อยละ 43.3) รองลงมาคือ *E. faecalis* (ร้อยละ 22.4) *E. gallinarum* (ร้อยละ 17.9) และ *E. avium* (ร้อยละ 14.9) ส่วน *E.duran* พบเพียง 1 ตัวอย่าง รูปแบบการดื้อยาของเชื้อ VRE ที่แยกได้จากสุนัขและแมวในการศึกษานี้มีอัตราการดื้อต่อยาแอมพิซิลลินสูงมากถึงร้อยละ 65.3 ส่วนยาที่ดื้อรองลงมาคือ ยาเตตร้าซัยคลิน (ร้อยละ 41.3), อิริโทรมัยซิน (ร้อยละ 28.7) และไทโลซิน (ร้อยละ 22) โดยดื้อต่อยาคลอแรมเฟนิคอลน้อยที่สุด (ร้อยละ 8) ซึ่งยาในกลุ่ม Glycopeptides และไทโลซินใช้เฉพาะในสัตว์ที่ใช้เป็นอาหารเท่านั้น ดังนั้นแหล่งหรือสาเหตุของการพบเชื้อ VRE ในสุนัขและแมวจึงน่าจะมาจากอาหารที่ได้มาจากสัตว์ทั้งที่ผลิตเป็นอาหารสัตว์เลี้ยงหรือเจ้าของเตรียมเองที่บ้าน รวมทั้งจากสิ่งแวดล้อมหรืออาจมาจากเจ้าของสัตว์เลี้ยง

การศึกษานี้อาจไม่สามารถตอบคำถามความสัมพันธ์ของเชื้อ VRE ระหว่างสัตว์เลี้ยงและเจ้าของกับชุมชนได้ เนื่องจากไม่ได้ทำการเก็บตัวอย่างจากเจ้าของสุนัขในการศึกษาครั้งนี้ แต่ก็สามารถใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนให้มีสุขลักษณะที่ดีในการเลี้ยงสัตว์เลี้ยง รวมทั้งการรณรงค์ความรับผิดชอบของเจ้าของสัตว์ที่ปล่อยให้สัตว์เลี้ยงถ่ายมูลในที่สาธารณะ ทั้งนี้ข้อมูลที่เสนอดังกล่าวจะต้องสร้างความตระหนักให้ ผู้เกี่ยวข้องแต่ไม่ก่อให้เกิดความตระหนกแก่สังคมสัตว์เลี้ยงซึ่งอาจเป็นหนึ่งในห่วงโซ่ของเชื้อ VRE ที่ติดต่อระหว่างคนและสัตว์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณกองทุนรัชดาภิเษกสมโภช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีงบประมาณ 2546 ที่ให้ทุนวิจัยในการศึกษา

เอกสารอ้างอิง

1. Centers for Disease Control and Prevention. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) system report, data summary from January 1992-April 2000. Am J Infect Control 2000;28:429-8.
2. Reacher MH, Shah A, Livermore DM, Wale MC, Graham C, Johnson AP, et al. Bacteraemia and antibiotic resistance of its pathogens reported in England and Wales between 1990 and 1998: trend analysis. BMJ 2000;320:213-6.
3. กระทรวงสาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข ศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ. เอกสารแผ่นพับรายงาน Percentage of susceptible bacteria, 32 Hospitals, Jan-Dec 2001. กรุงเทพ: ศูนย์, 2544.
4. Wegener HC, Aarestrup FM, Bogo JL. Use of antimicrobial growth promoters in food animals and Enterococcus faecium resistance to therapeutic antimicrobial drugs in Europe. Emerg Infect Dis 1999;5:329-5.
5. Klare I, Badstubner D, Konstabel C, Bohme G, Claus H, Witte W. 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 1999;5 (1): 5-52.
6. Ike Y, Tanimoto K, Ozawa Y, Nomura T, Fujimoto S, Tomita H. Vancomycin-resistant enterococci in imported chickens in Japan (Letter). Lancet 1999 May 29;353(9167):1854.
7. วีรยา ภัทรอาชาชัย. หลักการวิจัยเบื้องต้น. พิมพ์ครั้งที่3. กรุงเทพ: มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์, 2539.
8. Aarestrup FM, Seyfarth AM, Emborg HD, Pedersen K, Hendriksen RS, Bager F. 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 2001;45(7):2054-9.
9. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Ninth Information Supplement. NCCLS 1999 January;19(1).
10. WHONET 5, Microbiology Laboratory Database Software: World Health Organization, Geneva, Switzerland and WHO Collaborating Center for Surveillance of AMR, Microbiology Lab., Brigham and Women's Hospital, Boston, MA, U.S.A.
11. Stobberingh EE, van den Bogaard A, London N, Driessen C, Top J, Willems R. 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? Antimicrob Agents Chemother 1999;43: 2215–21.
12. Devriese LC, Leven M, Goossens H, Vandamme P, Pot B, Hommez J, Haesebrouck F. Presence of Vancomycin-Resistant Enterococci in farm and pet animals. Antimicrob Agents Chemother 1996;40(10):2285-7.
13. Jayaratne P, Rutherford C. Detection of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) from growth on mannitol salt oxacillin agar using PCR for nosocomial surveillance. Diag Microbiol Infect Dis 1999;35(1): 13-8.
14. Coombs GW, Kay ID, Steven RA, Pearman JE, Bertolatti D, Grubb WB. Should Genotyping Testing be done on all phenotypically Vancomycin-Resistant Enterococci detected in hospitals? (Letter to the editor). J Clin Microbiol 1999;37(4):1129-30.