

การดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม ที่แยกได้จากน้ำจากสิ่งแวดล้อม

ปิยะรัตน์ จิตภิรมย์

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา กรุงเทพฯ

corresponding author e-mail: p.chitpirom@yahoo.com

บทคัดย่อ

การวิจัยเชิงสำรวจนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มที่แยกได้จากน้ำจากสิ่งแวดล้อม 3 แหล่ง คือ แม่น้ำเจ้าพระยา น้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม และน้ำเสียจากชุมชน รวม 30 ตัวอย่าง (แหล่งละ 10 ตัวอย่าง) โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อและแยกโคโลนีของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม แหล่งละ 100 ไอโซเลท รวม 300 ไอโซเลท พบ *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca* และ *Citrobacter freundii* ร้อยละ 76.7, 16.7, 3.7, 2.3 และ 0.7 ตามลำดับ ผลการทดสอบการดื้อยาปฏิชีวนะ 18 ชนิด โดยวิธี disk diffusion พบแบคทีเรียดื้อยาอย่างน้อย 1 ชนิด ร้อยละ 80.7 โดยดื้อยา Ampicillin มากที่สุด ร้อยละ 64.3 และพบดื้อยาแบบ multidrug-resistance (MDR) ร้อยละ 38.3 และพบมีการดื้อยาแตกต่างกันตามชนิดของแหล่งน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยพบแบคทีเรียที่แยกจากน้ำเสียในโรงงานอุตสาหกรรมดื้อยามากที่สุด ทั้งนี้ตรวจพบทุกไอโซเลทไวต่อยากลุ่ม Cephalosporins รุ่นที่ 4 กลุ่ม Carbapenems และ Amikacin ผลจากการศึกษานี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเฝ้าระวังแบคทีเรียดื้อยา ตลอดจนเป็นเครื่องชี้วัดการใช้อย่างไม่เหมาะสมจนเกิดการปนเปื้อนออกสู่สิ่งแวดล้อม

คำสำคัญ : การดื้อยาปฏิชีวนะ แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม น้ำจากสิ่งแวดล้อม

Antimicrobial susceptibility of coliform bacteria isolated from environmental water

Piyarat Chitpirom

Faculty of Science and Technology, Bansomdejchaopraya Rajabhat University, Bangkok

corresponding author e-mail: p.chitpirom@yahoo.com

Abstract

The aim of this research was to detect antimicrobial susceptibility of coliform bacteria isolated from environmental water in three major sources; the Chaopraya river, wastewater from industrial factories and community sources in the total of 30 samples (10 samples per source). The 100 coliform bacteria from each sample were cultured and identified. A total of 300 coliform bacteria isolates are *Escherichia coli*, *Klebsiella*

pneumoniae, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca* and *Citrobacter freundii* in the percentage of 76.7, 16.7, 3.7, 2.3 and 0.7 respectively. The results of their resistance test to 18 different antibiotics by disk diffusion method showed that the coliform bacteria showed most resistance to at least 1 antibiotic (80.7%). The highest resistant rate was found for Ampicillin (up to 64.3%). Thirty-eight percents of total bacterial isolate were multidrug-resistance (MDR). The differences of antimicrobial susceptibility of coliform bacteria were statistically significant ($p \leq 0.05$) among sources of water sample. The highest resistant rate was from the wastewater plant. All of them were sensitive to the 4th Cephalosporins, Carbapenems and Amikacin. This study can be applied for surveillance of bacterial antibiotic resistance and as an indication of the inappropriate use of antimicrobial agents that can lead to environmental contamination.

keywords: antimicrobial susceptibility, coliform bacteria, environmental water

บทนำ

มูลค่าของการใช้ยาปฏิชีวนะในแต่ละปีมีมากกว่าหนึ่งหมื่นล้านบาท ซึ่งยาที่มีมูลค่าการใช้มากที่สุด 3 ลำดับแรก ได้แก่ กลุ่มเพนิซิลลิน (Penicillins) กลุ่มเซฟาโลสปอริน (Cephalosporins) และกลุ่มคาร์บาเพนิม (Carbapenems) (สวรส., 2555ก) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ในการรักษาผู้ป่วยและสัตว์ติดเชื้อ การใช้ยาปฏิชีวนะที่มากเกินไปจนความจำเป็นนี้จึงก่อให้เกิดการปนเปื้อนลงสู่สิ่งแวดล้อม (สวรส., 2555ข) และเป็นการเร่งจุลชีพในสิ่งแวดล้อมให้มีการปรับตัวจนก่อให้เกิดการดื้อยาปฏิชีวนะ กลไกสำคัญที่ทำให้เชื้อจุลชีพดื้อยาปฏิชีวนะ ได้แก่ การสร้างเอนไซม์มาทำลายหรือเปลี่ยนแปลงยา การเปลี่ยนแปลงโมเลกุลของ target site ของยา การสร้าง alternative target ขึ้นใหม่ การขาดโปรตีนพอร์ริน หรือการสร้าง multidrug efflux pump ที่ทำให้เกิดการดื้อยาหลากหลายชนิด (Hawkey, 2000) ซึ่งส่งผลกระทบโดยตรงต่อการรักษาในทางการแพทย์และสาธารณสุข ตลอดจนการสูญเสียทางเศรษฐกิจ (ASM Colloquium Report, 1999) กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบว่าเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดในประเทศไทยมีแนวโน้มดื้อยาเพิ่มขึ้น เช่น *Escherichia coli* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคทางเดินปัสสาวะอักเสบและการติดเชื้อในช่องท้อง พบดื้อยา Ampicillin และ Ciprofloxacin สูงขึ้นมากถึงร้อยละ 80 และ 49 ตามลำดับ (สวรส., 2555ข)

แหล่งน้ำ ถือเป็นแหล่งรองรับของเสียตามธรรมชาติ ประกอบกับการเกิดอุทกภัยในช่วงเวลาที่ผ่านมา ทำให้แหล่งน้ำเกิดการปนเปื้อนขยะมูลฝอยและสิ่งปฏิกูลเพิ่มมากขึ้น แบคทีเรียที่นิยมใช้เป็นดัชนีทางสุขาภิบาลเพื่อประเมินการปนเปื้อนสิ่งปฏิกูลในน้ำ คือ แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม เนื่องจากแบคทีเรียในกลุ่มดังกล่าวนี้ ส่วนใหญ่พบในทางเดินอาหารของคนและสัตว์ จึงมีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกับการตรวจพบเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารด้วย (APHA, 1998) การที่แบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวนี้ อยู่ในสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนยาปฏิชีวนะอย่างสม่ำเสมอ ทำให้เกิดการกระตุ้นที่จะทำให้แบคทีเรียดังกล่าวเกิดการกลายพันธุ์ ตลอดจนการใช้ยาปฏิชีวนะที่มากเกินไปจนความจำเป็นนี้เป็นตัวคัดเลือกสายพันธุ์ของเชื้อที่ไวต่อยาให้เจริญได้น้อยลง แต่หลงเหลือเชื้อที่ดื้อยาให้เจริญเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียสามารถถ่ายทอดการดื้อยาในแนวดิ่งหรือในสายพันธุ์เดียวกันได้ ตลอดจนพบมีความสามารถ

ในการถ่ายทอดการดื้อยาในแนวนอนหรือระหว่างสายพันธุ์หรือในระดับจีโนมได้ โดยผ่านการคอนจูชัน (Ball et al., 2006; Zahid et al., 2009) ด้วยเหตุนี้จึงมีโอกาสดื้อยาที่แบคทีเรียในสิ่งแวดล้อมที่ไม่มีความสามารถในการก่อโรคร่วมกับแบคทีเรียก่อโรคจะมีการแลกเปลี่ยนยีนดื้อยาระหว่างกัน จึงทำให้เกิดการแพร่กระจายของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการดื้อยาปฏิชีวนะในสิ่งแวดล้อมมากขึ้นจนเกิดดื้อยาปฏิชีวนะแบบหลายชนิด (multidrug resistance) ถ้าเกิดการติดเชื้อจะทำให้การรักษาเป็นไปได้ยาก จึงจำเป็นต้องมีการคิดค้นยาปฏิชีวนะรุ่นใหม่ ๆ ซึ่งมีราคาแพงขึ้น เพื่อนำมาใช้ทดแทนยาเดิมที่ปลอดภัยและมีราคาถูกกว่า

แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่พบปนเปื้อนได้บ่อยในสิ่งแวดล้อม ซึ่งส่วนใหญ่จะถูกปลดปล่อยในปริมาณมากจากการขับถ่ายของมนุษย์และสัตว์เลื้อยคลาน ดังนั้นจึงใช้กลุ่มแบคทีเรียดังกล่าวนี้เป็นตัวบ่งชี้การปนเปื้อนของน้ำดื่มในธรรมชาติ โดยปกติแล้วแบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นเชื้อก่อโรค แต่ในปัจจุบันพบว่ามีความสามารถในการก่อโรคเพิ่มขึ้นได้ เช่น *Klebsiella pneumoniae* และ *Enterobacter cloacae* พบเป็นสาเหตุสำคัญของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล และเป็นเชื้อก่อโรคแบบฉวยโอกาส ส่วน *Citrobacter freundii* ก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร (Bagley, 1985; Podschun & Ullmann, 1998) ตลอดจนสามารถแยกแบคทีเรียที่ดื้อยาปฏิชีวนะได้หลากหลายชนิดที่พบได้บ่อย คือ *E. coli* ซึ่งสามารถแยกได้จากมนุษย์และสัตว์ ก่อให้เกิดโรคติดเชื้อได้ทุกระบบในร่างกาย (Tadesse et al., 2012) จากการศึกษาพบว่าแม่น้ำเป็นแหล่งที่สำคัญหลักในการตรวจพบแบคทีเรียที่ดื้อยาปฏิชีวนะในประเทศสหรัฐอเมริกา (Ash et al., 2002) ส่วนในสาธารณรัฐประชาชนบังกลาเทศสามารถแยก *E. coli* ที่ดื้อยาปฏิชีวนะหลายชนิด และมีรายงานความสามารถของแบคทีเรียในการส่งผ่านยีนดื้อยาระหว่างกันได้ (Zahid et al., 2009) นอกจากนี้มีรายงานการพบแบคทีเรียในประเทศอินเดียที่ดื้อยาปฏิชีวนะในระดับที่ไม่สามารถดื้อยาปฏิชีวนะที่มีประสิทธิภาพสูงในการรักษาได้ ทั้งยังพบว่าสามารถแยกแบคทีเรียนี้ได้นอกโรงพยาบาล เนื่องจากการใช้ยาปฏิชีวนะที่ไม่ถูกต้อง และขาดการควบคุมการใช้ยาปฏิชีวนะ (ประชาชาติธุรกิจ, 2555) เช่นเดียวกับหลายๆ ประเทศที่ประสบวิกฤตการณ์เชื้อดื้อยาปฏิชีวนะที่กำลังทวีความรุนแรงและขยายผลไปทั่วโลก ปัญหาเรื่องเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะนี้ถือเป็นปัญหาเร่งด่วนที่สำคัญจนองค์การอนามัยโลกได้กำหนดเป็น คำขวัญในวันสุขภาพโลก ประจำปี 2554 ว่า “antimicrobial resistance : no action today, no cure tomorrow” หรือ “การดื้อยาปฏิชีวนะนั้น หากไม่ทำอะไรในวันนี้ ก็จะไม่สามารถรักษาได้ในวันพรุ่งนี้” เนื่องจากกำลังจะเข้าสู่ยุคที่ไม่มียาปฏิชีวนะหรือยาที่มีประสิทธิภาพพอในการรักษาโรค (สวรส., 2555) ดังนั้นการวิจัยเชิงสำรวจจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มที่แยกได้จากน้ำจากสิ่งแวดล้อม ซึ่งผลจากการศึกษานี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเฝ้าระวังแบคทีเรียดื้อยา ตลอดจนเป็นแนวทางในการกำหนดมาตรการหรือนโยบาย เพื่อควบคุมการแพร่กระจายของแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวสู่สิ่งแวดล้อม

วิธีดำเนินการวิจัย

เก็บตัวอย่างน้ำจากสิ่งแวดล้อม 3 แหล่ง คือ แม่น้ำเจ้าพระยา จำนวน 10 สถานี ได้แก่ สถานีที่ 1 ท่าเรือนนทบุรี (ทิวาสงคราม) สถานีที่ 2 ท่าเรือพระราม 5 สถานีที่ 3 ท่าเรือพระราม 7 สถานีที่ 4 ท่าเรือวัดสร้อยทอง สถานีที่ 5 ท่าเรือเกียกกาย สถานีที่ 6 ท่าเรือสะพานกรุงธน (ซังอี) สถานีที่ 7 ท่าเรือ

เทเวศร์ สถานีที่ 8 ท่าเรือพระอาทิตย์ สถานีที่ 9 ท่าเรือพระปิ่นเกล้า และสถานีที่ 10 ท่าเรือวังหลัง (พรานนก) จำนวนสถานีละ 1 ตัวอย่าง รวม 10 ตัวอย่าง สำหรับน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมใน จังหวัดสมุทรปราการ จำนวน 10 แห่ง ได้แก่ โรงงานผลิตท่อเหล็ก จำนวน 2 แห่ง โรงงานบริการรับ พิมพ์ผ้า จำนวน 2 แห่ง โรงงานผลิตเสื้อผ้าสำเร็จรูป จำนวน 2 แห่ง โรงงานผลิตสายไฟสายโทรศัพท์ จำนวน 1 แห่ง โรงงานผลิตพลาสติก จำนวน 1 แห่ง โรงงานผลิตโคม จำนวน 1 แห่ง และโรงงานผลิต ปุ๋ยทางการเกษตร จำนวน 1 แห่ง โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานแห่งละ 1 ตัวอย่าง รวม 10 ตัวอย่าง และน้ำเสียจากชุมชน จำนวน 10 ชุมชน ได้แก่ ชุมชนในเขตบางกอกน้อย จำนวน 1 ชุมชน ชุมชนในเขตบางกอกใหญ่ จำนวน 1 ชุมชน ชุมชนในเขตพระนคร จำนวน 1 ชุมชน ชุมชนในเขตภาษี เจริญ จำนวน 1 ชุมชน และชุมชนในเขตธนบุรี จำนวน 6 ชุมชน โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำเสียจาก ชุมชนละ 1 ตัวอย่าง รวม 10 ตัวอย่าง รวมตัวอย่างน้ำจากสิ่งแวดล้อมทั้งหมด 30 ตัวอย่าง (30 แห่ง) และทำการแยกเชื้อแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มจากตัวอย่างน้ำด้วยวิธี enrichment culture โดยการตวง ตัวอย่างน้ำปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงใน Lactose broth (Oxoid, U.K.) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มเพาะ เลี้ยงที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey agar (Oxoid, U.K.) บ่มเพาะเลี้ยงที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เลือกโคโลนีในแต่ละตัวอย่าง เพื่อ วินิจฉัยชนิดของเชื้อโดยใช้ปฏิกิริยาทางชีวเคมี (Biochemical test) จำนวนแหล่งน้ำละ 100 ไอโซเลท รวมทั้งสิ้น 300 ไอโซเลท จากนั้นนำเชื้อที่แยกได้ไปทำการทดสอบและแปลผลการดื้อต่อยาปฏิชีวนะโดย ใช้วิธี disk diffusion (CLSI, 2013) ต่อยาปฏิชีวนะ (Oxoid, U.K.) จำนวน 11 กลุ่ม รวมทั้งหมด 18 ชนิด (ตารางที่ 2) โดยนำมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton agar (Oxoid, U.K.) ที่ได้เกลี่ยเชื้อ ที่ต้องการทดสอบซึ่งมีความเข้มข้นหรือความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland โดยใช้เครื่องวัดความขุ่นของ สารละลาย (Densitometer ยี่ห้อ Grant รุ่น Den-1) นำไปบ่มเพาะเลี้ยงที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง และแปลผลการดื้อต่อยาตาม Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) โดยใช้ *E. coli* ATCC 25922 เป็นแบคทีเรียควบคุมคุณภาพในการทดสอบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะใน ห้องปฏิบัติการ (quality control) และใช้สถิติเชิงพรรณนาในการวิเคราะห์ข้อมูล ได้แก่ ค่าร้อยละ และ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมทางสถิติ

ผลการวิจัย

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อและแยกโคโลนีของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มจากตัวอย่างน้ำจาก สิ่งแวดล้อม 3 แหล่ง เมื่อนำมาทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีพบเป็น *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *K. oxytoca* และ *C. freundii* คิดเป็นร้อยละ 76.7, 16.7, 3.7, 2.3 และ 0.7 ของจำนวนแบคทีเรีย ทั้งหมด ตามลำดับ และพบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะแบบ multidrug-resistance (MDR) คิดเป็นร้อยละ 38.3 ของจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด ดังตารางที่ 1

การทดสอบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะทั้ง 18 ชนิด ในแบคทีเรียทั้งหมด 300 ไอโซเลท พบดื้อต่อยา (resistance) อย่างน้อย 1 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 80.7 ซึ่งพบดื้อต่อยา AM, AMC, CZ, CXM, CTX, CAZ, CPD, FOX, ATM, GM, NN, SXT, CIP และ TE (ดูชื่อเต็มของยาจากตารางที่ 2) คิดเป็นร้อยละ 64.3, 10.3, 16.0, 5.7, 5.0, 1.3, 5.3, 10.3, 1.7, 6.3, 4.3, 23.3, 12.0 และ 63.7 ของจำนวน แบคทีเรียทั้งหมด ตามลำดับ และพบแบคทีเรียทุกไอโซเลทไวต่อยา (sensitive) FEP, IPM, MEM และ

AN เมื่อเปรียบเทียบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะตามชนิดของแหล่งน้ำ พบว่าให้ผลดื้อต่อยา AMC, CZ, CXM, CTX, CPD, FOX และ TE แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยพบแบคทีเรียที่แยกจากน้ำเสียในโรงงานอุตสาหกรรมดื้อต่อยามากกว่าแหล่งอื่นๆ ดังตารางที่ 2

การทดสอบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะของ *E. coli* จำนวน 230 ไอโซเลท พบดื้อต่อยาอย่างน้อย 1 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 77.4 ซึ่งพบดื้อต่อยา AM, AMC, CZ, CXM, CTX, CAZ, CPD, FOX, ATM, GM, NN, SXT, CIP และ TE คิดเป็นร้อยละ 59.6, 1.3, 8.3, 6.1, 6.1, 1.3, 6.1, 0.9, 1.7, 8.3, 5.7, 27.4, 13.5 และ 70.0 ของจำนวน *E. coli* ทั้งหมด ตามลำดับ และพบ *E. coli* ทุกไอโซเลทไวต่อยา FEP, IPM, MEM และ AN ทั้งนี้พบการดื้อต่อยาแบบ MDR คิดเป็นร้อยละ 35.2 ของจำนวน *E. coli* ทั้งหมด

ส่วนการทดสอบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะของ *K. pneumoniae* จำนวน 50 ไอโซเลท พบดื้อต่อยาอย่างน้อย 1 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 92.0 ซึ่งพบดื้อต่อยา AM, AMC, CZ, CXM, CTX, CPD, FOX, ATM, SXT, CIP และ TE คิดเป็นร้อยละ 84.0, 32.0, 34.0, 2.0, 2.0, 2.0, 34.0, 2.0, 12.0, 10.0 และ 44.0 ของจำนวน *K. pneumoniae* ทั้งหมด ตามลำดับ และพบ *K. pneumoniae* ทุกไอโซเลทไวต่อยา CAZ, FEP, IPM, MEM, AN, GM และ NN ทั้งนี้พบการดื้อต่อยาแบบ MDR คิดเป็นร้อยละ 44.0 ของจำนวน *K. pneumoniae* ทั้งหมด

นอกจากนี้จากการแยกโคลนของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มจากแหล่งน้ำจากสิ่งแวดล้อมทั้ง 3 แหล่ง พบแบคทีเรียชนิดอื่นๆ จำนวน 20 ไอโซเลท ได้แก่ *E. cloacae*, *K. oxytoca* และ *C. freundii* จำนวน 11, 7 และ 2 ไอโซเลท ตามลำดับ ผลการทดสอบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะของ *E. cloacae* พบทุกไอโซเลทดื้อต่อยาแบบ MDR ส่วน *K. oxytoca* จำนวน 7 ไอโซเลท พบดื้อต่อยา 5 ไอโซเลท โดยทั้ง 5 ไอโซเลท ดื้อต่อยา TE และพบ 1 ไอโซเลท ดื้อต่อยาแบบ MDR สำหรับ *C. freundii* ทั้ง 2 ไอโซเลท พบดื้อต่อยา 1 ชนิดเท่านั้น คือ AM

ตารางที่ 1 ชนิดและจำนวนแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มที่แยกจากแหล่งน้ำจากสิ่งแวดล้อม จำนวน 300 ไอโซเลท และผลการดื้อต่อยาปฏิชีวนะแบบ Multidrug-resistance (MDR)

ชนิดของ แบคทีเรีย	จำนวนแบคทีเรียที่แยกได้จากแหล่งน้ำ (จำนวนแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะแบบ MDR)		
	แม่น้ำเจ้าพระยา	น้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม	น้ำเสียจากชุมชน
<i>E. coli</i>	77 (30)	75 (24)	78 (27)
<i>K. pneumoniae</i>	15 (4)	24 (17)	11 (1)
<i>E. cloacae</i>	4 (4)	0	7 (7)
<i>K. oxytoca</i>	3 (0)	1 (1)	3 (0)
<i>C. freundii</i>	1 (0)	0	1 (0)

*Multidrug-resistance (MDR) หมายถึง เชื้อที่สามารถดื้อต่อยาด้านแบคทีเรียตั้งแต่ 3 กลุ่มขึ้นไป โดยยาดังกล่าวรวมถึงยาในกลุ่ม Cephalosporins รุ่นที่ 3-4 ยาในกลุ่ม Carbapenems ยาในกลุ่ม Aminoglycosides ยาในกลุ่ม Quinolones ยาผสมของยาในกลุ่มปีตา-แลกแทมและสารยับยั้งเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส เป็นต้น (Magiorakos et al., 2012) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การดื้อต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม จำนวน 300 ไอโซเลต

ยาปฏิชีวนะ	ความเข้มข้น (ไมโครกรัม)	จำนวนไอโซเลทของแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ (n=100)			รวม (ร้อยละ)	p-value
		แม่น้ำเจ้าพระยา	น้ำเสียจากโรงงาน อุตสาหกรรม	น้ำเสียจาก ชุมชน		
กลุ่ม Penicillins						
Ampicillin (AM)	10	69	63	61	64.3	0.470
กลุ่ม Penicillins + beta-lactamase inhibitors						
Amoxicillin- clavulanic acid (AMC)	20/10	7	17	7	10.3	0.027*
กลุ่ม Non-extended spectrum cephalosporins; 1 st and 2 nd generation cephalosporins						
Cefazolin (CZ)	30	9	27	12	16.0	0.001*
Cefuroxime (CXM)	30	2	10	5	5.7	0.047*
กลุ่ม Extended spectrum cephalosporins; 3 rd and 4 th generation cephalosporins						
Cefotaxime (CTX)	30	2	10	3	5.0	0.018*
Ceftazidime (CAZ)	30	0	3	1	1.3	0.170
Cefpodoxime (CPD)	10	2	10	4	5.3	0.032*
Cefepime (FEP)	30	0	0	0	0.0	-
กลุ่ม Cephamycins						
Cefoxitin (FOX)	30	6	18	7	10.3	0.008*
กลุ่ม Monobactams						
Aztreonam (ATM)	30	2	3	0	1.7	0.241
กลุ่ม Carbapenems						
Imipenem (IPM)	10	0	0	0	0.0	-
Meropenem (MEM)	10	0	0	0	0.0	-
กลุ่ม Aminoglycosides						
Amikacin (AN)	30	0	0	0	0.0	-
Gentamicin (GM)	10	5	8	6	6.3	0.675
Tobramycin (NN)	10	2	7	4	4.3	0.217
กลุ่ม Folate pathway inhibitors						
Trimetoprim/ Sulfamethoxazole (SXT)	1.25/23.75	26	23	21	23.3	0.702
กลุ่ม Fluoroquinolones						
Ciprofloxacin (CIP)	5	12	10	14	12.0	0.685
กลุ่ม Tetracyclines						
Tetracycline (TE)	30	64	72	55	63.7	0.044*

* แหล่งน้ำแต่ละแหล่งให้ผลดื้อต่อยาปฏิชีวนะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05)

สรุปและการอภิปรายผลการวิจัย

แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มที่แยกได้จากน้ำจากสิ่งแวดล้อม จำนวน 300 ไอโซเลท พบ *E. coli* มากที่สุด (ร้อยละ 76.7) สอดคล้องกับการศึกษาของ Luczkiewicz et al. (2011) รายงานว่าฟิซิลโคลิฟอร์ม (fecal coliform) ที่พบมากที่สุดในน้ำผิวดิน คือ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นกลุ่มแกรมลบที่พบมากที่สุดในระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์เลื้อยคลาน มีรายงานการแยกเชื้อได้บ่อยที่สุดจากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยและก่อให้เกิดโรคติดเชื้อได้ทุกระบบในร่างกาย รวมถึงโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล ได้แก่ โลหิตเป็นพิษ ไข้ดั่งอักเสบ เยื่อช่องท้องอักเสบ การติดเชื้อที่ถุงน้ำดี ปอดบวม และลื่นหัวใจอักเสบ รองลงมา คือ *K. pneumoniae* (ร้อยละ 16.7) ซึ่งจัดเป็นแบคทีเรียกลุ่มฟิซิลโคลิฟอร์มเช่นเดียวกัน เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่พบตามสิ่งแวดล้อมทั่วไป และตามเยื่อเมือกในร่างกายของคนและสัตว์ สามารถก่อโรคได้เกือบทุกระบบในร่างกาย โดยแยกเชื้อได้บ่อยที่สุดจากสิ่งส่งตรวจเนื่องจากมีปัจจัยที่ก่อให้เกิดความรุนแรงของโรค ส่วน *E. cloacae* (ร้อยละ 3.2) พบตามสิ่งแวดล้อมทั่วไป เช่น ดิน น้ำ ขยะ พบเป็นเชื้อประจำถิ่นในระบบทางเดินอาหาร จัดเป็นเชื้อก่อโรคกลุ่มฉวยโอกาสและโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล สามารถแยกได้บ่อยจากสิ่งส่งตรวจเช่นเดียวกัน พบ *K. oxytoca* (ร้อยละ 2.3) และ *C. freundii* (ร้อยละ 0.7) ซึ่งจัดรวมเป็นแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมด พบเป็นเชื้อประจำถิ่นในระบบทางเดินอาหาร ก่อให้เกิดโรคติดเชื้ออวัยวะทางเดินอาหาร เช่น การติดเชื้อในกระเพาะลำไส้ (ภัทรชัย, 2552; อธิยา และวัชรินทร์, 2556) การพบการปนเปื้อนแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม ซึ่งถือเป็นดัชนีทางสุขาภิบาลที่ช่วยทำนายแหล่งและระดับการปนเปื้อนของแบคทีเรียที่มาจากสิ่งแวดล้อมและจากอุจจาระหรือ สิ่งปฏิกูล โดยเฉพาะอย่างยิ่งการตรวจพบฟิซิลโคลิฟอร์ม และ *E. coli* สามารถยืนยันได้ว่าแหล่งน้ำนั้นมีการปนเปื้อนสิ่งปฏิกูลที่มาจากชุมชน นอกจากนี้การตรวจพบเชื้อดังกล่าวยังแสดงถึงการจัดการสุขาภิบาลในเรื่องส้วมและการกำจัดสิ่งปฏิกูลในชุมชนที่ไม่เหมาะสม จนเกิดการปนเปื้อนสู่แหล่งน้ำสาธารณะ อันอาจส่งผลกระทบต่อแพร่กระจายของเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารรวมถึงหนองพวยก็ได้ ซึ่งพบเป็นปัญหาหลักทางสาธารณสุขของประเทศไทย แม้รายงานนี้ไม่ได้ทำการทดสอบความสามารถในการก่อโรคของ *E. coli* แต่มีรายงานพบ *E. coli* ที่สามารถก่อโรค (pathogenic *E. coli*) ซึ่งแยกได้จากสิ่งแวดล้อม (Reinthal et al., 2003) ดังนั้นจึงมีโอกาเสี่ยงที่ผู้สัมผัสน้ำในแหล่งดังกล่าวจะเกิดโรคที่เกิดจากการติดเชื้อดังกล่าวได้

การทดสอบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียทั้งหมดที่แยกได้โดยวิธี disk diffusion พบดื้อต่อยาอย่างน้อย 1 ชนิด สูงถึงร้อยละ 80.7 ซึ่งพบดื้อต่อยา AM มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 64.3 รองลงมาคือ TE, SXT และ CZ คิดเป็นร้อยละ 63.7, 23.3 และ 16.0 ตามลำดับ โดยพบการดื้อต่อยาแบบ MDR (Magiorakos et al., 2012) คิดเป็นร้อยละ 38.3 ซึ่งทำให้เป็นข้อจำกัดในการเลือกยาในการรักษา หรือ ต้องใช้ระยะเวลาในการเข้ารับการรักษาหากมีการติดเชื้อจากแบคทีเรียดังกล่าวยาวนาน อันส่งผลต่อค่าใช้จ่าย ตลอดจนสภาพจิตใจ และมีโอกาสสูงที่จะเกิดการติดเชื้อโรคฉวยโอกาสและเชื้ออื่นๆ ในโรงพยาบาลได้ อย่างไรก็ตามพบแบคทีเรีย ทุกไอโซเลทไวต่อยากลุ่ม Aminoglycosides (AN) กลุ่ม Cephalosporins รุ่นที่ 4 (FEP) และกลุ่ม Carbapenems (IPM, MEM) ซึ่งถือเป็นยากลุ่มสุดท้ายที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียรุนแรงในปัจจุบัน เมื่อเปรียบเทียบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะชนิดต่างๆ ตามชนิดของแหล่งน้ำ พบดื้อต่อยา AMC, CZ, CXM, CTX, CPD, FOX และ TE แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยแบคทีเรียที่แยกได้จากน้ำเสียในโรงงานอุตสาหกรรมให้ผลดื้อต่อยา

มากที่สุด ซึ่งแตกต่างจากอีก 2 แหล่ง คือแม่น้ำเจ้าพระยา และน้ำเสียจากชุมชนที่มีแนวโน้มการพบเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะไม่ต่างกัน เนื่องจากน้ำเสียที่ปล่อยจากโรงงานอุตสาหกรรมอาจมีการปนเปื้อนมลพิษ โดยเฉพาะสารโลหะหนักเป็นเวลานาน จึงทำให้แบคทีเรียเกิดการปรับตัวจนเกิดการดื้อยาขึ้น

จากการศึกษาการดื้อยาปฏิชีวนะของ *E. coli* พบดื้อยาอย่างน้อย 1 ชนิด สูงถึงร้อยละ 77.4 โดยพบดื้อยา TE มากที่สุด (ร้อยละ 70.0) สอดคล้องกับการศึกษาของ Elmanama et al. (2006) ที่พบ *E. coli* ที่แยกจากน้ำเสียและน้ำทะเลดื้อยา TE ถึงร้อยละ 66.7 เช่นเดียวกับการศึกษาของ Reinthaler et al. (2003) ที่พบ *E. coli* ที่แยกจากสิ่งสกปรกและกากตะกอนในระบบบำบัดน้ำเสีย ดื้อยา TE สูงที่สุด ถึงแม้ว่าในปัจจุบัน TE ไม่ได้เป็นยาทางเลือกที่นำมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อ *E. coli* ในคน อย่างไรก็ตามพบว่า *E. coli* ที่ดื้อยา TE สามารถกระตุ้นให้ *E. coli* อื่น ดื้อยา TE ด้วย (Luczkiewicz et al., 2011) การดื้อยารองลงมาคือการดื้อยา AM (ร้อยละ 59.6) ในขณะการศึกษาอื่นๆ เช่น Florea (2011) พบ *E. coli* ที่แยกจากแม่น้ำแห่งหนึ่งดื้อยาในกลุ่ม Penicillins (Ticarcillin และ Ampicillin) สูงถึงร้อยละ 60 เช่นเดียวกัน สำหรับการดื้อยา AM พบได้แพร่หลายใน *E. coli* ที่แยกได้จากทั้งสิ่งส่งตรวจทางคลินิก (สวรส., 2555ข) และจากน้ำเสียในสิ่งแวดล้อม (Luczkiewicz et al., 2011) ส่วนการดื้อยา SXT ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะที่ส่วนใหญ่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ พบสูงถึงร้อยละ 27.4 สอดคล้องกับการศึกษาของ Burman et al. (2003) ในขณะที่พบการดื้อยา CIP ร้อยละ 13.5 ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของ Elmanama et al. (2006) ที่พบ *E. coli* ที่แยกจากน้ำเสียและน้ำทะเลดื้อยานี้ ร้อยละ 14.9 และใกล้เคียงกับการดื้อยานี้ของ *E. coli* (ร้อยละ 13) ที่แยกจากแม่น้ำที่ศึกษาโดย Luczkiewicz et al. (2011) นอกจากนี้พบมีรายงาน *E. coli* ที่แยกจากลำไส้ดื้อยาในกลุ่ม Fluoroquinolones (Lautenbach et al., 2009) ได้เช่นเดียวกัน โดยพบว่ากลไกที่สำคัญในการดื้อยาในกลุ่ม Fluoroquinolones ของแบคทีเรียแกรมลบเกิดจากการกลายพันธุ์ของโครโมโซมหรืออาจเกิดจากการถ่ายทอดยีนดื้อยาทางพลาสมิด (Nordmann & Poirel, 2005) นอกจากนี้พบ *E. coli* ดื้อยาแบบ MDR คิดเป็นร้อยละ 35.2 ซึ่งยาปฏิชีวนะทุกชนิดดังกล่าวถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อทางเดินปัสสาวะที่เกิดจาก *E. coli* ยกเว้นยา TE

ส่วนการทดสอบการดื้อยาปฏิชีวนะของ *K. pneumoniae* จำนวน 50 ไอโซเลท พบดื้อยาอย่างน้อย 1 ชนิด สูงถึงร้อยละ 92.0 ซึ่งพบดื้อยา AM, TE, CZ และ FOX ร้อยละ 84.0, 44.0, 34.0 และ 34.0 ตามลำดับ โดยพบการดื้อยาแบบ MDR ร้อยละ 44.0 และพบ *K. pneumoniae* ทุกไอโซเลทไวต่อยากลุ่ม Cephalosporins (CAZ, FEP) ยากลุ่ม Aminoglycosides ทุกชนิดที่ใช้ทดสอบ (AN, GM, NN) และยากลุ่ม Carbapenems (IPM, MEM)

ส่วน *K. oxytoca* จำนวน 7 ไอโซเลท พบส่วนใหญ่ดื้อยา TE ดังนั้นจึงไม่แนะนำให้ใช้ยา TE ในการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อนี้ โดยพบเชื้อจำนวน 1 ไอโซเลท ดื้อยาแบบ MDR ต่างจากการดื้อยาของ *E. cloacae* จำนวน 11 ไอโซเลท ที่พบทุกไอโซเลทดื้อยาแบบ MDR แสดงว่าเชือดังกล่าวนี้อาจดื้อยาได้ง่ายเมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียในกลุ่มเดียวกัน ดังนั้นจึงมีทางเลือกในการรักษาการติดเชื้อนี้ได้น้อยกว่า และจากการดื้อยาดังกล่าวแสดงว่าเชื้อนี้มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์แอมพิซิลาแลคทาเมส เนื่องจากดื้อยาในกลุ่ม Penicillins (AM) กลุ่ม Cephalosporins รุ่นที่ 1-3 (CZ, CXM, CTX, CAZ, CPD) กลุ่ม Monobactams (ATM) กลุ่ม Cephamycins (FOX) แต่ไวต่อยาในกลุ่ม Cephalosporins รุ่นที่ 4 (FEP) กลุ่ม Carbapenems (IPM, MEM) รวมถึงไม่ถูก

ต้านฤทธิ์ด้วยสารยับยั้งเอนไซม์ beta-lactam (AMC) (Jacoby, 2009) สำหรับ *C. freundii* ทั้ง 2 ไอโซเลทพบดื้อต่อยา 1 ชนิดเท่านั้น

โดยภาพรวมของงานวิจัยนี้เมื่อพิจารณาจากระดับความชุกของการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียที่แยกได้ พบว่ายาในกลุ่ม Carbapenems กลุ่ม Monobactams กลุ่ม Aminoglycosides และกลุ่ม Cephalosporins รุ่นที่ 3 และรุ่นที่ 4 สามารถพิจารณาเป็นทางเลือกในการรักษา หากยังไม่มีข้อมูลการดื้อยาของแบคทีเรียที่ก่อโรคติดเชื้อดังกล่าวในชุมชน ตามลำดับ ในขณะที่ไม่ควรเลือกใช้ใน กลุ่ม Penicillins กลุ่ม Tetracyclines กลุ่ม Folate pathway inhibitors กลุ่ม Cephalosporins รุ่นที่ 1 และรุ่นที่ 2 กลุ่ม Fluoroquinolones กลุ่ม Penicillins + beta-lactamase inhibitors และกลุ่ม Cephamycins ตามลำดับ อย่างไรก็ตามต้องพิจารณาถึงความปลอดภัยในการเลือกใช้ด้วยเป็นสำคัญ

จากการศึกษาพบแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มที่แยกจากแหล่งน้ำจากสิ่งแวดล้อมทุกชนิดดื้อต่อยา ซึ่งกลไกสำคัญที่ทำให้เกิดการดื้อยาเนื่องมาจากการถ่ายทอดยีนดื้อยาในแนวนอนจากหน่วยพันธุกรรมที่สามารถเคลื่อนที่ได้ เช่น พลาสมิด ทรานสโพซอน หรือ อินทิกรอน ซึ่งพบมีรายงานในแบคทีเรียที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อม (Schlüter et al., 2007; Soda et al., 2008) การพบแบคทีเรียดื้อยาในแหล่งน้ำดังกล่าวแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของระบบนิเวศน้ำที่มีสาเหตุจากการกระทำของมนุษย์ เช่น การทิ้งสิ่งปฏิกูลลงในแหล่งน้ำ การใช้ยาปฏิชีวนะมากเกินไปจนความจำเป็นทั้งการใช้ยาในคนและในสัตว์ จนเกิดการปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำ การระบายน้ำเสียจากชุมชน ตลอดจนการปล่อยน้ำเสีย และระบายน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่ปนเปื้อนมลพิษ เช่น โลหะหนัก ลงในแหล่งน้ำส่งผลให้แบคทีเรียเกิดการปรับตัวจนเกิดการดื้อยาขึ้น ด้วยเหตุนี้จึงควรกำหนดมาตรการหรือนโยบายที่สามารถลดการปนเปื้อนดังกล่าวลงสู่แหล่งน้ำ เช่น ควบคุมการใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีที่เป็นยาต้านจุลชีพในสัตว์เพื่อเร่งการเจริญเติบโตในสัตว์เศรษฐกิจ รวมถึงการควบคุมกำจัดแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวไม่ให้แพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ควรให้ความสำคัญในการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างสมเหตุสมผลในสถานพยาบาลทุกแห่ง ควบคุมการจำหน่ายยาปฏิชีวนะที่ร้านขายยา และที่สำคัญทุกคนต้องมีความเข้าใจถูกต้อง และความตระหนักถึงความสำคัญของแบคทีเรียดื้อยา โดยการพิจารณาใช้ยาปฏิชีวนะเท่าที่จำเป็นและสมเหตุสมผล เป็นการป้องกันการแพร่กระจายของแบคทีเรียดื้อยา โดยเฉพาะการดื้อยาแบบ MDR ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ที่ติดเชื้อแบคทีเรีย ตลอดจนส่งผลกระทบต่อระบบเศรษฐกิจของประเทศไทยต่อไป

ผลจากการศึกษาการดื้อยาของแบคทีเรียที่แยกจากแหล่งน้ำจากสิ่งแวดล้อมครั้งนี้ สามารถนำมาเป็นข้อมูลพื้นฐานในการบริหารจัดการ ควบคุมการแพร่กระจาย และเฝ้าระวังแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าว อันนับว่ามีประโยชน์ในการที่จะใช้เป็นเครื่องชี้วัดการใช้ยาต้านจุลชีพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสามารถบ่งชี้ทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพถึงการใช้ยาที่ไม่เหมาะสม หรือใช้มากเกินไปจนความจำเป็นจนเกิดการปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อม ซึ่งเป็นผลจากการใช้ยาปฏิชีวนะมากยิ่งขึ้น ทั้งในทางการแพทย์เพื่อใช้ในการรักษาผู้ป่วยโรคติดเชื้อ ทางสัตวแพทย์ในการรักษาโรคติดเชื้อในสัตว์ ส่วนในด้านเกษตรกรรมและการปศุสัตว์นอกจากจะใช้ยาปฏิชีวนะในการควบคุมโรคแล้วยังนิยมใช้เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิต รวมทั้งมีการผสมสารปฏิชีวนะลงในเคมีภัณฑ์ที่ใช้ทำความสะอาดในอาคารบ้านเรือน ห้องส้วม ผลจากการใช้ยาปฏิชีวนะในการควบคุมและกำจัดจุลชีพในอัตราที่สูงนี้เอง จึงก่อให้เกิดการตกค้างใน

ผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น ในเนื้อสัตว์ ไข่ และก่อให้เกิดการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะลงสู่สิ่งแวดล้อม (สวรส., 2555ข) นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลของการดื้อยาที่ช่วยให้แพทย์ใช้เป็นแนวทางในการเลือกใช้ยาต้านจุลชีพในการรักษาผู้ป่วยโรคติดเชื้อจากโรงพยาบาลหรือชุมชน นอกจากนี้การตรวจพบการดื้อต่อยาของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม ซึ่งเป็นกลุ่มของแบคทีเรียที่ใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางสุขาภิบาล อาจแสดงว่าน่าจะมีโอกาสพบเชื้อก่อโรคชนิดอื่นๆ ที่มีความสามารถในการดื้อต่อยาเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากพบว่ายีนที่ควบคุมการดื้อต่อยาดังกล่าวนี้ สามารถแลกเปลี่ยนกันทั้งในแนวดิ่งหรือในสายพันธุ์เดียวกัน และในแนวนราบหรือระหว่างสายพันธุ์หรือระหว่างจีนัสและวงศ์ของแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่งได้ จากการศึกษาพบแบคทีเรียที่สามารถทำลายยาหรือดื้อต่อยาในกลุ่ม Penicillins (AM) กลุ่ม Cephalosporins รุ่นที่ 1-3 (CZ, CXM, CTX, CAZ, CPD) กลุ่ม Monobactams (ATM) กลุ่ม Cephamycins (FOX) แต่ไม่สามารถทำลายยาหรือไวต่อยาในกลุ่ม Cephalosporins รุ่นที่ 4 (FEP) กลุ่ม Carbapenems (IPM, MEM) รวมถึงไม่ถูกต้านฤทธิ์ด้วยสารยับยั้งเอนไซม์ beta-lactam (AMC) ได้ แสดงว่าเชื้ออาจมีการสร้างเอนไซม์บีตาแลคทาเมสที่มีฤทธิ์ขยายมาทำลายยา เช่น เอนไซม์แอมเพซิปีตาแลคทาเมส ดังนั้นควรมีการตรวจหาเอนไซม์ดังกล่าวในแบคทีเรียที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อม ตลอดจนการเปรียบเทียบหรือหาความสัมพันธ์ระหว่างการดื้อยาของแบคทีเรียในสิ่งแวดล้อมกับแบคทีเรียที่แยกได้จากผู้ป่วย รวมถึงควรมีการตรวจหายีนดื้อยาในระดับจีโนมเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างยีนแต่ละชนิด และค้นหาสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ๆ ที่มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อดื้อยาหรือควบคุมการแสดงออกของยีนดื้อยาต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและการพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ ของสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ที่ได้สนับสนุนงบประมาณดำเนินการสำหรับการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่านที่ได้กรุณาวิพากษ์และให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ แก่โครงการวิจัยนี้ และขอขอบคุณ นางสาวยุพิน แดงสกุล นางสาวสุนัญญา นานบุญ และนายอาหาร แดงมณี ที่มีส่วนช่วยในการวิจัยครั้งนี้ จนสามารถปฏิบัติงานลุล่วงเป็นไปตามวัตถุประสงค์ของการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- ประชาชาติธุรกิจ. (2555). เดือน! “อินเดีย” กำลังกลายเป็นแหล่งกำเนิดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ. เข้าถึงข้อมูลวันที่ 17 มิถุนายน 2555 จาก http://www.prachachat.net/news_detail.php?newsid=1339858041/.
- ภัทรชัย กิรติสิน. (2552). ตำราวิทยาแบคทีเรียการแพทย์. (พิมพ์ครั้งที่ 2 ปรับปรุงแก้ไข). กรุงเทพฯ: หจก.วี.เจ.พรินติ้ง.
- สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข (สวรส.). (2555ก). เชื้อดื้อยาปฏิชีวนะ: ภาวะวิกฤตต่อคุณภาพคนไทย. เข้าถึงข้อมูลวันที่ 22 มิถุนายน 2555. จาก http://www.hsri.or.th/sites/default/files/fact%20sheet_Art-2.pdf/.
- สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข (สวรส.). (2555ข). เชื้อดื้อยาปฏิชีวนะวิกฤตและทางออกของสังคมไทย. HSRI Forum, 1 (1), 1-6.
- อิสยา จันทรวิทย์านูชิต และวัชรินทร์ รังษิภาณุรัตน์. (2556). แบคทีเรียทางการแพทย์. (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

- American Public Health Association (APHA). (1998). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, (20th edition). Washington, DC: APHA Press.
- Ash, R.J., Mauck, B., & Morgan, M. (2002). Antibiotic resistance of gram-negative bacteria in rivers, United states. **Emerging Infectious Diseases**, 8(7), 713-716.
- ASM colloquium report. (1999). **Antimicrobial Resistance, an Ecological Perspective**. Washington, DC: American society for microbiology Press.
- Bagley, S. (1985). Habitat association of *Klebsiella* species. **The American Journal of Infection Control**, 6(2), 52-58.
- Ball, A.R., Casadei, G., Samosorn, S., Bremner, J.B., Ausubel, F.M., Moy, T.I. (2006). Conjugating berberine to a multidrug resistance pump inhibitor creates an effective antimicrobial. **ACS Chemical Biology**, 1(9), 594-600.
- Burman, W.J., Breese, P.E., Murray, B.E., Singh, K.V., Batal, H.A., MacKenzie, T.D. (2003). Conventional and molecular epidemiology of trimethoprim-sulfamethoxazole resistance among urinary *Escherichia coli* isolates. **The American Journal of Medicine**, 115 (5), 358-364.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2013). **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-third informational supplement, M100-S23**. USA: CLSI Press.
- Elmanama, A.A., Elkichaoui, A.Y., & Mohsin, M. (2006). Contribution of hospital wastewater to the spread of antibiotic resistance in comparison to Non-Health Institution. **Journal of al-Aqsa University**, 10(S.E.), 108-121.
- Florea, A.B. (2011). Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from Aries river (Romania). *Analele Universitatii din Oradea. Fascicula Biologie*, 18(1), 34-38.
- Hawkey, P.M. (2000). Mechanisms of resistance to antibiotics. **Journal of Intensive Care Medicine**, 26 (1), 9-13.
- Jacoby, G.A. (2009). AmpC beta-lactamases. **Clinical Microbiology Reviews**, 22 (1), 161-182.
- Lautenbach, E., Metlay, J.P., Weiner, M.G., Bilker, W.B., Tolomeo, P., Mao, X. (2009). Gastrointestinal tract colonization with fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* in hospitalized patients: changes over time in risk factors for resistance. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, 30 (1), 18-24.
- Luczkiewicz, A., Jankowska, K., Kurlenda, J., & Olanczuk-Neyman, K. (2011). Identification and antimicrobial susceptibility of fecal coliforms isolated from surface water. **Polish Journal of Environmental Studies**, 20 (4), 941-950.
- Magiorakos, A.P., Srinivasan, A., Carey, R.B., Carmeli, Y., Falagas, M.E., Giske, C.G. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, 18 (3), 268-281.

- Nordmann, P., & Poirel, L. (2005). Emergence of plasmid-mediated resistance to quinolones in Enterobacteriaceae. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 56 (3), 463-469.
- Podschun, R., & Ullmann, U. (1998). *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. **Clinical Microbiology Reviews**, 11 (4), 589-603.
- Reinthal, F.F., Posch, J., Feierl, G., Wüst, G., Haas, D., Ruckebauer, G. (2003). Antibiotic resistance of *E. coli* in sewage and sludge. **Water Research**, 37 (8), 1685-1690.
- Schlüter, A., Szczepanowski, R., Pühler, A., & Top, E.M. (2007). Genomics of IncP-1 antibiotic resistance plasmids isolated from wastewater treatment plants provides evidence for widely accessible drug resistance gene pool. **FEMS Microbiology Reviews**, 31 (4), 449-477.
- Soda, S., Otsuki, H., Inoue, D., Tsutsui, H., Sei, K., & Ike, M. (2008). Transfer of antibiotic multi-resistant plasmid RP4 from *Escherichia coli* to activated sludge bacteria. **The Journal of Bioscience and Bioengineering**, 106 (3), 292-296.
- Tadesse, D.A., Zhao, S., Tong, E., Ayers, S., Singh, A., Bartholomew, M.J. (2012). Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United states, 1950-2002. **Journal of Emerging Infectious Diseases**, 18 (5), 741-749.
- Zahid, H.M., Mahal, Z., & Chowdhury, M.R. (2009). Intergenic and intragenic conjugal transfer of multiple antibiotic resistance determinants among bacteria in the aquatic environment of Bangladesh. **African Journal of Biotechnology**, 8 (2), 155-160.