

Susceptibility testing of vancomycin, daptomycin and linezolid against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Thanwa Wongsuk¹, Daranee Nutalai²

¹ Department of Clinical Pathology, Faculty of Medicine Vajira Hospital, Navamindradhiraj University

² Microbiology Laboratory, Faculty of Medicine Vajira Hospital, Navamindradhiraj University

Abstract

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) has been recognized as a major cause of healthcare-associated and community-acquired infections. The resistant genes of MRSA can be transferred very quickly between different strains. This study aimed to determine *in vitro* antimicrobial susceptibility and the minimal inhibitory concentration (MIC) of vancomycin, daptomycin and linezolid against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from various clinical specimens of in- and out-patients and to study the antimicrobial susceptibility patterns. A total of 330 isolates of MRSA (in-patients = 295 isolates and out-patients = 35 isolates) from clinical specimens were obtained from Microbiology Laboratory, Faculty of Medicine, Vajira Hospital during April 2013 to March 2014. MIC of vancomycin and linezolid were performed by agar dilution technique and daptomycin by agar gradient diffusion technique. All of isolates were susceptible to vancomycin, daptomycin and linezolid. These results indicated that vancomycin, daptomycin and linezolid showed good activity against 330 MRSA tested (100% susceptibility). Therefore, they may be the drug of choices for MRSA treatment.

Keywords: *in vitro* antibiotic susceptibility testing, minimal inhibitory concentration, antimicrobial susceptibility patterns

Corresponding author:

Thanwa Wongsuk

Department of Clinical Pathology, Faculty of Medicine Vajira Hospital,

Navamindradhiraj University

681 Samsen Road, Dusit, Bangkok 10300

E-mail: thanww@gmail.com

■ บทนำ

ในปัจจุบัน Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) เป็นปัญหาสำคัญของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล (healthcare-associated infection) รวมถึงยังพบเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในชุมชน (community-acquired infection) ด้วย เชื้อมีกลไกการดื้อยาที่สำคัญคือ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของผนังเซลล์ซึ่งเป็นเป้าหมายการจับของยาในกลุ่ม beta-lactams ที่ penicillin binding protein (PBP) ปกติ มาเป็นชนิด PBP2a โดยการควบคุมของยีน *mecA* ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้ส่งผลให้ยาเข้าสู่เซลล์ได้ลดลง เชื้อจึงไม่ถูกยับยั้งด้วยยาในกลุ่มนี้¹ โดยยีนดื้อยานี้บรรจุอยู่ในโครโมซอมทางพันธุกรรมเคลื่อนที่ ชนิด *staphylococcal cassette chromosome* (SCC) *mec* สามารถส่งต่อยีนดื้อยาจากเชื้อสายพันธุ์หนึ่งสู่อีกสายพันธุ์หนึ่งได้ อันเป็นสาเหตุหนึ่งของการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาได้อย่างรวดเร็ว จึงมีการเลือกใช้ยา vancomycin เพื่อเป็นทางเลือกในการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อ MRSA มากขึ้น จนกระทั่งมีรายงานการพบ MRSA สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยา vancomycin ซึ่งเรียกว่า heterogeneous และ vancomycin intermediate *S. aureus* (VISA)^{2,3} รวมถึงพบรายงานในประเทศไทยด้วย⁴⁻⁶ ปัจจุบันยา vancomycin นำมาใช้ในการรักษาการติดเชื้อ MRSA แต่พบผู้ป่วยไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาดังกล่าวและมีค่าระดับความเข้มข้นของยาค่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (minimum inhibitory concentration, MIC) ต่ovancomycin ที่สูงขึ้น⁷ แสดงถึงข้อจำกัดในการใช้ vancomycin ในการรักษาการติดเชื้อ MRSA ดังนั้น การทดสอบหาค่า MIC ต่o เชื้อ *S. aureus* รวมถึง MRSA ในงานบริการประจำวันจึงมีความสำคัญและควรมีการติดตามเฝ้าระวังเชื้อเหล่านี้ นอกจากนี้ ยาใหม่ที่มีฤทธิ์ต่อ MRSA เริ่มมีบทบาทในการรักษาการติดเชื้อ MRSA มากขึ้น เช่น linezolid ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม oxazolidinones⁸ และ daptomycin ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม cyclic lipopeptide⁹ โดยในปัจจุบันยังไม่มี การทดสอบความไวต่อยา daptomycin และ linezolid ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล ดังนั้น การศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความไวและหาค่าความเข้มข้นของยาที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อเป็นค่า MIC ต่อยา vancomycin, daptomycin และ linezolid

ของเชื้อ MRSA ในห้องปฏิบัติการคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาลเป็นครั้งแรก รวมถึงศึกษารูปแบบความไวของสารต้านจุลชีพต่อเชื้อ MRSA ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย ทั้งผู้ป่วยในและผู้ป่วยนอกที่เข้ารับการรักษาที่คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล

■ วัตถุประสงค์

1. เพื่อหาค่าความเข้มข้นของยาที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อเป็นค่า MIC ต่อยา vancomycin, daptomycin และ linezolid ของเชื้อ MRSA
2. เพื่อทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ ได้แก่ erythromycin, clindamycin, fosfomycin, fusidic acid, gentamicin, trimethoprim-sulfamethoxazole และ teicoplanin ของเชื้อ MRSA
3. เพื่อศึกษาแบบแผนความไวของสารต้านจุลชีพต่อเชื้อ MRSA ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย ทั้งผู้ป่วยในและผู้ป่วยนอกที่เข้ารับการรักษาที่คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล

■ วิธีการศึกษา

1. ตัวอย่างเชื้อ

เชื้อ MRSA จำนวน 330 สายพันธุ์ แยกได้จากสิ่งส่งตรวจผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล โดยแบ่งเป็น เชื้อ MRSA จากผู้ป่วยใน 295 สายพันธุ์ และจากผู้ป่วยนอก 35 สายพันธุ์ ตั้งแต่วันที่ 1 เมษายน 2556 ถึงเดือน มีนาคม 2557 ทำการทดสอบทางชีวเคมีเพื่อพิสูจน์ชนิดของเชื้อ *S. aureus* ตามมาตรฐานของห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คือ สามารถสร้างเอนไซม์ catalase และ coagulase (ด้วยวิธี tube coagulase test) สามารถย่อยสลายน้ำตาล mannitol และ trehalose ให้กรดไวต่อยา novobiocin ที่มีจำนวนยา 5 µg (inhibition zone > 16 มิลลิเมตร) ทดสอบว่าเป็น MRSA โดยทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพตามมาตรฐานของ CLSI 2013 (M100-S23)¹⁰ โดยใช้ cefoxitin disk ขนาด 30 µg การแปลผลคือ วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของ zone of inhibition หากเส้นผ่าศูนย์กลางมีขนาดน้อยกว่าหรือเท่ากับ 21 มิลลิเมตร บ่งชี้ว่าเป็น MRSA

2. การทดสอบความไวของเชื้อ MRSA ต่อยา erythromycin, clindamycin, fosfomycin, fusidic acid, gentamicin, trimethoprim-sulfamethoxazole และ teicoplanin ด้วยวิธี disk diffusion

ทดสอบความไวของยาด้านจุลชีพด้วยวิธี disk diffusion ต่อยา 7 ชนิด ดังนี้ erythromycin (15 µg), clindamycin (2 µg), fosfomycin (50 µg), fusidic acid (10 g), gentamicin (10 µg), trimethoprim-sulfamethoxazole (1.25/23.75 µg), teicoplanin (30 µg) การแปลผลวิธี disk diffusion โดยการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของ zone of inhibition แล้วนำมาเปรียบเทียบกับตารางแปลผล โดย erythromycin, clindamycin, gentamicin, trimethoprim-sulfamethoxazole, teicoplanin แปลผลตามมาตรฐาน CLSI 2013 (M100-S23)¹⁰, fosfomycin (≥ 20 มม. = ไว, 14-19 มม. = ไวปานกลาง, ≤ 13 มม. = ตื้อ)¹¹, fusidic acid (≥ 22 มม. = ไว, 15-21 มม. = ไวปานกลาง, ≤ 14 มม. = ตื้อ)¹² โดยสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดสอบการควบคุมคุณภาพคือ *S. aureus* ATCC 25923

3. การทดสอบความไวของเชื้อ MRSA ต่อยา vancomycin และ linezolid ด้วยวิธี agar dilution technique

ทดสอบความไวของเชื้อ MRSA ต่อยา vancomycin และ linezolid ด้วยวิธี agar dilution technique และหาค่าความเข้มข้นของยาน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อเป็นค่า MIC ตามวิธีมาตรฐานของ CLSI (M07-A9)¹³ โดยเตรียม Mueller Hinton agar (MHA) ผสมยา vancomycin (Sigma Chemical Company, St. Louis, Missouri USA) และ linezolid (Sigma Chemical Company, St. Louis, Missouri USA) ให้มีความเข้มข้นใน MHA เป็น 0.063, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 µg/ml เตรียมเชื้อ MRSA ที่จะทดสอบให้มีความขุ่น 0.5 McFarland standard จากนั้นปรับความเข้มข้นเป็น 10^7 CFU/mL ด้วยการเจือจางในน้ำเกลือปราศจากเชื้อ ในอัตราส่วน 1:10 แล้วนำมาเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มียาในความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ automatic pipette ในปริมาตร 2 µl ต่อจุด (ความเข้มข้นสุดท้ายประมาณ 10^4

CFU ต่อจุด) อบที่ 35 องศาเซลเซียส จนครบ 24 ชั่วโมง อ่านค่าความเข้มข้นของยาน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อเป็นค่า MIC ของ vancomycin และ linezolid โดยสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดสอบการควบคุมคุณภาพคือ *S. aureus* ATCC 25913

4. การทดสอบความไวของเชื้อ MRSA ต่อยา daptomycin ด้วยวิธี agar gradient diffusion technique

ทดสอบความไวของเชื้อ MRSA ต่อยา daptomycin ด้วยวิธี agar gradient diffusion technique โดยใช้ M.I.C. Evaluator Strips (Thermo scientific, United Kingdom) และหาค่า MIC โดยเตรียมเชื้อที่ทดสอบให้มีความขุ่น 0.5 McFarland standard ใช้ไม้พันสำลีปราศจากเชื้อจุ่มเชื้อป้ายเป็น 3 ระบายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA จากนั้นวางแผ่น strip ของยาบน MHA ที่ป้ายเชื้อแล้ว อบที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง อ่านค่าความเข้มข้นของยาน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อเป็นค่า MIC ของ daptomycin และแปลผลโดยใช้เกณฑ์ของ CLSI 2013 (M100-S23) โดยสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดสอบการควบคุมคุณภาพคือ *S. aureus* ATCC 25913

5. วิเคราะห์ผลการวิจัย

วิเคราะห์ผลการวิจัยในเชิงพรรณนา ได้แก่ อัตราการพบเชื้อ แบบแผนความไวต่อยาด้านจุลชีพแต่ละชนิด ค่า MIC ของยา vancomycin, daptomycin และ linezolid ต่อเชื้อ MRSA นำเสนอโดยใช้ค่าสถิติเชิงพรรณนา ด้วยค่าเฉลี่ยและร้อยละ

■ ผลการศึกษา

เชื้อ MRSA ที่อยู่ในเกณฑ์คัดเข้าทั้งหมด 330 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจผู้ป่วย โดยแยกเชื้อ MRSA ได้จากผู้ป่วยใน จำนวน 295 สายพันธุ์ และจากผู้ป่วยนอก จำนวน 35 สายพันธุ์ ที่เข้ารับการรักษาในคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล ตั้งแต่เดือน เมษายน 2556 ถึง เดือน มีนาคม 2557 โดยแยกได้จากสิ่งส่งตรวจต่างๆ ดังนี้ จากระบบทางเดินหายใจ ร้อยละ 63.03 หนอง ผลต่างๆ ร้อยละ 23.94 เลือด ร้อยละ 6.97 เนื้อเยื่อต่างๆ ร้อยละ 3.64 ปัสสาวะ ร้อยละ 1.21 สิ่งส่งตรวจอื่นๆ ร้อยละ 1.21

ผลการทดสอบความไวของยาต้านจุลชีพ พบว่า เชื้อ MRSA ที่ไวต่อยา fosfomycin ร้อยละ 66.06, fusidic acid ร้อยละ 99.09, gentamicin ร้อยละ 25.76,

trimethoprim-sulfamethoxazole ร้อยละ 94.24, teicoplanin ร้อยละ 100 แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ความไวของสารต้านจุลชีพต่อเชื้อ MRSA ด้วยวิธี disk diffusion

สารต้านจุลชีพ	ร้อยละ: % (จำนวนสายพันธุ์)		
	ไว	ไวปานกลาง	ดื้อ
Clindamycin	1.21 (4)	-	98.79 (326)
Erythromycin	-	-	100 (330)
Gentamicin	25.76 (85)	0.30 (1)	73.94 (244)
Fosfomycin	66.06 (218)	-	33.94 (112)
Fusidic acid	99.09 (327)	-	0.91 (3)
Teicoplanin	100 (330)	-	-
Trimethoprim-sulfamethoxazole	94.24 (311)	0.30 (1)	5.46 (18)

โดยรูปแบบการดื้อสารต้านจุลชีพของเชื้อ MRSA แสดงดังตารางที่ 2 สามารถจำแนกได้ทั้งสิ้น 14 รูปแบบ พบว่า ดื้อต่อยา 1 ชนิด 1 สายพันธุ์ ดื้อต่อยา 2 ชนิด 66 สายพันธุ์ (ร้อยละ 20) ดื้อต่อยา 3 ชนิด 150 สายพันธุ์ (ร้อยละ 45.45) ดื้อต่อยา 4 ชนิด 113 สายพันธุ์ (ร้อยละ 34.24) รูปแบบที่พบมากที่สุดคือ เชื้อ MRSA ที่ดื้อ erythromycin, clindamycin, gentamicin จำนวน 135 สายพันธุ์ (ร้อยละ 40.90) รูปแบบที่ดื้อต่อ erythromycin, clindamycin, gentamicin, fosfomycin จำนวน 96 สายพันธุ์ (ร้อยละ 29.10) ในรูปแบบที่ดื้อต่อ erythromycin, clindamycin 64 สายพันธุ์ (ร้อยละ 19.39) ในรูปแบบที่ดื้อต่อ erythromycin, clindamycin, fosfomycin 10 สายพันธุ์ (ร้อยละ 3.03) และ ในรูปแบบที่ดื้อต่อ erythromycin, clindamycin, gentamicin, trimethoprim-sulfamethoxazole 8 สายพันธุ์ (ร้อยละ 2.42) โดยรูปแบบที่นอกเหนือจากนี้มีจำนวนสายพันธุ์น้อยคือเพียง 4, 2 และ 1 สายพันธุ์ แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 รูปแบบการดื้อสารต้านจุลชีพของเชื้อ MRSA

แบบแผนที่	รูปแบบการดื้อสารต้านจุลชีพ	จำนวนสายพันธุ์ (ร้อยละ)
1	E, CC, GN	135 (40.91)
2	E, CC	64 (19.40)
3	E, CC, GN, FOS	96 (29.10)
4	E, CC, FOS	10 (3.03)
5	E, CC, GN, SXT	8 (2.42)
6	E, CC, FOS, SXT	4 (1.21)
7	E, CC, SXT	4 (1.21)
8	E, GN	2 (0.61)
9	E, CC, FOS, FUS	2 (0.61)
10	E, CC, GN, FUS	1 (0.30)
11	E	1 (0.30)
12	E, CC, GN (ไวปานกลาง), SXT	1 (0.30)
13	E, GN, SXT	1 (0.30)
14	E, CC, GN, SXT (ไวปานกลาง)	1 (0.30)

E; erythromycin, CC; clindamycin, GN; gentamicin, FOS; fosfomycin, FUS; fusidic acid, SXT; trimethoprim-sulfamethoxazole

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ผลการทดสอบความไวของ เชื้อ MRSA ต่อยา vancomycin, daptomycin และ linezolid โดยแสดงเป็นค่าความเข้มข้นของยาน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อเป็นค่า MIC นั้น พบว่าเชื้อ MRSA ทั้ง 330 สายพันธุ์ ยังให้ผลว่าไวต่อยาทั้ง 3 ชนิด ร้อยละ 100 (vancomycin MIC \leq 2 $\mu\text{g/ml}$, daptomycin

MIC \leq 1 $\mu\text{g/ml}$, linezolid MIC \leq 4 $\mu\text{g/ml}$) โดยมีค่า MIC ของยา vancomycin อยู่ระหว่าง 0.5-2 $\mu\text{g/ml}$ ค่า MIC ของยา daptomycin อยู่ระหว่าง 0.25-1 $\mu\text{g/ml}$ และค่า MIC ของยา linezolid อยู่ระหว่าง 0.5-2 $\mu\text{g/ml}$ การแสดงค่าการกระจายของยาแต่ละชนิด ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การกระจายของค่า MIC และค่า MIC₅₀ และ MIC₉₀ ($\mu\text{g/ml}$) ของยา vancomycin, daptomycin, linezolid

ชนิดสารต้านจุลชีพ	จำนวนสายพันธุ์ของ MRSA ที่ค่า MIC ($\mu\text{g/ml}$) ต่างๆ							MIC ₅₀	MIC ₉₀
	0.063	0.125	0.25	0.5	1	2	4		
Vancomycin ^a	-	-	-	48	280	2	-	1	1
Linezolid ^a	-	-	-	10	217	3	-	1	1
Daptomycin ^b	-	-	24	190	116	-	-	0.5	1

^a ทดสอบความไวของเชื้อ MRSA ด้วยวิธี agar dilution technique

^b ทดสอบความไวของเชื้อ MRSA ด้วยวิธี agar gradient diffusion technique

■ อภิปรายผล

เชื้อ MRSA เป็นสาเหตุสำคัญของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลและมีการรายงานความชุกของ MRSA เพิ่มขึ้นทั่วโลก นับตั้งแต่มีรายงานในปี 2504¹⁴ เป็นต้นมา โดยสามารถส่งผ่านเชื้อ MRSA จากผู้ป่วยหนึ่งไปยังผู้ป่วยอื่นๆ หรือจากบุคลากรทางการแพทย์สู่ผู้ป่วยโดยการสัมผัสทำให้เกิดการระบาดของเชื้อดื้อยาในโรงพยาบาล จากผลการศึกษาครั้งนี้สามารถแยกเชื้อ MRSA จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยในโรงพยาบาลนี้พบว่าส่วนใหญ่เป็นการติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจ จากหนองและแผลต่างๆ โดยแบบแผนการสื่อสารต้านจุลชีพของเชื้อ MRSA พบว่า ดื้อต่อยา 3 ชนิด ร้อยละ 45.45 ดื้อต่อยา 4 ชนิด ร้อยละ 34.24 แสดงให้เห็นว่าเชื้อ MRSA มักดื้อต่อยากลุ่มอื่นร่วมด้วย จึงมีการเลือกใช้ยา vancomycin เพื่อเป็นทางเลือกในการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อ MRSA มากขึ้น จนกระทั่งมีการรายงานพบเชื้อดื้อต่อยาในกลุ่ม glycopeptide (vancomycin) หรือ vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) ซึ่งในปัจจุบันพบว่ามีการรายงานเพิ่มมากขึ้นในหลายภูมิภาคทั่วโลก โดยพบค่า MIC ของ VRSA ต่อยา vancomycin อยู่ระหว่าง 32-64 $\mu\text{g/ml}$ ¹⁵⁻¹⁷ สำหรับผล

การทดสอบความไวต่อยา vancomycin ครั้งนี้เชื้อที่ทดสอบ 330 สายพันธุ์ ยังคงให้ผลไวต่อยา vancomycin (MIC = 0.5-2 $\mu\text{g/ml}$) สำหรับในประเทศไทยเมื่อศึกษางานวิจัยย้อนหลังพบว่ามีการรายงานเชื้อที่ไวต่อยา vancomycin ลดลงเป็นครั้งแรกในปี 2543¹⁸ นอกจากนี้ยังมีรายงานเพิ่มเติมโดยพบว่าเชื้อ MRSA ที่ให้ผลความไวต่อยา vancomycin ลดลงและถูกจัดอยู่ในกลุ่ม hVISA โดยการยืนยันด้วยวิธี population analysis profile (PAP) มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 2-3 $\mu\text{g/ml}$ ⁵ จากผลการทดสอบความไวต่อยาของเชื้อ MRSA ในคณะแพทยศาสตร์ วชิรพยาบาลครั้งนี้ พบว่า มีเชื้อที่มีค่า MIC เท่ากับ 2 $\mu\text{g/ml}$ จำนวน 2 สายพันธุ์ ซึ่งเป็น MIC สูงสุดที่แปลผลว่าไวต่อยา แต่มีค่าใกล้เคียงค่า MIC ในระดับต่ำสุดในค่าการแปลผลว่าไวต่อยาปานกลาง (4-8 $\mu\text{g/ml}$) ซึ่งถึงแม้ว่าจะยังให้ผลว่ามีความไวต่อยา vancomycin แต่ยังไม่สามารถบอกได้ว่าเป็นเชื้อที่ไวต่อยา vancomycin ลดลงในกลุ่ม hVISA หรือไม่ เนื่องจากยังไม่สามารถทำการทดสอบด้วยวิธียืนยันได้ในครั้งนี้ จึงควรทำการเฝ้าระวังติดตามและจะนำไปศึกษาวิจัยเพิ่มเติมต่อไป

เนื่องจากยา vancomycin ยังคงใช้เป็นยามาตรฐานในการรักษาการติดเชื้อ MRSA แต่พบผู้ป่วยไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาดังกล่าวแม้ว่าจะมีค่า MIC ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ จึงมีการศึกษาฤทธิ์ของยาชนิดอื่นๆ ได้แก่ daptomycin ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม cyclic lipopeptide โดยออกฤทธิ์ที่เยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งผลจากการศึกษาวิจัยครั้งนี้โดยถือว่าเป็นผลงานวิจัยแรกในคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาลที่ทำการทดสอบความไวของเชื้อ MRSA ต่อยา daptomycin และยังคงพบว่า เชื้อ MRSA ทุกสายพันธุ์ยังคงไวต่อ daptomycin ($MIC \leq 1 \mu\text{g/ml}$) โดยพบเชื้อที่มีค่า MIC_{50} และ MIC_{90} เท่ากับ 0.5 และ 1 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ซึ่งผลจากการศึกษาวิจัยก่อนหน้าในประเทศไทย ได้ทำการทดสอบความไวของเชื้อ MRSA ต่อยา daptomycin ต่อเชื้อ MRSA ด้วยวิธี agar gradient diffusion¹⁹ พบว่า ค่า MIC_{50} และ MIC_{90} เท่ากับ 0.5 และ 0.75 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ โดยการศึกษาวิจัยของ Sancak และคณะ²⁰ ทำการทดสอบความไวต่อยา daptomycin ต่อเชื้อ MRSA 175 สายพันธุ์ ด้วยวิธี broth microdilution พบว่า MIC_{50} และ MIC_{90} เท่ากับ 0.5 และ 1 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบความไวต่อยา daptomycin ครั้งนี้ และเชื้อไวต่อยาร้อยละ 100

Linezolid เป็นยาที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งสำหรับการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก โดยยามีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างโปรตีน โดยการเข้าจับกับตำแหน่งจำเพาะของ 50S ไรโบโซม (ป้องกันการสร้าง 70S ไรโบโซม) ดังนั้นโอกาสเกิดการดื้อยาจึงค่อนข้างยาก แต่ก็สามารถเกิดขึ้นได้หากเชื้อมีการพัฒนาเปลี่ยนแปลงลำดับสายพันธุกรรมในตำแหน่งของไรโบโซมหรือเรียกว่าเกิด point mutations จึงทำให้อาจพบการดื้อต่อยา linezolid ได้^{8,21} ซึ่งผลการวิจัยในครั้งนี้นี้ยังไม่พบเชื้อ MRSA ที่แยกได้จากผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาที่คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล ที่ดื้อต่อยา linezolid โดยเชื้อยังมีค่า MIC_{50} และ MIC_{90} เท่ากับ 1 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งยังไม่พบรายงานวิจัยอื่นในประเทศไทยที่ทำการทดสอบหาค่า MIC ของยา linezolid ต่อเชื้อ MRSA แต่มีรายงานผลความไวต่อยา linezolid ด้วยวิธี disk diffusion จากงานวิจัยของ Kitti และคณะ พบว่าเชื้อ MRSA ยังคงไวต่อยา linezolid เช่นเดียวกัน²²

จากผลการวิจัยครั้งนี้ทำให้ทราบข้อมูลแบบแผนการดื้อสารต้านจุลชีพของเชื้อ MRSA ในกลุ่มผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษา ณ โรงพยาบาล ณ ช่วงเวลาดังกล่าวและสามารถนำไปเปรียบเทียบแนวโน้มของการดื้อยาในอนาคตได้ รวมถึงทราบผลความไวของยา daptomycin และ linezolid ต่อเชื้อ MRSA ในคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล เป็นครั้งแรก

■ สรุปผล

เชื้อ MRSA ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจของคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล ยังคงไวต่อยาทั้ง 3 ชนิด คือ vancomycin, daptomycin และ linezolid ในหลอดทดลอง บ่งชี้ว่า vancomycin, daptomycin และ linezolid มีประสิทธิภาพที่ดีต่อการยับยั้งเชื้อ MRSA ในโรงพยาบาลแห่งนี้ จึงอาจจะเป็นทางเลือกหนึ่งของแพทย์ในการเลือกยาที่เหมาะสมเพื่อป้องกันการรักษาที่ไม่ได้ผล และมีประโยชน์สูงสุดต่อผู้ป่วย อย่างไรก็ตาม ผลการวิจัยครั้งนี้ไม่สามารถแยกแยะเชื้อกลุ่ม hVISA ได้ ซึ่งจะได้ทำการทดสอบเพิ่มเติมต่อไป

■ กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้ได้รับการรับรองโครงร่างงานวิจัยจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมวิจัย คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล: COA 16/2556 โดยได้รับการสนับสนุนจากทุนส่งเสริมวิจัยทางการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช

1. Tang SS, Apisarnthanarak A, Hsu LY. Mechanisms of beta-lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community- and healthcare-associated multidrug-resistant bacteria. *Adv Drug Deliv Rev* 2014;78:3-13.
2. Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H, et al. Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. *Lancet* 1997;350(9092):1670-3.
3. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother* 1997;40(1):135-6.
4. Phongsamart W, Srifeungfung S, Tiensasitorn C, et al. The first pediatric case of *Staphylococcus aureus* with heterogenous resistant to vancomycin endocarditis in Thailand. *J Med Assoc Thai* 2005;88 (Suppl 8):S264-8.
5. Lulitanond A, Engchanil C, Chaimanee P, et al. The first vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients in Thailand. *J Clin Microbiol* 2009;47(7):2311-6.
6. Panomket P, Thirat S, Wanram S, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin in Sanprasitthiprasong Hospital. *J Med Assoc Thai* 2014;97 (Suppl 4): S7-11.
7. Linasmita P. Successful management of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia unresponsive to Vancomycin by adding fosfomycin: a case report. *J Med Assoc Thai* 2012;95(7): 960-3.
8. Moellering RC. Linezolid: the first oxazolidinone antimicrobial. *Ann Intern Med* 2003;138(2):135-42.
9. Holmes NE, Howden BP. What's new in the treatment of serious MRSA infection? *Curr Opin Infect Dis* 2014;27(6):471-8.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100-S23. CLSI, Wayne, PA: 2013.
11. Traub WH, Spohr M. Fosfomycin: interpretation of inhibition zones obtained with Bauer-Kirby agar disk diffusion susceptibility test. *Chemotherapy* 1983;29:208-12.
12. Comtie de L'Antibiogramme de la Socit Francaise de Microbiologie Communique: *Path Biol* 1996;44:1-5.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically-Ninth Edition: Approved Standard M07-A9. CLSI, Wayne, PA: 2012.
14. Stefani S, Chung DR, Lindsay JA, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): global epidemiology and harmonisation of typing methods. *Int J Antimicrob Agents* 2012;39(4):273-82.
15. Sievert DM, Rudrik JT, Patel JB, et al. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in the United States, 2002-2006. *Clin Infect Dis* 2008;46(5):668-74.

16. Albrecht VS, Zervos MJ, Kaye KS, et al. Prevalence of and risk factors for vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* precursor organisms in Southeastern Michigan. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2014;35(12):1531-4.
17. Friaes A, Resina C, Manuel V, et al. Epidemiological survey of the first case of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in Europe. *Epidemiol Infect* 2015;143(4):745-8.
18. Trakulsomboon S, Danchaivijitr S, Rongrungruang Y, et al. First report of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin in Thailand. *J Clin Microbiol* 2001;39(2):591-5.
19. Trakulsomboon S, Thamlikitkul V. In vitro activity of daptomycin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin-hetero-resistant MRSA (hVISA) isolated from patients at Siriraj Hospital. *J Infect Dis Antimicrob Agents* 2008;25(2):57-61.
20. Sancak B, Yagci S, Gur D, et al. Vancomycin and daptomycin minimum inhibitory concentration distribution and occurrence of heteroresistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* blood isolates in Turkey. *BMC Infect Dis* 2013;13:583.
21. Meka VG, Gold HS. Antimicrobial resistance to linezolid. *Clin Infect Dis* 2004;39(7):1010-5.
22. Kittit T, Boonyonying K, Sitthisak S. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among university students in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2011;42(6): 1498-504.

การทดสอบความไวสารต้านจุลชีพ vancomycin, daptomycin และ linezolid ของเชื้อ methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

ธันวา วงษ์สุก¹ ธารณี นุตาลัย²

¹ ภาควิชาพยาธิวิทยาคลินิก คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช

² ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช

บทคัดย่อ

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) เป็นสาเหตุสำคัญของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลรวมถึงเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในชุมชน เชื้อสามารถส่งต่อยีนดื้อยาจากสายพันธุ์หนึ่งสู่อีกสายพันธุ์หนึ่งได้และสามารถแพร่กระจายเชื้อดื้อยาได้อย่างรวดเร็ว การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความไวและค่าความเข้มข้นของยา vancomycin, daptomycin และ linezolid น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) ต่อเชื้อ MRSA จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยภายในและผู้ป่วยนอกชนิดต่างๆ และศึกษาแบบแผนความไวต่อสารต้านจุลชีพ โดยเชื้อ MRSA 330 สายพันธุ์ (ผู้ป่วยในจำนวน 295 สายพันธุ์และผู้ป่วยนอก จำนวน 35 สายพันธุ์) ที่ส่งมายังห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล ตั้งแต่เดือน เมษายน 2556 ถึงเดือน มีนาคม 2557 ทดสอบความไวของเชื้อ MRSA ต่อยา vancomycin และ linezolid ด้วยวิธี agar dilution technique และ daptomycin ด้วยวิธี agar gradient diffusion technique เพื่อหาค่า MIC พบว่า เชื้อ MRSA ร้อยละ 100, 99.09, 94.24 ไวต่อยา teicoplanin, fusidic acid และ trimethoprim-sulfamethoxazole ตามลำดับ ประมาณร้อยละ 66.06 ยังคงไวต่อยา fosfomycin และร้อยละ 25.76 ไวต่อยา gentamicin ตามลำดับ โดยตัวอย่างเชื้อ MRSA ทั้งหมดไวต่อยา vancomycin, daptomycin และ linezolid ร้อยละ 100 บ่งชี้ว่ายาดังกล่าวมีประสิทธิภาพที่ดีต่อการยับยั้งเชื้อ MRSA ในหลอดทดลอง โดยผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการนี้สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางประกอบการพิจารณาเลือกใช้ยาเพื่อรักษาผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ MRSA

คำสำคัญ: การทดสอบความไวสารต้านจุลชีพ ความเข้มข้นของยาน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ แบบแผนความไวต่อสารต้านจุลชีพ

ผู้พิมพ์หลัก:

ธันวา วงษ์สุก

ภาควิชาพยาธิวิทยาคลินิก คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช

681 ถนนสามเสน เขตดุสิต กรุงเทพฯ 10300

อีเมล: thanww@gmail.com