การศึกษาถึงความแม่นยำของชุดทดสอบบีดีแมกซ์ซีอาร์อีในการทดสอบเชื้อกลุ่มเคล็บเซียลลานิวโมเนียที่มีการสร้างเอนไซม์คาร์บาพีนาเมสจากเสมหะของผู้ป่วยในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

นายพฤฒิพงศ์ หนูเพชร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2560
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EVALUATION OF THE BD MAX™ CRE ASSAY FOR RAPID DETECTION OF CARBAPENEMASE GENES FROM RESPIRTORY SECRETIONS OF PATIENTS INFECTED WITH *Klebsiella pneumoniae* IN KING CHULALONGKORN MEMORIAL HOSPITAL (KCMH)

Mr. Preudtipong Noopetch

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Medicine
Department of Medicine
Faculty of Medicine
Chulalongkorn University
Academic Year 2017

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาถึงความแม่นยำของชุดทดสอบบีดีแมกซ์ซีอาร์อีในการทดสอบเชื้อกลุ่มเคล็บเซียลลานิวโมเนียที่มีการสร้างเอนไซม์คาร์บาพีนาเมสจากเสมหะของผู้ป่วยในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
โดย	นายพฤฒิพงศ์ หนูเพชร
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	อาจารย์ นายแพทย์รองพงศ์ โพล้งละ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์ กำพล สุวรรณพิมลกุล อาจารย์ ดร.ธนิษฐา ฉัตรสุวรรณ

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ สุทธิพงศ์ วัชรสินธุ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์ปิยะวัฒน์ โกมลมิศร์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์ นายแพทย์รองพงศ์ โพล้งละ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์ กำพล สุวรรณพิมลกุล)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์ ดร.ธนิษฐา ฉัตรสุวรรณ)

.....กรรมการ

(อาจารย์ แพทย์หญิง วรวรรณ ศิริชนะ)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(อาจารย์ แพทย์หญิง นิรดา ศิริยากร)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

พฤฒิพงศ์ หนูเพชร : การศึกษาถึงความแม่นยำของชุดทดสอบบีดีแมกซ์ซีอาร์อีในการทดสอบเชื้อกลุ่มเคล็บเซียลลานิวโมเนียที่มีการสร้างเอนไซม์คาร์บาพีนาเมสจากเสมหะของผู้ป่วยในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ (EVALUATION OF THE BD MAX™ CRE ASSAY FOR RAPID DETECTION OF CARBAPENEMASE GENES FROM RESPIRTORY SECRETIONS OF PATIENTS INFECTED WITH *Klebsiella pneumoniae* IN KING CHULALONGKORN MEMORIAL HOSPITAL (KCMH)) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อ. นพ.รองพงศ์ โพล้งละ, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ผศ. ดร. นพ. กำพล สุวรรณพิมลกุล, อ. ดร.ธนิษฐา ฉัตรสุวรรณ, หน้า.

ที่มา: ปัจจุบันปัญหาเชื้อแบคทีเรียแกรมลบดื้อยานับเป็นปัญหาสำคัญ ซึ่งกลไกการดื้อยาส่วนใหญ่คือการสร้างเอนไซม์คาร์บาพีนาเมสเพื่อทำลายยาปฏิชีวนะ ชุดทดสอบบีดีแมกซ์ซีอาร์อีใช้ในการตรวจหายีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ดังกล่าวที่ให้ผลรวดเร็ว แต่ปัจจุบันยังไม่มีงานวิจัยที่ศึกษาการใช้ชุดทดสอบนี้กับเสมหะของผู้ป่วย

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาประสทธิภาพของชุดทดสอบบีดีแมกซ์ซีอาร์อีในการตรวจหายีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์คาร์บาพีนาเมสจากเสมหะของผู้ป่วย

วิธีการศึกษา: ทำการศึกษาจากเสมหะ 169 ตัวอย่าง ของผู้ป่วยที่มีเชื้อเคล็บเซียลลานิวโมเนีย ทำการทดสอบด้วยชุดทดสอบบีดีแมกซ์ซีอาร์อีเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับการเพาะเชื้อ และทำพีซีอาร์จากโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย

ผลการศึกษา: พบว่าความไวของชุดทดสอบบีดีแมกซ์ซีอาร์อีมีความไวร้อยละ 66.7 ความจำเพาะร้อยละ 94.0 และความถูกต้องร้อยละ 91.1 ยีนที่พบได้บ่อยที่สุดคือ $bla_{\text{OXA-48}}$ ร่วมกันกับ $bla_{\text{NDM-1}}$ ร้อยละ 33.3 ปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญคือ ได้รับการผ่าตัด และประวัติได้รับยาปฏิชีวนะมาก่อน

สรุปผล: ชุดทดสอบบีดีแมกซ์ซีอาร์อีมีความถูกต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ในการตรวจหายีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์คาร์บาพีนาเมสจากเสมหะของผู้ป่วยที่มีเชื้อเคล็บเซียลล่านิวโมเนีย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาควิชา อายุรศาสตร์ ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา อายุรศาสตร์ ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

ปีการศึกษา 2560 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....

5974080630 : MAJOR MEDICINE
KEYWORDS: CARBAPENEMASE PRODUCING KLEBSIELLA PNEUMONIAE / THE BD MAX CRE / RESIPIRATORY SPECIMEN

PREUDTIPONG NOOPETCH: EVALUATION OF THE BD MAX™ CRE ASSAY FOR RAPID DETECTION OF CARBAPENEMASE GENES FROM RESPIRTORY SECRETIONS OF PATIENTS INFECTED WITH *Klebsiella pneumoniae* IN KING CHULALONGKORN MEMORIAL HOSPITAL (KCMH). ADVISOR: RONGPONG PLONGLA, M.D., M.Sc., D(ABMM), CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. GOMPOL SUWANPIMOLKUL, M.D., M.Sc., TANITTHA CHATSUWAN, Ph.D., pp.

Background: There is a need for rapid detection of carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* (CPK) for infection control and patient management. The BD MAX™ CRE test is the fully automated platform for detection of resistance genes within 2 h. It has not been validated for respiratory secretion.

Objective: To evaluate the performance of the BD Max™ CRE assay for detection of carbapenemases genes directly from respiratory secretion.

Materials and Methods: 169 respiratory secretions, which *Klebsiella pneumoniae* were isolated from aerobic cultures, were obtained. The BD MAX™ CRE tests were performed to detect carbapenemase genes in respiratory specimens. Laboratory-developed polymerase chain reaction (LDT-PCR) for detection of carbapenemases genes from isolated colony was used as a reference method.

Results: When compared with culture followed by LDT-PCR, The BD MAX™ CRE test had 91.12% accuracy, 66.7% sensitivity, and 94.0% specificity.

Conclusion: The automated PCR test has an acceptable accuracy with fair sensitivity for the detection of carbapenemase genes from respiratory secretions of patients infected with *Klebsiella pneymoniae*.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Department:	Medicine	Student's Signature	.....
Field of Study:	Medicine	Advisor's Signature	.....
Academic Year:	2017	Co-Advisor's Signature	.....
		Co-Advisor's Signature	.....

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้องทำให้งานวิจัยชิ้นนี้สามารถสำเร็จลุล่วง

สาขาวิชาโรคติดเชื้อ ภาควิชาอายุรศาสตร์คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อาจารย์ นายแพทย์ รองพงศ์ โพล้งละ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ กำพล สุวรรณพิมลกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อาจารย์ ดอกเตอร์ ธนิษฐา ฉัตรสุวรรณ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม และ น.ส. อุบลรัตน์ ริเริ่ม ช่วยเหลือในการเก็บสิ่งส่งตรวจในงานวิจัยชิ้นนี้

งานวิจัยชิ้นนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากทุนรัชดาภิเษกสมโภช ปี 2560 คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย รหัสทุน RA/60/069

และขอขอบพระคุณ คุณ ชุติภา พวงไพโรจน์ clinical specialist บริษัท Becton Dickinson ประเทศไทย ให้คำปรึกษาและดำเนินการจัดหาชุดวิจัย

สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณบิดา มารดา น้องชาย และเพื่อนและรุ่นน้องแพทย์ประจำบ้านต่อยอดโรคติดเชื้อที่คอยช่วยเหลือและให้กำลังใจเสมอมาตลอดระยะเวลาทำงานวิจัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ
กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ
สารบัญ ..... ช
สารบัญตาราง ..... ญ
สารบัญรูปภาพ ..... ฐ
สารบัญแผนภูมิ ..... ฑ
คำอธิบายสัญลักษณ์ และคำย่อ ..... ฒ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย 1
1.2 คำถามของการวิจัย 2
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3
1.4 สมมติฐานของการวิจัย 3
1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย 4
1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น 4
1.7 คำนิยามเชิงปฏิบัติการที่ใช้ในการวิจัย 5
1.8 รูปแบบการวิจัย 8
1.9 ปัญหาทางจริยธรรม 8
1.10 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย 9
1.11 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการแก้ไข 9
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 11
การแบ่งกลุ่มเอนไซม์ carbapenemase 11

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

วิธีการทดสอบการสร้างเอนไซม์ carbapenemase 11
ระบาดวิทยาของเชื้อที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ carbapenemase 15
หลักการและประโยชน์ของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE 18
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 25
3.1 รูปแบบการวิจัย 25
3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย 25
3.3 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย 28
3.4 การรวบรวมข้อมูล 29
3.5 ข้อจำกัดงานวิจัย 30
3.6 การเปิดเผยข้อมูลแสดงตัวตนของผู้ป่วย 31
3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล 31
บทที่ 4 ผลการวิจัย 32
4.1 ประชากรที่นำมาศึกษา 32
4.2 ลักษณะของผู้ป่วยที่มีสิ่งส่งตรวจทางระบบทางเดินหายใจพบเชื้อ *K. pneumoniae* 32
4.3 เปรียบเทียบลักษณะของประชากรระหว่างกลุ่มที่มีเสมหะพบเชื้อ CPK และ กลุ่มที่ไม่พบเชื้อ CPK (non-CPK) 33
4.4 เปรียบเทียบลักษณะของประชากรระหว่างกลุ่มที่มีเสมหะพบเชื้อที่ดื้อยากลุ่ม carbapenem (carbapenem-resistant organisms (CROs)) และกลุ่มที่มีเสมหะพบเชื้อไม่ดื้อยากลุ่ม carbapenem (non carbapenem-resistant organism (non-CROs)) 35
4.5 ประสิทธิภาพของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ในการตรวจหายีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ที่สร้างจากเชื้อ *K. pneumoniae* โดยตรงจากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจ 36

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

4.6 ประสิทธิภาพของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ในการตรวจหายีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ที่สร้างจากเชื้อ *K. pneumoniae* โดยตรงจากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจ โดยเลือกเฉพาะเสมหะเพาะขึ้นเชื้อ *K. pneumoniae* เท่านั้น 38

บทที่ 5 อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ 58

5.1 อภิปรายผล 58

5.2 ข้อดีในงานวิจัยชิ้นนี้ 61

5.3 ข้อจำกัดในงานวิจัยชิ้นนี้ 61

5.4 ข้อเสนอแนะ 62

5.5 ข้อสรุป 63

รายการอ้างอิง 64

ภาคผนวก 69

ภาคผนวก ก 70

ภาคผนวก ข 71

ภาคผนวก ค 73

ภาคผนวก ง 76

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 78

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 ลักษณะของเอนไซม์ carbapenemmase ชนิดต่าง ๆ ตาม molecular (Ambler) classification (34)..... 19

ตารางที่ 2 คุณสมบัติ และข้อดีข้อเสียของการวินิจฉัย CPE ในแต่ละวิธี (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข(37)) 20

ตารางที่ 3 การแปลผล Carba NP test 20

ตารางที่ 4 การแปลผล inhibition zone สำหรับ modified carbapenem inactivation method 21

ตารางที่ 5 ลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วย 169 รายที่เพาะเชื้อจากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจพบเชื้อ K. pneumoniae 41

ตารางที่ 6 ลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วย 18 รายที่เพาะเชื้อจากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจพบเชื้อ carbapenemase-producing K. pneumoniae (CPK)..... 43

ตารางที่ 7 ผลความความไวของยาปฏิชีวนะของเชื้อ CPK ทั้ง 18 ตัวอย่าง ที่ตรวจด้วยวิธี LDT-PCR..... 45

ตารางที่ 8 ประสิทธิภาพของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ในการตรวจหายีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase โดยตรงจากสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจ เมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจมาตรฐานด้วยวิธี laboratory-developed PCR method (LDT-PCR) จากโคโลนีของเชื้อ Klebsiella pneumoniae ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจ 45

ตารางที่ 9 ลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วย 32 ราย ที่มีผลเพาะเชื้อพบเชื้อดื้อยา carbapenem (carbapenemase resistance organisms (CRO)) ด้วยวิธีการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะโดยวิธีมาตรฐาน (conventional AST))..... 46

ตารางที่ 10 การวินิจฉัยของผู้ป่วย 32 รายที่มีการเพาะเชื้อจากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจพบเชื้อ CPK และ CRO (ไม่รวม CPK) โดยใช้วิธีทดสอบความไวต่อยาด้วยวิธี conventional AST 48

ตารางที่ 11 ผลการทดสอบด้วยชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ในการตรวจหายีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase โดยตรงจากสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจ เมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

มาตรฐานด้วยวิธี laboratory-developed PCR method (LDT-PCR) จากโคโลนีของเชื้อ Klebsiella pneumoniae ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจ 48

ตารางที่ 12 ลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วย 9 ราย ที่มีผลการทดสอบโดยชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ในการตรวจหายีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase โดยตรงจากสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจเป็นบวก ในขณะที่การตรวจมาตรฐานด้วยวิธี laboratory-developed PCR method (LDT-PCR) จากโคโลนีของเชื้อ Klebsiella pneumoniae ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจเป็นลบ (ผลบวกลวงของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE)) 49

ตารางที่ 13 ลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วย 6 ราย ที่มีผลการทดสอบโดยชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ในการตรวจหายีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase โดยตรงจากสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจเป็นลบ ในขณะที่การตรวจมาตรฐานด้วยวิธี laboratory-developed PCR method (LDT-PCR) จากโคโลนีของเชื้อ Klebsiella pneumoniae ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจเป็นบวก (ผลลบลวงของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE)) 51

ตารางที่ 14 ประสิทธิภาพของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ในการตรวจหายีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase โดยตรงจากสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจ เมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจหาเชื้อทุกชนิดที่ดื้อยา carbapenem ด้วยวิธี conventional AST จากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจ 53

ตารางที่ 15 ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจ 6 ตัวอย่าง ผลทดสอบกับชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ให้ผลเป็นลบ เทียบผลกับการทดสอบด้วย conventional AST และ LDT-PCR จากโคโลนีของเชื้อ K. pneumoniae จากสิ่งส่งตรวจ 53

ตารางที่ 16 ผลการทดสอบด้วยชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ในการตรวจหายีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase โดยตรงจากสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจ เมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจ conventional AST จากสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจ 54

ตารางที่ 17 ผลการทดสอบด้วยการทดสอบมาตรฐาน LDT-PCR ในการตรวจหายีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase เมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจ conventional AST จากโคโลนีของเชื้อ Klebsiella pneumoniae ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจ 54

ตารางที่ 18 ยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ที่ตรวจพบจาก CPK ด้วยวิธีการตรวจมาตรฐาน LDT-PCR 55

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 19 ลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วย 97 ราย ที่มีผลเพาะเชื้อจากสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจพบเชื้อ K. pnuemoniae เท่านั้น..... 55

ตารางที่ 20 ประสิทธิภาพของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ในการตรวจหายีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase โดยตรงจากสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจ เมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจมาตรฐานด้วยวิธี laboratory-developed PCR method (LDT-PCR) จากโคโลนีของเชื้อ K. pneumoniae ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจที่ไม่มีเชื้อชนิดอื่น 57

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 1 ผลการทำ Modified Hodge Test เพื่อการวินิจฉัย carbapenemase-producing Enterobacteriaceae..... 21

รูปที่ 2 ตัวอย่างผลการทดสอบ และการแปลผล Carba NP Test 22

รูปที่ 3 ขั้นตอนการทดสอบ modified Carbapenem Inactivation Method(38) 23

รูปที่ 4 แสดงอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดที่สามารถแยกเชื้อดื้อต่อยา กลุ่ม carbapenem ชื่อ ChromeID^{TM} Carba 23

รูปที่ 5 แสดงกลไกการทำงานของเครื่อง FilmArray® BCID ซึ่งจะแบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอนใหญ่.... 24

รูปที่ 6 แสดงตัวเครื่องของชุดทดสอบ BD MAX^{TM} CRE 70

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญแผนภูมิ

แผนภูมิที่ 1 แสดงกรอบแนวคิดในการวิจัย 4

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

คำอธิบายสัญลักษณ์ และคำย่อ

AST	antimicrobial susceptibility testing
ALT	alanine aminotransferase
BCID	blood culture identification panel
BD	Becton Dickinson
BL/BI	beta-lactam/beta-lactamase inhibitor
CAP	community acquired pneumonia
CKD	chronic kidney disease
CLSI	clinical and laboratory standards institute
CRE	carbapenem resistant *Enterobacteriaceae*
CRO	carbapenem resistant organism
CPE	carbapenemase producing *Enterobacteriaceae*
CPK	carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae*
DM	diabetes mellitus
ESBL	extended-spectrum beta-lactamase
GFR	glomerular filtration rate
HAP	hospital acquired pneumonia
HIV	human immunodeficiency virus
MHA	Muller-Hinton agar
MHT	modified hodge test

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

NARST	National antimicrobial resistance surveillance center
LDT-PCR	laboratory developed polymerase chain reaction
VAP	ventilator associated pneumonia

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย

Carbapenem เป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่ม beta -lactam ที่ออกฤทธิ์กว้างเมื่อเทียบกับยาปฏิชีวนะกลุ่มอื่น ๆ เป็นยาที่มีการใช้บ่อยและแพร่หลายในปัจจุบัน โดยเฉพาะกับการนำมาใช้รักษาการติดเชื้อแบคเทียเรียแกรมลบ เช่น *Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa และ Acinetobacter baumannii* เป็นต้น(1) การใช้ยาปฏิชีวนะที่เกินความจำเป็นทำให้เชื้อพัฒนาการดื้อยา carbapenem โดยเฉพาะจากการสร้างเอนไซม์ carbapenamase ขึ้นมา เชื้อที่สามารถสร้างเอนไซม์ carbapenemase นี้ไม่เพียงที่จะดื้อต่อยา carbapenem เท่านั้นยังจะทำให้ดื้อยา beta-lactams ตัวอื่น ๆ อีก เช่น cephalosporin หรือ penicillin(2)

ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1990-2000 มีรายงานเรื่องการดื้อยาของเชื้อ *Enterobacteriaceae* ที่สามารถสร้างเอนไซม์ในกลุ่ม extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) เพิ่มมากขึ้น การติดเชื้อ *Enterobacteriaceae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL นี้สามารถพบได้ในระดับชุมชน โดยปัจจัยเสี่ยงได้แก่ผู้ป่วยที่ได้ยารับยา quinolones หรือ cephalosporins มาก่อน เอนไซม์ ESBL นี้ทำให้แบคทีเรียดื้อต่อยา cephalosporin รุ่นที่ 3 เช่น ceftriaxone ที่ใช้โดยทั่วไป ทำให้มีความจำเป็นต้องนำยากลุ่ม carbapenem มาใช้รักษาในคนไข้มากขึ้น (3) Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) เริ่มเป็นปัญหาสำคัญในหลายภูมิภาคทั่วโลก การสำรวจในยุโรปมีรายงานการดื้อต่อยา meropenem ของเชื้อ *Klebsiella* species (*K. pneumoniae* ร้อยละ 68 และ *K. oxytoca* ร้อยละ 31) เพิ่มขึ้นจาก ร้อยละ 0.4 ในปี ค.ศ. 2002 เป็น ร้อยละ 2.4 ในปี ค.ศ. 2006 (4) ในประเทศไทยรายงานจากศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ (National Antimicrobial Resistance Surveillance Center, Thailand: NARST) เชื้อ *Klebsiella pneumoniae* จะมีอัตราการดื้อยา carbapenem ร้อยละ 0.3 ในปี ค.ศ. 2010 เพิ่มมาเป็น ร้อยละ 4.9 ในปี ค.ศ. 2015(5)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

การตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ทำได้โดยการตรวจหายีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์นี้โดยวิธีทางชีวโมเลกุล ซึ่งใช้เวลาในการตรวจประมาณ 24 – 48 ชั่วโมง (6) ปัจจุบันได้มีการพัฒนาชุดการทดสอบใหม่ ๆ เพื่อทำการตรวจหาการสร้างเอนไซม์ได้เร็วมากยิ่งขึ้น ซึ่งหนึ่งในวิธีการตรวจที่มีในปัจจุบัน คือ ชุดทดสอบ BD MAX™ CRE เพื่อตรวจหายีน bla_{KPC}, bla_{NDM}, bla_{OXA-48} ซึ่งเป็นยีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ที่กล่าวมาแล้ว (7) การศึกษาที่ผ่านมาเป็นการตรวจโดยใช้ชุดทดสอบ BD MAX™ CRE จากอุจจาระด้วยวิธีการ rectal swab เพื่อตรวจหาผู้ป่วยมีการ colonization ของเชื้อที่สามารถสร้าง CRE ได้หรือไม่ การศึกษานี้จะเป็นการใช้ชุดทดสอบนี้ในสิ่งส่งตรวจชนิดอื่น คือสิ่งส่งตรวจจากระบบทางเดินหายใจ ได้แก่ เสมหะ หรือ tracheal aspirates เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของชุดทดสอบเทียบกับการตรวจด้วยวิธีมาตรฐาน ในการตรวจหาเชื้อที่สามารถสร้างเอนไซม์ carbapenemase ได้อย่างรวดเร็วยิ่งขึ้น ซึ่งเป็นก้าวแรกสู่การวิจัยขั้นต่อ ๆ ไป

1.2 คำถามของการวิจัย

<u>คำถามหลัก</u> (Primary research question)

ประสิทธิภาพของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE สามารถใช้ตรวจหายีนดื้อยา bla$_{KPC}$, bla_{NDM} และ bla_{OXA-48} ที่สร้างจากเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ในเสมหะ หรือ tracheal aspirates ของผู้ป่วยโดยตรง เมื่อเทียบกับการตรวจด้วยการเพาะเชื้อและวิธี LDT-PCR ความไว, ความจำเพาะ, ค่าทำนายผลบวกและค่าทำนายผลลบ และ ความแม่นยำเป็นอย่างไร

<u>คำถามรอง</u> (secondary research question)

1. ความชุกของเชื้อ carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* ที่เพาะได้จากเสมหะ หรือ tracheal aspirate ของผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์เป็นอย่างไร

2. ปัจจัยของผู้ป่วยที่มีผลเพาะเชื้อจากเสมหะ หรือ tracheal aspirates เป็นเชื้อ carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* เทียบกับ ผู้ป่วยที่มีผลเพาะเชื้อจากเสมหะ หรือ tracheal aspirate เป็นเชื้อ non-carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* ในด้านของอายุ, เพศ, หอผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาตัว, จำนวนวันที่เข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลก่อนเพาะเชื้อ, โรคร่วมอื่น ๆ, จำนวนวันที่ได้รับ และชนิดของยาปฏิชีวนะที่ได้รับก่อนการเพาะเชื้อ, วินิจฉัยจากแพทย์ที่รักษาขณะเก็บเสมหะ หรือ tracheal aspirate เพื่อทำการเพาะเชื้อ มีความแตกต่างกันหรือไม่

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3. ปัจจัยของเสมหะ หรือ tracheal aspirates ที่มีผลเชื้อ เป็นเชื้อ carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* เทียบกับ ผู้ป่วยที่มีผลเพาะเชื้อจากเสมหะ หรือ tracheal aspirates เป็นเชื้อ non-carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* ในด้านคุณภาพของเสมหะ หรือ tracheal aspirate, วิธีเก็บ, ปริมาณของเชื้อที่เพาะ และ เชื้อที่พบร่วมจากการเพาะเชื้อมีความแตกต่างกันหรือไม่

4. อัตราการตายของผู้ป่วยที่มีผลเพาะเชื้อจากเสมหะ หรือ tracheal aspirate เป็นเชื้อ carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* เทียบกับ ผู้ป่วยที่มีผลเพาะเชื้อจากเสมหะ หรือ tracheal aspirate เป็นเชื้อ non-carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* แตกต่างกันหรือไม่

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อประเมินประสิทธิภาพชุดทดสอบ BD MAX™ CRE สามารถใช้ตรวจหายีนดื้อยา bla_{KPC}, bla_{NDM} และ bla_{OXA-48} ที่สร้างจากเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ในเสมหะ หรือ tracheal aspirate ผู้ป่วยโดยตรง เมื่อเทียบกับการเพาะเชื้อและตรวจด้วย LDT-PCR

2. เพื่อวิเคราะห์หาปัจจัยของผู้ป่วยที่มีผลเพาะเชื้อจากเสมหะ หรือ tracheal aspirate เป็นเชื้อ carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* เทียบกับ ผู้ป่วยที่มีผลเพาะเชื้อจากเสมหะ หรือ tracheal aspirate เป็นเชื้อ non-carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* ในด้านของอายุ, เพศ, หอผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาตัว, จำนวนวันที่เข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลก่อนเพาะเชื้อ, โรคร่วมอื่น ๆ, จำนวนวันที่ได้รับ และชนิดของยาปฏิชีวนะที่ได้รับก่อนการเพาะเชื้อ, วินิจฉัยจากแพทย์ที่รักษาขณะเก็บเสมหะ หรือ tracheal aspirate เพื่อทำการเพาะเชื้อ ว่าปัจจัยเหล่านี้เป็นปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้มีผลเพาะเชื้อเป็นเชื้อดื้อยาหรือไม่

3. เพื่อวิเคราะห์หาปัจจัยของเสมหะ หรือ tracheal aspirate ที่มีผลเพาะเชื้อ เป็นเชื้อ carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* เทียบกับ ผู้ป่วยที่มีผลเพาะเชื้อจาก เป็นเชื้อ non Carbapenem producing *Klebsiella pneumoniae* ในด้านคุณภาพของเสมหะ หรือ tracheal aspirate, วิธีเก็บ, ปริมาณของเชื้อที่เพาะ และ เชื้อที่พบร่วมจากการเพาะเชื้อ ว่าปัจจัยเหล่านี้เป็นปัจจัยเสี่ยงทำให้มีผลเพาะเชื้อเป็นเชื้อดื้อยาหรือไม่

4. เพื่อหาผลกระทบของผู้ป่วยที่มีผลเพาะเชื้อเสมหะ หรือ tracheal aspirate เป็นเชื้อ carbapenemase- producing *Klebsiella pneumoniae* ว่ามีผลต่ออัตราการตายของผู้ป่วยหรือไม่

1.4 สมมติฐานของการวิจัย

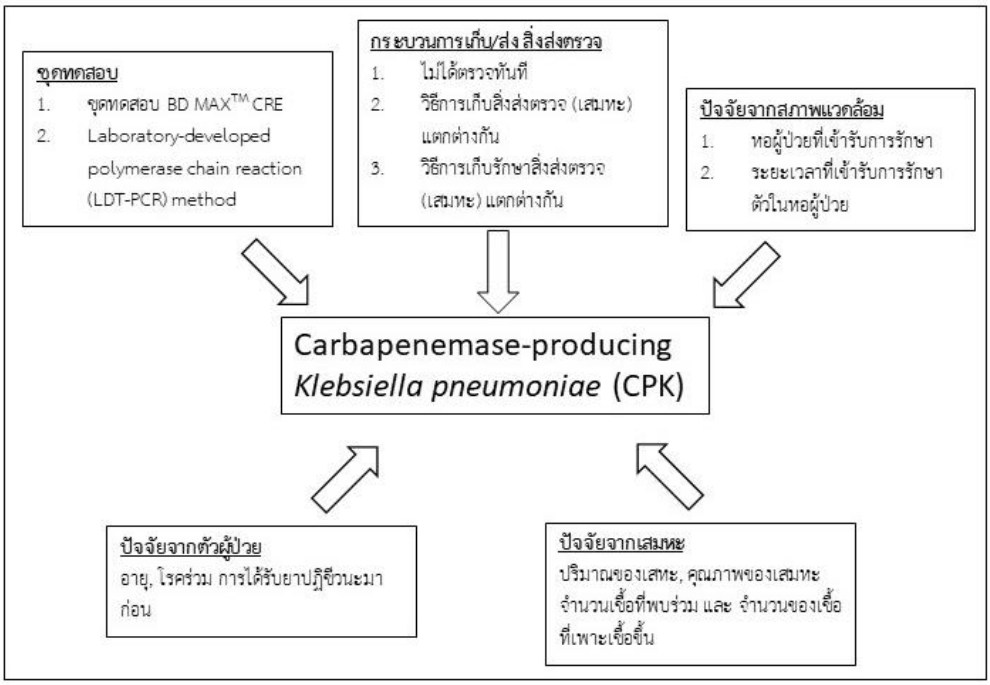
การใช้ชุดทดสอบ BD MAX™ CRE สามารถใช้ตรวจหายีน bla_{KPC}, bla_{NDM} และ bla_{OXA-48} จากเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ในเสมหะ หรือ tracheal aspirate โดยตรง มีความถูกต้อง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

แม่นยำไม่แตกต่างกับการใช้วิธีการตรวจมาตรฐานด้วยการเพาะเชื้อและตรวจด้วยวิธี LDT-PCR จากโคโลนีของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae*

1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย

แผนภูมิที่ 1 แสดงกรอบแนวคิดในการวิจัย



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น

ในการศึกษานี้ carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRK) หมายถึง เชื้อแบคทีเรียแกรมลบชื่อ *Klebsiella pneumoniae* ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะกลุ่ม carbapenems อย่างน้อย 1 ชนิด ได้แก่ ertapenem, imipenem, meropenem หรือ doripenem ด้วยวิธี disc diffusion หรือการตรวจหาความเข้มข้นของยาในระดับต่ำสุด
ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเติบโตของเชื้อ (minimum inhibitory concentration, MIC) โดย automated in-vitro susceptibility หรือ Etest และรายงานผลอ้างอิงตาม CLSI 2017 เชื้อนี้ได้จากการเพาะเชื้อจากเสมหะ หรือ tracheal aspirate ของผู้ป่วยในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ หากผู้ป่วยหนึ่งรายมีผลเพาะเชื้อจากเสมหะ หรือ tracheal aspirate เป็นเชื้อชนิดนี้สองครั้งขึ้นไปจะเลือกมาทำการทดสอบเพียงแค่ครั้งแรกครั้งเดียวเท่านั้น

และในการศึกษานี้ carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* (CPK) หมายถึง เชื้อแบคทีเรียแกรมลบชื่อ *Klebsiella pneumoniae* ที่ทำการตรวจด้วย LDT-PCR แล้วพบว่ามีการสร้างยีน bla_{KPC}, bla_{NDM} และ bla_{OXA-48} ซึ่งเป็นยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ซึ่งทำให้เชื้อมีการดื้อยาในกลุ่ม carbapenem ในขณะที่ non-carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* (non-CPK) หมายถึง เชื้อแบคทีเรียแกรมลบชื่อ *Klebsiella pneumoniae* ที่ทำการตรวจด้วย LDT-PCR แล้วไม่พบว่ามีการสร้างยีน bla_{KPC}, bla_{NDM} และ bla_{OXA-48}

อัตราการเสียชีวิตจากการติดเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ในการศึกษานี้กำหนดให้เป็นการเสียชีวิตจากทุกสาเหตุที่เกิดขึ้นภายใน 14 วัน(8) หลังการเพาะเชื้อพบเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ในเสมหะ หรือ tracheal aspirate ของผู้ป่วย

ในการคำนวณทางสถิติ โอกาสความน่าจะเป็นที่ผู้วิจัยจะสรุปผิดเท่ากับร้อยละ 10 เมื่อสรุปว่า การใช้ชุดทดสอบ BD MAX^{TM} CRE สามารถใช้ตรวจหายีน bla_{KPC}, bla_{NDM} และ bla_{OXA-48} ที่จากเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ในโดยตรง มีความถูกต้องแม่นยำไม่แตกต่างกับการใช้วิธีการตรวจมาตรฐานด้วยวิธี LDT-PCR จากโคโลนีของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ทั้งที่ความจริงนั้นแตกต่าง

โอกาสความน่าจะเป็นที่จะสรุปได้ตรงความเป็นจริงเท่ากับร้อยละ 90 เมื่อสรุปว่า การใช้ชุดทดสอบ BD MAX^{TM} CRE สามารถใช้ตรวจหายีน bla$_{KPC}$, bla_{NDM} และ bla_{OXA-48} ที่สร้างจากเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ในเสมหะ หรือ tracheal aspirate โดยตรง มีความถูกต้องแม่นยำเหมือนกับการใช้วิธีการตรวจมาตรฐานด้วยวิธี LDT-PCR จากโคโลนีของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ที่ได้จากการเพาะเชื้อ และความเป็นจริงนั้นผลจากการทดสอบทั้งสองวิธีไม่แตกต่างกัน ซึ่งถือดว่าผลสรุป ของวานวิจัยนั้นมีความน่าเชื่อถือ และสามารถนำไปใช้เป็นสิ่งอ้างอิงหรือประยุกต์ไปใช้ในการรักษาผู้ป่วยต่อไป

1.7 คำนิยามเชิงปฏิบัติการที่ใช้ในการวิจัย

1. Carbapenem คือ กลุ่มของยาปฏิชีวนะที่มีโครงสร้างหลักเป็น beta-lactam ring เป็นยาที่มีขอบเขตการออกฤทธิ์กว้าง ในประเทศไทยมีอยู่ 5 ชนิด ได้แก่ imipenem, meropenem, ertapenem, biapenem และ doripenem
2. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) คือ เชื้อแบคทีเรียแกรมลบกลุ่ม *Enterobacteriaceae* ที่ดื้อต่อยา carbapenems โดยไม่จำกัดกลไก

3. Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (CPE) คือ เชื้อแบคทีเรียแกรมลบกลุ่ม *Enterobacteriaceae* ที่ดื้อต่อยา carbapenems โดยกลไกการสร้างเอนไซม์ carbapenemase มาย่อยสลายยากลุ่ม carbapenems

4. BD MAX™ CRE คือ ชุดการทดสอบด้วยวิธี PCR เพื่อหายีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ซึ่งสามารถตรวจได้ 3 ชนิด คือ bla_{NDM}, bla_{KPC} และ bla_{OXA-48} โดยขั้นตอนการตรวจจะเป็นการทำด้วยเครื่องอัตโนมัติและใช้เวลาในการตรวจทั้งหมด หนึ่งชั่วโมงครึ่ง ถึง สองชั่วโมงโดยประมาณ

5. Laboratory-developed polymerase chain reaction (LDT-PCR) คือ การทดสอบหายีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจหายีนในการศึกษานี้ วิธีการที่ผู้วิจัยใช้สามารถตรวจได้ 5 ชนิด คือ $bla_{IMP-like}$, $bla_{VIM-like}$, $bla_{NDM-like}$, $bla_{OXA-48-like}$ และ $bla_{KPC-like}$

6. Diabetes mellitus คือ ผู้ป่วยที่เคยวินิจฉัย หรือ มีผลการตรวจดังต่อไปนี้

6.1 Fasting plasma glucose มากกว่าหรือเท่ากับ 126 mg/dL; Fasting คือ งดอาหารที่มีพลังงานเป็นเวลาอย่างน้อย 8 ชั่วโมง หรือ

6.2 2h-plasma glucose มากกว่าหรือเท่ากับ 200 mg/dL ระหว่างการทำ oral glucose tolerance test (กลืนน้ำตาลตามมาตรฐานขององค์การอนามัยโลกอย่างน้อย 75 g) หรือ

6.3 HbA1C ≥ 6.5% โดยที่ชุดทดสอบที่ผ่านมาตรฐานของ national glycohemoglobin standardization program หรือ diabetes control and complications trial หรือ

6.4 ผู้ป่วยที่มีอาการเข้าได้กับโรคเบาหวาน และ a random plasma glucose มากกว่าหรือเท่ากับ 200 mg/dL โดยผู้ป่วยตามเกณฑ์ ข้อ 6.1 – 6.3 ควรมีการอีกครั้งเพื่อยืนยัน (9)

7. Chronic kidney disease คือ ผู้ป่วยที่เคยวินิจฉัย หรือ มีผลการตรวจดังต่อไปนี้ ผู้ป่วยที่มีประวัติ หรือมี GFR น้อยกว่า 60 mL/min/1.73m^2; หรือ มีหลักฐาน kidney damage ไม่ว่าจะเป็นผลเลือด, ปัสสาวะ, ภาพรังสี หรือผลชิ้นเนื้อ ที่นานกว่า 3 เดือน (10)

8. Chronic liver disease คือ ผู้ป่วยที่เคยวินิจฉัย หรือมีผลการตรวจดังต่อไปนี้ ผู้ป่วยที่มีประวัติเคยได้รับการวินิจฉัย หรือมีค่าผล ALT ≥ 2 เท่าของค่าปกติ อย่างน้อย 2 ครั้งในช่วงระยะเวลา 3 เดือน; หรือ พบว่ามีพังผืดในตับปานกลางถึงมาก เทียบเท่ากับ fibrosis stage Metavir > 2; มีลักษณะทางคลินิกที่ชี้บ่งว่าตับแข็ง; หรือมี hepatic decompensation (11)

9. Cerebrovascular disease/neurological condition คือ ผู้ที่เคยได้รับการวินิจฉัย หรือมีอาการ หรือมีผลการตรวจเข้าได้กับกลุ่มของโรคดังต่อไปนี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

8.1 Cerebrovascular disease โรคหลอดเลือดสมอง มีประวัติที่มีอาการของสมองผิดปกติที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วโดยอาการนั้นสัมพันธ์กับตำแหน่งของเส้นเลือด และคงอยู่นานกว่า 24 ชั่วโมง(12)

8.2 โรคอื่น ๆ ที่อยู่ในกลุ่ม neurological condition เช่น parkinsonism, multiple sclerosis

10. Cardiovascular disease คือ ผู้ที่เคยได้รับการวินิจฉัย หรือมีอาการ หรือผลการตรวจเข้าได้กับกลุ่มของโรคดังต่อไปนี้(13)

9.1 Coronary heart disease โรคที่เกิดจากหลอดเลือดแดงเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจตีบตัน; หรือ มีผลคลื่นไฟฟ้าหัวใจที่แสดง symmetrical T-wave inversion ที่ลึกกว่า 0.2 มล.โวลต์ หรือ พบ pathologic Q wave; หรือ ผล coronary angiogram พบการตีบตันของเส้นเลือดมากกว่าร้อยละ 50 (14)

9.2 โรคอื่น ๆ ที่อยู่ในกลุ่ม cardiovascular disease เช่น peripheral arterial disease, heart failure, arrhythmia, cardiomyopathy และ valvular heart disease

9.3 ในการศึกษานี้ไม่รวม essential hypertension เป็น cardiovascular disease

11. Post-surgery/trauma คือ ผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ด้วยสาเหตุจากอุบัติเหตุ หรือ มีการทำการผ่าตัดในการเข้ารับรักษาตัวในโรงพยาบาลครั้งนั้น ๆ

12. Malignancy คือ ผู้ป่วยที่เคยได้รับการวินิจฉัย หรือ ได้รับการวินิจฉัยในการเข้ารับรักษาตัวในโรงพยาบาลครั้งนั้น ๆ ว่าเป็นมะเร็งทุกอวัยวะและทุกระยะโรค

13. Immunosuppressive drugs/HIV คือ ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษา หรือ วินิจฉัย ดังนี้

12.1 ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยาที่มีฤทธิ์กดภูมิคุ้มกัน โดยยาที่มีฤทธิ์กดภูมิคุ้มกันคือยาที่มีกลไกการออกฤทธิ์และชนิดตามที่รายงานไว้โดย Alexander C. Wiseman(15) เมื่อปี พ.ศ. 2558 หรือ

12.2 ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าติดเชื้อ human immunodeficiency virus ทุกระยะของโรค และ ทุกระดับของ CD_4

12.3 ในการศึกษานี้ไม่นับรวมผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วย corticosteroid ชนิดพ่นหรือ กิน เพื่อรักษาโรคถุงลมโป่งพอง และ หอบหืด เป็นผู้ป่วยในกลุ่มนี้

14. ผู้ป่วยที่ได้รับยาปฏิชีวนะมาก่อน คือ ผู้ป่วยที่มีประวัติได้รับ หรือ กำลังได้รับยาปฏิชีวนะในการเข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลครั้งนั้น ๆ โดยไม่นับรวมยาปฏิชีวนะที่ได้มาก่อนเข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาล หรือ ผู้ป่วยซื้อหรือหามาใช้เอง

15. Community-acquired pneumonia คือ ผู้ป่วยมีรอย หรือปื้นฝ้าขาวใหม่ในภาพรังสีปอด (new pulmonary infiltration) ร่วมกับมีอาการบ่งชี้ถึงการติดเชื้อทางเดินหายใจส่วนล่าง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

(ไข้, ไอ และ เหนื่อย) โดยอาการ และภาพรังสีปอดที่เปลี่ยนแปลงนี้เกิดไม่เกิน 2 สัปดาห์ และ ไม่รวมผู้ป่วยที่ออกจากโรงพยาบาลไม่เกิน 3 สัปดาห์ (16)

16. Hospital-acquired pneumonia คือ ผู้ป่วยที่มีอาการเข้าได้ หรือ ได้รับการวินิจฉัยปอดอักเสบหลังจากนอนโรงพยาบาลไปแล้วมากกว่า 48 ชั่วโมง (17)

17. Ventilator-associated pneumonia คือ ผู้ป่วยที่มีอาการเข้าได้ หรือ ได้รับการวินิจฉัยปอดอักเสบ หลังจากที่ใส่ท่อช่วยหายใจ (endotracheal intubation) แล้วมากกว่า 48 ชั่วโมง (17)

18. Colonization คือ ผู้ป่วยที่มีการแบ่งตัวของเชื้อมากขึ้น หรือ สามารถเพาะเชื้อได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยแต่ยังไม่เกิดภาวะติดเชื้อ หรือ อาการเข้าไม่ได้กับภาวะการติดเชื้อในปอดอื่น ๆ ไม่ว่าจะเป็น community-acquired pneumonia, hospital-acquired pneumonia และ ventilator-associated pneumonia

19. คุณภาพของเสมหะ ใช้เกณฑ์ที่กำหนดโดย American Society for Microbiology(18) โดยพิจารณาจากจำนวนของเม็ดเลือดขาวโดยใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า และ ปริมาณของเซลล์บุผิวโดยใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า ในการศึกษานี้แบ่งออกเป็น 3 ระดับดังนี้

Grade 1-2 พบ เม็ดเลือดขาว 10 -25 (หรือน้อยกว่า 10) เซลล์ต่อกำลังขยาย 400 เท่า และ พบเซลล์เยื่อบุผิว มากกว่า 25 เซลล์ต่อกำลังขยาย 100 เท่า

Grade 3 พบ เม็ดเลือดขาวมากกว่า 25 เซลล์ต่อกำลังขยาย 400 เท่า และ พบเซลล์เยื่อบุผิว มากกว่า 25 เซลล์ต่อกำลังขยาย 100 เท่า

Grade 4-5 พบ เม็ดเลือดขาวมากกว่า 25 เซลล์ต่อกำลังขยาย 400 เท่า และ พบเซลล์เยื่อบุผิว 10 -25 (หรือน้อยกว่า 10) เซลล์ต่อกำลังขยาย 100 เท่า

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.8 รูปแบบการวิจัย

การวิจัยโดยการสังเกต (observational study) เป็นการศึกษาไปข้างหน้าเพื่อทดสอบวินิจฉัย (prospective diagnostic study)

1.9 ปัญหาทางจริยธรรม

หลักความเคารพในบุคคล (respect for person) ผู้วิจัยจะให้ข้อมูลอย่างครบถ้วนโดยการอธิบายและให้เอกสารที่มีข้อมูลการศึกษา จนผู้เข้าร่วมการศึกษาใจและสามารถตัดสินใจอย่างอิสระในการเข้าร่วมการวิจัยผู้วิจัยต้องได้รับความยินยอมอย่างเป็นลายลักษณ์อักษร (informed consent) ก่อนเข้าร่วมการศึกษาเสมอ

หลักการให้ประโยชน์ และไม่ก่อให้เกิดอันตราย (beneficence/ non-maleficence) แม้ว่าจะยังไม่เคยมีการศึกษาหาความถูกต้องแม่นยำของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE จากเสมหะ หรือ tracheal aspirate โดยตรงมาก่อน แต่เนื่องจากงานวิจัยชิ้นนี้เป็นการศึกษาที่ตรวจสอบประสิทธิภาพในการวินิจฉัยเท่านั้น ดังนั้นจึงยังไม่ได้ส่งผลกระทบต่อผู้ป่วยหรือแทรกแซงการรักษาต่อผู้ป่วยรายนั้น ๆ ผู้ป่วยยังได้รับการรักษาตามมาตรฐานเช่นเดิม

หลักความยุติธรรม (Justice) มีการกำหนดเกณฑ์การคัดเข้าและออกของผู้ป่วยอย่างชัดเจน และท้ายที่สุดแล้วการศึกษานี้จะส่งให้คณะกรรมการจริยธรรมของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์เพื่อขอความเห็นชอบก่อน

1.10 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการเริ่มต้นการใช้ชุดทดสอบ BD MAX™ CRE มาตรวจในเสมหะ หรือ tracheal aspirate ของผู้ป่วยโดยตรงเพื่อตรวจหา carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* (CPK) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเชื้อและตรวจจากโคโลนีของเชื้อด้วย laboratory-developed polymerase chain reaction (LDT-PCR) ซึ่งเป็นวิธีการทดสอบมาตรฐาน (gold standard) และถ้าหากชุดทดสอบ BD MAX™ CRE มีประสิทธิภาพที่ดีในการทดสอบ เช่น มีความไว (sensitivity) สูง จะทำให้สามารถรายงานผลได้เร็วขึ้น ทำให้สามารถแยกผู้ป่วยที่ติดเชื้อออกได้เร็วขึ้นทำให้การควบคุมการติดเชื้อ (infection control) ในโรงพยาบาลทำได้ดีขึ้น ทำให้ลดการแพร่กระจายเชื้อหรือลดอุบัติการณ์การติดเชื้อเหล่านี้ได้มากขึ้น หรือถ้าชุดทดสอบมีความจำเพาะ (specificity) สูง ดังนั้นการไม่พบเชื้อจากการทดสอบอาจทำให้ทราบได้เบื้องต้นว่าเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ที่เพาะได้ในผู้ป่วยรายนั้นไม่มียีน bla$_{KPC}$, *bla*$_{NDM}$ และ *bla*$_{OXA-48}$ ซึ่งเป็นยีนที่ควบคุมการดื้อยา carbapenem ที่สามารถพบได้บ่อยในไทย อาจแปลผลได้เบื้องต้นว่าเชื้อที่พบไม่มีการดื้อยาดังกล่าว เพียงแต่การใช้อาจต้องระวังเนื่องจากยังสามารถดื้อยาได้กลไกอื่น หรือมีเชื้อชนิดอื่น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.11 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการแก้ไข

งานวิจัยชิ้นนี้ใช้ชุดทดสอบ BD MAX™ CRE กับเสหะโดยตรงซึ่งเป็นการทดสอบที่ไม่เคยมีใครทำมาก่อน ซึ่งรวมไปถึงระเบียบวิธี (protocol) ในการทำในขั้นตอนต่าง ๆ ซึ่งยังไม่มีการกำหนดเป็นมาตรฐาน อย่างไรก็ตามบริษัท Becton Dickinson ได้มีชุดทดสอบที่เพื่อใช้ตรวจเชื้อ

Mycobacterium tuberculosis ซึ่งมีการทดสอบและตีพิมพ์ผลการศึกษาแล้ว(19) ทางผู้วิจัยได้นำระเบียบวิธีจากการใช้ชุดทดสอบนั้นมาใช้กับงานวิจัยชิ้นนี้

เนื่องจากราคาของชุดทดสอบที่มีราคาแพงทำให้การหาชุดทดสอบมาใช้อาจทำได้จำกัด ผู้วิจัยได้จัดหาทุนเพิ่มเติมจากขอชุดทดสอบสนับสนุนเพิ่มเติมจากบริษัทและขอทุนวิจัยเพิ่มเติม

ในการทำและการแปลผลชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ผู้วิจัยต้องเป็นผู้ทำการทดสอบเอง แต่เนื่องด้วยผู้วิจัยไม่มีความชำนาญในการจัดการอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องกับชุดทดสอบ อาจทำให้มีการทดสอบที่ผิดพลาดเกิดขึ้นและสิ้นเปลืองชุดทดสอบที่ต้องทำการสั่งและนำเข้าจากต่างประเทศ ผู้วิจัยจึงจำเป็นต้องใช้เวลาทำความคุ้นชินและฝึกฝนกับชุดทดสอบก่อนการใช้ รวมถึงขอความร่วมมือเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่มีความเชี่ยวชาญช่วยยืนยันและตรวจสอบผลการทดสอบ รวมไปถึงผลการทดสอบมาตรฐานด้วยวิธี LDT-PCR ซึ่งผู้วิจัยจำเป็นต้องให้เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการช่วยเหลือในการทำการทดสอบและแปลผล

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

การแบ่งกลุ่มเอนไซม์ carbapenemase

เอนไซม์ beta-lactamase มีหลายชนิด และตรวจพบชนิดใหม่เพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ โดยมีการจำแนกชนิด และตั้งชื่อตามข้อมูล หรือที่มาของเอนไซม์ การจัดกลุ่มเอนไซม์ beta-lactamase ในปัจจุบันมี 2 ระบบหลัก(20) ได้แก่

1. การจัดกลุ่มตามโครงสร้างโมเลกุล (molecular classification หรือ Ambler classification) เป็นการจำแนกตามลำดับของกรดอะมิโนที่เป็นส่วนประกอบของโครงสร้างเอนไซม์ ซึ่งนำเสนอโดย Dr. Richard P. Ambler ในปี ค.ศ. 1980 โดยแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม (class) คือ A, B, C และ D **(ตารางที่ 1)** ซึ่งถ้าดูที่ตำแหน่งการออกฤทธิ์แล้วในเอนไซม์ในกลุ่ม A, B, D จะมีกรดอะมิโน serine ที่ตำแหน่งออกฤทธิ์ของเอนไซม์ สามารถทำลาย beta-lactam ring ของยาปฏิชีวนะกลุ่ม beta-lactam ได้ เรียกเอนไซม์กลุ่มนี้ว่า serine beta-lactamase (21) ในขณะที่ class B จะต้องอาศัยโลหะ ซึ่งอาจเป็น 1 หรือ 2 ประจุของสังกะสี (zinc) ในการออกฤทธิ์ เรียกเอนไซม์ในกลุ่มนี้ว่า metallo-beta-lactamase ซึ่งสามารถทำลายยา beta-lactam ได้หลายชนิด รวมถึง carbapenem ยกเว้น monobactam (22)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2. การจัดกลุ่มตามความสามารถในการออกฤทธิ์ (functional classification หรือ Bush-Jacoby-Medeiros classification) เป็นการจัดกลุ่มเอนไซม์ตามชนิดของยาที่เป็นเป้าหมายในการออกฤทธิ์ และการยับยั้งเอนไซม์

วิธีการทดสอบการสร้างเอนไซม์ carbapenemase

วิธีการที่ใช้ทดสอบการสร้างเอนไซม์ carbapenemases มีหลายวิธี โดยจากคำแนะนำของ Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) ในเอกสาร M100S27E ที่ออกคำแนะนำในปี ค.ศ. 2017 ได้ให้คำแนะนำว่าให้ทำการทดสอบนี้ในเชื้อ 3 กลุ่ม คือ *Enterobacteriaceae,*

Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter species. ซึ่งคำจำกัดความของ carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (CPE) คือ ผลการทดสอบการดื้อยาเป็น intermediate หรือ resistant ต่อ ยาในกลุ่ม carbapenem ตัวใดตัวหนึ่ง รวมถึงยา ertapenem ด้วย ซึ่งจากคำแนะนำค่าของ minimum inhibitory concentration (MIC) breakpoints ที่ใช้สำหรับยา carbapenem ได้แก่ MIC ที่ 2 – 4 µg/mL สำหรับ imipenem และ meropenem และ MIC ที่ 2 µg/mL สำหรับ ertapenem (23) เอกสารดังกล่าวข้างต้นได้แนะนำวิธีการตรวจหา CPE ด้วยวิธีต่าง ๆ **(ตารางที่ 2)** ดังนี้

1. Modified Hodge Test
2. Carba NP Test
3. Modified Carbapenem Inactivation Method
4. วิธีอื่น ๆ เช่น molecular test

1. Modified Hodge Test เป็นวิธีการเพาะเชื้อที่ทำบน Muller-Hinton agar (MHA) โดยเพาะเชื้อ wild type *E. coli* ATCC 25922 บน MHA ซึ่ง *E. coli* นี้เตรียมจากโคโลนีโดยกำหนดความเข้มข้นเป็น 1 ต่อ 10 ของ 0.5 McFarland จากนั้นวางแผ่นยาซึ่งอาจเป็น meropenem หรือ ertapenem แล้วนำเชื้อที่ต้องการทดสอบโดยใช้ loop 10 µL เลือกเชื้อมา 3 – 5 โคโลนี ลากเป็นเส้นจากตรงกลางเข้าหาขอบของถาดเลี้ยงเชื้อ **(รูปที่ 1)** โดยกำหนดให้ความยาวของแถบเชื้อที่ป้ายยาวประมาณ 20 – 25 มิลลิเมตร

ข้อจำกัดของ Modified Hodge Test(MHT) คือ เชื้อ CPE ไม่จำเป็นต้องทำ MHT แล้วให้ผลบวกทุกชนิด ในขณะเดียวกันการทดสอบ MHT ถ้าให้ผลบวกอาจไม่ใช่ CPE ก็ได้แต่เป็นการดื้อยา carbapenems ด้วยกลไกอื่น

2. Carba NP test หลักการคือถ้าเชื้อใดสามารถสร้าง carbapenemase ได้ เอนไซม์ carbapenemase จะทำลาย beta -lactam ring ในยา imipenem ที่อยู่ในหลอดทดลอง ทำให้ indicator (0.5% phenol red) เปลี่ยนสี วิธีการทดสอบทำได้โดยเตรียมหลอดเพื่อใส่เชื้อสองหลอด โดยหนึ่งในนั้นต้องใส่ imipenem จากนั้นใส่สารละลายที่มีส่วนประกอบเป็น 0.5% phenol red, 0.1 N sodium hydroxide solution และ 10mM zinc sulfate heptahydrate solution ในหลอดทดลองทั้งสองหลอด แล้วนำเชื้อที่ต้องการทดสอบโดยเลือกเชื้อที่เพาะจาก blood agar (ห้ามใช้เชื้อที่เพาะบน selective media) มาใส่ในหลอด a (ไม่มี impenem) และ b (มี imipenem)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จากนั้นทำการเพาะเชื้อในอุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงแล้วอ่านผล จากนั้นแปลผลดัง**ตารางที่ 3** และ**รูปที่ 2**

3. Modified Carbapenem Inactivation Method

หลักการจะมีความคล้ายคลึงกับ Carba NP โดยนำเชื้อที่ต้องการมาทดสอบใส่คู่ไปกับแผ่นยาในกลุ่ม carbapenem หลังจากนั้นนำแผ่นยาที่ใส่ลงไปนำไปทดสอบกับเชื้อที่รู้แน่ว่าไม่ดื้อต่อยา carbapenem ถ้าแผ่นยานั้นไม่สามารถสร้าง inhibition zone ได้แสดงว่า เชื้อที่นำมาทดสอบมีการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ทำลายยาที่อยู่ในแผ่นยาไป

ขั้นตอนการทดสอบแสดงดัง**รูปที่ 3** อ้างอิงจาก Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) ในเอกสาร M100S27E (23) คือ นำเชื้อที่ต้องการทดสอบ 1 µL ละลายในสารละลาย 2 ml จากนั้นปั่น 10 – 15 วินาที แล้วใส่แผ่นยา meropenem ที่มีความเข้มข้น 10 µg ลงไป แล้วนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสนาน 4 ชั่วโมง จากนั้นเตรียมเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 ความเข้มข้น 0.5 McFarland นำไปเพาะบน MHA plate จากนั้นนำแผ่นยา meropenem ที่อยู่ในสารละลายเดียวกับเชื้อที่ต้องการนำมาทดสอบ นำมาวางบน MHA plate ที่เตรียมไว้ จากนั้นนำไปเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 18 – 24 ชั่วโมง จากนั้นแปลผลตาม inhibition zone **ตารางที่ 4**

อย่างไรก็ตามถ้ารายงานผลออกมาเป็น intermediate แนะนำให้ตรวจสอบขั้นตอนการทำใหม่อีกครั้ง หรือ เปลี่ยนไปทำวิธีอื่น เช่น ตรวจ carpanemase gene นอกจากนี้ยังมีวิธีการตรวจหาเชื้อที่ดื้อต่อยา carbapenem ที่ไม่ได้อยู่ในคำแนะนำของ Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) ในเอกสาร M100S27E ที่มีการใช้ในปัจจุบัน ดังนี้

1. Chromogenic culture media
2. FilmArray® Blood Culture Identification (BCID) Panel Testing
3. Xpert® Carba-R

1. Chromogenic culture media หลักการคือเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการใส่ยาปฏิชีวนะในกลุ่ม carbapenenems ลงไป ซึ่งถ้าเชื้อสามารถโตในอาหารเลี้ยงเชื้อได้แสดงว่ามีความสามารถดื้อยา carbapenems ได้ และจากนั้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีสีที่เป็น indicator เพื่อแยกชนิดของเชื้อที่สามารถโตขึ้นมาได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งปัจจุบันมีหลายยี่ห้อ เช่น Brilliance

CRE™, ChromeID™ Carba, Colorex KPC™ เป็นต้น ซึ่งในที่นี้จะขอกล่าวถึง ChromeID™ Carba **(รูปที่ 4)** ซึ่งผลิตโดยบริษัท bioMérieux ซึ่งเป็นบริษัทแรกๆที่ได้มีการนำ chromogenic culture media มาใช้ (24)

ChromeID™ Carba สามารถใช้ตรวจได้ทั้งจากสิ่งส่งตรวจโดยตรง (ในของบริษัทนี้อนุญาตไว้เฉพาะ rectal swab) หรือจากโคโลนี โดยให้เตรียมความเข้มข้นของโคโลนีเมื่อละลายในสารละลายแล้วที่ 0.5 McFarland มีหลักการคือ ถ้าเชื้อสามารถโตได้ *E. coli* จะสร้าง beta - glucuronidase และ/หรือ beta -galactosidase ทำให้ indicator ที่ใส่ไว้บนอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีชมพู หรือสีเบอร์กันดี แต่ถ้าเป็นเชื้อ *K. pneumoniae* ที่มีความสามารถดื้อยา carbapenem จะสามารถสร้าง เอนไซม์ beta-glucosidase ทำให้เปลี่ยนสีเป็นสี น้ำเงินเขียว หรือน้ำเงินเทา **ดังรูปที่ 4**

ข้อจำกัดของการใช้การตรวจหา CRE โดย chromogenic agar จะแตกต่างกันไปตามอาหารเพาะเชื้อที่ออกแบบมาแต่ละบริษัท ChromeID™ Carba จะมีข้อจำกัดคือ เชื้ออื่น ๆ ที่มีความสามารถในการดื้อ carbapenem เช่น vancomycin-resistant *Enterococcus* หรือ *Pseudomonas* species จะสามารถโตได้เช่นกันในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้ แต่จะให้สีของโคโลนีเป็นสีดั้งเดิมของเชื้อนั้น ๆ นอกจากนี้เชื้อที่สร้าง carbapenemase ชนิด OXA-48, VIM หรือ IMP อาจไม่สามารถเพาะเชื้อขึ้นได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้ เนื่องจากเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดนี้มีผลการทำลาย carbapenem น้อยกว่าKPC และ NDM) (25)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2. FilmArray® Blood Culture Identification (BCID) Panel Testing เป็นการตรวจสาร nucleic acid จาก positive blood culture FilmArray® BCID ผลิตโดยบริษัท bioMérieux สามารถตรวจบ่งชี้เชื้อได้ 24 เชื้อ 27 targets โดยเชื้อที่สามารถตรวจได้มีตั้งแต่เชื้อ Gram positive, Gram negative และ *Candida* ข้อดีคือสามารถรายงานผลได้ถึงระดับ species ใน 1 ชั่วโมงเท่านั้น (โดยใช้เวลาที่ต้อง ลงมือทำ 2 นาที ที่เหลือจะเป็นเครื่องอัตโนมัติ) และยังสามารถตรวจหายีนดื้อยาได้อีกด้วย โดยสำหรับยา carbapenems เครื่อง FilmArray® BCID จะสามารถตรวจหาได้เฉพาะ KPC เท่านั้น (26)

การทำงานของเครื่อง FilmArray® BCID จะแบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอนใหญ่ๆ ดังนี้

2.1 Nucleic acid purification นำสิ่งที่ต้องการตรวจใส่ในบริเวณ pouch ของเครื่อง หลังจากนั้นเครื่องจากทำการสลายสิ่งส่งตรวจ โดยใช้วิธี bead beating ในการสลายเซลล์ของสิ่งส่งตรวจเพื่อให้สารพันธุกรรมที่อยู่ข้างในหลุดออกมา

2.2 1st stage multiplex PCR จะเป็นการทำ PCR ขั้นตอนแรก คือ เพิ่มสารพันธุกรรมที่สามารถตรวจจับได้จากเครื่อง FilmArray® BCID (เชื้อที่กำหนดมา 24 ชนิดที่กล่าวไว้ในขั้นตอนแรก) จะทำการเพิ่มสารพันธุกรรมโดยรวมทุกเชื้อที่สามารถตรวจได้

2.3 2nd stage multiplex PCR จากนั้น สารพันธุกรรมใน stage แรกที่ทำการเพิ่มจำนวนแล้วจะเข้าสู่บริเวณ PCR 2 ซึ่งจะแบ่งเป็นห้องเล็ก ๆ แต่ละห้องจะใส่ primer ของแต่ละเชื้อที่สามารถตรวจได้ เพื่อทำการเพิ่มจำนวนขึ้นมา

2.4 DNA melting analysis หลังจากนั้นเครื่องจะทำการวิเคราะห์ดู melt curve เพื่อบ่งว่า PCR product ที่สร้างมาว่าสามารถเข้าได้กับเชื้อใดหรือไม่ จากนั้นจะทำการรายงานผลออกมา

3. Xpert® Carba-Rเป็นวิธีการตรวจหาเชื้อ CRE ด้วยวิธีทาง molecular เช่น เดียวกับ FilmArray® BCID ซึ่งเป็นเครื่องที่ผลิตมาจากบริษัท Cepheid solutions ข้อแตกต่างของเครื่องนี้กับ FilmArray® BCID คือ จากใบแนะนำการใช้ของบริษัทได้แสดงให้เห็นว่าเครื่องนี้สามารถตรวจหายีนดื้อยา carbapenem ได้หลายชนิดมากกว่าไม่ว่าจะเป็น bla_{KPC}, bla_{NDM}, bla_{VIM}, bla_{IMP-1} และ bla_{OXA-48} และสามารถตรวจหาได้จาก rectal swab โดยตรง จุดประสงค์ของเครื่องจึงทำมาเพื่อหาคนที่มีเชื้อที่มียีนดื้อยาในร่างกาย เพื่อที่จะได้ทำการระวังเพื่อป้องกันไม่ให้ไปสู่ผู้ป่วยรอบข้างในหอผู้ป่วยเดียวกัน นอกจากนี้ยังออกผลเร็ว และให้ผลในเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง (27)

ระบาดวิทยาของเชื้อที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ carbapenemase

Rhomberg และคณะ รายงาน The Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection หรือ MYSTIC program ที่ทำการศึกษากว่า 100 สถานพยาบาลทั่วโลก รวบรวมข้อมูลการดื้อยาของเชื้อตั้งแต่ปี ค.ศ. 1999–2008 หรือรวมแล้วเป็นเวลา 10 ปี จาก 27,289 isolates อ้างอิงเกณฑ์วินิจฉัยตาม CLSI ได้ผลว่า เชื้อ *Enterobacteriaceae* มีอัตราการดื้อต่อยา meropenem คิดเป็นร้อยละ 2 โดยเชื้อ *Klebsiella* species มีอัตราการดื้อต่อยา

meropenem ร้อยละ 4.3 รองลงไปเป็น *Enterobacter* species ร้อยละ 2.3 และ *E. coli* ร้อยละ 0.8 ตามลำดับ (4)

เช่นเดียวกันกับในประเทศไทย ข้อมูลของศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ (National Antimicrobial Resistance Surveillance Center, Thailand: NARST) ในปี ค.ศ. 2015 พบเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ดื้อยา carbapenems ร้อยละ 4.9 รองลงไปเป็นเชื้อ *E. coli* มีอัตราการดื้อยาที่ร้อยละ 0.9 จากรายงานทั้งสองฉบับจะเห็นได้ว่า *Klebsiella* species นับเป็นเชื้อที่มีอัตรการดื้อยามากที่สุดถ้าเทียบกับเชื้อกลุ่ม *Enterobacteriaceae* ด้วยกัน (5)

ในแง่ชนิดของยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase หรือ เอนไซม์ carbapenemase ชนิดต่าง ๆ นั้น จากรายงานของ Lee ในปี ค.ศ. 2016 พบว่าเอนไซม์ *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) ในประเทศสหรัฐอเมริกามีความชุกร้อยละ 5.7 (จากเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ที่แยกได้ทั้งหมด) ในปี ค.ศ. 2009 ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่พบได้มากที่สุด (28) รองลงไปเป็นเอนไซม์ New Delhi Metallo-beta-lactamase (NDM) ซึ่งจากรายงานเมื่อปี ค.ศ. 2013 ในประเทศสหรัฐอเมริกายังพบเป็นเพียงรายงานทั้งหมด 69 เคสเท่านั้น โดยที่ส่วนใหญ่พบว่าผู้ป่วยมาจากทางตะวันออกเฉียงเหนือของรัฐอิลลินอยส์ (29) ส่วนเอนไซม์ OXA-48 พบได้ค่อนข้างน้อยในสหรัฐอเมริกา ในรายงานจาก Mahters ปี ค.ศ. 2013 ยังเพิ่งเริ่มรายงานผู้ป่วยที่สามารถพบ $bla_{\text{OXA-48}}$-type carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* 2 ราย (จากรายงานนี้เป็นเชื้อ *K. pneumoniae* ทั้งคู่) (30)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สำหรับข้อมูลของ ความชุกของเอนไซม์ดื้อยากลุ่ม carbapenems ในประเทศไทย มีรายงานของ วีวรรณ อาชีวะ ทำการศึกษาที่โรงพยาบาลพระปกเกล้าในปี พ.ศ. 2555 – 2556 ซึ่งวิธีวินิจฉัย คือ ใช้การคัดกรองเบื้อต้นด้วย Kirby-Bauer disc diffusion และ gradient diffusion (Etest) จากนั้นทำการยืนยันโดยการหายีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ด้วยวิธี multiplex PCR พบว่าเชื้อ CRE ที่แยกได้จากผู้ป่วย 50 ราย เป็นเอนไซม์ NDM-1 ร้อยละ 43.4, รองลงไปเป็น IMP ร้อยละ 35.8 ในขณะที่เอนไซม์อื่น ๆ คือ OXA, IMP, KPC, VIM พบได้ร้อยละ 15.1 (31)

1. เอนไซม์ *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) เอนไซม์ *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) เป็น beta -lactamase ใน class A ซึ่งจากรายงานแรกของ Yigit ในปี ค.ศ. 2001 พบเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ที่สามารถสร้างเอนไซม์ KPC-1 จากยีน $bla_{\text{KPC-1}}$ ทำให้เชื้อดื้อต่อยา imipenem และ meropenem แต่สามารถถูกยับยั้งได้เมื่อมีการ

เพิ่ม clavulanic acid เข้าไป (32) รายงานของ Queenan ในปี ค.ศ. 2007 รวบรวมข้อมูลดื้อยาที่มีการสร้าง class A carbapenemase ซึ่งประกอบด้วย SME, IMIM, NMC, GES และ KPC พบว่าสามารถพบ KPC ได้มากที่สุด โดยสามารถพบ bla_{KPC} ได้บน transferable plasmid ของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* และยังสามารถพบเอนไซม์ชนิดนี้ในเชื้ออื่น ๆ ได้อีก ไม่ว่าจะเป็น *Enterbacter* species หรือ *Salmonella* species (33) ยีน bla_{KPC} ที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ KPC สามารถถูกถ่ายทอดได้ทางพลาสมิด และสามารถถ่ายทอดข้ามสปีชีส์ได้ และพบอัตราการเสียชีวิตที่เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยที่ติดเชื้อชนิดที่สร้างเอนไซม์ KPC อีกด้วย (34) ดังนั้นการตรวจพบผู้ป่วยที่มีเชื้อที่สร้างเอนไซม์ชนิดนี้ และทำการแยกผู้ป่วยเพื่อป้องกันการระบาด หรือรีบให้การรักษาจึงเป็นสิ่งสำคัญ

2. เอนไซม์ metallo- beta **-lactamase (MBL)** เป็นเอนไซม์ที่มีฤทธิ์กว้างเมื่อเทียบกับเอนไซม์ในกลุ่มอื่น เพราะ สามารถทำลายยาในกลุ่ม beta-lactam ได้เกือบทุกชนิด ยกเว้นยากลุ่ม monobactam และไม่สามารถต้านฤทธิ์ได้ด้วยสารยับยั้งเอนไซม์ beta-lactamase นอกจากนี้ยีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ คือ ยีน bla_{MBL} สามารถพบได้ทั้งบนโครโมโซม และพลาสมิด ทำให้สามารถพบยีนชนิดนี้ได้มากบนหน่วยพันธุกรรมเคลื่อนที่ และเกิดการแพร่กระจายของยีนชนิดนี้ออกไปได้ง่าย โดยที่พบได้บ่อยที่สุดคือ เอนไซม์ในวงศ์ IMP และ VIM (34) แต่จากรายงานของ Yong ในปี ค.ศ 2009 พบ MBL ชนิดใหม่ จากเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ที่ดื้อยา carbapenems โดยสามารถแยกเชื้อได้จากปัสสาวะของผู้ป่วยชาวสวีเดนที่มีประวัติเดินทางไปเมืองนิวเดลี ประเทศอินเดีย โดยเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ในกลุ่ม MBL แต่ไม่สามารถเข้าได้กับ MBL ยีนที่เคยรู้จัก จึงตั้งชื่อตามเมืองที่ผู้ป่วยมีประวัติเดินทางไป และเชื่อว่าเป็นแหล่งกำเนิดของการติดเชื้อว่า New Delhi Metallo-beta-lactamase 1 ซึ่งคุณสมบัติของเอนไซม์นี้ค่อนข้างแตกต่างไปจาก MBL ตัวอื่น ๆ โดยพบว่ามีความใกล้เคียงกับ VIM-1/VIM-2 มากที่สุด แต่ก็เหมือนเพียงร้อยละ 32.4 เท่านั้น เอนไซม์ชนิดนี้มักจะดื้อยาปฏิชีวนะเกือบทั้งหมด ยกเว้น aztreonam และ ยังอาจไวต่อยากลุ่ม fluoroquinolones และ colistin (35)

3. เอนไซม์ OXA-type carbapenemase รายงานครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2538 คือ OXA-23 โดยพบในเชื้อ *A. baumannii* ซึ่งปัจจุบันสามารถสามารถพบได้หลายชนิดมากขึ้น มีส่วนน้อยที่พบรายงานจากเชื้อในวงศ์ *Enterobacteriaceae* ยีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ชนิดนี้อยู่บนพลาสมิดทำให้สามารถถ่ายทอดยีนไปสู่เซลล์อื่นได้ ซึ่งเมื่อเทียบกับเอนไซม์ MBL แล้วมีฤทธิ์ที่สามารถทำลาย carbapenem ได้ต่ำกว่า นอกจากนี้เอนไซม์ชนิดนี้มีมากกว่า 220 ชนิด และ สามารถแบ่งกลุ่มออกได้เป็น 6 กลุ่มย่อยตามความคล้ายคลึงของกรดอะมิโน OXA-48 เป็นหนึ่งในกลุ่มย่อยของเอนไซม์ในวงศ์ OXA (34)

หลักการและประโยชน์ของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE

การตรวจโดย BD MAX™ CRE เพื่อหาเชื้อที่มีการสร้างเอนไซม์ carbapenemase เป็นการตรวจหายีน *bla*$_{KPC}$, *bla*$_{NDM}$ และ *bla*$_{OXA-48}$ (7) Meunier และคณะ(7) ได้ทำการศึกษาชุดทดสอบ BD MAX™ CRE กับเชื้อที่ยืนยันแล้ว หรือสงสัยว่ามีการดื้อยาต่อยากลุ่ม carbapenem ที่แยกได้จาก colony ของเชื้อซึ่งวิธีการเตรียมเชื้อสามารถทำได้ 2 วิธี คือ นำโคโลนีของเชื้อมาแล้วทำการละลายโดยกำหนดความเข้มข้นที่ 0.5 McFarland จากนั้นนำสารละลายไปละลายเพื่อนำเข้าเครื่อง BD MAX™ ในอัตราส่วน 1:100 หรือ นำโคโลนีของเชื้อ 1 – 5 โคโลนีไปละลายในน้ำ 100 µL จากนั้นนำออกมาใช้ 10 µL ซึ่งเตรียมได้ทั้งหมด 326 isolates ได้แก่เชื้อในวงศ์ *Enterobacteriaceae, Pseudomonas* species และ *Acinetobacter* species ที่สามารถสร้าง carbapenemases (KPC, NDM, OXA-48, VIM และ IMP) ได้ โดยเทียบกับวิธีการตรวจมาตรฐาน (reference standard) คือ in-house PCR assays ผลการศึกษาพบว่า ในกลุ่มเชื้อที่ยืนยันการสร้างเอนไซม์ carbapenemases ทั้งหมด 151 isolates ถ้า in-house PCR ให้ผลบวกต่อยีน bla$_{KPC}$, *bla*$_{NDM}$ และ *bla*$_{OXA-48}$ BD MAX™ CRE จะให้ผลบวกด้วยทั้งหมด (ร้อยละ 100) ถ้า in-house PCR ให้ผลบวกกับ bla$_{VIM}$, *bla*$_{IMP}$ BD MAX™ CRE ให้ผลบวก 2/18 และ ถ้า in-house PCR ให้ผลลบ BD MAX™ CRE ให้ผลลบ ด้วยทั้งหมด สรุปจากการศึกษานี้ BD MAX™ CRE จากเชื้อที่แยกจาก rectal swab จะมีความไว (sensitivity) ร้อยละ 100, ความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 92, positive predictive value ร้อยละ 94.7 และ negative predictive value ร้อยละ 10

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หลังจากนั้น Labourdette และคณะ (36) ได้ทำการศึกษาชุดทดสอบ BD MAX™ CRE โดยทำด้วยวิธีการ rectal swab ซึ่งต่างกับของ Meunier ที่ได้กล่าวมาแล้วซึ่งทำจากโคโลนีโดยตรง โดยเทียบกับการ identification เชื้อด้วยวิธี PCR แบบอื่น ๆ จากทั้งหมด 245 isolates ผลปรากฏว่าถ้าผลการทดสอบด้วยวิธี PCR แบบอื่น ๆ ให้ผลบวก BD MAX™ CRE จะรายงานให้ผลบวกทั้งหมด แต่ถ้าผลจาก PCR เป็น negative แล้ว โอกาสที่ BD MAX™ CRE จะให้ผลการทดสอบเป็นบวกได้อยู่ที่ 13/239 isolates (ร้อยละ 5.4) สรุปผลจากการทดสอบนี้คิดเป็นความไว ร้อยละ 100 และ ความจำเพาะ ร้อยละ 94.6 จะเห็นได้ว่าจากผลการทดลองของทั้งสองการทดลองซึ่งทำจาก specimen ที่แตกต่างกันแต่ให้ผล sensitivity และ specificity ที่ดีเช่นกัน

ตารางที่ 1 ลักษณะของเอนไซม์ carbapenemmase ชนิดต่าง ๆ ตาม molecular (Ambler) classification (34)

	กลุ่มเอนไซม์ carbepenemase ตามโครงสร้างโมเลกุล			
	Class A	**Class B**	**Class C**	**Class D**
ชนิดเอนไซม์	serine beta-lactamase	metallo-beta-lactamase	serine beta-lactamase	serine beta-lactamase
คุณสมบัติสำคัญ	ทำลายยากลุ่ม penicillin และ cephalosporin ได้ดีกว่ากลุ่ม carbapenem	ทำลายยากลุ่ม carbapenem ได้ดี แต่ต้องใช้ Zn^{2+} ในการออกฤทธิ์	ทำลายยากลุ่ม carbapenem ได้น้อยและส่วนใหญ่เป็น imipenem	ทำลายยากลุ่ม carbapenem ได้น้อย
การทำลายยา monobactam	ได้	ไม่ได้	ได้	ไม่ได้
	เอนไซม์ class B, D อาจดื้อได้ด้วยกลไกอื่น ๆ			
การต้านฤทธิ์ด้วย beta - **lactamase inhibitor**	ไม่แน่นอน	ไม่ได้	ไม่แน่นอน	ได้ในระดับต่ำ
	เอนไซม์ class A, C การถูกต้านฤทธิ์มีความต่างกันในเอนไซม์แต่ละชนิด			
ตัวอย่างเอนไซม์	KPC, SME, IMI/NMC, GES บางชนิด	IMP, VIM, GIM, SIM, SPM, NDM	CMY-10, BER	OXA บางชนิด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 2 คุณสมบัติ และข้อดีข้อเสียของการวินิจฉัย CPE ในแต่ละวิธี (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข(37))

การทดสอบเพื่อวินิจฉัย CRE			
MHT	**Carba NP**	**mCIM**	**Other (*e.g.* Molecular assays)**
- ง่ายที่จะทำการทดสอบ ไม่ได้ต้องการอาหารเลี้ยงเชื้อพิเศษในการทำ - สามารถพบผลบวกลวงได้ในกลุ่มเชื้อที่สามารถสร้างเอนไซม์ ESBL หรือ AmpC ที่ไม่มีการสร้าง porin - ผลลบลวงเจอได้แต่น้อย เช่น ในกลุ่ม NDM บางกลุ่ม - สามารถใช้ได้เฉพาะ *Enterobacteriaceae*	- เร็ว - ต้องการอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดพิเศษ และอาจได้ผลที่ไม่ถูกต้องนักในcarbapenemase บาง subtype เช่น OXA-type	- ไม่ต้องการอาหารเลี้ยงเชื้อ หรือ สารทดสอบพิเศษในการทำ - สามารถทดสอบได้เฉพาะ *Enterobacteriaceae* เท่านั้น, และต้องใช้เวลา incubation อย่างน้อย 1 คืน	- สามาถระบุชนิดของ carbapenemase ได้ ต้องมีสารที่ใช้ชนิดพิเศษ และ ยังต้องมีเครื่องมือในการทำจำเพาะ - อาจมีผลลบลวงได้ กรณีที่การดื้อยานั้นๆ ไม่ได้สร้างจากยีนที่เคยมีรายงานมาก่อน หรือไม่ได้ออกแบบไว้ให้มีการตรวจหายีนนั้น ๆ

ตารางที่ 3 การแปลผล Carba NP test

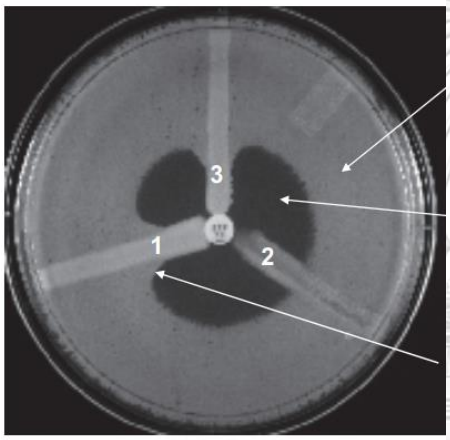
Tube “a”, Solution A	**Tube “b”, Solution B**	**แปลผล**
สีแดง	สีแดง	ให้ผลการทดสอบเป็นลบ หรือไม่พบเอนไซม์ carbapenemase
สีแดง	สีส้มอ่อน, สีเหลืองแก่ หรือ เหลือง	ให้ผลการทดสอบเป็นบวก หรือพบการสร้างเอนไซม์ carbapene-mase
สีแดง	สีอื่นๆ	ไม่สามารถแปลผลได้
สีอื่นๆ	สีอื่นๆ	ไม่สามารถแปลผลได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4 การแปลผล inhibition zone สำหรับ modified carbapenem inactivation method

ขนาด zone	แปลผล
Inhibition zone 6 – 15 mm หรือ มีโคโลนีของเชื้อขึ้นใน 16 – 18 mm	มีการสร้าง carbapenemase
Inhibition zone มากกว่าหรือเท่ากับ 19 mm	ไม่มีการสร้าง carbapenemase
Inhibition zone 16 – 18 mm	Intermediate

รูปที่ 1 ผลการทำ Modified Hodge Test เพื่อการวินิจฉัย carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*



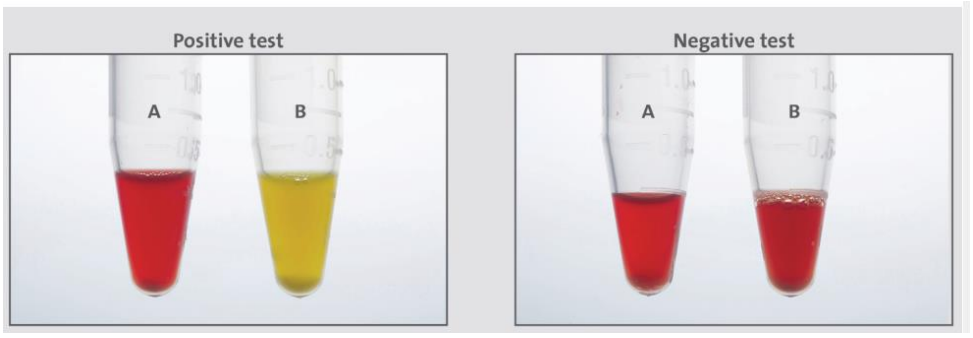
(1) *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705 ให้ผลทดสอบเป็นบวก

(2) *K. pneumoniae* ATCC BAA-1706 ให้ผลทดสอบเป็นลบ

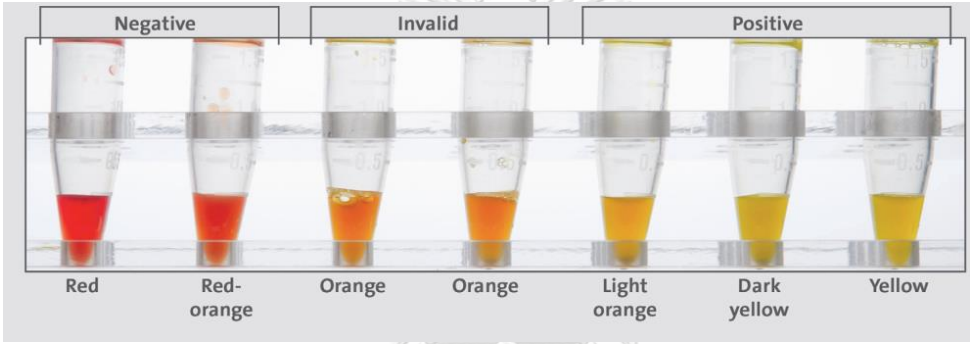
(3) เชื้อที่นำมาทดสอบ ซึ่งจากรูปจะเห็นได้ว่าเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 สามารถโตเข้ามาตามแนวเชื้อที่นำมาทดสอบได้ ดังนั้นผลการทดสอบของเชื้อที่นำมาทดสอบในรูปนี้ถือว่าให้ผลบวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปที่ 2 ตัวอย่างผลการทดสอบ และการแปลผล Carba NP Test



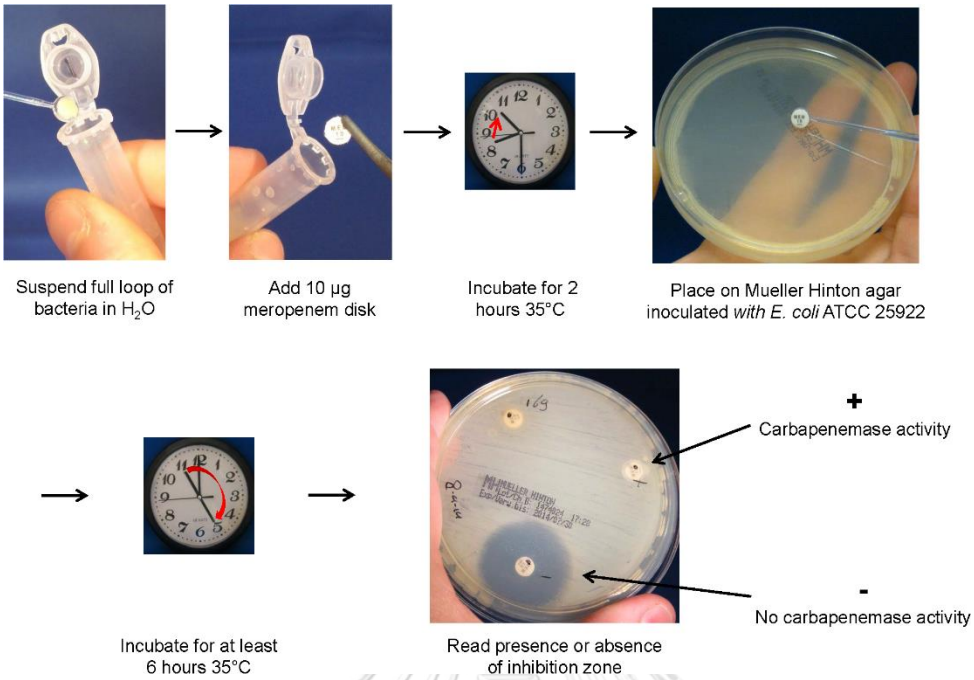
ทางซ้ายเป็นการทดสอบ Carba NP ที่ให้ผลบวกจะเห็นได้ว่าหลอด Solution B เปลี่ยนสีสารละลายกลายเป็นสีเหลือง ส่วนรูปทางขวาเป็นการทดสอบที่ให้ผลลบเนื่องจาก Solution B ไม่เปลี่ยนสี



ถ้าใน solution B กลายเป็นสีส้มหรือสีอื่น ๆ ที่ไม่ใช่สีส้มอ่อน สีเหลืองเข้ม หรือ สีเหลืองตามที่มาตรฐานของ CLSI กำหนดไว้จะให้ถือว่าไม่สามารถแปลผลการทดสอบได้

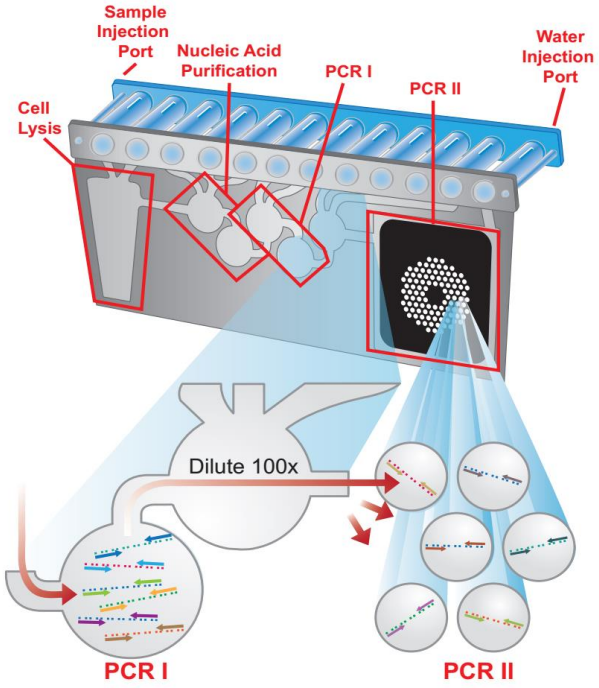
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 3 ขั้นตอนการทดสอบ modified Carbapenem Inactivation Method*(38)*



รูปที่ 4 แสดงอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดที่สามารถแยกเชื้อดื้อต่อยา กลุ่ม carbapenem ชื่อ ChromeID^{TM} Carba

รูปที่ 5 แสดงกลไกการทำงานของเครื่อง FilmArray® BCID ซึ่งจะแบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอนใหญ่



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย

การวิจัยโดยการสังเกต (observational study) เป็นการศึกษาไปข้างหน้าเพื่อทดสอบวินิจฉัย (Prospective diagnostic study)

3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย

ประชากร (Population) และตัวอย่าง (Sample)

เกณฑ์การคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างเข้าร่วมโครงการวิจัย (Inclusion criteria)

1. ผู้ป่วยที่มีอายุตั้งแต่ 15 ปีขึ้นไป
2. ผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาจุฬาลงกรณ์เท่านั้น
3. ผู้ป่วยที่มีเสมหะ หรือ tracheal aspirate เพาะขึ้นเชื้อ *Klebsiella pneumoniae*
4. ผลเสมหะ หรือ tracheal aspirate ของผู้ป่วยมีการทดสอบหาความไวต่อยาปฏิชีวนะ (antibiotic susceptibility testing) ด้วยวิธี disc diffusion, agar-gradient (Etest) หรือ automated antimicroial susceptilbilty test (VITEK®2) ต่อยากลุ่ม carbapenems ได้แก่ ertapenem, imipenem, meropenem และ doripenem
5. ผู้เข้าร่วมสามารถปฏิบัติตามระเบียบวิจัยได้ สามารถยินยอมให้เก็บเสมหะ หรือ tracheal aspirate อีกครั้งถ้าจำเป็น
6. ผู้เข้าร่วมการศึกษาต้องลงชื่อในใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เกณฑ์การคัดกลุ่มตัวอย่างออกจากโครงการวิจัย (Exclusion criteria)

1. ผู้ป่วยที่มีเสมหะเพาะเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* แต่ไม่ได้มีผลการทดสอบหาความไวต่อยาปฏิชีวนะ (antibiotic susceptibility testing)
2. เชื้อ *Klebsiella pneumoniae* นั้นได้มาจากการเพาะเชื้อครั้งที่สองเป็นต้นไปจากผู้ป่วยรายเดิม
3. ผู้ป่วยที่ไม่ยินยอมลงชื่อในใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย

เทคนิคในการสุ่มตัวอย่าง (Sample Techniques)

Target population: ผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่า 15 ปีที่เข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาล และมีเสมหะ หรือ tracheal aspirate ที่มีผลเพาะเชื้อเป็นเชื้อ *Klebsiella pneumoniae*

Sample population: ผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่า 15 ปีที่เข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โดยใช้การสุ่มตัวอย่างแบบเจาะจง (Purposive sampling) คือ ผู้ป่วยที่มีเสมหะ หรือ tracheal aspirate ที่มีผลเพาะเชื้อเป็นเชื้อ *Klebsiella pneumoniae*

ขนาดตัวอย่าง (Sample size determination)

ใช้วิธีคำนวณขนาดตัวอย่างโดยสูตร หาค่าเป็นสัดส่วนในประชากรหนึ่งกลุ่มโดยนำค่า prevalence ของโรค ในที่นี้เป็น ค่าความชุกของ carbapenem-producing *Klebsiella pneumoniae* เทียบกับเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ทั้งหมดที่เพาะได้จากเสมหะ หรือ tracheal aspirate โดยใช้ข้อมูลจากงานวิจัยของ แพทย์หญิง ณัชชา แซ่เตียว และคณะ(39) เข้ามาคำนวณหาขนาดของประชากร(40)

$$N = \frac{(Z_{\alpha/2})^2 PQ}{d^2 \text{ X Prev}}$$

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าในการศึกษาโดย Meunier และคณะ(7) และการศึกษาของ Labourdette และคณะ(36) ให้ค่า sensitivity ของการทดสอบนี้เท่ากันคือ ร้อยละ 100 แต่เนื่องจากงานวิจัยชิ้นนี้ทำการทดสอบในเสมหะ หรือ tracheal aspirate ซึ่งไม่เคยมีข้อมูลของ sensitivity ในสิ่งส่งตรวจชนิดนี้มาก่อน ผู้วิจัยจึงกำหนดให้ค่า sensitivity ที่คาดว่าจะเป็นลดเหลือร้อยละ 90

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

กำหนดให้ค่าความผิดพลาดที่ยอมรับได้อยู่ที่ร้อยละ 10 นำมาคิดเป็นค่ามาตรฐาน Z score ได้ 1.96 และจากการศึกษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์สัดส่วนของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ carbapenemase ต่อเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ทั้งหมดที่เพาะได้จากเสมหะ หรือ tracheal aspirate จะอยู่ที่ร้อยละ 25

สรุปจะคำนวณจำนวนประชากรตัวอย่างได้ดังนี้

$Z_{\alpha/2}$ = 1.96

P (Expected Sensitivity) = 0.90

Q = (1 – P) = (1 – 0.90) = 0.10

d = Acceptable error = 0.10

Prevalence = 0.25

$$N = \frac{(1.96)^2(0.90)(0.10)}{(0.10)^2\ (0.25)}$$

เมื่อแทนค่าในสูตรจะได้ N = 138 คน และ เนื่องจากการศึกษานี้อาจมีผู้ป่วยบางส่วนที่มีเสมหะ หรือ tracheal aspirate เพาะเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* แต่ไม่มีเสมหะ หรือ tracheal aspirate เหลือพอนำมาเข้างานวิจัยได้ หรือ ผู้ป่วยไม่ยินยอมเข้างานวิจัย จึงกำหนด dropout rate ร้อยละ 20 เท่ากับ 27 คน ดังนั้นขนาดตัวอย่างที่ใช้ในงานวิจัยคือ N = 165 คน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

การสังเกตและการวัด (Observation and Measurement)

ตัวแปรอิสระ คือ การทดสอบด้วยชุดทดสอบ BD MAX™ CRE จากตัวอย่างเสมหะ หรือ tracheal aspirate ของผู้ป่วยโดยตรง

ตัวแปรตาม คือ ผลขอการทดสอบด้วย BD MAX™ CRE เทียบกับการทดสอบด้วย gold standard test ด้วยวิธี LDT-PCR จากโคโลนีของเชื้อที่แยกได้จากเสมหะ หรือ tracheal aspirate ของผู้ป่วย

ตัวแปรควบคุม คือ สิ่งส่งตรวจต้องเป็นเสมหะ หรือ tracheal aspirate, เชื้อที่ขึ้นต้องเป็นเชื้อ *Klebsiella pneumoniae*, วิธีการเก็บสิ่งส่งตรวจเพื่อส่งตรวจ, วิธีการเก็บรักษาสิ่งส่งตรวจ

ก่อนนำเข้างานวิจัยทั้งเวลาและอุณหภูมิ, วิธีการทำและการแปลผลของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE และการทดสอบมาตรฐานด้วยวิธี LDT-PCR

กลุ่มควบคุมแบบลบ คือ เสมหะ หรือ tracheal aspirate ที่ทำการเพาะเชื้อแล้วได้เชื้อ *Klebsiella pneumoniae* และทดสอบความไวของยา แล้วไม่พบการดื้อยาในกลุ่ม carbapenem ด้วยวิธี disc diffusion

3.3 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย

1. ถ้ามีผลเพาะเชื้อขึ้นเป็นเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ทางห้องปฏิบัติการจะเก็บตัวอย่างเสมหะ หรือ tracheal aspirates ไว้จนครบ 7 วัน ที่อุณหภูมิลบ 20 องศาเซลเซียส ผู้วิจัยจะเข้าไปเก็บข้อมูลจากห้องปฏิบัติการ ว่าสิ่งส่งตรวจมาจากผู้ป่วยรายใด และนำเสมหะที่ขึ้นเป็นเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* จากห้องปฏิบัติการไปทำการทดสอบด้วยชุดทดสอบ BD MAX™ CRE และทำการเพาะเชื้อใหม่เพื่อทดสอบด้วยวิธีมาตรฐานด้วยวิธี LDT-PCR ซึ่งเสมหะจากผู้ป่วยเป็นส่วนหนึ่งของการรักษาตามมาตรฐาน ผู้ที่เข้าร่วมงานวิจัยไม่ต้องเก็บเสมหะเพิ่ม
2. ผู้วิจัยจะเข้าไปชี้แจงวัตถุประสงค์ ขั้นตอนการวิจัย ประโยชน์ที่ผู้ป่วยจะได้รับ ประโยชน์ที่ได้จากการทำการศึกษา และ ผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้น ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 15 นาที
3. บันทึกข้อมูลพื้นฐานผู้ป่วย เพศ, อายุ, หอผู้ป่วยที่ผู้ป่วยกำลังรับการรักษา, โรคประจำตัว, จำนวนวันที่นอนโรงพยาบาล, วินิจฉัยโรคของผู้ป่วย (pneumonia หรือ colonization), ยาปฏิชีวนะที่เคยได้มาก่อน, ระยะเวลาของยาปฏิชีวนะที่เคยได้มาก่อน
4. บันทึกข้อมูลพื้นฐานของเสมหะ หรือ tracheal aspirate ครั้งนั้น ๆ ปริมาณและคุณภาพสิ่งส่งตรวจ, ปริมาณเชื้อที่เพาะขึ้น, จำนวนและเชื้อที่เพาะขึ้น, อุณหภูมิที่ใช้เก็บเพื่อรักษาเสมหะ และ ระยะเวลาที่เก็บเสมหะก่อนทำการทดสอบ
5. นำเสมหะ หรือ tracheal aspirates ของผู้ป่วยไปทดสอบกับชุดทดสอบ BD MAX™ CRE โดยตรง ขั้นตอนการทำคือ

5.1 ผสมเสมหะ 0.5 มล. กับ น้ำยาละลาย (lysis buffer) ที่ประกอบด้วย 4% Sodium Hydroxide, 2.9% Sodium Citrate และ NALC ในปริมาณที่เท่ากับเสมหะที่ทำการทดสอบ

5.2 ปั่นด้วยเครื่อง Vortex 2 (GIENIE) นาน 30 วินาที เพื่อทำให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน และตั้งทิ้งไว้อีกประมาณ 30 นาที

5.3 นำเข้าเครื่อง BD MAX™ system โดยเอาใส่ในช่อง ใส่สารละลายของ cartridge ของเครื่องที่เตรียมไว้ให้ โดยที่ระบบของเครื่องจะเป็นระบบปิด และอัตโนมัติ ซึ่งจะมีสารละลาย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สำหรับ extraction, master mix, primers และ probes สำหรับปฏิกิริยา PCR พร้อมทั้งหมดแล้ว ใช้เวลาในการทำประมาณ หนึ่งชั่วโมงครึ่งถึงสองชั่วโมง

5.4 ผลที่ได้เครื่องจะรายงานออกมา สามารถตรวจพบหรือไม่พบยีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์คาร์บาพีนาเมส ถ้าพบพบยีนใดบ้างใน bla$_{KPC}$, *bla*$_{NDM}$ และ *bla*$_{OXA-48}$ ตามที่กำหนดไว้ในจุดประสงค์การวิจัย

6. การตรวจตามวิธีมาตรฐาน ทำโดยนำ colony ของเชื้อที่แยกได้จากเสมหะ หรือ tracheal aspirates ของผู้ป่วย จะนำไปตรวจหายีนด้วยวิธีการ LDT-PCR ขั้นตอนคือ

6.1 นำโคโลนีของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* 4-5 โคโลนี ผสมกับ sterile water 1 มล แต่ถ้าหากมีเชื้อขึ้นน้อยให้ใช้ 1 colony ผสมกับ sterile water 0.2 มล

6.2 ต้มด้วยอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

6.3 จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปปั่น 12,000 ต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาทีในอุณหภูมิห้อง

6.4 นำสารละลายที่ผสมโคโลนีของเชื้อ ที่นำไปต้มและปั่นแล้วเอาสารแขวนลอยออกมา 0.03 มล. ผสมกับสารละลาย master mix 25 ไมโครลิตร ซึ่งมี primers สำหรับตรวจหายีน bla$_{KPC}$, *bla*$_{NDM}$, *bla*$_{IMP}$, *bla*$_{VIM}$ และ *bla*$_{OXA-48}$ โดยจะแบ่ง primers ออกเป็น multiplex สองชนิดชนิดแรกมีความสามารถตรวจหายีน *bla*$_{IMP\text{-}like}$ และ *bla*$_{VIM\text{-}like}$ อีกชนิดมีความสามารถตรวจหายีน *bla*$_{NDM\text{-}like}$, *bla*$_{OXA\text{-}48\text{-}like}$ และ *bla*$_{KPC\text{-}like}$ ตามเอกสารอ้างอิง(41, 42)

6.5 จากนั้นนำมา amplification โดยเครื่อง Ventri-96 thermal cycle

6.6 นำสารละลายที่ได้มาใส่บนเจลที่เตรียมไว้ และทำ gel electrophoresis โดยใช้กระแสไฟฟ้า 135 โวลต์ นาน 30 นาที

7. ผลที่ได้จากการหายีนจากเสมหะ หรือ tracheal aspirates และ จาก colony ที่แยกจากเสมหะของผู้ป่วย นำมาเทียบกันว่าผลที่ได้ตรงกันหรือต่างกันอย่างไร และจะนำไปคิดหา accuracy, sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value และรายงานผลรวมถึงข้อมูลอื่น ๆ ตามตารางที่แสดงไว้ในภาคผนวก

8. จากนั้นติดตามผู้ป่วยไปอีก 2 สัปดาห์เพื่อดูผลการรักษาของผู้ป่วย

9. สรุปผลการวิจัย, วิจารณ์ผล และนำเสนอต่อคณะกรรมการวิจัย

3.4 การรวบรวมข้อมูล

สถานที่เก็บข้อมูล: หอผู้ป่วยโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ทั้งหมด 40 หอผู้ป่วย และภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ ตึกอปร. ชั้น 16 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผู้เก็บข้อมูลและบันทึกข้อมูล: ผู้วิจัย โดยจะทำการบันทึกข้อมูลโดยแบ่งออกเป็น

1. ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย ประกอบด้วย อายุ, เพศ, หอผู้ป่วย, ระยะเวลาที่เข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลก่อนเก็บสิ่งส่งตรวจ, โรคร่วม, ยาปฏิชีวนะที่เคยได้รับมาก่อน และระยะเวลาที่ได้รับ, วินิจฉัยจากแพทย์

2. ข้อมูลพื้นฐานของเสมหะของผู้ป่วยประกอบด้วย คุณภาพของเสมหะ, วิธีเก็บเสมหะ (ผู้ป่วยเก็บเอง หรือ tracheal suction), ปริมาณของเชื้อที่เพาะขึ้น และ ชนิดของเชื้อและปริมาณของเชื้อที่ขึ้นร่วมด้วย

3. บันทึกข้อมูลซึ่งเป็นผลจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการประกอบด้วย ผลการทดสอบด้วยชุดทดสอบ BD MAX™ CRE, ผลการทดสอบด้วยวิธี LDT-PCR และผลการทดสอบหาความไวต่อยาปฏิชีวนะด้วยวิธี disc diffusion และการตรวจหาระดับ MICs ด้วยวิธี gradient diffusion หรือ automated AST

4. ผู้วิจัยจะแยกเชื้อเป็นสองกลุ่มเพื่อตอบคำถามหลักของงานวิจัยโดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่เป็น carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* (CPK) และ กลุ่มที่เป็น non-carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* (non-CPK)

3.5 ข้อจำกัดงานวิจัย

1. งานวิจัยชิ้นนี้เป็นงานวิจัยชิ้นแรกที่ได้นำชุดทดสอบ BD MAX™ CRE มาทดสอบกับเสมหะ หรือ tracheal aspirate โดยตรงทำให้ปัจจุบันยังไม่มีระเบียบขั้นตอนการใช้ชุดทดสอบนี้กับสิ่งส่งตรวจดังกล่าวข้างต้น ทางผู้วิจัยได้นำระเบียบขั้นตอนของชุดทดสอบของบริษัท Becton Dickinson ที่ใช้ทำการทดสอบกับเชื้อวัณโรคมาใช้ในการทำงานวิจัยชิ้นนี้แทน และได้ทดสอบกับตัวอย่างแล้ว (pilot study) ก่อนนำมาใช้ศึกษาในงานวิจัยนี้

2. กรณีที่เสมหะของผู้ป่วยเพาะเชื้อได้ *Klebsiella pneumoniae* ที่ทดสอบแล้วไม่มีการดื้อยากลุ่ม carbapenem ถ้าหากมีเชื้ออื่น ๆ ที่มียีน bla_{KPC}, bla_{NDM} และ bla_{OXA-48} อาจทำให้การทดสอบด้วยชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ได้ผลบวกซึ่งทำให้กลายเป็นผลบวกปลอมได้ แต่อย่างไรก็ตามในผู้ป่วยกลุ่มนี้ผู้วิจัยจะทำการวิเคราะห์แยกเพิ่มเติม

3. ด้วยวิธีการทางสถิติจึงกำหนดให้สิ่งส่งตรวจที่ใช้เลือกเฉพาะเสมหะ และ เชื้อที่เลือกคือ *Klebsiella pneumoniae* ดังนั้นเชื้ออื่น ๆ และสิ่งส่งตรวจอื่น ๆ นอกเหนือจากที่ทำการวิจัยหากจะนำชุดทดสอบไปใช้อาจต้องทำการทดสอบใหม่เนื่องจากอาจได้ผลที่แตกต่างกัน

4. การออกแบบของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ให้สามารถตรวจได้ 3 ยีน คือ bla_{KPC}, bla_{NDM} และ bla_{OXA-48} ทำให้อีก 2 ยีนที่สามารถพบได้ว่าเป็นยีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ carbapenemase คือ bla_{IMP}, bla_{VIM} ไม่สามารถตรวจได้จากชุดทดสอบนี้ แต่อย่างไรก็ตามจาก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การศึกษาของ Rimrang และคณะ(43) ผลปรากฏว่าเท่าที่มีรายงานในไทยมักจะยังเป็น bla_{KPC}, bla_{NDM} และ bla_{OXA-48} อยู่ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ แพทย์หญิง ณัชชา แซ่เตียว(39) ที่ได้ทำการศึกษาไว้ในสถานที่ทำการวิจัยเดียวกัน

3.6 การเปิดเผยข้อมูลแสดงตัวตนของผู้ป่วย

ข้อมูลที่แสดงตัวตนของผู้ป่วยไม่ว่าจะเป็นชื่อ, เลขประจำตัวโรคพยาบาล หรือ รวมไปถึงข้อมูลที่มีแนวโน้มจะทำให้ทราบตัวตนของผู้ป่วยเช่น หอผู้ป่วย และวันที่เข้ารับการรักษาจะถูกเก็บไว้เป็นความลับ จะไม่มีการนำข้อมูลเหล่านี้ไปเปิดเผยโดยไม่ได้รับอนุญาตโดยเด็ดขาด สำหรับขั้นตอนการวิเคราะห์ข้อมูล จะให้ใช้รหัสแทนสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยแต่ละราย ในการตีพิมพ์ผลงานการวิจัยหรือการนำเสนอจะนำเสนอในภาพรวมของผลการวิจัยเท่านั้น จะไม่มีการแสดงข้อมูลรายบุคคลหรือนำข้อมูลที่แสดงตัวตนได้ไปเปิดเผยโดยเด็ดขาด

3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยในแต่ละกลุ่ม ได้แก่ อายุ, เพศ, หอผู้ป่วย, ระยะเวลาที่เข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลก่อนเก็บสิ่งส่งตรวจ, โรคร่วม, ยาปฏิชีวนะที่เคยได้รับมาก่อน และระยะเวลาที่ได้รับ, วินิจฉัยจากแพทย์ สำหรับข้อมูลเหล่านี้ถ้าเป็นข้อมูลเชิงคุณภาพจะแสดงเป็นร้อยละ และทดสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วย Chi-square test หรือ Fisher's exact test สำหรับข้อมูลเชิงปริมาณในงานวิจัยนี้ทั้งหมดไม่ได้มีการแจกแจงแบบปกติจะแสดงเป็นค่ามัธยฐานและพิสัยระหว่างควอร์ไทล์ (interquartile range; IQR) และทดสอบความต่างระหว่างสองกลุ่มด้วย Wilcoxon rank sum test และใช้ค่า p-value < 0.05 กำหนดให้เป็นค่าที่แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ข้อมูลพื้นฐานของเสมหะในแต่ละกลุ่ม ได้แก่ คุณภาพของเสมหะ, วิธีเก็บเสมหะ (ผู้ป่วยเก็บเอง หรือ tracheal suction), ปริมาณของเชื้อที่เพาะขึ้น และ ชนิดของเชื้อและปริมาณของเชื้อที่ขึ้นร่วมด้วย แสดง และทดสอบความแตกต่างลักษณเดียวกันกับข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย

การวิเคราะห์ความถูกต้องของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE แสดงเป็นค่าความไว (sensitivity), ความจำเพาะ (specificity), positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV) และ ความถูกต้อง accuracy โดยจะแสดงเป็นค่าร้อยละ และช่วงความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 (95% confidence interval; 95% CI)

ผู้วิจัยทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ SPSS version 17

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ประชากรที่นำมาศึกษา

ผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ทั้ง 40 หอผู้ป่วย ระยะเวลาตั้งแต่เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2560 ถึง เดือนธันวาคม พ.ศ. 2560 มีผลเพาะเชื้อจากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจเป็น *Klebsiella pneumoniae* 169 ตัวอย่างจากผู้ป่วยทั้งหมด 169 ราย

4.2 ลักษณะของผู้ป่วยที่มีสิ่งส่งตรวจทางระบบทางเดินหายใจพบเชื้อ *K. pneumoniae*

ผู้ป่วยทั้งหมด 169 ราย ที่มีผลเพาะเชื้อจากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจ (เสมหะ และ tracheal aspirate) เป็นเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* โดยผู้ป่วยทั้งหมดเข้ารับการรักษาตัวในหอผู้ป่วยใน อายุรกรรม, ศัลยกรรม, ออร์โธปิดิกส์ สูติ-นรีเวช, รังสีวิทยา และ อุบัติเหตุ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ พบเชื้อดื้อยา carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* (CPK) และยืนยันโดยใช้วิธีการตรวจ laboratory-developed polymerase chain reaction (LDT-PCR) ซึ่งเป็นวิธีการตรวจมาตรฐาน (gold standard) จากโคโลนีของเชื้อ ทั้งหมด 18 ราย (ร้อยละ 10.6) คุณลักษณะของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม ทั้งมีเสมหะพบเชื้อ CPK และ พบเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ที่ไม่สร้างคาร์บาพีนาเมส (non-CPK) ดังแสดงใน**ตารางที่ 5**

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จากผู้ป่วย 169 ราย มีผู้ป่วยเพศชาย 95 ราย (ร้อยละ 56.2) และ เพศหญิง 74 ราย (ร้อยละ 43.7) มีค่ามัธยฐานของอายุอยู่ที่ 70 ปี (ค่าพิสัยระหว่างควอร์ไทล์; IQR 58.25 ถึง 79 ปี) ผู้ป่วยเข้ารับการรักษาตัวในหอผู้ป่วยอายุรกรรมมากที่สุด 121 ราย (ร้อยละ 71.6) และ ส่วนใหญ่รับการรักษาตัวนอกหอผู้ป่วยวิกฤต 152 ราย (ร้อยละ 89.9) โรคร่วมที่พบมากที่สุดคือ มะเร็ง (malignancy) 56 ราย (ร้อยละ 33.1) รองลงไปเป็นโรคหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular disease) 44 ราย (ร้อยละ 26) เบาหวาน (diabetes mellitus) และโรคทางระบบประสาท (cerebrovascular disease/neurological condition) เท่ากันชนิดละ 31 ราย (ร้อยละ 18.3) ผู้ป่วยหลังผ่าตัด หรือได้รับอุบัติเหตุ 22 ราย (ร้อยละ 13) ผู้ป่วย 74 ราย (ร้อยละ 43.8) ได้รับยาปฏิชีวนะก่อนการเก็บสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจพบเชื้อ *K. pneumoniae* โดยยากลุ่ม cephalosporin เป็นกลุ่มยาปฏิชีวนะที่มีการสั่งใช้มากที่สุด 32 ราย (ร้อยละ 18.9) พบรองลงไปเป็นกลุ่ม beta-lactam/beta-lactamase inhibitor 20 ราย (ร้อยละ 11.8) และ คาร์บาพีเน็ม 16

ราย (ร้อยละ 9.5) ค่ามัธยฐานของจำนวนวันในการสั่งใช้ยาปฏิชีวนะก่อนการเก็บสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจอยู่ที่ 7 วัน (ค่าพิสัยระหว่างควอร์ไทล์; IQR 7 ถึง 14 วัน)

สิ่งส่งตรวจมีคุณภาพของเสมหะอยู่ในระดับ 4 ถึง 5 137 ตัวอย่าง (ร้อยละ 81.1) ส่วนใหญ่เป็นการเก็บโดยใช้การดูดจากท่อช่วยหายใจ 92 ราย (ร้อยละ 54.4) สถานะของเชื้อ *K. pneumoniae* ในผู้ป่วยที่ทำให้เกิดการติดเชื้อ 99 ราย (ร้อยละ 58.5) โดยติดเชื้อปอดอักเสบจากเครื่องช่วยหายใจ (ventilator-associated pneumoniae) มากที่สุด 38 ราย (ร้อยละ 22.4) รองลงไปเป็น ปอดอักเสบในโรงพยาบาล (hospital-acquired pneumonia 33 ราย (ร้อยละ 19.5) ปอดอักเสบชุมชน 28 ราย (ร้อยละ 16.6) และไม่ก่อให้เกิดการติดเชื้อ (colonization) 70 ราย (ร้อยละ 41.4) มีผู้ป่วยเสียชีวิตจากทุกสาเหตุที่ 14 วันทั้งหมด 43 ราย (คิดเป็นร้อยละ 25.4)

4.3 เปรียบเทียบลักษณะของประชากรระหว่างกลุ่มที่มีเสมหะพบเชื้อ CPK และ กลุ่มที่ไม่พบเชื้อ CPK (non-CPK)

หากนำสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจจากผู้ป่วยทั้งหมด 169 ราย มาทำการทดสอบเพื่อหาเชื้อ *K. pneumonaie* ที่สามารถสร้างเอนไซม์ carbapenemase ด้วยวิธีมาตรฐาน คือ LDT-PCR ทำให้แบ่งผู้ป่วยออกได้เป็นสองกลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่มี carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* (CPK) จำนวน 18 ราย (ร้อยละ 10.6) และกลุ่มที่ไม่มี carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* (non-CPK) ทั้งหมด 151 ราย (ร้อยละ 89.3)

จากผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม ค่ามัธยฐานของอายุในกลุ่ม CPK น้อยกว่ากลุ่ม non-CPK อยู่เล็กน้อย (61 ปี, ค่าพิสัยระหว่างควอร์ไทล์; IQR 54 ถึง 76.75 ปี และ 70 ปี, ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์; IQR 59 ถึง 79.25 ปี ตามลำดับ) แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*=0.42) นอกจากนี้สัดส่วนระหว่างเพศชายและหญิง และการเข้ารับการรักษาตัวในหอผู้ป่วยวิกฤตไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มเช่นเดียวกัน ค่ามัธยฐานของระยะเวลาที่เข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลของกลุ่ม CPK นานกว่ากลุ่ม non-CPK (13.5 วัน, ค่าพิสัยระหว่างควอร์ไทล์; IQR 5.5 ถึง 30.5 วัน และ 4 วัน, ค่าพิสัยระหว่างควอร์ไทล์; IQR 1 ถึง 16 วันตามลำดับ) แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*=0.06) โรคร่วมในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันยกเว้น ผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดและอุบัติเหตุพบสูงกว่าในกลุ่ม CPK (ร้อยละ 27.8) เทียบกับกลุ่ม non-CPK (ร้อยละ 11.2) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*=0.04) **(ตารางที่ 5)** สัดส่วนของผู้ป่วยที่ได้รับยาปฏิชีวนะก่อนการเก็บสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจในกลุ่ม CPK มี 12 ราย (ร้อยละ 66.7) มากกว่ากลุ่ม non-CPK 62 ราย (ร้อยละ 41.1) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*=0.04) cephalosporin เป็นยาปฏิชีวนะที่มีการสั่งใช้มากที่สุดแต่ไม่มีความแตกต่างกันทั้งสองกลุ่ม (*P*=0.79) แต่ยาปฏิชีวนะในกลุ่มอื่น beta-lactam/beta-

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

lactamase inhibitor, carbapenem และ ยาปฏิชีวนะในกลุ่มอื่น ๆ (penicillin, glycopeptide, aminoglycoside) มีการสั่งใช้สูงกว่าในผู้ป่วยกลุ่ม CPK อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*=0.03, *P*=0.04 และ *P*=0.03 ตามลำดับ) ค่ามัธยฐานของระยะเวลาการได้รับยาปฏิชีวนะก่อนการเก็บสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจนานกว่าในกลุ่ม CPK เมื่อเทียบกับกลุ่ม non-CPK เล็กน้อย (10 วัน, ค่าพิสัยระหว่างควอร์ไทล์; IQR 7.5 ถึง 24 วัน เทียบกับ 7 วัน, ค่าพิสัยระหว่างควอร์ไทล์; IQR 6.25 ถึง 4) แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*=0.08) นอกจากนี้คุณภาพของเสมหะ, ปริมาณของเชื้อที่เพาะขึ้น, สถาณะของเชื้อ *K. pneumoniae* ไม่มีความแตกต่างในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม เช่นเดียวกันกับอัตราตายที่มากกว่าในผู้ป่วยกลุ่ม CPK (ร้อยละ 33.3) เทียบกับกลุ่ม non-CPK (ร้อยละ 24.5) แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*=0.41)

ผู้ป่วย 18 รายที่มีเสมหะมีผลการทดสอบยืนยันด้วยวิธี LDT-PCR 11 รายมีการติดเชื้อ และอีก 7 รายไม่มีการติดเชื้อ (colonization) คุณสมบัติพื้นฐานของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มดังแสดงใน**ตารางที่ 6** ไม่มีความแตกต่างกันในด้านของอายุ, เพศ, หอผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษา, สัดส่วนที่เข้ารับการรักษาในหอผู้ป่วยวิกฤต และ ระยะเวลาตั้งแต่เข้ารับการรักษาจนถึงเก็บสิ่งส่งตรวจ ยกเว้นโรคร่วมทางระบบประสาท (cerebrovascular disease/neurological condition) ที่มีแนวโน้มสูงกว่าในกลุ่มที่ไม่มีการติดเชื้อ (ร้อยละ 42.9) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่มีการติดเชื้อ (ร้อยละ 9.1) โดยไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*=0.09) สัดส่วนของผู้ที่ได้ยาปฏิชีวนะไม่แตกต่างกันในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม แต่ผู้ป่วยที่ได้ยาปฏิชีวนะมีแนวโน้มค่ามัธยฐานของเวลาการได้ยาปฏิชีวนะนานกว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีการติดเชื้อ (17.5 วัน, ค่าพิสัยควอร์ไทล์; IQR 10.25 ถึง 24 วัน) เทียบกับกลุ่มที่มีการติดเชื้อ (10 วัน, ค่าพิสัยควอร์ไทล์; IQR 5 ถึง 24 วัน) โดยไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*= 0.39)

เสมหะของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทั้งในด้านคุณภาพ, ปริมาณของเชื้อ จากผู้ป่วย 11 รายในกลุ่มที่ติดเชื้อ *K. pneumoniae* การติดเชื้อปอดอักเสบในโรงพยาบาล และ จากเครื่องช่วยหายใจพบได้มากที่สุดในผู้ป่วยกลุ่มนี้ (5 ราย, ร้อยละ 45.5 เท่ากันทั้งสองวินิจฉัย) และรองลงไปเป็น ปอดอักเสบชุมชน (1 ราย, ร้อยละ 9) อัตราการตายในพบมากกว่าในกลุ่มที่มีการติดเชื้อ (5 ราย, ร้อยละ 45.5) เทียบกับกลุ่มที่ไม่มีการติดเชื้อ (1 ราย, ร้อยละ 14.3) แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*=0.17)

ความไวของยาปฏิชีวนะต่อเชื้อในกลุ่ม CPK ทั้งหมด 18 ตัวอย่าง ต่อยา imipenem, amikacin, gentamicin และ trimethoprim/sulfamethoxazole ดังแสดงใน**ตารางที่ 7** เชื้อที่ดื้อยากลุ่ม carbapenem ในการศึกษานี้ไวต่อยา amikacin มากที่สุด 16 ตัวอย่าง (ร้อยละ 88.9) รองลงไปเป็น gentamicin 15 ตัวอย่าง (ร้อยละ 83.3) และ trimethoprim/ sulfamethoxazole 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 5.6) จาก 18 ตัวอย่างนี้รายงานเป็น non-susceptibility ทั้งหมด แต่มี 5 ตัวอย่างให้ผลความไวด้วยวิธี disc diffusion ออกมาเป็น intermediate ซึ่งในตัวอย่างกลุ่มนี้ผลการทดสอบ

ด้วยวิธี LDT-PCR ให้ผลรายงานพบยีน bla_{OXA-48} ทั้งหมด ซึ่งเมื่อเทียบกับการทดสอบด้วยชุดทดสอบ BD MAX™ CRE พบให้ผลบวก 4 ราย เป็นยีน bla_{OXA-48} ทั้งหมด (ตรงกันร้อยละ 80.0) และจาก 5 ตัวอย่างนี้พบเชื้ออื่นร่วมด้วย 3 ตัวอย่าง *Stenotrophomonas maltophilia* 2 ตัวอย่าง และ *Acinetobacter baumannii* 1 ตัวอย่าง แต่อย่างไรก็ตามเชื้อที่พบนี้ไม่ดื้อยากลุ่ม carbapenem แต่อย่างใด

ประสิทธิภาพของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการตรวจมาตรฐาน LDT-PCR พบว่ามีความไวอยู่ที่ร้อยละ 66.7 (95% confident interval (CI), 40.9 ถึง 86.6) ความจำเพาะร้อยละ 94 (95% CI, 88.9 ถึง 97.24) positive predictive value ร้อยละ 57.1 (95% CI, 39.53 ถึง 73.12) และ negative predictive value ร้อยละ 95.9 (95% CI, 92.48 ถึง 97.85) ดังแสดงใน**ตารางที่ 8**

4.4 เปรียบเทียบลักษณะของประชากรระหว่างกลุ่มที่มีเสมหะพบเชื้อที่ดื้อยากลุ่ม carbapenem (carbapenem-resistant organisms (CROs)) และกลุ่มที่มีเสมหะพบเชื้อไม่ดื้อยากลุ่ม carbapenem (non carbapenem-resistant organism (non-CROs))

ผู้ป่วย 72 รายมีผลเพาะเชื้อจากเสมหะพบเชื้อมากกว่าหนึ่งชนิด โดยเป็นตัวอย่างที่มีเชื้อดื้อยากลุ่ม carbapenem (carbapenem-resistant organisms (CROs)) ทดสอบโดยวิธี disc diffusion ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง (ร้อยละ 20.8) โดยพบเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* มากที่สุด 9 ตัวอย่าง รองลงไปเป็น *Acinetobacter baumannii* 6 ตัวอย่าง, *Stenotrophomonas maltophilia* 2 ตัวอย่าง, *Providencia stuartii* 1 ตัวอย่าง ดังนั้นถ้ารวมตัวอย่างที่มี CPK ซึ่งดื้อยากลุ่ม carbapenem เช่นเดียวกัน 17 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้นจะมีตัวอย่างสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจที่พบเชื้อดื้อยา carbapenem (CRO) ทั้งหมด 32 ตัวอย่าง (ร้อยละ 44.4) ซึ่งคุณลักษณะของประชากรในกลุ่ม CRO เทียบกับ non-CRO ดังแสดงใน**ตารางที่ 9** ไม่พบความแตกต่างระหว่างอายุ, เพศ, หอผู้ป่วยในที่เข้ารับการรักษา และ สัดส่วนของผู้ป่วยที่ต้องเข้ารับการรักษาในหอผู้ป่วยวิกฤตในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม ค่ามัธยฐานของระยะเวลาเข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลในกลุ่ม CRO (11.5 วัน, ค่าพิสัยระหว่างควอร์ไทล์; IQR 1.75 ถึง 30.75 วัน) นานกว่ากลุ่ม non-CRO (4 วัน, ค่าพิสัยระหว่างควอร์ไทล์; IQR 1 ถึง 14 วัน) แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.06) ผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มมีโรคร่วมไม่แตกต่างกันยกเว้น โรคทางระบบประสาทที่มีมากกว่าในกลุ่ม CRO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.001) ประวัติการได้รับยาปฏิชีวนะมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่ม CRO (22 ราย, ร้อยละ 68.8 เทียบกับ 52 ราย, ร้อยละ 38; P=0.001) ซึ่งยาในกลุ่ม fluoroquinolone และ carbapenem เป็นยาที่ได้รับมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.003 และ P=0.04 ตามลำดับ)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ค่ามัธยฐานของการได้รับยาปฏิชีวนะนานกว่าในกลุ่ม CRO (10 วัน, ค่าพิสัยระหว่างควอร์ไทล์; IQR 7 ถึง 17 วัน เทียบกับ 7 วัน, ค่าพิสัยระหว่างควอร์ไทล์; IQR 5 ถึง 13.5 วัน; *P*=0.005) สิ่งส่งตรวจของทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทั้งคุณภาพของส่งส่งตรวจและปริมาณของเชื้อที่พบขึ้นระหว่างสองกลุ่ม อัตราตายสูงกว่าในกลุ่ม CRO (ร้อยละ 37.5) เทียบกับกลุ่ม non-CRO (ร้อยละ 22.6) ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*=0.08)

4.5 ประสิทธิภาพของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ในการตรวจหายีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ที่สร้างจากเชื้อ *K. pneumoniae* โดยตรงจากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจ

ผลการทดสอบชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ดังแสดงใน**ตารางที่ 11** จาก 169 ตัวอย่าง ชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ให้ผลบวก 21 ตัวอย่าง (ร้อยละ 12.4) และ ผลลบ 148 ตัวอย่าง (ร้อยละ 87.6) และเมื่อนำชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ไปทำการทดสอบในตัวอย่างที่ให้ผลบวกโดยการทดสอบมาตรฐาน LDT-PCR ผลปรากฏว่าให้ผลบวก 12 ตัวอย่าง (ร้อยละ 66.7) และเมื่อนำชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ไปทำการทดสอบในตัวอย่างที่ให้ผลลบโดยการทดสอบมาตรฐาน LDT-PCR ผลปรากฏว่าว่าให้ผลลบ 142 ตัวอย่าง (ร้อยละ 94)

โดย 9 ตัวอย่างที่เป็นผลบวกลวง (false-positive results) จากการทดสอบด้วยชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ได้แสดงใน**ตารางที่ 12** 7 จาก 9 ตัวอย่างมีเชื้ออื่นร่วมด้วย โดย *P. aeruginosa* เป็นเชื้อที่พบร่วมได้มากที่สุด 3 ตัวอย่าง รองลงไปเป็น *A. baumannii* 7 ตัวอย่าง และ *Streptococcus pneumoniae* และ *Enterobacter cloacae* อย่างละ 1 ตัวอย่าง จาก 7 ตัวอย่างที่มีเชื้ออื่นร่วมด้วยและให้ผลบวกลวงกับการทดสอบ BD MAX™ CRE พบว่ามีเชื้อที่ดื้อยา carbapenem 2 ตัวอย่าง คือ *P. aeruginosa* 2 ตัวอย่าง (ร้อยละ 22.2) และ *A. baumannii* 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 11.1) ยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์คาร์บาร์พีนาเมสที่รายงานเป็นผลบวกลวงจาก 9 ตัวอย่าง ยีนที่พบได้มากที่สุดคือ ยีน $bla_{\text{NDM-1}}$ 4 ตัวอย่าง (ร้อยละ 44.4) รองลงไปเป็น ยีน $bla_{\text{OXA-48}}$ 2 ตัวอย่าง (ร้อยละ 22.2) และ ยีน bla_{KPC} 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 11.1) ในขณะที่พบร่วมกันสองยีนคือ ยีน $bla_{\text{NDM-1}}$ ร่วมกับยีน $bla_{\text{OXA-48}}$ พบได้ 2 ตัวอย่าง (ร้อยละ 22.2) เชื้อที่ดื้อต่อยา carbapenem ที่พบร่วมทั้งหมด 3 ตัวอย่าง ชุดทดสอบ BD MAX™ CRE รายงานเป็นยีน $bla_{\text{OXA-48}}$ ทั้งหมด ปริมาณของเชื้อ *K. pneumoniae* ที่เป็นผลบวกปลอมของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE เพาะเชื้อขึ้นปริมาณมาก (heavy growth) 8 ตัวอย่าง (ร้อยละ 89.0) มีสิ่งส่งตรวจ 6 ตัวอย่างที่เป็นผลลบลวง (false-negative results) ด้วยชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ได้แสดงลักษณะพื้นฐานของประชากร ดังแสดงใน**ตารางที่ 13**

สิ่งส่งตรวจ 32 ตัวอย่างให้ผลการทดสอบดื้อต่อยากลุ่ม carbapenem ด้วยการทดสอบความไวต่อยา เมื่อนำชุดทดสอบ BD MAX™ CRE มาทดสอบในกลุ่มนี้ได้ผลว่าให้ผลบวก 15

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตัวอย่าง (ร้อยละ 46.8) ในขณะที่ทดสอบความไวต่อยา ให้ผลไวต่อ carbapenem 137 ตัวอย่าง เมื่อนำชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ให้ผลลบ 130 ตัวอย่าง (ร้อยละ 94.9) ความไว, ความจำเพาะ, positive predictive value และ negative predictive value ในการตรวจหายีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase จากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจโดยตรงโดยใช้ชุดทดสอบ BD MAX™ CRE เมื่อเทียบกับการตรวจหาเชื้อดื้อยาด้วยวิธี conventional AST ดังแสดงใน**ตารางที่ 14** ความแม่นยำของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE เมื่อเทียบกับการตรวจ conventional AST ได้ผลร้อยละ 91.12 และในกลุ่มที่ผลทดสอบชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ให้ผลลบลวง ได้มาแจกแจงสาเหตุที่เป็นไปได้ใน**ตารางที่ 15** คือการทดสอบความไวต่อยา (ผู้วิจัยมีการทดสอบความไวต่อยา (conventional antimicrobial susceptibility test (AST) สามวิธี คือ disc diffusion, Etest และ Vitek 2 system)) และ LDT-PCR ให้ผลตรงกันมีทั้งหมด 5 ตัวอย่าง ซึ่งสาเหตุที่เป็นไปได้ เช่น เป็นยีนอื่นที่สามารถตรวจพบได้จากกการทดสอบมาตรฐาน LDT-PCR แต่ไม่พบในชุดทดสอบ BD MAX™ CRE เช่น bla_{VIM} และ bla_{IMP} แต่อย่างไรก็ตามไม่พบในการศึกษานี้ และมี 1 ตัวอย่างที่การทดสอบความไวต่อยากลุ่ม carbapenem ด้วยวิธี disc diffusion ให้ผลไวต่อยาแต่ผลการตรวจมาตรฐานด้วยวิธี LDT-PCR ให้ผลบวก อาจเป็นผลมาจากยีน bla_{OXA-48} จะมีการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ออกมาในระดับที่น้อยทำให้ไม่สามารถตรวจได้จาก conventional AST

ความสัมพันธ์ของผลการทดสอบด้วย BD MAX™ CRE, การทดสอบโดย conventional AST และ การทดสอบด้วยวิธี LDT-PCR ได้แสดงไว้ในงานวิจัยชิ้นนี้ด้วย ผลการทดสอบโดย conventional AST จากเชื้อ *K. pneumoniae* พบว่ามี การดื้อยา carbapenem 17 ตัวอย่าง เมื่อนำมาทดสอบโดยชุดทดสอบ BD MAX™ CRE พบว่าให้ผลบวกตรงกัน 11 ตัวอย่าง และมี 6 ตัวอย่างที่ให้ผลลบ ซึ่ง 5 ใน 6 ตัวอย่างมีผลการทดสอบมาตรฐาน LDT-PCR ที่ให้ผลบวก ซึ่งผู้วิจัยได้เขียนสาเหตุที่เป็นไปได้ไว้ข้างต้นแล้ว อีก 1 ตัวอย่างที่เป็นผลลบลวงของ BD MAX™ CRE ซึ่งการทดสอบมาตรฐาน LDT-PCR ให้ผลลบเช่นกัน อาจเป็นเชื้อที่มีการดื้อยาด้วยกลไกอื่นที่ไม่ใช้การสร้าง carbapenemase

ประสิทธิภาพของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ในการตรวจหาเชื้อ carbapenem-resistant *K. pneumoniae* เทียบกับ การทดสอบ conventional AST ดังแสดงใน**ตารางที่ 16** ผลการทดสอบพบว่าความไวของ BD MAX™ CRE (sensitivity) ร้อยละ 64.71 (95% CI, 92.5 ถึง 97.82), ค่าความจำเพาะร้อยละ 92.76 (95% CI, 87.42 ถึง 96.33) positive predictive value ร้อยละ 50 (95% CI, 33.88 ถึง 66.21) และ negative predictive value ร้อยละ 95.92 (95% CI, 92.5 ถึง 97.82) นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้ทำการเปรียบเทียบระหว่าง การทดสอบ conventional AST เพื่อตรวจหาการดื้อยา carbapenem เทียบกับการทดสอบมาตรฐานด้วยวิธี LDT-PCR พบว่าสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจพบเชื้อที่รายงานผล resistant หรือ intermediate จากการทดสอบ

conventional AST ทั้งหมด 17 ตัวอย่าง ซึ่งเมื่อนำมาทดสอบโดย LDT-PCR พบยีนดื้อยาทั้งหมด 16 ตัวอย่าง **(ตารางที่ 17)** หนึ่งตัวอย่างที่ให้ผลดื้อยากับการทดสอบ conventional AST แต่ไม่สามารถตรวจพบยีนดื้อยาจาก LDT-PCR อาจเนื่องมาจาก สาเหตุแรก สิ่งส่งตรวจนั้น ๆ ไม่ได้ดื้อยา carbapenem ด้วยวิธีการสร้างเอนไซม์ carbapenemase อาจเป็นดื้อด้วยกลไกอื่น สาเหตุที่สอง สิ่งส่งตรวจนั้น ๆ ดื้อยาด้วยวิธีการสร้างเอนไซม์ carbapenemase แต่ไม่ได้ควบคุมด้วยยีนที่การตรวจ LDT-PCR สามารถตรวจได้ ดังนั้นถ้าให้การตรวจหาเชื้อดื้อยาเป็นการทดสอบมาตรฐาน ประสิทธิภาพของ LDT-PCR จะมีความไว (sensitivity) ร้อยละ 94.1 (95% CI, 71.3 ถึง 99.8) ความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 98.7 (95% CI, 95.3 ถึง 99.8) predictive positive value ร้อยละ 88.9 (95% CI, 66.7 ถึง 96.9) และ negative predictive value ร้อยละ 99.3 (95% CI, 95.7 ถึง 99.9) และความแม่นยำของชุดทดสอบ BD MAX^{TM} CRE และ LDT-PCR ถ้าให้การทดสอบ conventional AST เป็นการทดสอบมาตรฐานจะได้ร้อยละ 90.57 (95% CI, 84.92 ถึง 98.23) และร้อยละ 98.22 (95% CI, 94.9 ถึง 99.6) ตามลำดับ

ยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase จากการทดสอบมาตรฐาน LDT-PCR **(ตารางที่ 18)** ยีนที่พบได้มากที่สุดคือ ยีน bla_{OXA-48} พบใน 17 ตัวอย่างจากสิ่งส่งตรวจที่พบยีน 18 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 94.4 รองลงไปเป็น bla_{NDM-1} พบ 7 ตัวอย่าง (ร้อยละ 38.9) ในงานวิจัยชิ้นนี้ไม่พบยีน bla_{KPC}, bla_{VIM} และ bla_{IMP} และมี 6 ตัวอย่างที่มียีนร่วมกัน 2 ยีน คือ ยีน bla_{OXA-48} ร่วมกับ ยีน bla_{NDM-1} คิดเป็นร้อยละ 33.3 และ 6 ตัวอย่างที่มีผลการทดสอบจากชุดทดสอบ BD MAX^{TM} CRE เป็นลบมีผลการทดสอบโดยชุดทดสอบมาตรฐาน LDT-PCR เป็นยีน bla_{OXA-48} ทั้งหมด

4.6 ประสิทธิภาพของชุดทดสอบ BD MAX^{TM} CRE ในการตรวจหายีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ที่สร้างจากเชื้อ *K. pneumoniae* โดยตรงจากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจ โดยเลือกเฉพาะเสมหะเพาะขึ้นเชื้อ *K. pneumoniae* เท่านั้น

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่าในผลการทดสอบหายีนควบคุมการสร้างเอนไซม์คาร์บาพีนาเมสด้วยชุดทดสอบ BD MAX^{TM} CRE ที่เป็นผลบวกลวงสาเหตุที่อาจเป็นได้คือการที่ตรวจพบยีนดื้อยาที่อยู่ในเชื้อที่ปนเปื้อนที่ไม่ใช่เชื้อ *K. pneumoniae* ดังนั้นหากนำสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจที่ไม่มีเชื้ออื่นปนอาจทำให้ได้ผลการทดสอบที่แม่นยำขึ้นจากชุดทดสอบ BD MAX^{TM} CRE

สิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจจากผู้ป่วยที่มีเฉพาะเชื้อ *K. pneumoniae* เท่านั้นมาทดสอบทั้งหมด 97 ราย มาทำการทดสอบเพื่อหาเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สามารถสร้างเอนไซม์ carbapenemase ด้วยวิธีมาตรฐาน คือ LDT-PCR ทำให้แบ่งผู้ป่วยออกได้เป็นสองกลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่มี carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* (CPK) จำนวน 13 ราย (ร้อยละ

13.4) และกลุ่มที่ไม่มี carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* (non-CPK) ทั้งหมด 84 ราย (ร้อยละ 86.6)

จากผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม ค่ามัธยฐานของอายุในกลุ่ม CPK น้อยกว่ากลุ่ม non-CPK อยู่เล็กน้อย (60 ปี, ค่าพิสัยระหว่างควอร์ไทล์; IQR 54 ถึง 77.5 ปี และ 68.5 ปี, ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์; IQR 59 ถึง 80.75 ปี ตามลำดับ) แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*=0.34) สัดส่วนระหว่างเพศชายและหญิง และการเข้ารับการรักษาตัวในหอผู้ป่วยวิกฤตไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มเช่นเดียวกัน ค่ามัธยฐานของระยะเวลาที่เข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลก่อนเก็บสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจของกลุ่ม CPK นานกว่ากลุ่ม non-CPK (15 วัน, ค่าพิสัยระหว่างควอร์ไทล์; IQR 1 ถึง 31 วัน และ 3 วัน, ค่าพิสัยระหว่างควอร์ไทล์; IQR 1 ถึง 11 วันตามลำดับ) แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*=0.07) โรคร่วมในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันยกเว้น ผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดและอุบัติเหตุพบสูงกว่าในกลุ่ม CPK (ร้อยละ 38.4) เทียบกับกลุ่ม non-CPK (ร้อยละ 8.3) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*=0.002) **(ตารางที่ 19)** สัดส่วนของผู้ป่วยที่ได้รับยาปฏิชีวนะก่อนการเก็บสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจในกลุ่ม CPK มี 9 ราย (ร้อยละ 69.2) มากกว่ากลุ่ม non-CPK 29 ราย (ร้อยละ 34.5) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*=0.01) carbapenem มีการสั่งใช้สูงกว่าในผู้ป่วยกลุ่ม CPK อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*=0.00009) ค่ามัธยฐานของระยะเวลาการได้รับยาปฏิชีวนะก่อนการเก็บสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจนานกว่าในกลุ่ม CPK เมื่อเทียบกับกลุ่ม non-CPK อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (10 วัน, ค่าพิสัยระหว่างควอร์ไทล์; IQR 8 ถึง 23 วัน เทียบกับ 7 วัน, ค่าพิสัยระหว่างควอร์ไทล์; IQR 5 ถึง 11.5 (*P*=0.02)) นอกจากนี้คุณภาพของเสมหะ, ปริมาณของเชื้อที่เพาะขึ้น, สถานะของเชื้อ *K. pneumoniae* ไม่มีความแตกต่างในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม เช่นเดียวกันกับอัตราตายที่มากกว่าในผู้ป่วยกลุ่ม CPK (ร้อยละ 30.7) เทียบกับกลุ่ม non-CPK (ร้อยละ 26.2) แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*=0.72) จากที่ได้แสดงลักษณะพื้นฐานของประชากรรวมไปถึงความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่มีเชื้อ CPK และ non-CPK เมื่อแยกผู้ป่วยที่มีเสมหะเพาะเชื้อพบเชื้อหลายชนิดออกแล้ว ผลปรากฏว่าลักษณะพื้นฐานของประชากรเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับที่มีการคิดร่วมกันกับการนับรวมสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจที่มีเชื้อหลายชนิด

ประสิทธิภาพของชุดทดสอบ BD MAX^{TM} CRE เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการตรวจมาตรฐาน LDT-PCR โดยทดสอบเฉพาะสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจที่มีเชื้อ *K.. pneumoniae* เท่านั้น พบว่ามีความไวอยู่ที่ร้อยละ 61.54 (95% confident interval (CI), 31.58 ถึง 86.14) ความจำเพาะร้อยละ 97.62 (95% CI, 91.66 ถึง 99.71) positive predictive value ร้อยละ 80 (95% CI, 48.78 ถึง 94.38) และ negative predictive value ร้อยละ 94.25 (95% CI, 89.18 ถึง 97.03) ดังแสดงในตารางที่ 20 กล่าวโดยสรุป แม้จะแยกเชื้อที่เพาะเชื้อขึ้นเชื้อชนิดอื่นร่วมด้วยจากสิ่งส่งตรวจทางเดิน

หายใจ เมื่อนำมาหาประสิทธิภาพของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ผลเป็นไปในทางเดียวกับการวิเคราะห์โดยรวมสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจที่มีเชื้อชนิดอื่นร่วมด้วย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 5 ลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วย 169 รายที่เพาะเชื้อจากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจพบเชื้อ *K. pneumoniae*

	CPK* N=18	Non-CPK N=151	Total N=169	P-value
อายุ (ปี)	61 (54-76.75)	70 (59-79.25)	70 (58.25-79)	0.42
เพศ				
ชาย	6 (33.3)	89 (58.9)	95 (56.2)	0.038
หญิง	12 (66.7)	62 (41.1)	74 (43.7)	
หอผู้ป่วย				
อายุรกรรม	12 (66.7)	109 (72.1)	121 (71.6)	0.62
ไม่ใช่อายุกรรรม	6 (33.3)	42 (27.8)	48 (28.4)	
หอผู้ป่วยวิกฤต	3 (16.6)	14 (9.3)	17 (10.0)	0.32
หอผู้ป่วยสามัญ	15 (88.3)	137 (90.7)	152 (89.9)	
ระยะเวลาเข้ารักษาตัวในโรงพยาบาลก่อนเก็บสิ่งส่งตรวจ (วัน)	13.5 (5.5-30.5)	4 (1-16)	6 (1-16.5)	0.06
โรคร่วม				
ไม่มี	2 (11.1)	21 (13.9)	23 (13.6)	0.74
เบาหวาน	4 (22.2)	27 (17.9)	31 (18.3)	0.65
โรคตับเรื้อรัง/ตับแข็ง	0 (0)	3 (2.0)	3 (1.7)	-
โรคระบบประสาท	4 (22.2)	27 (17.9)	31 (18.3)	0.65
โรคหัวใจและหลอดเลือด	2 (11.1)	42 (27.8)	44 (26.0)	0.12
หลังผ่าตัดและอุบัติเหตุ	5 (27.8)	17 (11.2)	22 (13.0)	0.04
มะเร็ง	5 (27.8)	51 (33.8)	56 (33.1)	0.61
ยากดภูมิ/HIV	3 (16.7)	15 (9.9)	18 (10.7)	0.38
อื่น ๆ	1 (5.6)	6 (4.0)	7 (4.1)	0.75
ประวัติได้รับยาปฏิชีวนะมาก่อน				
ไม่เคยได้รับ	6 (33.3)	89 (58.9)	95 (56.2)	0.04
BL/BI	5 (27.8)	15 (9.9)	20 (11.8)	0.03
Fluoroquinolone	0 (0)	4 (2.6)	4 (2.4)	-
Carbapenem	5 (27.8)	11 (7.3)	16 (9.5)	0.004
Cephalosporin	3 (16.7)	29 (19.2)	32 (18.9)	0.79
อื่น ๆ	2 (11.1)	3 (2.0)	5 (3.0)	0.03

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ระยะเวลาที่ได้รับยาปฏิชีวนะ ก่อนเก็บสิ่งส่งตรวจ (วัน)	10 (7.5-24)	7 (6.25-14)	7 (7-14)	0.08
สิ่งส่งตรวจ				
คุณภาพของสิ่งส่งตรวจ				
Grade1-2	0 (0)	1 (0.7)	1 (0.6)	-
Grade 3	4 (22.2)	28 (18.5)	32 (19.9)	0.70
Grade 4-5	14 (77.8)	123	137 (81.1)	0.70
เก็บสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจผ่านท่อช่วยหายใจ	11 (61.1)	(81.5) 81 (53.6)	92 (54.4)	0.54
ปริมาณของเชื้อที่เพาะ (โคโลนี)				
Slightly	1 (5.5)		23 (13.6)	0.29
Moderate	9 (50)	22 (14.5)	66 (39.1)	0.31
Heavy	8 (44.4)	57 (37.7) 72 (47.6)	80 (47.3)	0.79
จำนวนเชื้ออื่น ๆ นอกจาก *K. pneumoniae*	5 (27.8)	67 (44.4)	72 (47.7)	0.17
วินิจฉัยผู้ป่วย				
ไม่ติดเชื้อ	7 (38.9)	63 (41.7)	70 (41.4)	0.81
ปอดอักเสบชุมชน	1 (5.6)	27 (17.9)	28 (16.6)	0.18
ปอดอักเสบในโรงพยาบาล	5 (27.8)	28 (18.5)	33 (19.5)	0.35
ปอดอักเสบจากเครื่องช่วยหายใจ	5 (27.8)	33 (21.9)	38 (22.4)	0.57
ผลการรักษา				
เสียชีวิตที่ 2 สัปดาห์	6 (33.3)	37 (24.5)	43 (25.4)	0.41

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 6 ลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วย 18 รายที่เพาะเชื้อจากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจพบเชื้อ carbapenemase-producing *K. pneumoniae* (CPK)

	Infection N=11	**Colonization N=7**	**Total N=18**	**P-value**
อายุ (ปี)	61 (54-76)	56 (47-79)	61 (54-76.75)	0.54
เพศ				
ชาย	4 (36.3)	2 (28.6)	6 (33.3)	0.73
หญิง	7 (63.6)	5 (71.4)	12 (66.7)	
หอผู้ป่วย				
อายุรกรรม	7 (63.6)	5 (71.4)	12 (66.7)	0.73
ไม่ใช่อายุกรรรม	4 (36.3)	2 (28.6)	6 (33.3)	
หอผู้ป่วยวิกฤต	2 (18.2)	1 (14.3)	3 (16.6)	0.82
หอผู้ป่วยสามัญ	9 (81.8)	6 (85.7)	15 (8.3)	
ระยะเวลาเข้ารักษาตัวใน โรงพยาบาลก่อนเก็บสิ่งส่งตรวจ (วัน)	12 (1-16)	17 (7-37)	13.5 (5.5-30.5)	0.43
โรคร่วม				
ไม่มี	2 (18.2)	0 (0)	2 (11.1)	-
เบาหวาน	2 (18.2)	2 (28.6)	4 (22.2)	0.60
โรคตับเรื้อรัง/ตับแข็ง	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-
โรคระบบประสาท	1 (9.1)	3 (42.9)	4 (22.2)	0.09
โรคหัวใจและหลอดเลือด	1 (9.1)	1 (14.3)	2 (11.1)	0.73
หลังผ่าตัดและอุบัติเหตุ	3 (27.3)	2 (28.6)	5 (27.8)	0.95
มะเร็ง	3 (27.3)	2 (28.6)	5 (27.8)	0.95
ยากดภูมิ/HIV	2 (18.2)	1 (14.3)	3 (16.7)	0.82
อื่น ๆ	0 (0)	1 (14.3)	1 (5.6)	
ประวัติได้รับยาปฏิชีวนะมาก่อน				
ไม่เคยได้รับ				
BL/BI	3 (27.3)	3 (42.9)	6 (33.3)	0.49
Fluoroquinolone	4 (36.4)	1 (14.3)	5 (27.8)	0.30
Carbapenem	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-
Cephalosporin	3 (27.3)	2 (28.6)	5 (27.8)	0.95
อื่น ๆ	2 (18.2)	1 (14.3)	3 (16.7)	0.82
	1 (9.1)	1 (14.3)	2 (11.1)	0.73

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ระยะเวลาที่ได้รับยาปฏิชีวนะ ก่อนเก็บสิ่งส่งตรวจ (วัน)	10 (6.25-21.25)	17.5 (10.25-24)	10 (7.5-24)	0.39
สิ่งส่งตรวจ				
คุณภาพของสิ่งส่งตรวจ				
Grade1-2	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-
Grade 3	2 (18.2)	2 (28.6)	4 (22.2)	0.60
Grade 4-5	9 (81.)	5 (71.4)	14 (77.8)	0.60
เก็บสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจผ่านท่อช่วยหายใจ	8 (72.7)	3 (42.9)	11 (61.1)	0.20
ปริมาณของเชื้อที่เพาะ (โคโลนี)				
Slightly	0 (0)	1 (14.3)	1 (5.5)	-
Moderate	5 (45.5)	4 (57.1)	9 (50)	0.62
Heavy	6 (54.5)	2 (28.6)	8 (44.4)	0.27
จำนวนเชื้ออื่น ๆ นอกจาก *K. pneumoniae*	3 (27.3)	2 (28.6)	5 (27.8)	0.95
วินิจฉัยผู้ป่วย				
ไม่ติดเชื้อ	-	11 (100)		-
ปอดอักเสบชุมชน	1 (9.1)	-		-
ปอดอักเสบในโรงพยาบาล	5 (45.5)	-		-
ปอดอักเสบจากเครื่องช่วยหายใจ	5 (45.5)	-		-
ผลการรักษา				
เสียชีวิตที่ 2 สัปดาห์	5 (45.5)	1 (14.3)	6 (33.3)	0.17

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 7 ผลความความไวของยาปฏิชีวนะของเชื้อ CPK ทั้ง 18 ตัวอย่าง ที่ตรวจด้วยวิธี LDT-PCR

	Suscep-tible	Interme-diate	Resis-tance	Total N (%)
Imipenem	0 (0)	6 (33.3)	12 (66.7)	18 (100)
Amikacin	16 (88.9)	1 (5.6)	1 (5.6)	18 (100)
Gentamicin	15 (83.3)	1 (5.6)	2 (11.1)	18 (100)
Trimethoprim/sulfamethoxazole	1 (5.6)	0 (0)	17 (94.4)	18 (100)

ตารางที่ 8 ประสิทธิภาพของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ในการตรวจหายีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase โดยตรงจากสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจ เมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจมาตรฐานด้วยวิธี laboratory-developed PCR method (LDT-PCR) จากโคโลนีของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจ

	n/N	%	95% CI	
			Lower	Upper
Prevalence	18/169	10.7	6.44	16.31
Sensitivity	12/18	66.7	40.9	86.6
Specificity	142/151	94.0	88.9	97.24
Positive predictive value	12/21	57.1	39.53	73.12
Negative predictive value	142/148	95.9	92.48	97.85

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 9 ลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วย 32 ราย ที่มีผลเพาะเชื้อพบเชื้อดื้อยา carbapenem (carbapenemase resistance organisms (CRO)) ด้วยวิธีการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะโดยวิธีมาตรฐาน (conventional AST**)**

	CRO N=32	**Non-CRO N=137**	**Total N=169**	**P-value**
อายุ (ปี)	75 (55.5-85.25)	68.5 (59-78.25)	70 (58.25-79)	0.99
เพศ				
ชาย	15 (46.8)	80 (58.4)	95 (56.2)	0.23
หญิง	17 (53.1)	57 (41.6)	74 (73.8)	
หอผู้ป่วย				
อายุรกรรม	25 (78.1)	96 (70.1)	121 (71.6)	0.36
ไม่ใช่อายุกรรรม	7 (21.9)	41 (29.9)	48 (28.4)	
หอผู้ป่วยวิกฤต	4 (12.5)	13 (9.5)	17 (10.0)	0.61
หอผู้ป่วยสามัญ	28 (87.5)	124 (90.5)	152 (89.9)	
ระยะเวลาเข้ารักษาตัวในโรงพยาบาลก่อนเก็บสิ่งส่งตรวจ (วัน)	11.5 (1.75-30.75)	4 (1-14)	6 (1-16.5)	0.06
โรคร่วม				
ไม่มี	2 (6.25)	21 (15.3)	23 (13.6)	0.17
เบาหวาน	4 (12.5)	27 (19.7)	31 (18.3)	0.34
โรคตับเรื้อรัง/ตับแข็ง	0 (0)	3 (2.2)	3 (1.7)	-
โรคระบบประสาท	12 (37.5)	19 (13.9)	31 (18.3)	0.001
โรคหัวใจและหลอดเลือด	9 (28.1)	35 (25.5)	44 (26.0)	0.76
หลังผ่าตัดและอุบัติเหตุ	7 (21.9)	15 (11.0)	22 (13.0)	0.09
มะเร็ง	10 (31.3)	46 (33.6)	56 (33.1)	0.80
ยากดภูมิ/HIV	5 (15.6)	13 (9.5)	18 (10.7)	0.31
อื่น ๆ	3 (9.4)	4 (2.9)	7 (4.1)	0.09
ประวัติได้รับยาปฏิชีวนะมาก่อน				
ไม่เคยได้รับ	10 (31.2)	85 (62.0)	95 (56.2)	0.001
BL/BI	4 (12.5)	16 (11.7)	20 (11.8)	0.89
Fluoroquinolone	3 (9.4)	1 (0.7)	4 (2.4)	0.003

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Carbapenem	6 (18.8)	10 (7.3)	16 (9.5)	0.04
Cephalosporin	9 (28.1)	23 (16.8)	32 (18.9)	0.14
อื่น ๆ	3 (9.4)	2 (1.5)	5 (3.0)	0.01
ระยะเวลาที่ได้รับยาปฏิชีวนะ ก่อนเก็บสิ่งส่งตรวจ (วัน)	10 (7-17)	7 (5-13.5)	7 (7-14)	0.005
สิ่งส่งตรวจ				
คุณภาพของสิ่งส่งตรวจ				
Grade1-2	0 (0)	1 (0.7)	1 (0.6)	-
Grade 3	6 (18.8)	26 (19.0)	32 (19.9)	0.97
Grade 4-5	26 (81.3)	111	137	0.97
เก็บสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจผ่านท่อช่วยหายใจ	19 (59.4)	(81.0)	(81.1)	0.53
		73 (53.3)	92 (54.4)	
ปริมาณของเชื้อที่เพาะ (โคโลนี)				
Slightly	2 (6.3)			0.17
Moderate	16 (50.0)	21 (15.3)	23 (13.6)	0.15
Heavy	14 (43.8)	50 (36.5)	66 (39.1)	0.65
		66 (48.2)	80 (47.3)	
Carbapenem resistance organism				
Klebsiella pneumoniae	17 (53.1)	-		-
Pseudomonas aeruginosa	9 (28.1)	-		-
Acinetobacter baumannii	6 (18.8)	-		-
Stenotrophomonas maltophillia	2 (6.3)	-		-
Providencia stuartii	1 (3.2)	-		-
วินิจฉัยผู้ป่วย				
ไม่ติดเชื้อ	15 (46.9)	55 (16.1)	70 (41.4)	0.48
ปอดอักเสบชุมชน	1 (3.2)	27 (19.7)	28 (16.6)	0.023
ปอดอักเสบในโรงพยาบาล	7 (21.9)	26 (19.0)	33 (19.5)	0.70
ปอดอักเสบจากเครื่องช่วยหายใจ	9 (28.1)	29 (21.2)	38 (22.4)	0.39
ผลการรักษา				
เสียชีวิตที่ 2 สัปดาห์	12 (37.5)	31 (22.6)	43 (25.4)	0.08

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 10 การวินิจฉัยของผู้ป่วย 32 รายที่มีการเพาะเชื้อจากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจพบเชื้อ CPK และ CRO (ไม่รวม CPK) โดยใช้วิธีทดสอบความไวต่อยาด้วยวิธี conventional AST

	CPK N=17	**CRO (without CPK) N=15**	**Death CPK (N (%)) /CRO (without CPK) (N (%))**	**Total Death N (%)**
ไม่ติดเชื้อ	8 (47.1)	7 (46.7)	1 (6.7)/3 (17.6)	4 (12.5)
ติดเชื้อทั้งหมด	9 (53.0)	8 (53.3)		8 (25.0)
ปอดอักเสบชุมชน	0 (0)	1 (6.7)	0 (0)/0 (0)	0
ปอดอักเสบในโรงพยาบาล	5 (29.4)	2 (13.3)	3 (17.6)/1	4 (12.5)
ปอดอักเสบจากเครื่องช่วยหายใจ	4 (23.5)	5 (33.3)	(6.7) 2 (11.8)/2 (13.3)	4 (12.5)
รวมทั้งหมด			6 (35.3)/6 (40.0)	20 (62.5)
รวมการติดเชื้อทุกวินิจฉัย			5 (29.4)/3 (20.0)	16 (50.0)

ตารางที่ 11 ผลการทดสอบด้วยชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ในการตรวจหายีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase โดยตรงจากสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจ เมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจมาตรฐานด้วยวิธี laboratory-developed PCR method (LDT-PCR) จากโคโลนีของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจ

	Positive BD MAX™ CRE test	**Negative BD MAX™ CRE test**	**Total**
Positive for carbapenemase gene from LDT-PCR method	12	6	18
Negative for carbapenemase gene form LDT-PCR method	9*	142	151
Total	21	148	169

*3 of 9 was carbapenem resistance by another organism

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 12 ลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วย 9 ราย ที่มีผลการทดสอบโดยชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ในการตรวจหายีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase โดยตรงจากสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจเป็นบวก ในขณะที่การตรวจมาตรฐานด้วยวิธี laboratory-developed PCR method (LDT-PCR) จากโคโลนีของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจเป็นลบ (ผลบวกลวงของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE))

	Positive test BDmaxCRE test but negative LDT-PCR, N=9
อายุ (ปี)	73 (54-79)
เพศ	
ชาย	5 (55.6)
หญิง	
หอผู้ป่วย	
อายุรกรรม	7 (77.8)
ไม่ใช่อายุกรรรม	
หอผู้ป่วยวิกฤต	1 (11.1)
หอผู้ป่วยสามัญ	
ระยะเวลาเข้ารักษาตัวในโรงพยาบาลก่อนเก็บสิ่งส่งตรวจ (วัน)	1 (1-17.5)
โรคร่วม	
ไม่มี	0 (0)
เบาหวาน	1 (11.1)
โรคตับเรื้อรัง/ตับแข็ง	0 (0)
โรคระบบประสาท	5 (55.6)
โรคหัวใจและหลอดเลือด	6 (66.7)
หลังผ่าตัดและอุบัติเหตุ	0 (0)
มะเร็ง	5 (55.6)
ยากดภูมิ/HIV	0 (0)
อื่น ๆ	0 (0)
ประวัติได้รับยาปฏิชีวนะมาก่อน	
ไม่เคยได้รับ	6 (66.7)
BL/BI	1 (11.1)
Fluoroquinolone	0 (0)
Carbapenem	0 (0)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Cephalosporin	1 (11.1)
อื่น ๆ	1 (11.1)
ระยะเวลาที่ได้รับยาปฏิชีวนะ ก่อนเก็บสิ่งส่งตรวจ (วัน)	7
สิ่งส่งตรวจ	
คุณภาพของสิ่งส่งตรวจ	
Grade1-2	-
Grade 3	2 (22.2)
Grade 4-5	7 (77.8)
เก็บสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจผ่านท่อช่วยหายใจ	4 (44.4)
ปริมาณของเชื้อที่เพาะ (โคโลนี)	
Slightly	1 (11.1)
Moderate	4 (44.4)
Heavy	4 (44.4)
เชื้ออื่นที่พบร่วมด้วย (N,%)	
Streptococcus pneumoniae	1 (11.1)
Enterobacter cloacae	1 (11.1)
Acinetobacter baumannii (carbapenem susceptible)	1 (11.1)
Acinetobacter baumannii (carbapenem resistant)	1 (11.1)
Pseudomonas aeruginosa (carbapenem susceptible)	1 (11.1)
Pseudomonas aeruginosa (carbapenem resistant)	2 (22.2)
ยีนที่คุมการสร้าง carbapenemase (โดย BD MAX™ CRE)	
KPC	1 (11.1)
NDM-1	4 (44.4)
OXA-48	2 (22.2)
NDM-1/OXA-48	2 (22.2)
วินิจฉัยผู้ป่วย	
ไม่ติดเชื้อ	2 (22.2)
ปอดอักเสบชุมชน	3 (33.3)
ปอดอักเสบในโรงพยาบาล	2 (22.2)
ปอดอักเสบจากเครื่องช่วยหายใจ	2 (22.2)
ผลการรักษา	
เสียชีวิตที่ 2 สัปดาห์	4 (44.4)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 13 ลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วย 6 ราย ที่มีผลการทดสอบโดยชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ในการตรวจหายีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase โดยตรงจากสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจเป็นลบ ในขณะที่การตรวจมาตรฐานด้วยวิธี laboratory-developed PCR method (LDT-PCR) จากโคโลนีของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจเป็นบวก (ผลลบลวงของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE))

	Negative test BDmaxCRE test but positive LDT-PCR, N=6
อายุ (ปี)	55 (49.75-61)
เพศ	
ชาย	3 (50.0)
หญิง	
หอผู้ป่วย	
อายุรกรรม	5 (83.3)
ไม่ใช่อายุกรรรม	
หอผู้ป่วยวิกฤต	0 (0)
หอผู้ป่วยสามัญ	
ระยะเวลาเข้ารักษาตัวในโรงพยาบาลก่อนเก็บสิ่งส่งตรวจ (วัน)	7.5 (1-36.5)
โรคร่วม	
ไม่มี	0 (0)
เบาหวาน	2 (33.3)
โรคตับเรื้อรัง/ตับแข็ง	0 (0)
โรคระบบประสาท	0 (0)
โรคหัวใจและหลอดเลือด	0 (0)
หลังผ่าตัดและอุบัติเหตุ	2 (33.3)
มะเร็ง	3 (50.0)
ยากดภูมิ/HIV	0 (0)
อื่น ๆ	1 (16.7)
ประวัติได้รับยาปฏิชีวนะมาก่อน	
ไม่เคยได้รับ	4 (66.7)
BL/BI	0 (0)
Fluoroquinolone	0 (0)
Carbapenem	4 (66.7)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Cephalosporin	0 (0)
อื่น ๆ	0 (0)
ระยะเวลาที่ได้รับยาปฏิชีวนะ ก่อนเก็บสิ่งส่งตรวจ (วัน)	17.5 (8.75-38.25)
สิ่งส่งตรวจ	
คุณภาพของสิ่งส่งตรวจ	
Grade1-2	-
Grade 3	1 (16.7)
Grade 4-5	5 (83.3)
เก็บสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจผ่านท่อช่วยหายใจ	3 (50.0)
ปริมาณของเชื้อที่เพาะ (โคโลนี)	
Slightly	0 (0)
Moderate	4 (66.7)
Heavy	2 (33.3)
ยีนที่คุมการสร้าง carbapenemase (โดย LDT-PCR)	
KPC	0 (0)
NDM-1	3 (50.0)
OXA-48	6 (100.0)
NDM-1/OXA-48	3 (50.0)
วินิจฉัยผู้ป่วย	
ไม่ติดเชื้อ	3 (50.0)
ปอดอักเสบชุมชน	1 (16.7)
ปอดอักเสบในโรงพยาบาล	2 (22.2)
ปอดอักเสบจากเครื่องช่วยหายใจ	0 (0)
ผลการรักษา	
เสียชีวิตที่ 2 สัปดาห์	1 (16.7)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 14 ประสิทธิภาพของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ในการตรวจหายีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase โดยตรงจากสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจ เมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจหาเชื้อทุกชนิดที่ดื้อยา carbapenem ด้วยวิธี conventional AST จากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจ

	n/N	%	95% CI	
			Lower	Upper
Prevalence	32/169	18.9	13.33	25.67
Sensitivity	15/32	46.8	29.09	65.26
Specificity	130/137	94.9	89.76	97.92
Positive predictive value	15/22	68.2	48.79	82.82
Negative predictive value	17/147	88.4	84.64	91.39

ตารางที่ 15 ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจ 6 ตัวอย่าง ผลทดสอบกับชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ให้ผลเป็นลบ เทียบผลกับการทดสอบด้วย conventional AST และ LDT-PCR จากโคโลนีของเชื้อ *K. pneumoniae* จากสิ่งส่งตรวจ

กลไกที่อาจทำให้ผล BD MAX™ CRE **เป็นลบ**	**n/N (%)**
Carbapenemase producing genes can detected by PCR bla_{VIM}, bla_{IMP}	0/6 (0)
Positive results for PCR method but negative by disc diffusion method (may be from lower level of carbapenemase producing)	1/6 (16.6)
Positive results for PCR method and positive results by disc diffusion method (false negative results from low level of bla_{OXA-48} or $bla_{OXA-48-like}$)	5/6 (83.3)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 16 ผลการทดสอบด้วยชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ในการตรวจหายีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase โดยตรงจากสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจ เมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจ conventional AST จากสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจ

	Conventional AST		Total
	Carbapenem resistance/intermediate	Carbapenem susceptible	
Positive BD MAX™ CRE test	11	11	22
Negative BD MAX™ CRE test	6	141	147
Total	17	152	169

ตารางที่ 17 ผลการทดสอบด้วยการทดสอบมาตรฐาน LDT-PCR ในการตรวจหายีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase เมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจ conventional AST จากโคโลนีของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจ

	Conventional AST		Total
	Carbapenem resistance/intermediate	Carbapenem susceptible	
Positive for carbapenemase gene from LDT-PCR method	16	2	18
Negative for carbapenemase gene form LDT-PCR method	1	150	151
Total	17	152	169

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 18 ยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ที่ตรวจพบจาก CPK ด้วยวิธีการตรวจมาตรฐาน LDT-PCR

Carbapenemase genes	No. of case (%)
KPC	0 (0)
NDM-1	1 (5.6)
IMP	0 (0)
VIM	0 (0)
OXA-48	11 (61.1)
NDM-1/OXA-48	6 (33.3)

ตารางที่ 19 ลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วย 97 ราย ที่มีผลเพาะเชื้อจากสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจพบเชื้อ *K. pnuemoniae* เท่านั้น

	CPK N=13	**Non-CPK N=84**	**Total N=97**	**P-value**
อายุ (ปี)	60 (54-77.5)	68.5 (59-80.75)	67 (58-79.5)	0.34
เพศ				
ชาย	5 (38.4)	51 (60.7)	56 (57.7)	0.13
หญิง	8 (61.5)	33 (39.2)	41 (42.3)	
หอผู้ป่วย				
อายุรกรรม	10 (76.9)	60 (71.4)	70 (72.1)	0.18
ไม่ใช่อายุกรรรม	3 (23.0)	24 (28.5)	27 (27.8)	
หอผู้ป่วยวิกฤต	3 (23.0)	10 (11.9)	13 (13.4)	0.27
หอผู้ป่วยสามัญ	10 (76.9)	74 (88.1)	84 (89.7)	
ระยะเวลาเข้ารักษาตัวในโรงพยาบาลก่อนเก็บสิ่งส่งตรวจ (วัน)	15 (1-31)	3 (1-11)	4 (1-13.5)	0.07
โรคร่วม				
ไม่มี	2 (15.3)	16 (19.0)	18 (18.6)	0.75
เบาหวาน	4 (30.7)	16 (19.0)	20 (20.6)	0.33
โรคตับเรื้อรัง/ตับแข็ง	0 (0)	3 (3.5)	3 (3.1)	
โรคระบบประสาท	3 (23.0)	8 (9.5)	11 (11.3)	0.15
โรคหัวใจและหลอดเลือด	2 (15.3)	22 (26.2)	24 (24.7)	0.40
หลังผ่าตัดและอุบัติเหตุ	5 (38.4)	7 (8.3)	12 (12.4)	0.002

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

มะเร็ง	3 (23.0)	26 (31.0)	29 (29.9)	0.56
ยากดภูมิ/HIV	2 (15.3)	11 (13.1)	13 (13.4)	0.82
อื่น ๆ	0 (0)	4 (4.7)	4 (4.1)	
ประวัติได้รับยาปฏิชีวนะมาก่อน				
ไม่เคยได้รับ	4 (30.7)	55 (65.5)	59 (60.8)	0.01
BL/BI	3 (23.0)	11 (13.1)	14 (14.4)	0.34
Fluoroquinolone	0 (0)	2 (2.9)	2 (2.1)	
Carbapenem	5 (38.4)	4 (4.8)	9 (9.3)	0.00009
Cephalosporin	1 (7.6)	11 (13.1)	12 (12.4)	0.58
อื่น ๆ	2 (15.3)	1 (1.2)	3 (3.1)	0.005
ระยะเวลาที่ได้รับยาปฏิชีวนะ ก่อนเก็บสิ่งส่งตรวจ (วัน)	10 (8-23)	7 (5-11.5)	7 (5-13.25)	0.02
สิ่งส่งตรวจ				
คุณภาพของสิ่งส่งตรวจ				
Grade1-2	0 (0)	1 (1.2)	1 (1.0)	
Grade 3	3 (23.0)	21 (25.0)	24 (24.7)	0.88
Grade 4-5	10 (76.9)	62 (73.8)	72 (74.2)	0.81
เก็บสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจผ่านท่อช่วยหายใจ	9 (69.2)	45 (53.6)	54 (55.7)	0.23
ปริมาณของเชื้อที่เพาะ (โคโลนี)				
Slightly	1 (7.6)	14 (16.7)	15 (15.5)	0.40
Moderate	6 (46.1)	26 (31.0)	32 (33.0)	0.27
Heavy	6 (46.1)	44 (52.4)	50 (51.5)	0.67
วินิจฉัยผู้ป่วย				
ไม่ติดเชื้อ	5 (38.4)	36 (42.9)	41 (42.3)	0.76
ปอดอักเสบชุมชน	1 (7.6)	19 (22.6)	20 (20.6)	0.21
ปอดอักเสบในโรงพยาบาล	3 (23.0)	15 (17.9)	18 (18.6)	0.65
ปอดอักเสบจากเครื่องช่วยหายใจ	4 (30.7)	14 (16.7)	18 (18.6)	0.22
ผลการรักษา				
เสียชีวิตที่ 2 สัปดาห์	4 (30.7)	22 (26.2)	26 (26.8)	0.72

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ 20 ประสิทธิภาพของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ในการตรวจหายีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase โดยตรงจากสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจ เมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจมาตรฐานด้วยวิธี laboratory-developed PCR method (LDT-PCR) จากโคโลนีของเชื้อ *K. pneumoniae* ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจที่ไม่มีเชื้อชนิดอื่น

	n/N	%	95% CI	
			Lower	Upper
Prevalence	13/97	13.40	7.33	21.83
Sensitivity	8/13	61.54	31.58	86.14
Specificity	82/84	97.62	91.66	99.71
Positive predictive value	8/10	80	48.78	94.38
Negative predictive value	82/87	94.25	89.18	97.03

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 5

อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 อภิปรายผล

จากการวิจัยโดยการสังเกต observational study แบบ diagnostic test study โดยมีสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจจากผู้ป่วยทั้งสิ้น 169 ตัวอย่าง เป็นผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ที่มีอายุตั้งแต่ 15 ปีขึ้นไป ในแต่ละตัวอย่างจะมีการเก็บข้อมูลสองครั้งเพื่อเก็บข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยและสิ่งส่งตรวจจากนั้นที่สองสัปดาห์เพื่อติดตามผลการรักษา ระยะเวลาตั้งแต่ เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2560 จนถึง เดือน ธันวาคม พ.ศ. 2560 เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บรวบรวมข้อมูลมีแบบบันทึกข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยเสมหะและผลการรักษา โดยมีการทดสอบการดื้อยาของเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ใช้ในการศึกษานี้ทั้งหมด 2 วิธี แต่สิ่งส่งตรวจทุกชนิดต้องเพาะเชื้อขึ้นเชื้อ *K. pneumoniae* และมีการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ (conventional AST; disc diffusion, Etest และ Vitek®2 system) ก่อนที่จะนำสิ่งส่งตรวจนั้น ๆ เข้างานวิจัยและจะทำการทดสอบด้วยชุดทดสอบ BD MAX^{TM} CRE เทียบกับ การตรวจมาตรฐาน LDT-PCR และบันทึกผล

ผู้วิจัยได้รายงานความชุกของเชื้อ carbapenemase-production *K. pneumoniae* (CPK) โดยแยกได้จากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจพบร้อยละ 10.6 ผลการวิจัยครั้งนี้รายงานความชุกที่ต่ำกว่าวิจัยที่ทำเมื่อหนึ่งปีก่อน ซึ่งได้รายงานถึงความชุกของ CPK ที่เพาะได้จากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจสูงถึงร้อยละ 28(39) เหตุผลเนื่องมาจากนโยบายและการควบคุมการติดเชื้อในโรงพยาบาลที่ทำได้ดีมากยิ่งขึ้นทำให้ความชุกของ CPK ลดลง แต่เนื่องด้วยความชุกที่ลดลงอย่างไม่คาดคิดอาจส่งผลให้มีความเปลี่ยนแปลงในการทดสอบประสิทธิภาพของชุดทดสอบ BD MAX^{TM} CRE เช่น positive predictive value ดังนั้นอาจต้องการตัวอย่างสิ่งส่งตรวจเพิ่มขึ้นเพื่อให้วิจัยสามารถรายงานประสิทธิภาพของชุดทดสอบนี้ได้ดียิ่งขึ้น

ผู้วิจัยได้รายงานประสิทธิภาพของชุดทดสอบ BD MAX^{TM} CRE ในการตรวจหายีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase เมื่อเทียบกับการทดสอบมาตรฐาน LDT-PCR มีความไว (sensitivity) ร้อยละ 66.7 ความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 94.0 positive predictive value ร้อยละ 57.1 และ negative predictive value ร้อยละ 95.9 ค่าความไวที่ได้จากงานวิจัยชิ้นนี้ค่อนข้างต่ำกว่างานวิจัยที่เคยมีรายงานมาก่อนซึ่งได้รายงานค่าความไวร้อยละ 100 แต่ขั้นตอนการทำแตกต่างกันกับงานวิจัยชิ้นนี้ซึ่งเป็นการใช้ชุดทดสอบ BD MAX^{TM} CRE เพื่อหายีนที่ควบคุมการ

สร้างเอนไซม์ carbapenemase จากการทำ rectal swab โดยตรง(44) สาเหตุที่ความไวของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ที่รายงานจากวิจัยชิ้นนี้ลดลงอาจเป็นไปได้ที่เกิดจากการใช้สิ่งส่งตรวจที่แตกต่างกันกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ เนื่องมาจากการทำ PCR จากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจในขั้นตอนการสกัดสารพันธุกรรมจะทำได้ยากเนื่องจากมีสารต้านทานมากมายในสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจที่จะมีผลรบกวนในการทำ PCR(45) และจนถึงปัจจุบันยังไม่มีระเบียบวิธีในการสกัดสารพันธุกรรมจากสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจเพื่อนำมาใช้กับชุดทดสอบ BD MAX™ CRE โดยเฉพาะ ซึ่งทางผู้วิจัยได้ดัดแปลงระเบียบวิธีในการสกัดสารพันธุกรรมมาจากชุดทดสอบ BD MAX™ MDR-TB อย่างไรก็ตามก่อนเริ่มงานวิจัยชิ้นนี้ทางผู้วิจัยได้ทดสอบประสิทธิภาพเป็นการศึกษานำร่อง (pilot study) ในการนำระเบียบวิธีการสกัดสารพันธุกรรมของชุดทดสอบ BD MAX™ MDR-TB มาใช้กับชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ซึ่งผลการทดสอบออกมาประสิทธิภาพที่ดี ความจำเพาะ (specificity) ของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE จากงานวิจัยชิ้นได้ผลต่ำกว่างานวิจัยที่ผ่านมา(44) นอกจากสาเหตุที่กล่าวมาแล้วข้างต้น (ใช้สิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจเทียบกับการตรวจด้วย rectal swab) มีสาเหตุอื่นที่อาจเป็นไปได้เพิ่มเติมเช่น เชื้อที่นำมาตรวจนั้นบางส่วนอาจเป็นเชื้อที่ไม่มีชีวิตแล้ว หรือ ยีนที่สามารถตรวจได้นั้นไม่ได้สร้างจากเชื้อ *K. pneumoniae* แต่เป็นการสร้างจากเชื้ออื่นที่อยู่ในสิ่งส่งตรวจนั้น ๆ ผลบวกลวงที่พบมีทั้งหมดจาก 9 ตัวอย่างซึ่ง 3 ตัวอย่างจาก 9 ตัวอย่างนี้เป็นเชื้อที่ดื้อต่อยากลุ่ม carbapenem จากการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ ได้แก่เชื้อ *P. aeruginosa* 2 ตัวอย่าง และ *A. baumannii* 1 ตัวอย่าง สาเหตุอาจเนื่องมาจากชุดทดสอบ BD MAX™ CRE สามารถตรวจจับยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ได้จากเชื้ออื่น ๆ ที่ปนมาด้วย หรืออาจมี *K. pneumoniae* ที่สามารถสร้างยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbpanenemase ปนอยู่แต่อาจไม่สามารถเพาะเชื้อได้เนื่องมาจากปริมาณของเชื้อที่น้อยเกินไปทำให้ได้ผลจากสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจเป็นบวกแต่จากโคโลนีเป็นลบ ผลลบลวงที่พบในการศึกษานี้มีทั้งหมด 6 ตัวอย่าง ซึ่ง 6 ตัวอย่างนั้นมานำมาทดสอบด้วยการตรวจมาตรฐาน LDT-PCR แล้วพบว่าเป็นยีน $bla_{\text{OXA-48}}$ ทั้งหมด ซึ่งสาเหตุอาจเนื่องมาจากปริมาณของยีน $bla_{\text{OXA-48}}$ ในสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจนั้น ๆ มีปริมาณที่น้อยมากจนทำให้ชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ไม่สามารถตรวจพบได้ หรือเป็นยีนที่มีลักษณะคล้าย $bla_{\text{OXA-48}}$ หรือ $bla_{\text{OXA-48}}$-like ชนิดที่สามารถตรวจพบได้ด้วยการทดสอบมาตรฐาน LDT-PCR แต่ไม่พบด้วยชุดทดสอบ BD MAX™ CRE

ผลการทดสอบจากชุดทดสอบ BD MAX™ CRE จากสิ่งส่งตรวจที่มีเชื้อดื้อยา carbapenem (ที่ไม่ใช้เชื้อ *K. pneumoniae*) ผลการทดสอบได้ผลลบ 11 ตัวอย่างจาก 15 ตัวอย่าง (ร้อยละ 73.3) สาเหตุอาจเกิดจากกลไกการดื้อยาของเชื้อเหล่านั้นเป็นการสร้างเอนไซม์

carbapenemase จากยีนอื่น ๆ ที่ชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ไม่สามารถตรวจพบ หรือ เป็นการดื้อยาด้วยกลไกอื่น เช่น ตัวปัมป์ efflux หรือ การหายไปของช่อง porin(46) เป็นต้น

มีสิ่งส่งตรวจหนึ่งตัวอย่างที่ให้ผลบวกผลการทดสอบด้วยชุดตรวจมาตรฐาน LDT-PCR พบยีน bla_{OXA-48} แต่ให้ผลลบทั้งการทดสอบโดย conventional AST และ ชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ซึ่งสาเหตุได้มีรายงานถึงยีน $bla_{OXA-48-like}$ (เช่น $bla_{OXA-232}$) ซึ่งเชื้อที่มียีนเหล่านี้อาจตรวจไม่พบได้ในชุดตรวจ PCR โดยทั่วไปเนื่องจากมีลำดับสารพันธุกรรมที่แตกต่างกันกับ bla_{OXA-48} โดยทั่วไป ซึ่งจากรายงานที่มีการค้นพบ $bla_{OXA-232}$ ใช้วิธีการตรวจสารพันธุกรรมแบบ whole genome sequencing ซึ่ง $bla_{OXA-48-like}$ สามารถตรวจพบได้จากการตรวจมาตรฐานด้วยวิธี LDT-PCR(41, 42) นอกจากนี้ยีน bla_{OXA-48} จะมีการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ในระดับที่ต่ำอาจตรวจไม่พบได้จากการทดสอบ conventional AST ด้วยวิธี disc diffusion

ผู้วิจัยได้แสดงประสิทธิภาพของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ในการตรวจหายีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase เมื่อเทียบกับการทดสอบมาตรฐาน LDT-PCR และ การทดสอบ conventional AST ผลดังแสดงใน บทที่ 4 ผลการวิจัย ซึ่งความแม่นยำ (accuracy) ของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ค่อนข้างดีโดยใช้เวลาเร็วกว่าการทดสอบ conventional AST เพราะใช้เวลาเพียงหนึ่งชั่วโมงครึ่งถึงสองชั่วโมงในการออกผล

ยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ทั้งหมด ยีนที่พบมากที่สุดจากการศึกษานี้คือ bla_{OXA-48} รองลงไปเป็น bla_{NDM-1} ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของแพทย์หญิง ณัชชา แซ่เตียว(39) ในปี พ.ศ. 2559 ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ แต่จากงานวิจัยชิ้นนี้และงานวิจัยของแพทย์หญิง ณัชชา แซ่เตียว(39) พบว่า ยีนที่พบร่วมกัน คือ bla_{OXA-48} และ bla_{NDM-1} สามารถพบได้บ่อย โดยที่รายงานจากการศึกษานี้พบร้อยละ 33.3 ของเชื้อ CPK ทั้งหมด ซึ่งแตกต่างการศึกษาก่อนหน้านี้ (ไม่ได้ตีพิมพ์) ยีนที่พบมากที่สุดคือ bla_{NDM-1} ซึ่งเป็นไปได้ว่าช่วงเวลาที่ทำการศึกษามีการระบาดของเชื้อ CPK ที่มียีนสองยีนดังกล่าวร่วมกัน ยีนอื่น ๆ ที่สามารถตรวจได้ bla_{KPC}, bla_{IMP} และ bla_{VIM} ไม่พบในการศึกษานี้ ซึ่งยีนเหล่านี้สามารถพบได้ค่อนข้างน้อยในทวีปเอเชีย(47)

เชื้อ CPK ที่พบโดยส่วนใหญ่ยังไวต่อยาปฏิชีวนะกลุ่ม aminoglycoside (เช่น amikacin และ gentamicin) ในการรักษาการติดเชื้อ CPK ยาปฏิชีวนะกลุ่ม carbapenem เป็นยาที่มีการสั่งใช้มากที่สุด โดยอาจมีการใช้ร่วมกันกับยาปฏิชีวนะชนิดอื่น (aminoglycoside, fosfomycin หรือ colistin) อัตราการตายสูงกว่าเล็กน้อยในผู้ป่วยที่พบเชื้อ CPK จากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เหตุผลอันเนื่องมาจากจำนวนประชากรอาจน้อยเกินไปที่จะแสดงความแตกต่างของอัตราการตายระหว่างสองกลุ่ม และ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์เป็นโรงพยาบาลระดับตติยภูมิทำให้ผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษามีโรคร่วมและการดำเนินโรคที่ค่อนข้างรุนแรงทำให้กลุ่มผู้ป่วยที่พบเชื้อ non-CPK จึงมีอัตราตายที่สูงเช่นเดียวกัน

5.2 ข้อดีในงานวิจัยชิ้นนี้

1. การวิจัยชิ้นนี้เป็น การวิจัยโดยการสังเกต (observational study) เป็นการศึกษาไปข้างหน้าเพื่อทดสอบวินิจฉัย (prospective diagnostic study) ซึ่งอาจเป็นการศึกษาชิ้นแรกที่นำชุดทดสอบ BD MAX™ CRE มาทดสอบกับสิ่งส่งตรวจอื่นที่ไม่ใช่ rectal swab และเปรียบเทียบกับวิธีที่กำหนดเป็นวิธีมาตรฐานของการศึกษานี้ คือ Laboratory-developed polymerase chain reaction (LDT-PCR) ซึ่งเป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะในการตรวจหายีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ในระดับสูง

2. การศึกษานี้ได้แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการทดสอบหาเชื้อที่มีการดื้อยากลุ่ม carbapenem แล้วมาวิเคราะห์เทียบกันถึง 3 วิธี คือ ชุดทดสอบ BD MAX™ CRE, การทดสอบ LDT-PCR และ ใช้การตรวจ conventional AST ด้วยวิธี disc diffusion หรือ Etest หรือ Vitek 2 system ซึ่งพบว่าทั้งชุดทดสอบ BD MAX™ CRE และการตรวจด้วยวิธี LDT-PCR มีความแม่นยำที่ดีเมื่อเทียบกับ conventional AST

5.3 ข้อจำกัดในงานวิจัยชิ้นนี้

1. งานวิจัยชิ้นนี้เป็นชิ้นแรกที่ใช้ทดสอบประสิทธิภาพของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ซึ่งทางบริษัทผู้ผลิตออกแบบมาใช้เพื่อตรวจหาเชื้อที่มียีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase จาก rectal swab แต่งานวิจัยชิ้นนี้ใช้จากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจโดยตรงซึ่งไม่เคยมีงานวิจัยทำมาก่อน ซึ่งทางผู้วิจัยได้ดัดแปลงระเบียบวิธีในการสกัดสารพันธุกรรมมาจากชุดทดสอบ BD MAX™ MDR-TB อย่างไรก็ตามก่อนเริ่มงานวิจัยชิ้นนี้ทางผู้วิจัยได้ทดสอบประสิทธิภาพเป็นการศึกษานำร่อง (pilot study) ในการนำระเบียบวิธีการสกัดสารพันธุกรรมของชุดทดสอบ BD MAX™ MDR-TB มาใช้กับชุดทดสอบ BD MAX™ CRE ซึ่งผลการทดสอบออกมาประสิทธิภาพที่ดี

2. ความชุกของเชื้อ carbapenemase-production *K. pneumoniae* (CPK) ที่พบลดลงเหลือร้อยละ 10.6 เมื่อเทียบกับงานวิจัยชิ้นก่อนที่มีความชุกของเชื้อ CPK ร้อยละ 28(39) เหตุผลเนื่องมาจากนโยบายและการควบคุมการติดเชื้อในโรงพยาบาลที่ทำได้ดีมากยิ่งขึ้นทำให้ความชุกของ CPK ลดลง แต่เนื่องด้วยความชุกที่ลดลงอย่างไม่คาดคิดอาจส่งผลให้มีความเปลี่ยนแปลงในการทดสอบประสิทธิภาพของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE เช่น positive predictive value ดังนั้นอาจต้องการตัวอย่างสิ่งส่งตรวจเพิ่มขึ้นเพื่อให้วิจัยสามารถรายงานประสิทธิภาพของชุดทดสอบนี้ได้ดียิ่งขึ้น

3. ความชุกของเชื้อ CPK ที่รายงานในงานวิจัยนี้ เก็บรวมรวมเฉพาะผู้ป่วยอายุ 15 ปีขึ้นไป ดังนั้นจะไม่มีข้อมูลจากหอผู้ป่วยเด็ก ซึ่งอาจไม่ได้บ่งบอกถึงความชุกของเชื้อ CPK ในโรงพยาบาลอย่างแท้จริง

4. การศึกษานี้ไม่ได้เก็บตัวแปรที่อาจมีผลกับอัตราตายบางชนิด เช่น ระยะเวลาของการมีเชื้อ CPK ในผู้ป่วยรายนั้น หรือ ตัวแปรที่มีผลกับการพบเชื้อ CPK เช่น เชื้อ CPK ของผู้ป่วยที่อยู่รอบผู้ป่วยที่เข้างานวิจัยซึ่งอาจทำให้ผู้ป่วยมีโอกาสติดเชื้อ CPK มากขึ้น

5. เนื่องด้วยความชุกชองเชื้อ CPK ที่ลดลงทำให้ คุณลักษณะพื้นฐานของประชากร และผลการรักษาเมื่อเทียบกันระหว่างสองกลุ่ม ผู้ป่วยที่มีเชื้อ CPK และ non-CPK จากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจ ทำให้จำนวนผู้ป่วยอาจน้อยเกินไปจนไม่สามารถแสดงความแตกต่างได้

6. เนื่องจากงานวิจัยชิ้นนี้ทำในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ซึ่งเป็นโรงพยาบาลระดับตติยภูมิ ซึ่งมีแนวโน้มที่จะเข้ารับการรักษาด้วยภาวะหรือโรคที่รุนแรง ดังนั้นข้อมูลพื้นฐานของประชากรบางอย่างอาจไม่สามารถนำไปแปลผลหรือนำไปใช้ในระดับที่กว้างกว่านี้ได้

7. เนื่องจากงานวิจัยชิ้นนี้กำหนดให้ทำการทดสอบเฉพาะเชื้อ *K. pneumoniae* ดังนั้นการนำชุดทดสอบ BD MAX^{TM} CRE ไปใช้กรณีเป็นเชื้ออื่นอาจต้องทำการศึกษาเพิ่มเติม

8. งานวิจัยชิ้นนี้กำหนดให้การตรวจ LDT-PCR เป็นการตรวจมาตรฐาน ซึ่งเป็นการตรวจจากโคโลนีของเชื้อโดยตรง แต่ในขณะเดียวกันชุดทดสอบ BD MAX^{TM} CRE ใช้ทดสอบจากสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจโดยตรง ทำให้ในบางตัวอย่างจะมีเชื้อมากกว่าหนึ่งชนิดขึ้นไปซึ่งมีความเป็นไปได้ที่ผลบวกลวงของการทดสอบด้วย BD MAX^{TM} CRE เป็นการพบยีนดื้อยาจากเชื้ออื่น ซึ่งในงานวิจัยชิ้นนี้ไม่ได้ทำการศึกษาต่อว่ายีนที่พบจาก BD MAX^{TM} CRE และเชื้ออื่นที่มีการดื้อยานั้นตรงกันหรือไม่

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

5.4 ข้อเสนอแนะ

1. เพื่อให้ได้ความชุกที่แท้จริงของเชื้อ CPK ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ควรจะเก็บข้อมูลจากผู้ป่วยที่ตรวจพบเชื้อจากทุกแผนกมาศึกษาเพื่อให้ได้ความชุกที่ถูกต้อง

2. ควรนำชุดทดสอบ BD MAX^{TM} CRE ไปทดสอบกับเชื้ออื่นเพิ่มเติมที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ได้ เพื่อประเมินประสิทธิภาพของชุดทดสอบกับเชื้ออื่นเพิ่มเติม

3. ชุดทดสอบ BD MAX^{TM} CRE ปัจจุบันยังไม่มีการนำมาใช้จริงในโรงพยาบาลซึ่งจากงานวิจัยชิ้นนี้แสดงให้เห็นว่า ความแม่นยำของชุดทดสอบนี้อยู่ในระดับที่ดี ดังนั้นอาจนำมาประยุกต์

เพื่อใช้จริงในงานควบคุมการติดเชื้อ รวมไปถึงนำมาใช้เพื่อประเมินว่ามีการเปลี่ยนแปลงการตัดสินใจของแพทย์ในการรักษาหรือไม่ จะทำให้ประเมินประสิทธิภาพได้ดียิ่งขึ้น

5.5 ข้อสรุป

เชื้อดื้อยาในกลุ่ม carbapenem ทั้ง *K. pneumoniae* และ เชื้อชนิดอื่น ๆ ที่เพิ่มขึ้นในปัจจุบันเกิดมาจากการใช้ยาปฏิชีวนะออกฤทธิ์กว้างที่ไม่เหมาะสม ส่งผลให้ผู้ป่วยต้องรับการรักษาตัวในโรงพยาบาลนานขึ้นและเสี่ยงต่อการเสียชีวิต ดังนั้นการที่เราสามารถระบุหรือวินิจฉัยได้อย่างรวดเร็วว่าผู้ป่วยรายใดมีเชื้อ CPK หรือ CRO อยู่จะทำให้สามารถควบคุมการติดเชื้อในโรงพยาบาลได้ดียิ่งขึ้น และอาจลดอัตราตายจากเชื้อชนิดนี้ได้ ชุดทดสอบ BD MAX™ CRE มีความแม่นยำในการตรวจหายีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ได้ดีเมื่อเทียบกับการตรวจมาตรฐาน LDT-PCR หรือ การตรวจ conventional AST และเป็นชุดทดสอบที่สามารถออกผลได้เร็วเมื่อเทียบกับการตรวจ conventional AST ในปัจจุบัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รายการอ้างอิง

1. Rasmussen BA, Bush K. Carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother. 1997;41(2):223-32.

2. Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, Poirel L, Woodford N, Miriagou V, et al. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Clin Microbiol Infect. 2012;18(5):432-8.

3. Rodriguez-Bano J, Navarro MD. Extended-spectrum beta-lactamases in ambulatory care: a clinical perspective. Clin Microbiol Infect. 2008;14 Suppl 1:104-10.

4. Turner PJ. MYSTIC Europe 2007: activity of meropenem and other broad-spectrum agents against nosocomial isolates. Diagn Microbiol Infect Dis. 2009;63(2):217-22.

5. Hsu LY, Apisarnthanarak A, Khan E, Suwantarat N, Ghafur A, Tambyah PA. Carbapenem-Resistant Acinetobacter baumannii and Enterobacteriaceae in South and Southeast Asia. Clin Microbiol Rev. 2017;30(1):1-22.

6. Dortet L, Brechard L, Cuzon G, Poirel L, Nordmann P. Strategy for rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Antimicrob Agents Chemother. 2014;58(4):2441-5.

7. Daniele Meunier KH, Suzanne Paule, Gioia Babini, Neil Woodford. Evaluation of the BD MAX CRE assay for the detection of KPC, NDM and OXA-48 Carbapenemase genes in multidrug-resistant Gram-negative clinical isolates. 2013.

8. Tumbarello M, Trecarichi EM, De Rosa FG, Giannella M, Giacobbe DR, Bassetti M, et al. Infections caused by KPC-producing Klebsiella pneumoniae: differences in therapy and mortality in a multicentre study. J Antimicrob Chemother. 2015;70(7):2133-43.

9. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes. Diabetes Care. 2016;40(Supplement 1):S11.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

10. Group KDIgOKCW. Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. Kidney inter. 2013;3:1 - 150.

11. สมาคมโรคตับแห่งประเทศไทย. แนวทางการดูแลรักษาผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบ บี และ ซี เรื้อรังในประเทศไทย ปี 2558. ห้างหุ้นส่วนจำกัด ภาพพิมพ์: สมาคมโรคตับแห่งประเทศไทย; 2558. p. 1 - 74.

12. นพ. สวิง ปันจัยสีห์ ศนนเ, นพ. กุลพัฒน์ วีรสาร. แนวทางเวชปฏิบัติโรคหลอดเลือดสมองแตกสำหรับแพทย์ (clinical practice guidelines for hemoarrhagic stroke). บริษัท ธนาเพรส จำกัด: สถาบันประสาทวิทยา กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2556.

13. Cardiovascular disease: World health organization; 2016 [Available from: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/.

14. ในพระบรมราชูปถัมภ์ ส. แนวทางเวชปฏิบัติในการดูแลผู้ป่วยโรคหัวใจขาดเลือดในประเทศไทย ฉบับปรับปรุงปี 2557. 2 ed. กรุงเทพฯ2557.

15. Wiseman AC. Immunosuppressive Medications. Clin J Am Soc Nephrol. 2016;11(2):332-43.

16. สมาคมอุรเวชช์แห่งประเทศไทย. แนวทางกรรักษาโรคปอดอักเสบชุมชน ในประเทศไทย (สำหรับผู้ใหญ่). กรุงเทพมหานคร2544. p. 1 - 11.

17. Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, Muscedere J, Sweeney DA, Palmer LB, et al. Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. Clin Infect Dis. 2016;63(5):e61-e111.

18. Fred Tenover JVH. Interpretation of gram stains and other common microbiologic slide preparations: American Society for Microbiology; 2007 [Available from: http://www.asmscience.org/content/education/imagegallery/image.3046.

19. Rocchetti TT, Silbert S, Gostnell A, Kubasek C, Widen R. Validation of a Multiplex Real-Time PCR Assay for Detection of Mycobacterium spp., Mycobacterium tuberculosis Complex, and Mycobacterium avium Complex Directly from Clinical Samples by Use of the BD Max Open System. J Clin Microbiol. 2016;54(6):1644-7.

20. กีรติสิน ภ. ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับการดื้อยากลุ่ม beta-lactam และเอนไซม์ beta-lactamase. In: ภัทรชัย กีรติสิน ออ, editor. Beta-lactamase ในแบคทีเรียแกรมลบ จากความรู้พื้นฐานสู่เวชปฏิบัติ: วี. เจ. พริ้นติ้ง; 2555.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

21. Hall BG, Barlow M. Evolution of the serine beta-lactamases: past, present and future. Drug Resist Updat. 2004;7(2):111-23.

22. Bebrone C. Metallo-beta-lactamases (classification, activity, genetic organization, structure, zinc coordination) and their superfamily. Biochem Pharmacol. 2007;74(12):1686-701.

23. Wayne P. Clinical and Laboratory Standards Institiute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 27 ed2017.

24. Wilkinson KM, Winstanley TG, Lanyon C, Cummings SP, Raza MW, Perry JD. Comparison of four chromogenic culture media for carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. J Clin Microbiol. 2012;50(9):3102-4.

25. BIOMERIEUX. chromID CARBA agar (CARB) selective chromogenic mediu for the screening of Carbapenenmase-Producing Enterobacteriaceae (CPE). 2012. p. 1 - 3.

26. BIOMERIEUX. FilmArray Blood Culture Identification Panel Testing. 2012.

27. Tenover FC, Canton R, Kop J, Chan R, Ryan J, Weir F, et al. Detection of colonization by carbapenemase-producing Gram-negative Bacilli in patients by use of the Xpert MDRO assay. J Clin Microbiol. 2013;51(11):3780-7.

28. Lee CR, Lee JH, Park KS, Kim YB, Jeong BC, Lee SH. Global Dissemination of Carbapenemase-Producing Klebsiella pneumoniae: Epidemiology, Genetic Context, Treatment Options, and Detection Methods. Front Microbiol. 2016;7:895.

29. Centers for Disease C, Prevention. Notes from the Field: New Delhi metallo-beta-lactamase-producing Escherichia coli associated with endoscopic retrograde cholangiopancreatography - Illinois, 2013. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2014;62(51-52):1051.

30. Mathers AJ, Hazen KC, Carroll J, Yeh AJ, Cox HL, Bonomo RA, et al. First clinical cases of OXA-48-producing carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae in the United States: the "menace" arrives in the new world. J Clin Microbiol. 2013;51(2):680-3.

31. ว. อ. ความชุกของเอนไซม์ดื้อยากลุ่ม Carbapenems ที่แยกได้จากเชื้อดื้อยา Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae ในโรงพยาบาลพระปกเกล้า ปีพ.ศ. 2555 - 2556. วารสารศูนย์การศึกษาแพทย์ศาสตร์คลินิก โรงพยาบาลพระปกเกล้า (The Journal of Prapokklao Hospital Clinical Medical Education). 2017;33(4).

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

32. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Biddle JW, Steward CD, et al. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of Klebsiella pneumoniae. Antimicrob Agents Chemother. 2001;45(4):1151-61.

33. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. Clin Microbiol Rev. 2007;20(3):440-58, table of contents.

34. กีรติสิน ภ. เอนไซม์ beta-lactamase ชนิดมีฤทธิ์กว้างที่สำคัญทางการแพทย์. In: ภัทรชัย กีรติสิน ออ, editor. Beta-lactamase ในแบคทีเรียแกรมลบ จากความรู้พื้นฐานสู่เวชปฏิบัติ: วี. เจ. พริ้นติ้ง; 2555.

35. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, et al. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in Klebsiella pneumoniae sequence type 14 from India. Antimicrob Agents Chemother. 2009;53(12):5046-54.

36. Rachel Labourdette VB, Sophie Lapointe, Sophie Roy, Hugo Galarneau, Peggy Bouchy, Celine Roger-Dalbert, Patrice Nordmann, Nicolas Fortineau, Delphine Girlich. First clinical evaluation of the BD MAX CRE RUO Assay on rectal swabs from intensive care unit patient. 2013.

37. Wayne P. CLSI. Performance standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 27th ed. CLSI supplement M100. 2017.

38. van der Zwaluw K, de Haan A, Pluister GN, Bootsma HJ, de Neeling AJ, Schouls LM. The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods. PLoS One. 2015;10(3):e0123690.

39. Natcha Saetiew GS TC, Chusana Suankratay. . Accuracy of Rapidec® Carba NP Test for Rapid Detection of Carbapenemase-Producing Klebsiella pneumoniae at the King Chulalongkorn Memorial Hospital: A Prospective Diagnostic Study. . (Unpublished data). 2017.

40. Fleiss JL LB, Paik MC. Statistical inference for a single proportion. Statistical methods for rates and proportions. New Jersey: John Wiley and Sons; 2003. p. 17 - 35.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

41. Ellington MJ, Kistler J, Livermore DM, Woodford N. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding acquired metallo-beta-lactamases. J Antimicrob Chemother. 2007;59(2):321-2.

42. Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii: mechanisms and epidemiology. Clin Microbiol Infect. 2006;12(9):826-36.

43. Rimrang B, Chanawong A, Lulitanond A, Wilailuckana C, Charoensri N, Sribenjalux P, et al. Emergence of NDM-1- and IMP-14a-producing Enterobacteriaceae in Thailand. J Antimicrob Chemother. 2012;67(11):2626-30.

44. Rachel Labourdette VB SL SR, Hugo Galarneau, Peggy Bouchy, Celine Roger-Dalbert, Patrice Nordmann, Nicolas Fortineau, Delphine Girlich. First clinical evaluation of the BD MAX CRE RUO Assay on rectal swabs from intensive care unit patients. 2013.

45. Buckwalter SP, Sloan LM, Cunningham SA, Espy MJ, Uhl JR, Jones MF, et al. Inhibition controls for qualitative real-time PCR assays: are they necessary for all specimen matrices? J Clin Microbiol. 2014;52(6):2139-43.

46. Livermore DM. Of Pseudomonas, porins, pumps and carbapenems. J Antimicrob Chemother. 2001;47(3):247-50.

47. Xu Y, Gu B, Huang M, Liu H, Xu T, Xia W, et al. Epidemiology of carbapenem resistant Enterobacteriaceae (CRE) during 2000-2012 in Asia. J Thorac Dis. 2015;7(3):376-85.

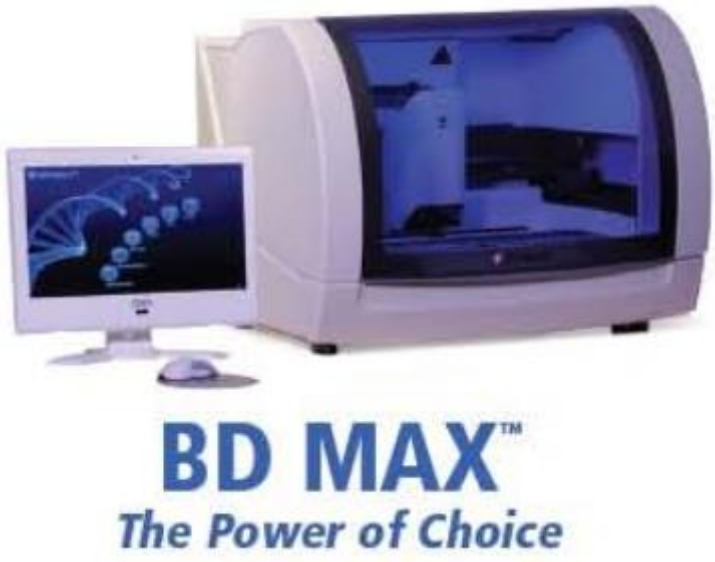
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก

รูปที่ 6 แสดงตัวเครื่องของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE



BD MAX™ CRE Assay ผลิตโดยบริษัท BD diagnostic เป็นเครื่องที่มีคุณสมบัติในการตรวจหายีนดื้อยาที่สามารถพบได้ในเชื้อกลุ่ม carbapenemase-resistant *Enterobacteriaceae* เช่น ยีน bla_{KPC}, bla_{NDM} และ bla_{OXA-48} ซึ่งลักษณะวิธีการตรวจเป็นการทำ real-time PCR โดยทุกขั้นตอนตั้งแต่ extraction, amplification และ detection จะใช้เครื่องทำเป็นขั้นตอนอัตโนมัติทั้งหมด

โดยในขั้นตอนการทำน้ำยาและ buffer tube จะใช้เป็นชุดการทดสอบของบริษัททั้งหมด จากที่กล่าวมาทั้งหมด ด้วยชุดการทดสอบนี้ทำให้ระยะเวลาในการทำการทดสอบสั้นลงเหลือประมาณ 1 – 2 ชั่วโมงจะทราบผลว่าเชื้อมียีนที่สามารถสร้างเอนไซม์ carbapenemase ได้หรือไม่

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ข

แบบบันทึกข้อมูลผู้ป่วย (เลขที่.....)

1. อายุ.....ปี
2. เพศ.....
3. หอผู้ป่วยที่กำลังเข้ารับการรักษา.....

1	อายุรกรรมทั่วไป	6	อายุรกรรมพิเศษ
2	อายุรกรรมวิกฤต	7	อายุรกรรมโรคเลือด/เปลี่ยนถ่ายไขกระดูก
3	ศัลยกรรมทั่วไป	8	ศัลยกรรมพิเศษ
4	ศัลยกรรมวิกฤต	9	อุบัติเหตุ
5	หอผู้ป่วยทั่วไปอื่น ๆ	10	หอผู้ป่วยพิเศษอื่น ๆ

4. โรคร่วมอื่น ๆ.....

1	Diabetes mellitus	6	Chronic kidney disease
2	Chronic liver disease	7	Cardiovascular disease
3	Post-surgery	8	Trauma
4	Malignancy	9	Neurological condition
5	Immunosuppressive/HIV	10	Other

5. ระยะเวลาเข้านอนโรงพยาบาลก่อนพบเชื้อ *Klebsiella pneumoniae*.....วัน
6. การวินิจฉัยโรคที่ตำแหน่งที่มีเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* .....

1	Colonization	4	Community-Acquired Pneumonia
2	Hospital-Acquired Pneumonia	5	Ventilator-Associated Pneumonia
3	Tracheobronchitis (include VAT)	6	Other

7. วิธีเก็บเสมหะ

1	ผู้ป่วยไอออกเอง	3	Tracheal aspirations
2	ดูดเสมหะจากปากผู้ป่วย		

8. ระยะเวลาที่เก็บเสมหะก่อนไปทำการทดสอบ.....(วัน)
9. อุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษาเสมหะก่อนไปทำการทดสอบ.....(องศาเซลเซียส)
10. ปริมาณเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ที่เพาะขึ้น .....

1	Few	3	Moderate
2	Heavy growth		

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

11. เชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ขึ้นเชื้อเดียว หรือ ขึ้นมากกว่าหนึ่งเชื้อถ้ามากกว่าหนึ่งเชื้อเชื้อที่ขึ้นร่วมด้วยคือ.....(ระบุชื่อเชื้อ และปริมาณ)

    11.1 เชื้อ.....ปริมาณ.....

    11.2 เชื้อ.....ปริมาณ.....

    11.3 เชื้อ.....ปริมาณ.....

12. เชื้อ *Klebsiella pneumoniae* เป็นเชื้อ.....

1	CRE	2	Non-CRE

13. ประวัติการได้ยาปฏิชีวนะมาก่อน.....ถ้าเคยได้มาก่อนให้บอกระยะเวลาที่ได้ยา.....วัน

14. ยาปฏิชีวนะที่เคยได้เป็นยากลุ่ม.....และ ระบุชนิด.....

1	Penicillin	4	Cephalosporin
2	Fluoroquinolones	5	Aminoglycosides
3	Carbapenems	6	Other

15. ผลของ BD MAX^{TM} CRE Assay..... (positive = 1 /negative = 0)

16. กรณีถ้าเป็น CRE ให้ระบุผลของ Conventional molecular technique ..... (positive = 1 /negative = 0)

    (กรณีไม่ใช่ CRE ให้ระบุผลเป็น negative) และถ้าใช้ให้ระบุ Carbapenemase gene.....

1	KPC	3	NDM
2	OXA-48	5	IMP
4	VIM		

17. ผลการรักษา

1	Survived	2	Died

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ค

ข้อมูลสำหรับผู้ป่วยหรือผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย

การศึกษาถึงความแม่นยำของชุดทดสอบบีดีแมกซ์ซีอาร์อีในการทดสอบเชื้อกลุ่มเคล็บเซียลลานิวโมเนียที่มีการสร้างเอนไซม์คาร์บาพีนาเมสจากเสมหะของผู้ป่วยในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ EVALUATION OF THE BD MAX™ CRE ASSAY FOR RAPID DETECTION OF CARBAPENEMASE GENES FROM RESPIRTORY SECRETIONS OF PATIENTS INFECTED WITH *Klebsiella pneumoniae* IN KING CHULALONGKORN MEMORIAL HOSPITAL (KCMH)

แพทย์ผู้ทำวิจัยชื่อ นพ. พฤฒิพงศ์ หนูเพชร
อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ นพ. รองพงศ์ โพล้งละ
หน่วยโรคติดเชื้อ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย และ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อาคารภูมิสิริมังคลานุสรณ์ ชั้น 5

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อหาความแม่นยำของชุดทดสอบ BD MAX™ CRE Assay ในการหายีนดื้อยาจากเสมหะโดยตรง เปรียบเทียบกับวิธีการตรวจทางโมเลกุลที่เป็นวิธีการตรวจที่เป็นมาตรฐานปัจจุบัน โดยมีผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยทั้งหมด 165 คน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยจะได้รับการซักประวัติอย่างละเอียดเพิ่มเติมเกี่ยวกับปัจจัยเสี่ยงที่อาจทำให้ติดเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ชนิดที่มีการสร้าง carbapenemase ทำให้ดื้อยากลุ่ม carbepenem หลังจากนั้นผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยจะได้รับการตรวจหาการติดเชื้อ, การรักษาตามมาตรฐานของการรักษาในปัจจุบัน จะไม่มีการรบกวนผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยเพื่อต้องหาสิ่งส่งตรวจเพิ่มในการเข้าร่วมงานวิจัยครั้งนี้

อย่างไรก็ตามเนื่องจากผลของชุดทดสอบนี้ยังอยู่ในขั้นตอนของการวิจัยดังนั้นผลของการเพาะเชื้อ หรือ ผลของการรายงานเรื่องเชื้อดื้อยา ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยจะได้รับแจ้งผลตามผลการทดสอบตามมาตรฐานปกติ

ความรับผิดชอบของอาสาสมัครผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย

เนื่องจากงานวิจัยนี้จะทำซ้ำในเสมหะของผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยที่ได้เก็บไว้แล้วตั้งแต่ต้น ดังนั้นผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยจะไม่ต้องทำอะไรเพิ่มเติมในการเข้าร่วมโครงการวิจัย และไม่ได้มีความจำเป็นต้องรับผิดชอบหรือเสียค่าใช้จ่ายใด ๆ เพิ่มเติม

ความเสี่ยงทีอาจได้รับ

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วเนื่องจากงานวิจัยชิ้นนี้จะทำในเสมหะของผู้ป่วยที่เก็บไว้ตั้งแต่ต้น และจะไม่มีการเกี่ยวข้องกับผู้ป่วยซ้ำ ดังนั้นความเสี่ยงที่ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับมีเล็กน้อยเท่านั้นคือต้องเสียเวลาให้ความร่วมมือกับผู้วิจัยในการเก็บข้อมูลเพิ่มเติม

ถ้าผู้เข้าร่วมวิจัยมีข้อสงสัยว่าจะมีอาการหรือความผิดปกติอันเกิดมาจากงานวิจัย ให้ปรึกษาผู้ทำวิจัยได้รับทราบได้

ความเสี่ยงที่ไม่ทราบแน่นอน

ท่านอาจเกิดอาการข้างเคียง หรือความไม่สบาย นอกเหนือจากที่ได้แสดงในเอกสารฉบับนี้ ซึ่งอาการข้างเคียงเหล่านี้เป็นอาการที่ไม่เคยพบมาก่อน เพื่อความปลอดภัยของท่าน ควรแจ้งผู้ทำวิจัยให้ทราบทันทีเมื่อเกิดความผิดปกติใดๆ เกิดขึ้น

หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เกี่ยวกับความเสี่ยงที่อาจได้รับจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านสามารถสอบถามจากผู้ทำวิจัยได้ตลอดเวลา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หากมีการค้นพบข้อมูลใหม่ ๆ ที่อาจมีผลต่อความปลอดภัยของท่านในระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัย ผู้ทำวิจัยจะแจ้งให้ท่านทราบทันที เพื่อให้ท่านทราบข้อมูลที่ได้จากการทำงานวิจัย

ประโยชน์ที่อาจได้รับ

การเข้าร่วมโครงการนี้จะทำให้ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยเป็นประโยชน์สำหรับแพทย์ และผู้ป่วยในอนาคตที่อาจได้นำข้อมูลจากงานวิจัยชิ้นนี้ไปเป็นแนวทางในการวินิจฉัยเชื้อดื้อยาในผู้ป่วยรายอื่น ๆ ในอนาคตต่อไป แต่ไม่ได้รับรองว่าสุขภาพของท่านจะต้องดีขึ้นหรือความรุนแรงของโรคจะลดลงอย่างแน่นอน

คำชี้แจงเกี่ยวกับสิทธิของผู้ป่วย

การเข้าร่วมโครงการวิจัยในครั้งนี้เป็นไปด้วยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจเข้าร่วมโครงการท่านสามารถปฏิเสธ และถอนตัวได้ตลอดเวลา การปฏิเสธ หรือการถอนตัวออกจากโครงการวิจัยของท่านจะไม่ได้มีผลใด ๆ กับการรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด

การตัดสินใจเข้าร่วมโครงการนี้ไม่จำเป็นต้องเข้าร่วมเพื่อประโยชน์ในการรักษาโรคที่ท่านเป็นอยู่เนื่องจากว่าท่านจะได้รับการตรวจวินิจฉัย และรับการรักษาที่เป็นมาตรฐานอยู่แล้วไม่มีความแตกต่างกันในผู้ที่เข้าร่วม หรือไม่ร่วมงานวิจัย

อย่างไรก็ตามหากท่านเข้าร่วมงานวิจัยข้อมูลที่อาจนำไปสู่การเปิดเผยตัวของท่าน จะได้รับการปกปิด และจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลงานวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อของท่านจะได้รับการปกปิดเสมอ โดยจะใช้เป็นรหัสของท่านแทนในการเก็บข้อมูลเพื่องานวิจัย

ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ง

หนังสือแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย

การศึกษาความแม่นยำของชุดทดสอบบีดีแมกซ์ซีอาร์อีในการตรวจหายีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์คาร์บาพีนาเมสจากเชื้อเคล็บซิลลานิวโมเนียอีจากเสมหะของผู้ป่วย (Diagnostic Accuracy of the BD MAX™ CRE Assay for the Detection of Carbapenemase Genes Directly from Respiratory Specimens with Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae*)

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว.....ได้อ่านรายละเอียดจากเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการทำวิจัยที่แนบมา และข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วมโครงการทำวิจัยโดยสมัครใจ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้ทำวิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการทำ วิธีการทำวิจัย อันตราย และผลประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย ตลอดจนได้ซักถามข้อสงสัยจากผู้วิจัยแล้ว และทราบแล้วว่าผู้เข้าร่วมการวิจัยสามารถถอนตัวจากโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผล การยกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยจะไม่ส่งผลใด ๆ ต่อการรักษา หรือสิทธิอื่นที่จะพึงได้รับต่อไป

ข้าพเจ้าได้ตระหนักแล้วว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์จะไม่มีการเปิดเผยชื่อ ข้อมูลเหล่านี้จะผ่านกระบวนการต่าง ๆใ นการทำงานวิจัย เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในคอมพิวเตอร์ การตรวจสอบการวิเคราะห์ หรือนำไปใช้เป็นข้อมูลในอนาคตหรืองานวิจัยชิ้นต่อไปเท่านั้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ข้าพเจ้ายินดีลงนามในใบยินยอมเพื่อเข้าร่วมโครงการวิจัยด้วยความเต็มใจ

..... ลงนามผู้ยินยอม
(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง
วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

..... ลงนำมผู้ทำวิจัย

(.....นพ. พฤฒิพงศ์ หนูเพชร.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

..... ลงนามพยาน

(.....) ชื่อพยานตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ: นาย พฤฒิพงศ์ หนูเพชร

วันเดือนปีเกิด: 22 ธันวาคม พ.ศ. 2526

สัญชาติ: ไทย

ที่อยู่: 1873 ถนนพระราม 4 แขวงปทุมวัน เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

โทรศัพท์: 0876310990

E-mail: Jasommhai@hotmail.com

ตำแหน่งปัจจุบัน: แพทย์ประจำบ้านต่อยอดโรคติดเชื้อชั้นปีที่ 2 สาขาวิชาโรคติดเชื้อ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2545 จบการศึกษาจากโรงเรียนหาดใหญ่วิทยาลัยสมบูรณ์กุลกันยา

พ.ศ. 2551 จบการศึกษาจากคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

พ.ศ. 2555 วุฒิบัตรเพื่อแสดงความรู้ความชำนาญในการประกอบวิชาชีพเวชกรรม สาขาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติการทำงาน

พ.ศ. 2551 – 2554 แพทย์เวชปฏิบัติทั่วไปโรงพยาบาลปาดังเบซาร์

พ.ศ. 2557 – 2559 อายุรแพทย์โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชินีนาถ ณ อำเภอนาทวี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University