โครงการเฝ้าระวังหนองในดื้อยาภาพรวมประเทศ ปี ๒๕๖๒ - ๒๕๖๔

ของ

นายพงศธร แสงประเสริฐ

ผลงานวิชาการเพื่อเลื่อนขึ้นแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่ง

นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการ

ตำแหน่งเลขที่ ๓๕๔๒

ส่วนราชการ กองโรคเอดส์และโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์

กรมควบคุมโรค

บทคัดย่อ

โรคหนองในเป็นโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ที่อยู่อันดับต้น ๆ ของประเทศไทย และยังพบว่าอัตราการป่วยทั่วประเทศมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น โดยยาที่ถูกแนะนำให้ใช้ในการรักษาคือ Ceftriaxone หรือ Cefixime ร่วมกับยา Azithromycin และปัจจุบันก็ได้มีรายงานการดื้อยาในกลุ่มนี้แล้วทั่วโลกร่วมถึงประเทศไทย โดยวิธีมาตรฐานของการวินิจฉัยโรคหนองในนั้นคือการเพาะเชื้อ ซึ่งการเพาะเลี้ยงเชื้อหนองในนั้นจะใช้อาหารชื่อว่า Modified Thayer-Martin agar และชุดทดสอบทางชีวเคมีแบบพิเศษที่ไม่เหมือนการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทั่วไป การทดสอบความไวต่อยาของเชื้อหนองในก็จะใช้อาหารพิเศษเช่นกันคือ GC agar base ซึ่งเป็นข้อจำกัดหนึ่งของห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาที่ไม่มีอาหารหรือชุดทดสอบทางชีวเคมีนี้สำรองไว้ในห้องปฏิบัติการ อาจด้วยราคาอาหารและชุดทดสอบทางชีวเคมีนี้ยังแพงอยู่ ประกอบกับจำนวนผู้ป่วยโรคนี้มีอัตราป่วยที่น้อยกว่าถ้าเทียบกับกลุ่มโรคอื่น ศูนย์การแพทย์บางรักด้านโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์เป็นศูนย์กลางในการดำเนินงานเฝ้าระวังหนองในดื้อยานั้น จึงพัฒนาให้มีการสนับสนุน อาหารเลี้ยงเชื้อ ชุดทดสอบทางชีวเคมี และวัสดุวิทยาศาสตร์อื่น ๆ ให้กับสำนักงานป้องกันควบคุมโรคและโรงพยาบาลเครือข่าย รวบรวมข้อมูลการทดสอบความไวต่อยาของเชื้อหนองในและจัดทำรายงาน เพื่อศึกษาแนวโน้มและสถานการณ์เชื้อหนองในดื้อยาภาพรวมประเทศ และนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ในระบบสาธารณสุขต่อไป

คำสำคัญ: หนองใน, ดื้อยา, โรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์

ABSTRACT

Gonorrhea is one of the tops sexually transmitted diseases in Thailand and has also found that the rate of illness across the country tends to increase. The drug that is recommended for treatment is Ceftriaxone or Cefixime in combination with Azithromycin, and nowadays, drug resistance in this group has been reported around the world, including Thailand. The standard method for diagnosing gonorrhea is culture. The culture of gonorrhea will use a medium that the name is Modified Thayer-Martin agar and biochemical test that is special more than the normal bacteria culture. Gonorrhea susceptibility testing is also done using a special medium, GC agar base, which is one limitation of microbiological laboratories that do not have this GC agar base or biochemical test in the laboratory. Maybe with the price of GC agar base and biochemical test still expensive. In addition, the number of patients with this disease has a lower morbidity rate if compared to other disease groups. Bangrak STIs Center for STDs is the center of surveillance for drug-resistant gonorrhea. Therefore, develop support agar biochemical test and other scientific materials to the Office of Disease Prevention and Control and network hospitals. Gonorrhea drug susceptibility testing data were collected and a report was prepared. To study trends and situations of drug-resistant gonorrhea in the country. and use the information for further use in the public health system.

Keywords: Gonorrhea, Resistance, Sexually transmitted disease

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัยสำเร็จและสมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณาอย่างยิ่งของ แพทย์หญิงรสพร กิตติเยาวมาลย์ หัวหน้าศูนย์การแพทย์บางรักด้านโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่เกี่ยวข้องทุกท่าน ที่มีส่วนช่วยเหลือ สนับสนุน ส่งเสริมการพัฒนางานวิจัยทางห้องปฏิบัติการ ตลอดจนการเล็งเห็นถึงความสำคัญของงานวิจัยเพื่อนำผลที่ได้มาวางแผนพัฒนาการดำเนินงานต่อไป จึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

นอกจากนี้ขอขอบพระคุณ รองศาสตรจารย์ ดร.รัตนา ลาวัง อาจารย์คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้คำแนะนำ คำปรึกษาในวิชาการการเพาะเชื้อและทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อหนองในทางห้องปฏิบัติการ

นายพงศธร แสงประเสริฐ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	i
ABSTRACT	ii
กิตติกรรมประกาศ	iii
สารบัญ	iiii
สารบัญตาราง	v
สารบัญภาพ	vi
สารบัญแผนภูมิ	vii
รายการสัญลักษณ์และคำย่อ	viii
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 โรคหนองใน	3
2.2 โครงสร้างเซลล์ของเชื้อ *N. gonorrhoeae*	3
2.3 การก่อโรคของของเชื้อ *N. gonorrhoeae*	4
2.4 อาการและอาการแสดงของโรคหนองใน	5
2.5 การรักษาโรคหนองในชนิดไม่มีภาวะแทรกซ้อน (Uncomplicated gonorrhea)	5
2.6 การรักษาโรคหนองในชนิดภาวะแทรกซ้อน	6
2.7 สารต้านจุลชีพและการดื้อต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อหนองใน	7
2.8 สถานการณ์การดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *N. gonorrhoeae*	14
2.9 การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ	16
2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	19
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	13
บทที่ 4 ผลการศึกษา	14
4.1 การรวบรวมข้อมูล	24
4.2 ผลการทดสอบความไวต่อยา	25
บทที่ 5 สรุป อภิปรายผลการศึกษา และข้อเสนอแนะ	31
รายการอ้างอิง	32
ภาคผนวก	34

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

3.1 ชนิดยาและวิธีทดสอบความไวต่อยา 22

4.1 แสดงข้อมูลจำนวนตัวอย่างการทดสอบการดื้อยาของห้องปฏิบัติการเครือข่ายหนองใน 24

4.2 แสดงข้อมูลการแปลผลการทดสอบความไวต่อยา ปี 2562 26

4.3 แสดงข้อมูลการแปลผลการทดสอบความไวต่อยา ปี 2563 27

4.4 แสดงข้อมูลการแปลผลการทดสอบความไวต่อยา ปี 2564 28

4.5 แสดงข้อมูลการดื้อยาแต่ละชนิด 29

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 แสดงลักษณะของเชื้อ *Neisseria gonorrhoeae* จากการย้อมสีแกรม	3
2.2 แสดงลักษณะโครงสร้างเซลล์ของเชื้อ *Neisseria gonorrhoeae*	4
2.3 แสดงแผนที่โลกที่แต่ละประเทศรายงานการดื้อยา Ceftriaxone และ Cefixime ในปี ค.ศ. 2016	14
2.4 แสดงแผนที่โลกที่แต่ละประเทศรายงานการดื้อยา Azithromycin ในปี ค.ศ. 2016	15
2.5 แสดงลักษณะการ streak เป็นรูปตัว Z หนองหรือสารคัดหลั่งจากผู้ป่วยแล้วป้ายลงบน MTM หรือ Bangrak I Media	16

สารบัญแผนภูมิ

แผนภูมิที่	หน้า
4.1 แสดงจำนวนและร้อยละของค่า MIC ต่อยา Ceftriaxone ของห้องปฏิบัติการเครือข่ายหนองใน	29
4.2 แสดงจำนวนและร้อยละของค่า MIC ต่อยา Cefixime ของห้องปฏิบัติการเครือข่ายหนองใน	30
4.3 แสดงจำนวนและร้อยละของค่า MIC ต่อยา Azithromycin ของห้องปฏิบัติการเครือข่ายหนองใน	30

รายการสัญลักษณ์และคำย่อ

สัญลักษณ์/คำย่อ	คำเต็ม/คำจำกัดความ
ACLT inhibitors	Amphotericin B, Colistin, Lincomycin Trimethoprim Inhibitors
ATCC	American Type Culture Collection
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CFU	Colony forming unit
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CO_2	Carbon dioxide
DGI	Disseminated gonococcal infection
E test	Epsilometer test
H_2O_2	Hydrogen peroxide
LOS	Lipooligosaccharide
LPS	Lipopolysaccharide
MIC	minimum inhibitory concentration
MTM	Modified Thayer-Martin
N. gonorrhoeae	*Neisseria gonorrhoeae*
P. mirabilis	*Proteus mirabilis*
PID	Pelvic inflammatory disease
S. epidermidis	*Staphylococcus epidermidis*
STDs	Sexually transmitted diseases
TM	Thayer-Martin agar
WHO	World Health Organization

บทที่ 1
บทนำ

โรคหนองใน (Gonorrhea) เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียที่บริเวณในท่อปัสสาวะ ช่องคลอด ปากมดลูก ทวารหนัก ตาและคอ[1] ซึ่งเป็น 1 ใน 5 ของโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ (Sexually transmitted diseases: STDs) ที่มีการติดตามและรายงานอัตราการป่วยทั่วทั้งประเทศไทยโดยกองระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค พบว่าในช่วงปี พ.ศ. 2560 ถึง 2561 มีอัตราการป่วยอยู่ใน 2 อับดับต้น ๆ ของโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์[2] โดยโรคหนองในนี้เกิดจากการติดเชื้อ *Neisseria gonorrhoeae*[3] ซึ่งจัดเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบรูปกลมคล้ายรูปไตหรือรูปถั่วอยู่เป็นคู่ (Gram negative diplococci) เซลล์มีขนาดประมาณ 0.6-1.5 ไมครอน และเป็นเชื้อที่มีความสำคัญคือเป็นเชื้อแบคทีเรียที่เจริญยาก (fastidious bacteria) โดยมีอุณภูมิที่เหมาะสมในการเจริญประมาณ 35-37 องศาเซลเซียส เชื้อไม่สามารถทนอยู่ในสิ่งแวดล้อมทั่วไปได้นาน และต้องการอาหารเพาะเชื้อพิเศษคือ Thayer-Martin agar (TM) เพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรียตัวอื่นและสารสนับสนุนการเจริญของเชื้อ โดยต้องมีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ที่จำเป็นในการเจริญ

การวินิจฉัยโรคหนองในนั้นจะใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อ *N. gonorrhoeae* ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานอ้างอิง (Reference method) และเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพดีกว่าวิธีการอ่านผลจาก Gram's stain แต่วิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อจะค่อนข้างซับซ้อนและยากกว่าเชื้อแบคทีเรียอื่นๆ เพราะเชื้อ *N. gonorrhoeae* เป็นเชื้อที่ต้องการอาหารพิเศษ และ CO_2 ประมาณ 5% ในการเจริญ และต้องมีความชื้นเพียงพอ และข้อดีของการเพาะเชื้อนั้น สามารถนำเชื้อหนองในที่เพาะได้มาทดสอบความไวต่อยาได้เพื่อติดตามและศึกษาแนวโน้มการดื้อยา โดยการทดสอบความไวต่อยาต้องใช้อาหารชนิดพิเศษเช่นกันคือ GC agar base

สำหรับการรักษานั้น เริ่มต้นจากการใช้ยา Penicillin Tetracycline Ciprofloxacin ตามลำดับ แต่ด้วยการพัฒนาการดื้อยาของเชื้อหนองใน จึงไม่มีการใช้ยา Penicillin Tetracycline Ciprofloxacin แล้ว หรืออาจมีการใช้น้อยในแถบประเทศที่ยังมีอัตราการดื้อยาไม่สูงมาก ซึ่งในปัจจุบันมียาใหม่ที่ถูกแนะนำให้ใช้หลักในการรักษาโรคหนองในคือยา Ceftriaxone และ Cefixime ร่วมกับยา Azithromycin[1] แต่อย่างไรก็ตามมีรายงานการดื้อยา Ceftriaxone Cefixime และ Azithromycin แล้วทั่วโลกและมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น[4,5] และความสำคัญของการระบาดนี้ทำให้ องค์กรอนามัยโลก (WHO) จัดอันดับเชื้อ *Neisseria gonorrhoeae* เป็นเชื้อดื้อยารุนแรง (Supper bug)[6] ที่ต้องมีการเฝ้าระวังและรายงาน ซึ่งมีรายงานพบผู้ป่วยประเทศอังกฤษติดเชื้อหนองในดื้อยาจากคู่เพศสัมพันธ์จากประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

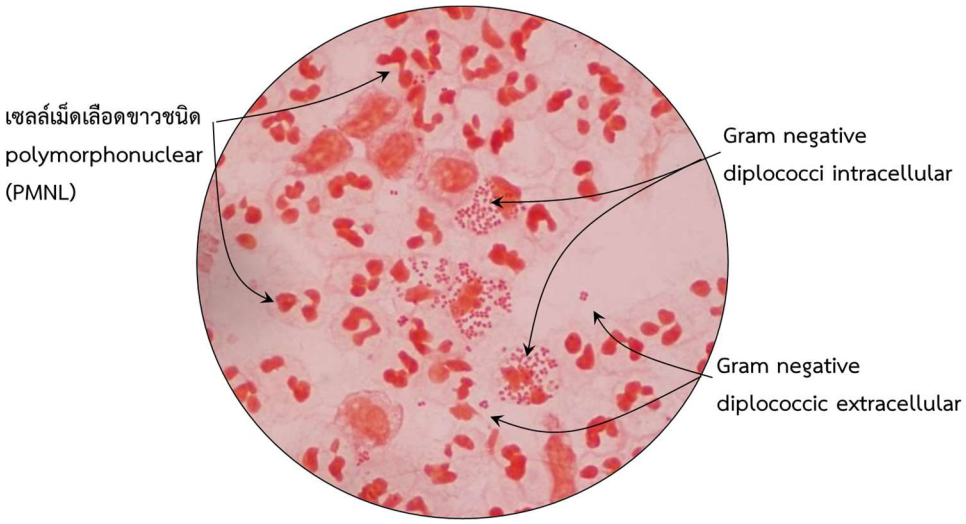
สถานการณ์การเฝ้าระวังหนองในดื้อยาของประเทศไทยนั้นยังไม่พบรายงานการดื้อยา Ceftriaxone และCefixime อาจจะเกิดจากข้อมูลที่รวบรวมยังน้อยอยู่ การเก็บข้อมูลยังไม่คลอบคลุมในทุก

พื้นที่ของประเทศไทย ซึ่งเกิดจากข้อจำกัดเรื่องอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเชื้อและชุดทดสอบทางชีวเคมีนั้นมีราคาแพง หายาก ประกอบกับมีผู้ป่วยที่มารักษาโรคหนองในจำนวนน้อยเมื่อเทียบกับโรคอื่น ๆ จึงทำให้ห้องปฏิบัติการไม่มีสำรองอาหารเลี้ยงเชื้อกับชุดทดสอบทางชีวเคมีไว้ใช้ ห้องปฏิบัติการ ศูนย์การแพทย์บางรักด้านโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ ซึ่งเป็นศูนย์กลางในการดำเนินงานเฝ้าระวังหนองในดื้อยานั้น จึงพัฒนาให้มีการสนับสนุน อาหารเลี้ยงเชื้อ ชุดทดสอบทางชีวเคมี และวัสดุวิทยาศาสตร์อื่น ๆ ให้กับสำนักงานป้องกันควบคุมโรคและโรงพยาบาลเครือข่าย และรวบรวมข้อมูลการทดสอบความไวต่อยาของเชื้อหนองในเพื่อศึกษาค่าความไวต่อยาและเฝ้าระวังแนวโน้มการดื้อยาของเชื้อหนองใน ของผู้ป่วยในแต่ละพื้นที่และในภาพรวมของประเทศ รวมทั้งค้นหาเชื้อดื้อยาในประเทศไทยเพื่อวางมาตรการในการรักษาต่อไป

บทที่ 2
วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โรคหนองใน

โรคหนองใน (Gonorrhea) เป็นโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ (Sexually transmitted diseases: STDs) ที่เกิดจากการติดเชื้อ *Neisseria gonorrhoeae* ที่บริเวณเยื่อเมือกในท่อปัสสาวะ ช่องคลอด ปากมดลูก ทวารหนัก ตาและคอ[1] ซึ่งจัดเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบรูปกลมคล้ายรูปไตหรือรูปถั่วอยู่เป็นคู่โดยหันด้านเว้าเข้าหากัน (Gram negative diplococci)[3] เซลล์มีขนาดประมาณ 0.6-1.5 ไมครอน จัดเป็นเชื้อกลุ่ม aerobe และเป็นเชื้อที่เจริญยาก (fastidious bacteria) โดยมีอุณภูมิที่เหมาะสมในการเจริญประมาณ 35-37 องศาเซลเซียส เชื้อไม่สามารถทนอยู่ในสิ่งแวดล้อมทั่วไปได้นาน และต้องการอาหารเพาะเชื้อพิเศษคือ Modified Thayer-Martin (MTM) agar เพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรียตัวอื่นและสารสนับสนุนการเจริญของเชื้อ เชื้อนี้จัดอยู่ในกลุ่ม capnophilic bacteria โดยบรรยากาศที่มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์จำเป็นในการเจริญ เชื้อไม่สามารถทนต่อความแห้งและความเย็น ไม่สามารถเคลื่อนที่



ภาพที่ 2.1 แสดงลักษณะของเชื้อ *Neisseria gonorrhoeae* จากการย้อมสีแกรม

2.2 โครงสร้างเซลล์ของเชื้อ *N. gonorrhoeae*

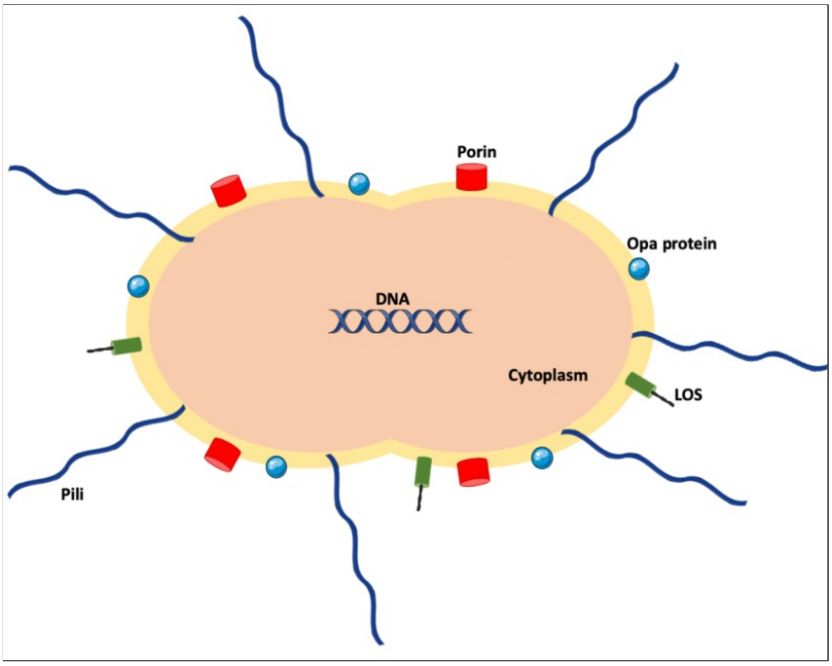
Pili มีลักษณะคล้ายเส้นขนที่ยื่นจากชั้นเยื่อหุ้มเซลล์ผ่านผนังเซลล์ออกสู่ภายนอก และช่วยในการเกาะติดเซลล์เจ้าบ้านของเชื้อ

Por (Porin protein) เป็นโปรตีนที่ประกอบขึ้นเป็นช่องทางผ่านเข้า-ออกของสารในชั้นผนังเซลล์ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ PorA และ PorB ซึ่งช่วยป้องกันไม่ให้เชื้อถูกทำลายภายในเซลล์เจ้าบ้าน โดยยับยั้งการรวมตัวของ Phagosome และ Lysosome

Opa (Opacity protein) เป็นโปรตีนที่พบอยู่ในชั้นผนังเซลล์ มีหน้าที่ช่วยในการเกาะกลุ่มระหว่างเซลล์ของเชื้อ และการเกาะติดของเชื้อกับเซลล์เจ้าบ้าน

Rmp (Reduction-modifiable protein) เป็นโปรตีนที่สัมพันธ์กับโปรตีน Por และร่วมประกอบเป็นช่องทางผ่านเข้า-ออกของสาร

Lipooligosaccharide (LOS) เชื้อไม่มีส่วน O-antigen ในโครงสร้างของ Lipopolysaccharide (LPS) ที่พบในเชื้อแกรมลบทั่วไป



ภาพที่ 2.2 แสดงลักษณะโครงสร้างเซลล์ของเชื้อ *Neisseria gonorrhoeae*

2.3 การก่อโรคของของเชื้อ *N. gonorrhoeae*

N. gonorrhoeae มีความจำเพาะที่เซลล์ columnar epithelium ที่บริเวณเยื่อเมือกบุผิวของระบบสืบพันธุ์ เช่น บริเวณปากมดลูกและท่อปัสสาวะเชื้อสร้างปัจจัยก่อโรคหลายชนิด แต่ไม่พบการสร้าง exotoxin การติดเชื้อเริ่มจากการเข้าเกาะติดกับเซลล์เยื่อบุผิวโดยอาศัย pili ซึ่งเป็นปัจจัยก่อโรคที่สำคัญ แอนติบอดีที่จำเพาะต่อ pili สามารถยับยั้งการเกาะติดเซลล์ของ pili ได้ โปรตีน Opa ช่วยให้เชื้อเกาะติดเซลล์เยื่อบุผิวได้ดีขึ้นและทำให้เชื้อถูกนำเข้าสู่ภายในเซลล์ได้โดยขบวนการ phagocytosis โปรตีน Por

อาจช่วยป้องกันไม่ให้เชื้อถูกทำลายภายในเซลล์ โดยยับยั้งการรวมตัวของ phagosome และ lysosome นอกจากนี้โปรตีน PorA ยังมีฤทธิ์ต้านการทำลายเชื้อ โดยขบวนการ serum killing จากปัจจัยที่อยู่ในซีรั่ม เช่น compliment ทำให้สายพันธุ์ที่สร้างโปรตีน PorA มักสัมพันธ์กับการติดเชื้อลุกลาม และผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของระบบ compliment มีอัตราเสี่ยงสูงในการเกิดโรคติดเชื้อตามระบบ แม้ว่าเชื้อมีกลไกต่อต้านการถูกทำลาย เมื่อถูกนำเข้าสู่ภายในเซลล์ แต่ไม่ถูกจัดเป็นเชื้อก่อโรคภายในเซลล์ เนื่องจากเชื้อไม่สามารถดำรงชีวิตและแบ่งตัวเพิ่มจำนวนภายในเซลล์ เชื้อจะผ่านออกจากเซลล์เยื่อบุผิวไปยังเนื้อเยื่อชั้นล่าง และก่อให้เกิดการติดเชื้อ

2.4 อาการและอาการแสดงของโรคหนองใน

2.4.1 ลักษณะทางคลินิกในผู้ชาย

ส่วนใหญ่ มีอาการปัสสาวะแสบขัดและมีหนองออกจากท่อปัสสาวะ บางรายอาจมีอาการน้อยหรือมีมูกขุ่น ประมาณร้อยละ 10 อาจไม่มีอาการ

ผู้ชายที่ใช้ปากกับอวัยวะเพศชาย (oral sex) โดยไม่ใช้ถุงยางอนามัยอาจติดเชื้อโรคหนองในที่ลำคอได้ ผู้ชายที่ใช้ปากกับอวัยวะเพศหญิง อาจติดเชื้อโรคหนองในที่ลำคอได้เช่นกัน แต่พบอุบัติการณ์ของโรคต่ำกว่า ส่วนการติดเชื้อในทวารหนักมักไม่ค่อยมีอาการ

2.4.2 ลักษณะทางคลินิกในผู้หญิง

ส่วนใหญ่ไม่ปรากฏอาการ หากมีอาการ จะพบ ตกขาวผิดปกติ ปัสสาวะแสบขัด ปวดท้องน้อย ตรวจพบการอักเสบที่ท่อปัสสาวะ ปากมดลูก หรือ ช่องทวารหนัก การวินิจฉัยโรคหนองในในผู้ป่วยหญิงจึงจำเป็นต้อง อาศัยการตรวจทางห้องปฏิบัติการเป็นหลัก

การใช้ปากร่วมเพศ (oral sex) โดยไม่ใช้ถุงยางอนามัยอาจติดเชื้อโรคหนองในที่ช่องคอได้ ส่วนใหญ่ไม่มีอาการ เช่นเดียวกับการติดเชื้อทางทวารหนัก

ในหญิงตั้งครรภ์ที่ติดเชื้อหนองในที่บริเวณปากมดลูกและช่องคลอดอาจทำให้ทารกแรกคลอดติดเชื้อได้จากการคลอดผ่านช่องคลอด และทำให้เกิดเยื่อบุตาอักเสบ (ophthalmia neonatorum) หากไม่รีบรับการรักษาอาจทำให้ทารกตาบอดได้

2.5 การรักษาโรคหนองในชนิดไม่มีภาวะแทรกซ้อน (Uncomplicated gonorrhea)

Ceftriaxone 500 มิลลิกรัม ฉีดเข้ากล้ามเนื้อครั้งเดียว (ในเด็กน้ำหนักตัวน้อยกว่าหรือเท่ากับ 45 กิโลกรัม ให้ยา ขนาด 50 mg/น้ำหนักตัว 1 kg (ไม่เกิน 250 mg) ฉีดเข้า กล้ามเนื้อครั้งเดียว) โดยทั้งหมดต้องร่วมกับให้การรักษา โรคหนองในเทียมร่วมด้วย

การรักษาทางเลือก Cefixime 400 มิลลิกรัม กินครั้งเดียว ให้ในกรณีที่ไม่สามารถฉีดยาได้ หรือ Gentamicin 160-240 mg ฉีดเข้ากล้ามเนื้อหรือฉีดเข้าทางหลอดเลือด ดำครั้งเดียว ให้ในกรณีแพ้ยา cephalosporins (ให้ผลการตอบสนองไม่ดีนักในรายที่ติดเชื้อหนองในที่ช่องคอ และไม่มีหลักฐาน เพียงพอในการรักษาหนองในที่ทวารหนัก)

2.6 การรักษาโรคหนองในชนิดภาวะแทรกซ้อน

2.6.1 ภาวะแทรกซ้อนเฉพาะที่ (local complicated gonorrhea)

2.6.1.1 ในผู้ป่วยชาย

(1) ลักษณะ

- การอักเสบของท่อปัสสาวะส่วนหลัง (posterior urethritis)
- ท่อพักอสุจิอักเสบ (epididymitis) และลูกอัณฑะอักเสบ (orchitis) เป็นภาวะที่ค่อนข้างรุนแรง เพราะอาจทำให้เกิดการตีบตันของท่อ epididymis ในกรณีที่เป็นทั้งสองข้างอาจทำให้เป็นหมันได้
- ฝีของต่อมข้างปากท่อปัสสาวะ (paraurethral duct abscess)
- ฝีบริเวณรอบท่อปัสสาวะ (periurethral abscess)
- ฝีที่ต่อมคาวเปอร์ (Cowper's gland abscess)

(2) การรักษา

- ให้การรักษาเหมือนหนองในชนิดไม่มีภาวะแทรกซ้อน แต่ให้ยาต่อเนื่องอย่างน้อย 2 วัน หรือจนกว่าจะหาย

2.6.1.2 ในผู้ป่วยหญิง

(1) ลักษณะ

- ฝีของต่อมบาร์โธลิน (Bartholin's abscess) ซึ่งเป็นภาวะแทรกซ้อน ที่พบบ่อยที่สุด
- ฝีที่ปีกมดลูกและรังไข่ (tubo-ovarian abscess)
- อุ้งเชิงกรานอักเสบ (pelvic inflammatory disease; PID)

(2) การรักษา

- ให้การรักษาเหมือนหนองในชนิดไม่มีภาวะแทรกซ้อน แต่ให้ยาต่อเนื่องอย่างน้อย 2 วัน หรือจนกว่าจะหาย

2.6.2 ภาวะแทรกซ้อนแพร่กระจาย (disseminated gonococcal infection; DGI) เกิดจากเชื้อแพร่กระจายไปตามกระแสเลือด

2.6.2.1 ลักษณะ

- มีอาการปวดข้อ (arthralgia) ต่อมามีการอักเสบของข้อ (arthritis) อาจเกิดข้อเดียว หรือ หลายข้อย้ายตำแหน่งได้ (migratory polyarthritis) ข้อที่พบได้บ่อยคือ ข้อมือ หรือข้อเท้า อาจพบที่ข้อศอก หรือข้อเข่าได้

- รอยโรคที่ผิวหนังซึ่งเกิดจากการอักเสบที่เส้นเลือดของผิวหนัง (septic vasculitis) รอยโรคที่พบได้บ่อยคือ ตุ่มหนองอยู่บนฐานสีแดง สามารถ พบการตายของเนื้อเยื่อบริเวณกลางรอยโรคได้ (necrotic pustule) มักพบการกระจายของรอยโรคบริเวณมือเท้า และ แขนขาส่วนปลาย โดยรอยโรคบริเวณมือและเท้าอาจมีอาการเจ็บ แต่รอยโรคบริเวณ บริเวณอื่นมักไม่มีอาการคันหรือเจ็บ

- ในผู้หญิง อาจเป็นสาเหตุของการตั้งครรภ์นอกมดลูก (ectopic pregnancy) หรือเป็นหมันได้

2.6.2.2 การรักษา

การรักษา ควรรับไว้รักษาในโรงพยาบาลและให้การรักษา ดังนี้

กรณีมีจุดเลือดออกใต้ผิวหนัง (petechiae) หรือตุ่มหนอง (pustule) ที่ ผิวหนัง, ปวดข้อ (arthralgia), ข้ออักเสบ (septic arthritis), เอ็นและเยื่อบุ ข้ออักเสบ (tenosynovitis) ให้ใช้ยา Ceftriaxone 1-2 g ฉีดเข้าหลอดเลือดดำ วันละ 1 ครั้ง จนอาการดีขึ้น แล้วเปลี่ยนเป็นยากิน (cefixime 400 mg วันละ 2 ครั้ง) รวมระยะเวลา ในการรักษาอย่างน้อย 7 วัน ให้รักษาโรคหนองในเทียมร่วมด้วย และคู่เพศสัมพันธ์ควรได้รับการประเมินการติดเชื้อและรักษา

กรณีที่มีเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (meningitis) ร่วมด้วย ให้ใช้ยา Ceftriaxone 1-2 g ฉีดเข้าหลอดเลือดดำ ทุก 12 ชั่วโมง นาน 10-14 วัน ให้รักษาโรคหนองในเทียมร่วมด้วย และคู่เพศสัมพันธ์ควรได้รับการประเมินการติดเชื้อและรักษา

กรณีที่มีเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ (endocarditis) ร่วมด้วย ให้ใช้ยา Ceftriaxone 1-2 g ฉีดเข้าหลอดเลือดดำ ทุก 12 ชั่วโมง นานอย่างน้อย 4 สัปดาห์ ให้การรักษาหนองในเทียมร่วมด้วย และคู่เพศสัมพันธ์ควรได้รับการประเมินการติดเชื้อและรักษา

2.7 สารต้านจุลชีพและการดื้อต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อหนองใน

โรคหนองในเป็นโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ที่รักษาได้ (curable sexually transmitted diseases) เกิดจากเชื้อ *N. gonorrhoeae* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ที่สำคัญเนื่องจากเป็นโรคที่พบการดื้อยาสูง (high level) ทำให้ยากแก่การรักษาและควบคุม โดยเชื้อหนองในมีการพัฒนาการดื้อยาได้หลายชนิด และที่สำคัญ ได้แก่

ยากลุ่ม Penicillins

การออกฤทธิ์: Penicillins มีสูตรโครสร้างพื้นฐานเป็น 6-amidinopenicillin acid (6-APA) และสารต้านจุลชีพแต่ละชนิดต่างกันที่ acyl side chain ซึ่งมีผลให้ออกฤทธิ์แตกต่างกันได้

- Natural penicillins เช่น penicillin G และ penicillin V เป็นสารต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์แคบ เนื่องจากออกฤทธิ์ได้เฉพาะแกรมบวกเท่านั้น

- Aminopenicillins เช่น ampicillin และ amoxicillin ออกฤทธิ์ได้ดีกับเชื้อกลุ่มแกรมบวก และออกฤทธิ์กับเชื้อแกรมลบบางชนิดแต่ไม่สามารถทนต่อเชื้อที่สร้างเอนไซม์ β-lactamase ได้

- Penicillinase stable penicillins เช่น methicillin, oxacillin, cloxacillin สามารถทนต่อเอนไซม์ β-lactamase ที่สร้างโดย Staphylococci ได้

- Extended spectrum penicillins สามารถออกฤทธิ์ได้กว้างทั้งเชื้อแกรมบวก และแกรมลบ ซึ่งประกอบด้วยโครงสร้างหลายแบบ เช่น ureidopenicillins (azlocillin, mezlocillin, piperacillin), carboxypenicillins (carbonicillin, ticarcillin), amidopenicillins (mecillinam)

การดื้อยา: การดื้อยา Penicillins ในเชื้อหนองในมีการระบาดทั่วโลก ซึ่งยีนดื้อยาที่พบมีทั้งที่อยู่บนพลาสมิดและโครโมโซม โดยการระบาดด้วยการสร้างเอนไซม์ penicillinase ที่เรียกว่า penicillinase producing *N. gonorrhoeae* (PPNG) มียีนควบคุมอยู่บนพลาสมิด และเอนไซม์ที่พบส่วนใหญ่เป็น penicillinase ชนิด TEM-1 ซึ่งเป็นชนิดของเอนไซม์ที่พบได้บ่อยที่สุดในเชื้อแบคทีเรีย โดยเอนไซม์ penicillinase ชนิด TEM-1 เป็นชนิดที่สามารถย่อยได้เฉพาะ narrow spectrum penicillins (กลุ่ม 2b) เช่น penicillin, ampicillin และ amoxycillin เป็นต้น นอกจากนี้ มีการพบเอนไซม์ชนิด TEM-135 ในเชื้อหนองใน โดยเอนไซม์นี้มีความแตกต่างกับเอนไซม์ชนิด TEM-1 ในตำแหน่งของกรดอะมิโนที่ 182 โดยเปลี่ยนจาก methionine เป็น threonine (Met182Thr) ซึ่งเอนไซม์นี้ยังคงคุณสมบัติของการย่อยได้เฉพาะ narrow spectrum penicillins (กลุ่ม 2b) ซึ่งพลาสมิดพาหะของเอนไซม์ penicillinase ที่พบในเชื้อหนองในมีได้หลายชนิด คือ Africa, Asia, Toronto, Rio, Nimes, New Zealand และ Johannesberg โดยการระบาดของเชื้อ PPNG เกิดจากการพบพลาสมิดชนิด Africa, Asia, หรือ Toronto สำหรับกรณีพบยีนดื้อยาบนโครโมโซมเกิดจากกลไกอื่นๆ ที่ไม่ใช่การสร้างเอนไซม์ซึ่งมียีนควบคุมอยู่บนโครโมโซม จึงเรียกว่า chromosomal mediated resistance *N. gonorrhoeae* (CMRNG) เช่น การกลายพันธุ์ของ PBP-1 และ PBP-2 ทำให้ลดการจับของยา penicillins ต่อเป้าหมาย โดย PBP-1 และ PBP-2 มีการควบคุมด้วยยีน *ponA*

และ *penA* ตามลำดับ นอกจากนี้ พบความเกี่ยวข้องกับยีนหลายชนิด เช่น การกลายพันธุ์ของ *penB* และ *penC* (pilQ) มีผลต่อ porin โดยมีผลลดการเข้าของยาสู่เซลล์ได้หลายชนิด จึงมีผลให้เกิดการดื้อต่อยา penicillins, tetracyclines, และ quinolones สำหรับการกลายพันธุ์ของ mtr มีผลกระตุ้นต่อ MtrCDE efflux pump ซึ่งมีผลให้เกิดการดื้อต่อยา penicillins, tetracyclines และ quinolones

ยากลุ่ม Tetracyclines

การออกฤทธิ์ : สารต้านจุลชีพกลุ่มนี้ เช่น tetracycline, doxycycline, minocycline, tigecycline โดยสารต้านจุลชีพนี้จับแบบ reversible กับ 30s subunit ของ ribosome และยับยั้งการจับของ amino-acyl-tRNA กับ mRNA-ribosome complex ที่ตำแหน่ง A site มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ (static effect) มีขอบข่ายการออกฤทธิ์กว้างทั้งแบคทีเรียแกรมบวก, แกรมลบ, anaerobes, Rickettsiae, Chlamydiae, Mycoplasma

การดื้อยา: การดื้อยา Tetracyclines ในเชื้อหนองในพบระบาดทั่วโลก โดยการดื้อยามียีนที่เกี่ยวข้องได้ทั้งบนโครโมโซมและพลาสมิด โดยยีนบนโครโมโซมเกี่ยวข้องกับการกลายพันธุ์ของ *mtr* และ *penB* ซึ่งก่อให้เกิดการดื้อยาในความเข้มข้นต่ำ ในขณะที่ยีนควบคุมที่อยู่บนพลาสมิด เกิดจากมียีน *tetM* ใน 24.5 Mda conjugative plasmid โดยพบชนิดหลักของ *tetM* 2 ชนิด คือ Dutch และ America ซึ่งมีความแตกต่างของลำดับเบสเล็กน้อย โดยการดื้อยาที่มียีนบนพลาสมิด ก่อให้เกิดการดื้อยาในความเข้มข้นสูง เรียกเชื้อกลุ่มนี้ว่า high-level tetracycline resistance Neisseria gonorrhoeae (TRNG) โดยยีน *tetM* มีการระบาดในเชื้อประจำถิ่นของระบบสืบพันธ์ ซึ่งการมียีนบนพลาสมิด ร่วมกับการมี selective pressure เนื่องจากการใช้ยากลุ่ม tetracyclines ในการรักษาโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ก่อให้เกิดการระบาดของเชื้อ TRNG

ยากลุ่ม Quinolones

การออกฤทธิ์ : สารต้านจุลชีพกลุ่มนี้ เกิดจากการสังเคราะห์ มีฤทธิ์ในการยับยั้งการคลายเกลียวของสาย DNA ซึ่งในการสังเคราะห์ DNA ทำให้มีการแตกของสาย DNA เพิ่มขึ้น โดยมีผลต่อเอนไซม์ 2 ชนิด คือ DNA gyrase และ topoisomerase IV มีขอบข่ายการออกฤทธิ์ดีต่อแอโรบิกแบคทีเรียแกรมลบ แต่ไม่ดีนักกับแกรมบวก

การดื้อยา: การดื้อยากลุ่ม Quinolones ของเชื้อหนองใน (Quinolone resistance N. gonorrhoeae, QRNG) มียีนควบคุมอยู่บนโครโมโซม โดยมีกลไกที่พบหลัก คือ กลายพันธุ์ของยีน *gyrA* และ *parC* ซึ่งมีผลให้การจับของยาที่เป้าหมายลดลง (Target alteration) โดยการกลายพันธุ์ของยีน *gyrA* มีผลต่อ

DNA gyrase subunit A (*GyrA*) โดยพบตำแหน่งการกลายพันธุ์ของกรดอะมิโนที่พบบ่อย คือ serine ที่ตำแหน่ง 91 (Ser-91) และ aspartic acid ที่ตำแหน่ง 95 (Asp-*95*) ในขณะที่การกลายพันธุ์ของยีน *parC* มีผลต่อ DNA topoisomerase IV โดยพบตำแหน่งการกลายพันธุ์ของกรดอะมิโนที่พบบ่อย คือ Asp-86, Ser-87, Ser-88 และ Gly-91 ซึ่งการกลายพันธุ์ของ DNA topoisomerase IV ร่วมด้วยทำให้เพิ่มความเข้มข้นสูงขึ้น นั่นคือ การดื้อยาในความเข้มข้นสูงขึ้นเมื่อมีการกลายพันธุ์หลายเป้าหมาย (Alteration in multiple targets) ในขณะที่กลไกจาก efflux pump พบการดื้อยาในความเข้มข้นต่ำ ซึ่งมีการรายงานพบเชื้อ QRNG สูงขึ้นและมี MIC สูงขึ้นด้วย

ยากลุ่ม Spectinomycin และ aminoglycosides

การออกฤทธิ์: ยา Spectinomycin เป็นยาที่ออกฤทธิ์ได้ดีในการรักษาการติดเชื้อหนองใน ออกฤทธิ์โดยยาจะผ่านเข้าทาง porin และ transport เข้าเซลล์ โดยยาจับกับ 30s subunit (12s subunit) ของไรโบโซม แล้วมีผลให้อ่านลำดับเบสเปลี่ยนไป การเรียงลำดับของกรดอะมิโนบนสายโปรตีนเปลี่ยน ทำให้สร้างโปรตีนผิดชนิดหรือสร้างไม่ได้ จึงมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (cidal effect) โดยออกฤทธิ์ได้ดีทั้งแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบหลายชนิด

การดื้อยา: สามารถพบเชื้อดื้อยาเป็นครั้งคราว ซึ่งการดื้อยากลุ่มนี้ มียีนควบคุมอยู่บนโครโมโซม โดยเกิดจากการกลายพันธุ์ของ Ribosomal genes โดยการดื้อยา Spectinomycin เกิดจากการกลายพันธุ์ของยีน spc ในขณะที่การดื้อยา aminoglycosides เกิดจากการกลายพันธุ์ของยีน kan นอกจากนี้ พบว่า เชื้อที่มีค่า MIC สูงขึ้นของยา Gentamicin เกี่ยวข้องกับกลไกของ porin ด้วย

ยากลุ่ม Macrolides

การออกฤทธิ์: ยา azithromycin ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ Erythromycin เป็นยาที่ใช้ในการรักษาการติดเชื้อหนองในได้ดี โดยยานี้เป็นยาที่ใช้ในการรักษาการติดเชื้อ Chlamydia trachomatis และมีโครงสร้างที่ประกอบด้วย lactone ring ขนาดใหญ่ และมี amino sugar หนึ่งหรือมากกว่ามาจับด้วย glycosidic bond โดยออกฤทธิ์จับแบบ irreversible กับ 50s subunit ของ ribosome และมีผลยับยั้งขั้นตอนการ translocation ในการสังเคราะห์โปรตีน โดยตำแหน่งที่ยาไปจับใกล้เคียงกันทั้ง lincosamides, streptogramin B, และ chloramphenicol

การดื้อยา: สำหรับเชื้อดื้อยาพบยีนควบคุมการดื้อยา อยู่บนโครโมโซม โดยเกี่ยวข้องกับการกลายพันธุ์ของ 23sRNA rrl ซึ่งควบคุมโดยยีนหลัก ๆ คือ *mtrR* และ *mtrC* ซึ่งมีผลทำให้เกิด methylase ส่วนที่เป็น

เป้าหมายในการจับของยา ทำให้ยาจับได้ลดลง และนอกจากยีน *mtrR* และ *mtrC* และยังอาจเกี่ยวข้องกับการกลายพันธุ์ของยีน *ermB*, *ermC* และ *ermF* ได้ในบางครั้ง

ยากลุ่ม Cephalosporins

การออกฤทธิ์: ปัจจุบันใช้เป็น first-line ในการรักษาหนองใน โดยมีโครงสร้างพื้นฐานเป็น 7-aminocephalo sporanic acid (7-ACA) และแต่ละชนิดต่างกันที่ acyl side chain สองแห่ง ซึ่งมีผลให้ขอบข่ายการออกฤทธิ์แตกต่างกันได้ จึงมีการจัดแบ่ง cephalosporins เป็น 5 รุ่น (generation) คือ

- First generation ได้แก่ cephalothin, cephazolin, cephaloridine, cephalexin มีขอบข่ายการ ออกฤทธิ์ต่อเชื้อแกรมบวกเป็นส่วนใหญ่ และแกรมลบบางชนิด

- Second generation ได้แก่ cefuroxime, cefaclor, ceprozil, cefamandole, loracarbef มีขอบข่ายการออกฤทธิ์ต่อเชื้อแกรมลบเพิ่มขึ้น โดยใช้ได้ดีกับเชื้อ *Haemophilus influenzae* และ *Moraxella catarrhalis* ที่สร้างเอนไซม์ β-lactamase ด้วย ซึ่งนำไปใช้ในการรักษาไซนัสอักเสบ หรือ lower respiratory tract infection ได้ รวมถึงมีผลต่อเชื้อ anaerobes ด้วย โดย cefuroxime, cefaclor, ceprozil, loracarbef เป็นยากิน และ cefaclor ถูกทำลายได้ง่ายด้วยเอนไซม์ β-lactamase

- Third generation ได้แก่ cefdinir, ceftibuten, cefpodoxime, cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, cefoperazone, ceftizoxime, cefixime, moxalactam เป็นสารต้านจุลชีพที่มีขอบข่ายการออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมลบดีขึ้นแต่มีฤทธิ์ ในการต้านแกรมบวกลดลง อย่างไรก็ตามยากลุ่มนี้เฉพาะ ceftazidime และ cefoperazone ที่มีผลต่อเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และ ceftizoxime และ moxalactam มีผลต่อเชื้อ *Bacteroides fragilis* ซึ่งสารต้านจุลชีพบางชนิดในกลุ่มนี้สามารถผ่าน blood brain barrier ได้ด้วย และกลุ่มยาสำคัญของโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์คือ ceftriaxone และ cefixime ใช้เป็นยาหลักในการรักษาการติดเชื้อ *N. gonorrhoeae* ด้วย โดย moxalactam จัดเป็น oxacephems เนื่องจากมีโครงสร้างต่างจาก cephalosporins เล็กน้อย โดยมียา cefixime, cefdinir, ceftibuten, cefpodoxime ที่พบในรูปยากิน

- Fourth generation ได้แก่ cefepime, cefpirome มีขอบข่ายการออกฤทธิ์กว้างกว่า third generation โดยมีคุณสมบัติเป็น zwitterionic และทนต่อเอ็นไซม์ cephalosporinase หลายชนิด เช่น inducible class C β-lactamase (Inducible AmpC) ออกฤทธิ์ได้ดีทั้งต่อแบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวก เช่น *Pseudomonas aeruginosa*, Enterobacteriaceae, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*

pneumoniae, *Haemophilus* spp., และ *Neisseria* spp. สารต้านจุลชีพกลุ่มนี้สามารถผ่าน blood brain barrier ได้ดีด้วย

- Fifth generation ได้แก่ ceftaroline ceftobiprole ขอบข่ายการออกฤทธิ์กว้างทั้งต่อแบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวก โดยรวมถึงเชื้อแกรมบวกที่ดื้อยารุ่นก่อนหน้านี้ เช่น methicillin resistant Staphylococci (MRS), penicillin resistant *S. pneumoniae* (PRSP), และ ceftriaxone resistant *S. pneumoniae*

กลไกการดื้อสารต้านจุลชีพ

การดื้อสารต้านจุลชีพของเชื้อเกิดขึ้นจากการที่เชื้อที่ไวมีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม โดยยีนดื้อสารต้านจุลชีพอาจอยู่บนโครโมโซมหรือพลาสมิดก็ได้ ซึ่งการดื้อยา อาจเป็นผลจากการเกิด mutation ของลำดับเบสบนโครโมโซม หรือการแลกเปลี่ยนยีนดื้อสารต้านจุลชีพระหว่างแบคทีเรีย (horizontal gene transfer) โดยวิธี transformation, transduction หรือ conjugation

1. Transformation เป็นการส่งต่อยีนโดยยีนดื้อยาอยู่ในรูปของ free DNA โดยอาจเป็นส่วนของโครโมโซมหรือพลาสมิดแล้วมีการยีนเข้าสู่เซลล์ตัวรับ (recipient) โดยยีนสามารถสอดแทรกรวมกับ genomic DNA ของเชื้อได้ โดยลำดับเบสใน genomic DNA กับ insertion sequence ต้องคล้ายคลึงกัน เพื่อให้ DNA ใหม่เข้าไปแทนที่และแลกเปลี่ยนกับ DNA เก่าของเชื้อได้ โดยเกิดทั้งในแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบที่อยู่ในสกุลเดียวกันหรือ ใกล้เคียงกัน

2. Transduction เป็นวิธีการส่งต่อยีนโดยยีนดื้อยาอยู่กับ bacteriophage และเมื่อ phage ไปอาศัยแบคทีเรียเซลล์ใหม่ก็จะนำยีนดื้อยาไปด้วย โดยยีนดื้อยาจะสอดแทรกกับ genomic DNA ของแบคทีเรีย การแลกเปลี่ยน ยีนดื้อยาโดยวิธีการนี้เกิดได้ทั้งแบคทีเรีย แกรมบวกและแกรมลบ แต่ต้อง เป็นชนิดที่ไวรัสอาศัย และเจริญเติบโตได้

3. Conjugation เป็นวิธีการส่งต่อยีนระหว่างแบคทีเรียโดยผ่านทาง sex pili เป็นตัวเชื่อมระหว่างเซลล์ทั้งสอง ถ้ายีนดื้อยาอยู่บน conjugative plasmid จะสามารถส่งต่อการดื้อยาได้โดยตรงและอาจเป็นการถ่ายทอดการดื้อยา หลายชนิดพร้อมกันได้ แต่สำหรับยีนดื้อยาอยู่บน non-conjugative plasmid อาจถูกส่งไปยังเซลล์ตัวรับได้โดยอาศัยร่วมไปกับการส่งต่อของ conjugative plasmid

เชื้อจุลชีพที่มียีนดื้อสารต้านจุลชีพ พบการแสดงออกด้านกลไกทางชีวเคมี ได้หลายแบบ โดยการดื้อสารต้านจุลชีพหนึ่งชนิดอาจเกิดได้จากกลไกหลายแบบ และกลไกที่พบบ่อยในเชื้อแต่ละชนิดอาจมีความแตกต่างกันได้ ซึ่งกลไกที่พบบ่อยที่ก่อให้ เชื้อดื้อสารต้านจุลชีพ คือ

1. Drug inactivation or modification (การทำลายยา)

เชื้อดื้อยาหลายชนิดมีการสร้างเอนไซม์มาทำลายสารต้านจุลชีพได้ เช่น การสร้าง β-lactamases ของเชื้อเพื่อทำลายสารต้านจุลชีพกลุ่ม β-lactams โดยเมื่อทำลาย penicillin เกิดเป็น penicilloic acid และทำลาย cephalosporin เกิดเป็น cephalosporic acid ซึ่งไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ โดย

เอนไซม์ β-lactamase มีหลายชนิดดังนั้นความสามารถในการทำลาย β-lactams จึงแตกต่างกันได้ตามชนิดของเอนไซม์ เช่น ถ้าเชื้อสร้าง extended spectrum β-lactamases มีผลให้เชื้อดื้อ β-lactams เกือบทั้งหมด ยกเว้น cephamycin และ carbapenems ซึ่ง β-lactamase พบได้ทั้งในเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ นอกจากนี้ พบเชื้อสร้างเอนไซม์ chloramphenicol acetyltransferase (CAT) ซึ่งทำลายสารต้านจุลชีพ chloramphenicol ได้หรือเชื้อสร้างเอนไซม์ที่ทำให้เปลี่ยนโครงสร้างสารต้านจุลชีพ aminoglycosides ด้วยการเกิด acetylation, adenylation หรือ phosphorylation ทำให้ สารต้านจุลชีพออกฤทธิ์ไม่ได้อีกต่อไป

2. Modified target sites (การเปลี่ยนแปลงเป้าของสารต้านจุลชีพ)

การออกฤทธิ์ของสารต้านจุลชีพ ต้องจับกับเป้าหมาย (target sites) ได้ จึงจะสามารถทำงานได้ ดังนั้นเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของเป้าหมาย จึงมีผลต่อการจับของสารต้านจุลชีพ เช่น เอนไซม์ transpeptidase (penicillin binding proteins, PBPs) เป็นเป้าหมายในการจับของสารต้านจุลชีพกลุ่ม β-lactams เมื่อเชื้อ Staphylococcus aureus ได้รับยีน mecA ทำให้มีการสร้าง PBP2a (หรือเรียกว่า PBP2') มีผลให้เชื้อดื้อสารต้านจุลชีพกลุ่ม β-lactams ทั้งหมด (methicillin resistant Staphylococcus aureus, MRSA) หรือการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ PBPs มีผลให้เชื้อ Streptococcus pneumoniae, *N. gonorrhoeae* ดื้อ penicillin การเปลี่ยนแปลงเป้าของสารต้านจุลชีพทำให้เชื้อดื้อยา พบในการดื้อต่อสารต้านจุลชีพ ชนิดอื่นนอกเหนือจาก β-lactams เช่นกัน เช่น การเปลี่ยนแปลงของ D-ala-D-ala (สารตั้งต้นการสังเคราะห์ peptidoglycan) เป็น D-ala-D-lac มีผลให้เชื้อเกิดการดื้อต่อ glycopeptides, การเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ DNA gyrase และ topoisomerase IV มีผลให้เชื้อเกิดการดื้อต่อ fluoroquinolone, การเปลี่ยนแปลงของ β-subunit ของ RNA polymerase มีผลให้เชื้อเกิดการดื้อต่อ rifampin และการเปลี่ยนแปลงของ dihydrofolate reductase มีผลให้เชื้อเกิดการดื้อต่อ trimethoprim

3. Decreased uptake (การลดการผ่านของสารต้านจุลชีพเข้าเซลล์)

การที่ยาจะยับยั้งการเจริญหรือทำลายเชื้อได้ จำเป็นต้องมีปริมาณสารต้าน จุลชีพสูงพอที่จะออกฤทธิ์กระทบต่อการเจริญของเชื้อ ดังนั้นการดื้อของเชื้อที่พบบ่อยอีกวิธีหนึ่งเกิดจากการมีปริมาณสารต้านจุลชีพในเซลล์ลดลง ทำให้เชื้อไม่ถูกยับยั้งหรือ ถูกทำลาย เชื้อดื้อยาหลายชนิดพบว่า เกิดจากลดการผ่านของยาเข้าเซลล์ เช่น การเปลี่ยนแปลงของ porins ซึ่งเป็นโปรตีนที่พบได้ตามรูในเยื่อหุ้มเซลล์เพื่อลด การเข้าของสารต้านจุลชีพ (เช่น การดื้อ chloramphenicol) หรือการมีปั๊มเพื่อขับสาร ต้านจุลชีพออกนอกเซลล์ในปริมาณที่มากกว่าการ เข้าเซลล์ (เช่น การดื้อ tetracycline)

นอกจากกลไกดังกล่าวข้างต้น มีการพบการดื้อสารต้านจุลชีพของเชื้อด้วย กลไกอื่นๆ บ้าง เช่น sulfonamides มีโครงสร้างคล้ายสารตั้งต้น ดังนั้นการเพิ่มปริมาณ การผลิตสารตั้งต้นให้มีปริมาณสูงจะทำให้สามารถแย่งจับเอ็นไซม์และเชื้อเจริญเติบโตต่อไปได้ เช่น การเพิ่มระดับของ papa-aminobenzoic

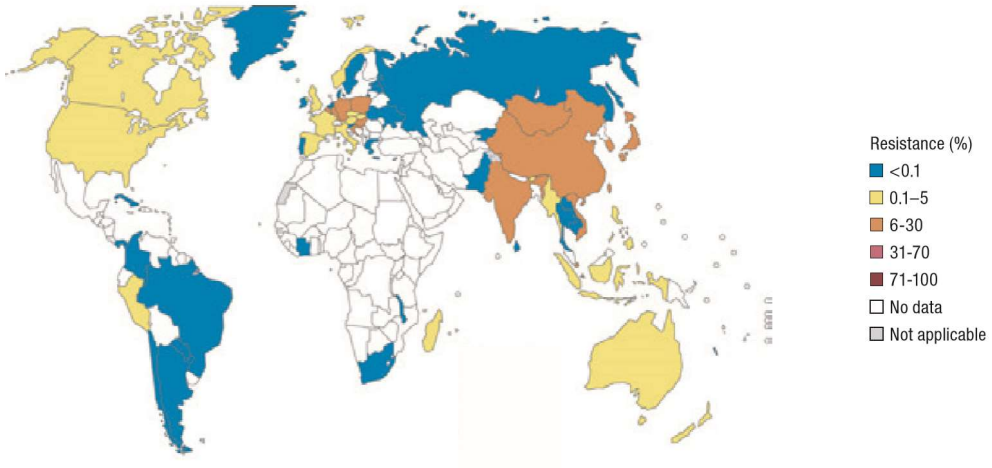
acid (PABA) หรือเพิ่ม ปริมาณเอ็นไซม์เพื่อแข่งกับปริมาณยา ก็จะทำให้เชื้อเจริญเติบโตต่อไปได้เช่นกัน เช่น การเพิ่ม dihydrofolate reductase (DHFR) ก็จะทำให้เชื้อดื้อ trimethoprim

สำหรับเชื้อ *N. gonorrhoeae* นั้น มีกลไกการดื้อยาหลายกลไก โดยมีกลไกหลักคือการเปลี่ยนแปลงเป้าของสารต้านจุลชีพ โดยมีการกลายพันธุ์ในส่วนของยีนตรงตำแหน่งของ PBP2 ซึ่งเป็นช่องทางเข้าของยา ceftriaxone และ cefixime ทำให้เชื้อนำยาเข้าสู่เซลล์น้อยลง และมีกลไกรองคือการลดการผ่านของสารต้านจุลชีพเข้าเซลล์ โดยมีการเปลี่ยนแปลงของ porins เพื่อลดการเข้าของสารต้านจุลชีพและมีปั๊มเพื่อขับสารต้านจุลชีพออกนอกเซลล์ในปริมาณที่มากกว่าการเข้าเซลล์

2.8 สถานการณ์การดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *N. gonorrhoeae*

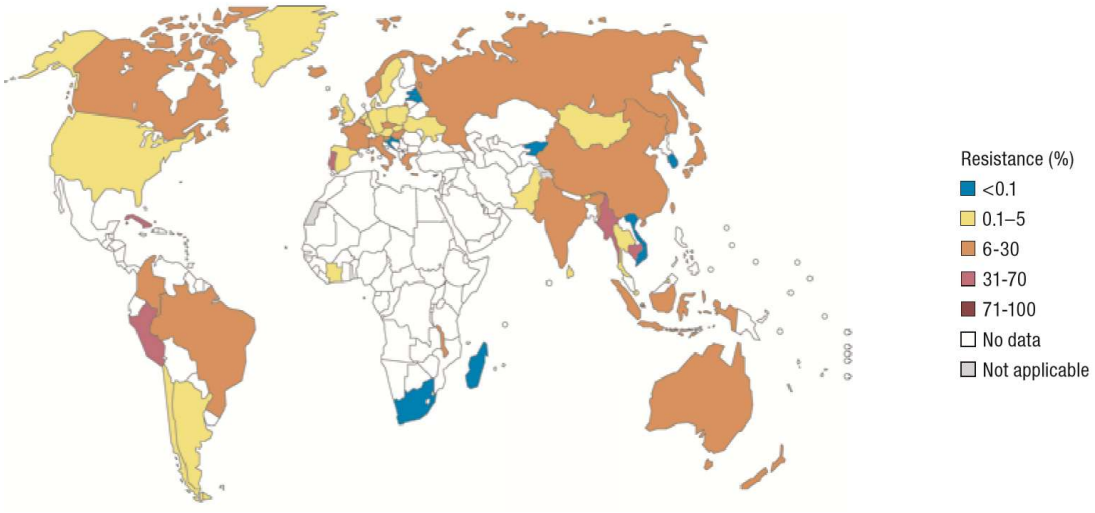
2.8.1 สถานการณ์ทั่วโลก

จากรายงานของ WHO ปี ค.ศ.2016[7] มีการรายงานการดื้อยาในกลุ่ม Cephalosporins ในหลายประเทศทั่วโลก โดยมี 15 ประเทศรายงานพบเชื้อหนองในดื้อยา Ceftriaxone จากทั้งหมด 57 ประเทศ และมี 11 ประเทศรายงานพบเชื้อหนองในดื้อยา Cefixime จากทั้งหมด 41 ประเทศ โดยพบว่าประเทศแถบเอเชียมีเปอร์เซ็นการดื้อยาที่สูงมากเมื่อเทียบกับทวีปอื่น โดยเปอร์เซ็นการดื้อยาอยู่ที่ประมาณ 6-30%



ภาพที่ 2.3 แสดงแผนที่โลกที่แต่ละประเทศรายงานการดื้อยา Ceftriaxone และ Cefixime ในปี ค.ศ. 2016

สำหรับการรายงานการดื้อยา Azithromycin นั้นพบว่ามีการดื้อยาสูง และมีการดื้อยาในทุกทวีปแล้วโดยเฉพาะแถบเอเชีย



ภาพที่ 2.4 แสดงแผนที่โลกที่แต่ละประเทศรายงานการดื้อยา Azithromycin ในปี ค.ศ. 2016

2.8.2 สถานการณ์ประเทศไทย

สถานการณ์การดื้อยาปฏิชีวนะของประเทศไทยนั้น มีโครงการเฝ้าระวังเชื้อหนองในดื้อยา โดยมีศูนย์การแพทย์บางรักด้านโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ กองโรคเอดส์และโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ เป็นหน่วยงานหลักและมีหน่วยงานเครือข่ายที่ร่วมดำเนินการเฝ้าระวังได้แก่ สำนักงานป้องกันควบคุมโรคเขตต่าง ๆ และโรงพยาบาล ทำให้มีข้อมูลการเฝ้าระวังเชื้อหนองในดื้อยาภาพรวมของทั้งประเทศ ซึ่งจะมีการทดสอบความไวต่อยาทั้งหมด 8 ชนิดคือ Ceftriaxone, Cefixime, Azithromycin, Ciprofloxacin, Penicillin, Tetracycline, Spectinomycin และ Gentamicin ผลจากการเฝ้าระวังในยาหลักในการรักษาตั้งแต่ปีพ.ศ. 2555-2561 ยังไม่พบการดื้อยา Ceftriaxone และ Cefixime แต่พบแนวโน้มการดื้อยาเพิ่มสูงขึ้น และพบการดื้อยา Azithromycin แล้วจากที่ศูนย์การแพทย์บางรักด้านโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ จำนวน 1 สายพันธุ์ ในปี พ.ศ. 2560 และสำนักงานป้องกันควบคุมโรค จำนวน 1 สายพันธุ์ ในปี พ.ศ. 2559 และยังมีแนวโน้มการดื้อยาเพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน

2.9 การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ

การเพาะเลี้ยงเชื้อ *N. gonorrhoeae* นั้นถือเป็นวิธีมาตรฐานอ้างอิง (Reference method) ในการวินิจฉัยโรคหนองใน ซึ่งเป็นวิธีที่ถูกต้องและแม่นยำกว่าวิธีการอ่านผลจาก Gram's stain แต่วิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อจะค่อนข้างซับซ้อนกว่าเชื้อแบคทีเรียอื่นๆ เพราะเชื้อ *N. gonorrhoeae* เป็นเชื้อที่ต้องการอาหารพิเศษในการเจริญ และในบรรยากาศที่ใช้เพาะเลี้ยงเชื้อต้องมีความชื้นเพียงพอ มีปริมาณ CO_2 (5%) ซึ่งส่วนใหญ่ใช้ในการ subculture ในกรณีที่ต้องการเพาะเลี้ยงเชื้อจากหนองหรือสารคัดหลั่งในผู้ป่วย จำเป็นต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสมของยาปฏิชีวนะ เพื่อยับยั้งเชื้ออื่นๆ ที่ไม่ต้องการออกก่อน เช่น Modified Thayer Martin Media (MTM) นั้นมียาปฏิชีวนะทั้งหมด 4 ชนิด คือ Amphotericin B, Colistin, Lincomycin และ Trimethoprim (ACLT inhibitors)

การเก็บตัวอย่างจากผู้ป่วย

สามารถเก็บหนองหรือสารคัดหลั่งจากผู้ป่วยชายและผู้ป่วยหญิง ได้จาก ท่อปัสสาวะ (urethra), ช่องคลอด (vagina), ปากมดลูก (endocervix), คอ (pharynx), ทวารหนัก (rectum), ฝี (abcess) และ เยื่อบุตา (conjunctival) เป็นต้น ขึ้นกับ ตำแหน่งที่มีความเสี่ยง โดยเก็บหนองหรือสารคัดหลั่งจากผู้ป่วยแล้วป้ายลงบน MTM หรือ Bangrak I Media เป็นรูปตัว Z และนำส่งห้องปฏิบัติการทันที ในกรณีที่ไม่สามารถลงสิ่งส่งตรวจบน plate ได้โดยตรงให้ใช้ transport medium เช่น Stuart หรือ Amies และนำส่งห้องปฏิบัติการภายใน 6 ชั่วโมง ซึ่งสามารถเก็บรักษาสภาพในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 2-8 °C ได้ก่อนนำส่ง

ภาพที่ 2.5 แสดงลักษณะการ streak เป็นรูปตัว Z หนองหรือสารคัดหลั่งจากผู้ป่วย แล้วป้ายลงบน MTM หรือ Bangrak I Media

วิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ *N. gonorrhoeae*

หลังจากได้ตัวอย่างจากผู้ป่วยที่ streak เป็นรูปตัว Z บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Thayer-Martin Media (MTM) หรือ Bangrak I Media ก่อนนำเข้าตู้ incubator ให้ cross streak อีกครั้งหนึ่ง เพื่อให้ตัวอย่างตรวจที่ป้ายลงบนอาหารกระจายตัวออกมา หลังจากนั้นนำเข้าตู้ CO_2 incubator (ตั้งอุณหภูมิ 36±1 ℃ และ CO_2 ที่ 5%) หากห้องปฏิบัติการไม่มีตู้ CO_2 incubator สามารถประยุกต์ใช้ candle jar แทนได้

การวินิจฉัยเชื้อ *N. gonorrhoeae*

หลังจากเพาะเชื้อนาน 24-48 ชั่วโมงแล้ว สามารถนำเชื้อออกมาเพื่อการวินิจฉัยได้ โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. สังเกตลักษณะโคโลนี
2. Gram stain
3. การทดสอบทางชีวเคมีเชื้อ *N. gonorrhoeae*
   - Oxidase test
   - Superoxol test (30% H_2O_2)
   - Carbohydrate fermentation test
4. การทดสอบ β-lactamase test เชื้อ *N. gonorrhoeae*

การทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อ *N. gonorrhoeae*

การทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อ *N. gonorrhoeae* ตามแนวทางของ CLSI โดยมีขั้นตอนการดำเนินการหลายดังนี้

1. การเตรียมเชื้อ

นำเชื้อ *N. gonorrhoeae* ที่ได้หลังจากการวินิจฉัยหรือที่ subculture มาจาก Storage Stock ที่จะทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร เลี้ยงเชื้อชนิด nonselective medium เช่น chocolate agar โดยอบเพาะเลี้ยงที่ 36±1 °C ใน 5% CO_2 หรือ candle jar เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง จากนั้นนำโคโลนี ที่ได้มาละลายลงใน Muller Hinton broth เทียบความขุ่นให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 0.5 McFarland หากวัดด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ 640 nm จะได้ค่า absorbance เท่ากับ 0.15

2. สารต้านจุลชีพ

สารต้านจุลชีพ ที่แนะนำให้ใช้ทดสอบกับเชื้อ *N. gonorrhoeae* ตามเกณฑ์ CLSI คือ

- Penicillins ได้แก่ penicillin
- Cephalosporins ได้แก่ ceftriaxone และ cefixime
- Tetracyclines ได้แก่ tetracycline
- Fluoroquinolones ได้แก่ ciprofloxacin

- Aminocyclitols ได้แก่ spectinomycin
- Macrolide ได้แก่ azithromycin

3. วิธีการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ

มีวิธีการทดสอบได้ทั้งแบบกึ่งปริมาณวิเคราะห์ เช่น disk diffusion method และแบบปริมาณวิเคราะห์ เช่น agar dilution method และ Epsilometer test (E test) โดยวิธี E test เป็นวิธีที่ทำได้ง่ายกว่าวิธี agar dilution

3.1 แบบกึ่งปริมาณวิเคราะห์ เช่น disk diffusion method ทดสอบโดยใช้ sterile swab จุ่มลงใน suspension solution (เชื้อ) ที่ปรับความขุ่นแล้ว หมุน swab หลายๆ ครั้ง เพื่อให้เชื้อซึมเข้าให้ทั่ว แตะ swab กับผิวด้านในของหลอดแล้วหมุนให้ swab พอหมาดๆ นำมาป้ายเป็น 3 ระนาบ บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด GC agar base + 1% defined growth supplement แล้วนำ disk วางบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ (ห้ามทิ้งไว้เกิน 15 นาที) ถ้าใช้จานเพาะเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 100 mm ไม่ควรวาง disk เกิน 4 ชนิด ถ้าใช้จานเพาะเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 150 mm ไม่ควรวาง disk เกิน 9 ชนิด (รูปที่ 5.11) แล้วนำไป incubate ที่ 36±1°C 5% CO_2 เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง และนำมาวัดค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone แล้วแปลผลตามเกณฑ์ของ CLSI

3.2 แบบปริมาณวิเคราะห์ โดยวิธี E test ทดสอบโดยการใช้เชื้อและการ

เพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด GC agar base + 1% defined growth supplement เช่นเดียวกับวิธี disk diffusion method แล้วนำแผ่น E test ที่มีคุณสมบัติไม่ดูดซับน้ำ ขนาด 5×50 mm โดยด้านหนึ่งเคลือบไว้ด้วยสารต้านจุลชีพที่มีความเข้มข้นลดลง อย่างต่อเนื่องจากความเข้มข้นมากไปหาน้อย อีกด้านหนึ่งมีตัวเลขและสเกลบอกค่า ความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพที่ตำแหน่งต่างๆ (continuous concentration gradient) วางบนผิวหน้าของอาหารเพาะเชื้อ (รูปที่ 5.12) ห้ามทิ้งไว้เกิน 15 นาที แล้วนำไปอบเพาะเลี้ยงที่ 36±1°C 5% CO_2 เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง และอ่านค่า MIC จากจุดความเข้มข้นน้อยที่สุดที่แบคทีเรียไม่สามารถเจริญได้ตรงปลายรูปหยดน้ำ แล้วแปลผลตามเกณฑ์ของ CLSI

3.3. แบบปริมาณวิเคราะห์ โดยวิธี agar dilution method วิธีนี้เป็นวิธีมาตรฐาน อ้างอิง (reference method) ทดสอบโดยการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารต้านจุลชีพ ที่ต้องการทดสอบในความเข้มข้นต่างๆ จากนั้น นำเชื้อ *N. gonorrhoeae* ที่เตรียมไว้มา ใส่ในหลุมๆ ละ 500 µl จากนั้นนำ multipoint inoculator แตะเชื้อในหลุมแล้ว นำไปแตะบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ ปลายของ multipoint inoculators จะถ่ายโอนเชื้อมา ได้ประมาณ 1 µl ทำให้ได้เชื้อในแต่ละจุดประมาณ 104-105 CFU การเพาะเชื้อนี้ควร เริ่มจากเพาะเชื้อในจานอาหารที่ไม่มีสารต้านจุลชีพก่อน เพื่อตรวจสอบความมีชีวิต (viability) และความบริสุทธิ์ (pure culture) ของเชื้อที่ทดสอบ ตามด้วยอาหาร เพาะเชื้อที่มีสารต้านจุลชีพเข้มข้นน้อยที่สุดไปยังจานเพาะ

เชื้อที่มีสารต้านจุลชีพ เข้มข้นสูงขึ้นตามลำดับ แล้วนำไปแล้วนำไปอบเพาะเลี้ยงที่ 36±1°C 5% CO_2 เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง และอ่านค่าความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพน้อยที่สุดที่แบคทีเรียไม่ เจริญเป็นค่า MIC แล้วแปลผลตามเกณฑ์ของ CLSI

4. การควบคุมคุณภาพการทดสอบความไวต่อยาจะใช้เชื้อ *N. gonorrhoeae* ATCC 49226

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาของ ปริศนาและคณะในปีพ.ศ.2561[8] ผลการทดสอบความไวต่อยาของเชื้อหนองใน ในปี พ.ศ. 2555-2561 ต่อยาปฏิชีวนะ 8 ชนิด ทั้งวิธี Disk diffusion และ E-test พบการดื้อยาต่อเนื่อง ได้แก่ ยา penicillin tetracycline และ ciprofloxacin เริ่มพบการดื้อหรือมีความไวต่อยาลดลง ได้แก่ ยา azithromycin และ gentamicin และยังไม่พบการดื้อหรือมีความไวลดลง ได้แก่ ยา spectinomycin ยา ceftriaxone และยา cefixime โดยยา azithromycin ใช้เป็นยาที่รักษาคู่กับยากลุ่ม cephalosporin พบว่าเชื้อมีค่า MIC50 และ MIC90 เพิ่มสูงขึ้น 1 dilution ในปี พ.ศ. 2561 เมื่อเทียบกับปีที่เริ่มใช้รักษาในปีพ.ศ. 2557 และพบเชื้อ 1 ตัวอย่าง ที่ให้ค่าความไวต่อยาลดลงในปี พ.ศ. 2560

จากการศึกษาของ นริศ และคณะในปีพ.ศ.2564[9] ผลการศึกษาความไวต่อยาของเชื้อหนองในในผู้ป่วยคลินิกนิรนาม สภากาชาดไทย กรุงเทพมหานคร พบเชื้อหนองในที่มีความไวต่อยา ceftriaxone ลดลง 2 สายพันธุ์ (MICs ที่ 0.125 มก./ลิตร ทั้ง 2 สายพันธุ์) และผลิตไบโอฟิล์มที่ดื้อต่อยาหลายขนานและมีความทนทานต่อ ceftriaxone (MBEC > 128 มก./ลิตร)

บทที่ 3
วิธีการศึกษา

3.1 สนับสนุนอาหารเลี้ยงเชื้อ ชุดทดสอบทางชีวเคมี และ วัสดุอื่น ๆ

1. จัดประชุมเพื่อวางแผนการดำเนินงานเฝ้าระวังเชื้อหนองในดื้อยา 1 ครั้ง ต่อปี ช่วงประมาณ สิงหาคม – กันยายน ของทุกปี เพื่อการบริหารจัดการปีงบประมาณถัดไป โดยมีการจัดทำและทบทวนรายการวัสดุที่สนับสนุนให้กับหน่วยงานเครือข่าย และกำหนดรอบการจัดส่งวัสดุที่สนับสนุน เป็น 3 รอบ เพื่อการบริการจัดการ การควบคุมคลังพัสดุวิทยาศาสตร์ ทั้งของหน่วยงานเครือข่ายและห้องปฏิบัติการ ศูนย์การแพทย์บางรักด้านโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ ให้เพียงพอต่อการใช้งาน

2. จัดทำเอกสาร แบบเบิกวัสดุสนับสนุน (ภาคผนวก)

3. ดำเนินการจัดส่งวัสดุสนับสนุน ตามรอบที่กำหนดไว้ โดยมีการส่งแบบเย็น และเมื่อส่งวัสดุสนับสนุนเสร็จจะแจ้งเลขพัสดุ ในกลุ่มไลน์เครือข่ายหนองใน เพื่อติดตามสถานะของพัสดุ

3.2 สนับสนุนการทดสอบเปรียบเทียบผลเพาะเชื้อหนองในระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory comparison)

1. จัดประชุมเพื่อการคัดเลือกเชื้อหนองสายพันธุ์มาตรฐานที่เก็บรักษาไว้มาเตรียมสำหรับการทดสอบเปรียบเทียบผลเพาะเชื้อหนองในระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory comparison)

2. จัดเตรียมตัวอย่างทดสอบจากเชื้อมาตรฐาน

- จัดส่งวัสดุทดสอบ 2 รอบ/ปี
- ประเมินผลโดยใช้เกณฑ์มาตรฐานของ WHO และ CDC

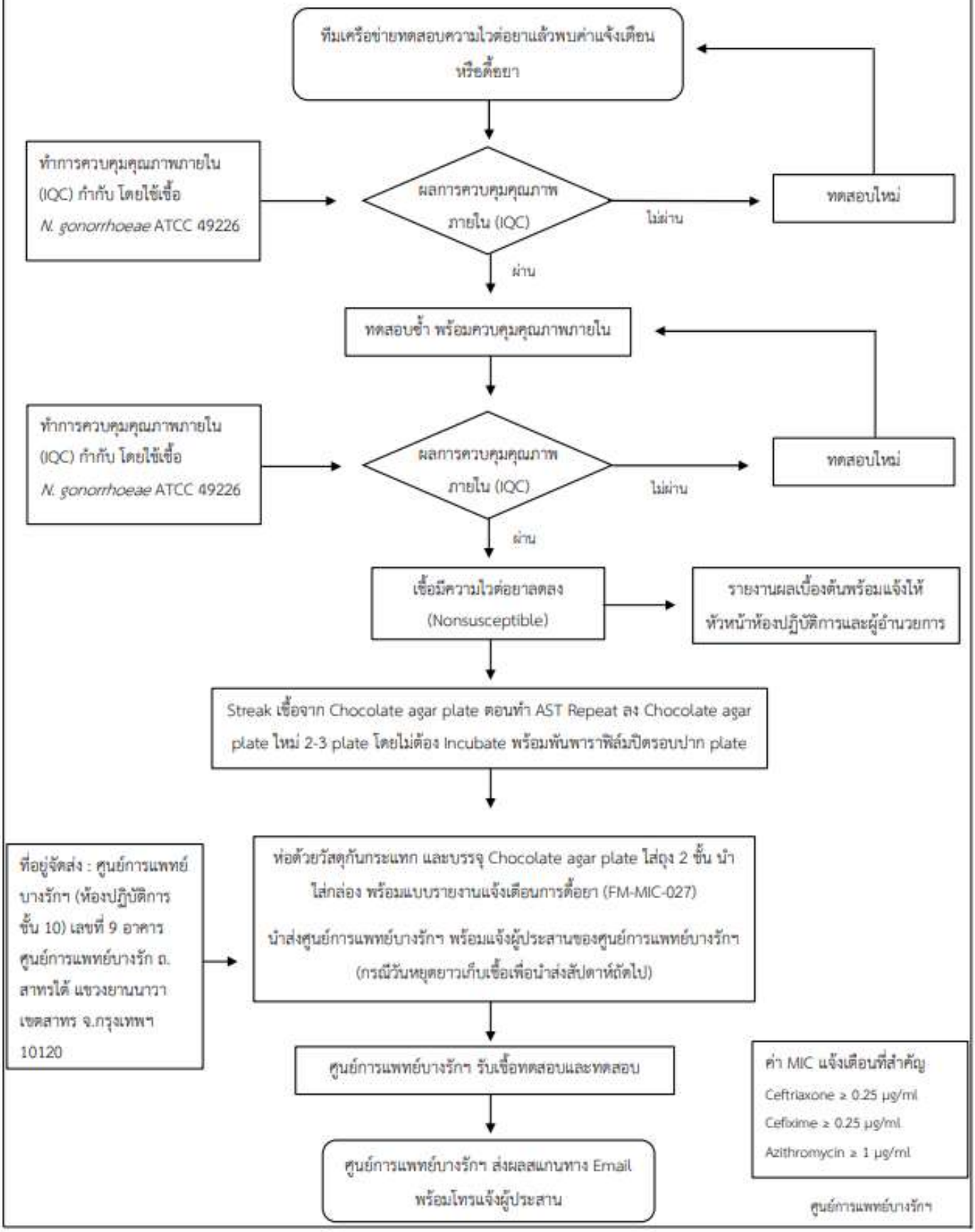
3. สรุปผลการทดสอบเปรียบเทียบผลเพาะเชื้อหนองในระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory comparison)

3.3 รับตรวจต่อยืนยันเชื้อหนองใน

1. จัดประชุมเพื่อกำหนดแนวทางการส่งต่อยืนยันเชื้อหนองใน
2. จัดทำวิธีปฏิบัติและแนวทางการส่งตรวจยืนยันเชื้อหนองใน

แนวทางการทดสอบความไวต่อยาและส่งต่อเพื่อยืนยัน กรณีพบค่าแจ้งเตือน (Alert) หรือ ค่าดื้อยา (Resistance) ของยา Ceftriaxone, Cefixime, Azithromycin, Gentamicin และ Spectinomycin ของเชื้อ *N. gonorrhoeae*

ทีมเครือข่าย - กองโรคเอดส์และโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์



3. จัดทำเอกสาร แบบรายงานการแจ้งเตือนดื้อยา (ภาคผนวก)

4. ทดสอบความไวต่อยาของเชื้อหนองใน โดยใช้ยาใช้ทดสอบมีดังนี้

ตารางที่ 3.1 ชนิดยาและวิธีทดสอบความไวต่อยา

รายการ	วิธีทดสอบ
Ceftriaxone	E test
Cefixime	E test
Azithromycin	E test
Ciprofloxacin	Disk diffusion
Tetracycline	E test
Penicillin	Disk diffusion
Spectinomycin	Disk diffusion

5. รายงานผลการเพาะเชื้อและทดสอบความไวต่อยาทางจดหมายอิเล็กทรอนิกส์

3.4 รวบรวมข้อมูล แปลผล และจัดทำรายงาน

- รวบรวมผลการเพาะเชื้อและทดสอบความไวต่อยาจาก ห้องปฏิบัติการเครือข่าย ดังนี้

1. ศูนย์การแพทย์บางรักด้านโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์
2. สคร.1 เชียงใหม่
3. สคร.3 นครสวรรค์
4. สคร.6 ชลบุรี
5. สคร.10 อุบลราชธานี
6. สคร.11 นครศรีธรรมราช
7. สคร.12 สงขลา
8. โรงพยาบาลสระบุรี
9. โรงพยาบาลอุตรดิตถ์
10. โรงพยาบาลบึงกาฬ
11. โรงพยาบาลชลบุรี
12. โรงพยาบาลวชิระภูเก็ต
13. โรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์

- การแปลผลโดยใช้มาตรฐานของ CLSI 2022 (ภาคผนวก)
- จัดทำรายงานผลการเฝ้าระวังเชื้อหนองในดื้อยาภาพรวมประเทศ

โดยมีวัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาค่าความไวของเชื้อหนองในที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะชนิดต่างๆ ที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยในแต่ละพื้นที่และในภาพรวมของประเทศ

2. เพื่อศึกษาและเฝ้าระวังแนวโน้มการดื้อต่อยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วย

3. เพื่อค้นหาเชื้อดื้อยาที่ไม่เคยพบ หรือพบน้อย ในประเทศไทยเพื่อวางมาตรฐานและมาตรการในการรักษา

บทที่ 4
ผลการศึกษา

4.1 การรวบรวมข้อมูล

รวบรวมข้อมูลการทดสอบความไวต่อยาของเชื้อหนองใน ปี 2562 - 2564 ห้องปฏิบัติการเครือข่ายหนองใน โดยในปี 2562 มีจำนวน 505 ตัวอย่าง ปี 2563 มีจำนวน 270 ตัวอย่าง และ ปี 2564 มีจำนวน 250 ตัวอย่าง ซึ่งจะพบว่าในปี 2562 สคร.6 ชลบุรี ไม่มีจำนวนตัวอย่างเนื่องจากมีการก่อสร้างตึกใหม่และกำลังปรับปรุงห้องปฏิบัติการจึงไม่มีผู้รับบริการ และในปี 2563 – 2564 สคร.12 สงขลา ไม่มีจำนวนตัวอย่างเนื่องจากปิดคลินิกให้บริการโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ ในช่วงสถานการณ์โควิด-19 แพร่ระบาด และเกือบทุกแห่งที่จำนวนผู้รับบริการลดลง ดังแสดงตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงข้อมูลจำนวนตัวอย่างการทดสอบการดื้อยาของห้องปฏิบัติการเครือข่ายหนองใน

หน่วยงาน	จำนวนตัวอย่าง		
	2562	2563	2564
ศูนย์การแพทย์บางรักฯ	251	138	131
สคร.1 เชียงใหม่	119	52	56
สคร.3 นครสวรรค์	23	20	8
สคร.6 ชลบุรี	0	14	18
สคร.10 อุบลราชธานี	18	7	6
สคร.11 นครศรีธรรมราช	17	6	7
สคร.12 สงขลา	53	0	0
โรงพยาบาลสระบุรี	8	2	0
โรงพยาบาลอุตรดิตถ์	13	26	21
โรงพยาบาลบึงกาฬ	3	0	0
โรงพยาบาลชลบุรี	0	1	0

ตารางที่ 4.1 แสดงข้อมูลจำนวนตัวอย่างการทดสอบการดื้อยาของห้องปฏิบัติการเครือข่ายหนองใน (ต่อ)

หน่วยงาน	จำนวนตัวอย่าง		
	2562	2563	2564
โรงพยาบาลวชิระภูเก็ต	0	2	0
โรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์	0	2	3
รวม	505	270	250

4.2 ผลการทดสอบความไวต่อยา

ผลการทดสอบความไวต่อยา ปี 2562 ยังไม่พบการดื้อยา Ceftriaxone Cefixime และ Spectinomycin แต่พบค่าความไวต่อยาลดลง ในยา Azithromycin จำนวน 2 สายพันธุ์ และพบดื้อยาอื่นๆ Ciprofloxacin จำนวน 453 สายพันธุ์ Tetracycline จำนวน 424 สายพันธุ์ Penicillin จำนวน 396 สายพันธุ์ ดังแสดงตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงข้อมูลการแปลผลการทดสอบความไวต่อยา ปี 2562

รายการ	**จำนวนเชื้อทั้งหมด**	**จำนวนเชื้อที่แยกตามการแปรผลค่าทดสอบความไวต่อยา**		
		Susceptible	**Intermediate**	**Resistant /Nonsusceptible**
Ceftriaxone	505	505	0	0
Cefixime	505	505	0	0
Azithromycin	505	503	0	2
Ciprofloxacin	505	14	38	453
Tetracycline	505	19	62	424
Penicillin	505	6	103	396
Spectinomycin	505	505	0	0

ผลการทดสอบความไวต่อยา ปี 2563 ยังไม่พบการดื้อยา Ceftriaxone Cefixime และ Spectinomycin แต่พบค่าความไวต่อยาลดลง ในยา Azithromycin จำนวน 1 สายพันธุ์ และพบดื้อยาอื่นๆ Ciprofloxacin จำนวน 227 สายพันธุ์ Tetracycline จำนวน 208 สายพันธุ์ Penicillin จำนวน 150 สายพันธุ์ ดังแสดงตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงข้อมูลการแปลผลการทดสอบความไวต่อยา ปี 2563

รายการ	**จำนวนเชื้อทั้งหมด**	**จำนวนเชื้อที่แยกตามการแปรผลค่าทดสอบความไวต่อยา**		
		Susceptible	**Intermediate**	**Resistant /Nonsusceptible**
Ceftriaxone	270	270	0	0
Cefixime	270	270	0	0
Azithromycin	270	269	0	1
Ciprofloxacin	270	0	43	227
Tetracycline	270	24	38	208
Penicillin	270	1	70	150
Spectinomycin	270	269	1	0

ผลการทดสอบความไวต่อยา ปี 2564 ยังไม่พบการดื้อยา Ceftriaxone Cefixime Azithromycin และ Spectinomycin และพบดื้อยาอื่นๆ Ciprofloxacin จำนวน 222 สายพันธุ์ Tetracycline จำนวน 186 สายพันธุ์ Penicillin จำนวน 177 สายพันธุ์ ดังแสดงตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงข้อมูลการแปลผลการทดสอบความไวต่อยา ปี 2564

รายการ	**จำนวนเชื้อทั้งหมด**	**จำนวนเชื้อที่แยกตามการแปรผลค่าทดสอบความไวต่อยา**		
		Susceptible	**Intermediate**	**Resistant /Nonsusceptible**
Ceftriaxone	250	250	0	0
Cefixime	250	250	0	0
Azithromycin	250	250	0	0
Ciprofloxacin	250	8	20	222
Tetracycline	250	9	55	186
Penicillin	250	0	73	177
Spectinomycin	250	249	1	0

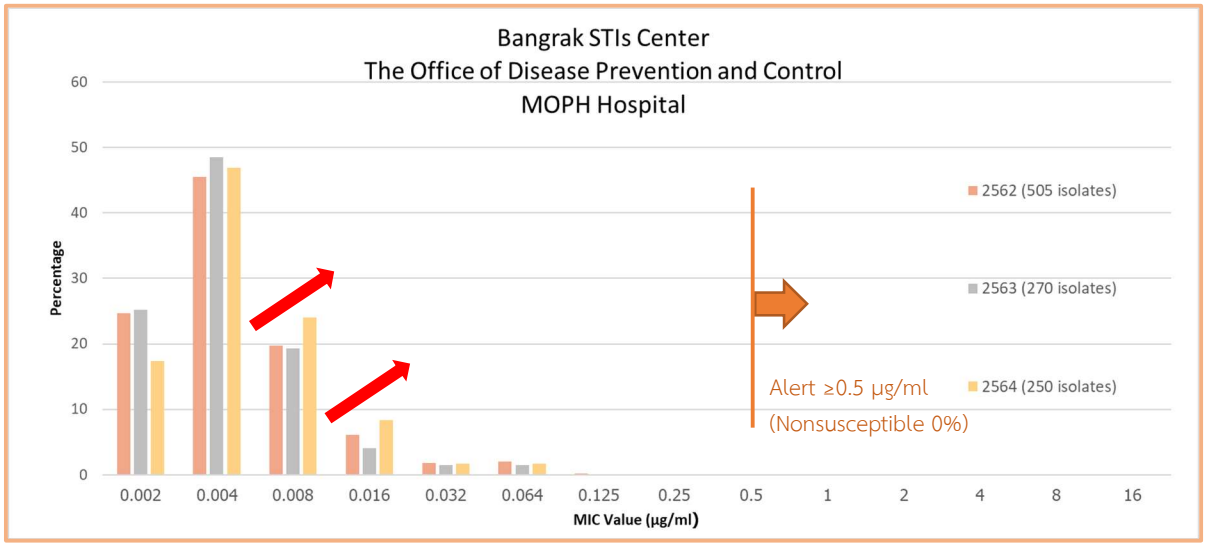
จากการวิเคราะห์ผลการทดสอบความไวต่อยาทั้งหมด 3 ปี จำนวนเชื้อหนองในทั้งหมด 1025 สายพันธุ์ พบเชื้อหนองในดื้อยา Ciprofloxacin จำนวน 902 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 88 ยา Tetracycline จำนวน 818 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 79.80 ยา Penicillin จำนวน 772 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 75.32 และพบความต่อยา Azithromycin ลดลงจำนวน 3 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 0.29 โดยไม่พบการดื้อยา Ceftriaxone Cefixime และ Spectinomycin

ตารางที่ 4.5 แสดงข้อมูลการดื้อยาแต่ละชนิด

รายการ	จำนวนเชื้อทั้งหมด	จำนวนเชื้อที่ดื้อยา/ความไวต่อยาลดลง	ร้อยละการดื้อยา
Ceftriaxone	1025	0	0.00
Cefixime	1025	0	0.00
Azithromycin	1025	3	0.29
Ciprofloxacin	1025	902	88.00
Tetracycline	1025	818	79.80
Penicillin	1025	772	75.32
Spectinomycin	1025	0	0.00

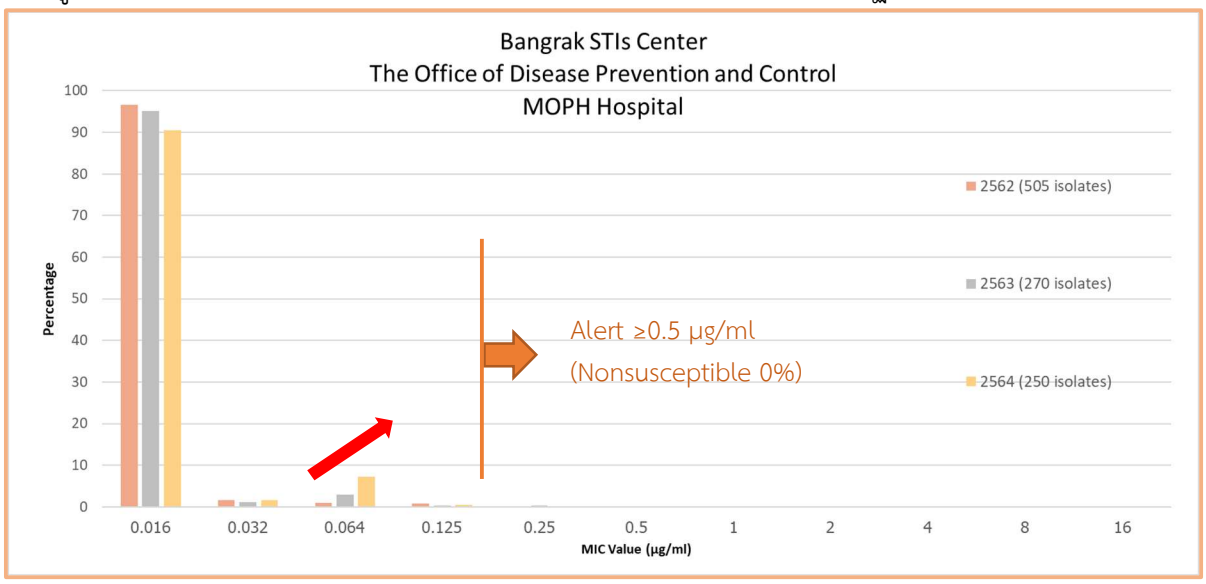
จากการวิเคราะห์แนวโน้มผลการทดสอบความไวต่อยา ปี 2562 - 2564 สำหรับยา Ceftriaxone พบว่าที่ค่า MIC ที่สูงขึ้น มีจำนวนมากขึ้น แสดงถึงแนวโน้มการดื้อยาที่สูงขึ้น ดังแผนภูมิที่ 4.1

แผนภูมิที่ 4.1 แสดงจำนวนและร้อยละของค่า MIC ต่อยา Ceftriaxone ของห้องปฏิบัติการเครือข่ายหนองใน



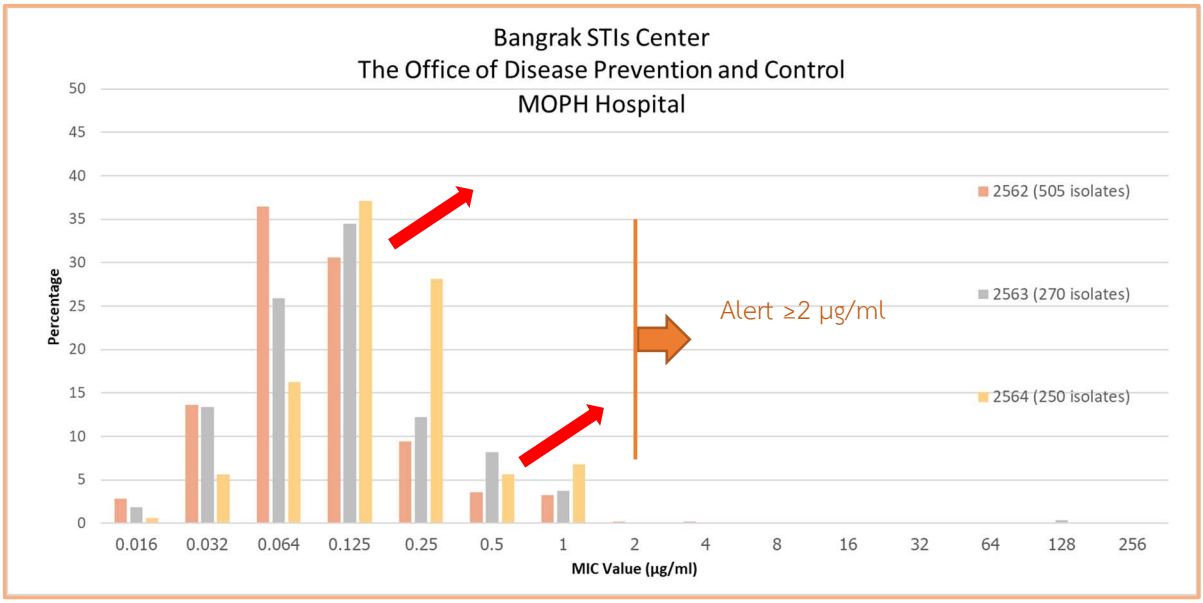
จากการวิเคราะห์แนวโน้มผลการทดสอบความไวต่อยา ปี 2562 - 2564 สำหรับยา Cefixime พบว่าที่ค่า MIC ที่สูงขึ้น มีจำนวนมากขึ้น แสดงถึงแนวโน้มการดื้อยาที่สูงขึ้น ดังแผนภูมิที่ 4.2

แผนภูมิที่ 4.2 แสดงจำนวนและร้อยละของค่า MIC ต่อยา Cefixime ของห้องปฏิบัติการเครือข่ายหนองใน



จากการวิเคราะห์แนวโน้มผลการทดสอบความไวต่อยา ปี 2562 - 2564 สำหรับยา Azithromycin พบเชื้อหนองในที่มีความไวต่อยาลดลงแล้วยังพบว่าที่ค่า MIC ที่สูงขึ้น มีจำนวนมากขึ้น แสดงถึงแนวโน้มการดื้อยาที่สูงขึ้น ดังแผนภูมิที่ 4.3

แผนภูมิที่ 4.3 แสดงจำนวนและร้อยละของค่า MIC ต่อยา Azithromycin ของห้องปฏิบัติการเครือข่ายหนองใน



บทที่ 5

สรุป อภิปรายผลการศึกษา และข้อเสนอแนะ

การทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพเชื้อ *Neisseria gonorrhoeae* ในปี 2562 -2564 ของศูนย์การแพทย์บางรักด้านโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ สำนักงานป้องกันควบคุมโรค 6 แห่ง และโรงพยาบาลเครือข่าย 6 แห่ง รวมเป็นทั้งหมด 13 แห่งนั้น มีตัวอย่างที่ทดสอบความไวต่อยาทั้งหมด 1025 ตัวอย่าง โดยพบการดื้อยา Ciprofloxacin จำนวน 902 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 88 ยา Tetracycline จำนวน 818 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 79.80 ยา Penicillin จำนวน 772 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 75.32 และที่สำคัญพบความไวต่อยา Azithromycin ลดลง ที่เป็นยารักษาร่วม จำนวน 3 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 0.29 ซึ่งสายพันธุ์ที่ความไวต่อยาลดลงนั้นเก็บได้จากศูนย์การแพทย์บางรักด้านโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ โดยพบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารต้านจุลชีพที่ยับยั้งเชื้อได้ (Minimal inhibitory concentration, MIC) คือ 2 µg/ml จำนวน 1 สายพันธุ์ 4 µg/ml จำนวน 1 สายพันธุ์ และ 128 µg/ml จำนวน 1 สายพันธุ์ และสำหรับการทดสอบยา Ceftriaxone Cefixime และ Spectinomycin นั้น ไม่พบการดื้อยาหรือไม่มีค่าความไวต่อยาลดลงต่อยาลดลง

การทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพเชื้อ *N. gonorrhoeae* ของศูนย์การแพทย์บางรักด้านโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ สำนักงานป้องกันควบคุมโรค 6 แห่ง และโรงพยาบาลเครือข่าย 6 แห่ง ตั้งแต่ปีพ.ศ. 2562-2564 ด้วยวิธี Disk diffusion และหาค่า MIC ของยาหลักสำหรับการติดเชื้อหนองใน คือ Ceftriaxone และ Cefixime (≤0.25 µg/ml) พบว่ามีแนวโน้มการดื้อยาเพิ่มมากขึ้นในระดับที่ความเข้มข้น MIC ที่สูงขึ้น แต่ยังไม่พบค่า MIC ที่ความไวต่อสารต้านจุลชีพลดลง สำหรับแนวโน้มการดื้อต่อยา Azithromycin นั้นก็สูงขึ้นเช่นกัน โดยพบเชื้อมีค่า MIC เป็น 1 µg/ml เพิ่มขึ้นทุกปี และยาที่เคยใช้รักษาโรคหนองในก่อนหน้านี้เช่น Tetracycline Penicillin และ Ciprofloxacin พบร้อยละการดื้อยายังคงสูงมากเช่นเดิม จะเห็นได้ว่าการติดตามสถานการณ์ความไวต่อสารต้านจุลชีพและแนวโน้มการดื้อยาของเชื้อหนองในจึงจำเป็นและมีความสำคัญเพื่อการเฝ้าระวังควบคุมและป้องกันการระบาดของเชื้อหนองในดื้อยาที่อาจพบได้

การเฝ้าระวังเชื้อหนองในดื้อยาภาพรวมประเทศนั้นยังมีข้อมูลน้อย ไม่ครอบคลุมทั้งประเทศ ดังนั้นการดำเนินงานเฝ้าระวังเชื้อหนองในดื้อยาอาจต้องมีการขยายเครือข่ายออกไปให้ได้ข้อมูลที่มากขึ้น เพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือให้กับข้อมูลต่อไป

รายการอ้างอิง

1. รสพร กิตติเยาวมาลย์ และคณะ. แนวทางการดูแลรักษาโรคหนองใน พ.ศ. 2562. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์อักษรกราฟฟิคแอนด์ดีไซน์; 2562

2. สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. ระบบรายงานการเฝ้าระวังโรค 506 (National Disease Surveillance: Report 506)[อินเทอร์เน็ต].กรุงเทพฯ:กรมควบคุมโรค;2561.[เข้าถึงเมื่อ 18 ต.ค. 2564]. เข้าถึงได้จาก: http://www.boe.moph.go.th/boedb/surdata/506wk/y61/d38_5261.pdf

3. ภัทรชัย กีรติสิน. ตำราวิทยาแบคทีเรียการแพทย์. พิมพ์ครั้งที่2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ วี.เจ.พริ้นติ้ง; 2551

4. Wi T, Lahra MM, Ndowa F, Bala M, Dillon JR, Ramon-Pardo P, et al. Antimicrobial resistance in Neisseria gonorrhoeae: Global surveillance and a call for international collaborative action. PLoS Med. 2017;14(7):e1002344.

5. Costa-Lourenco A, Barros Dos Santos KT, Moreira BM, Fracalanzza SEL, Bonelli RR. Antimicrobial resistance in Neisseria gonorrhoeae: history, molecular mechanisms and epidemiological aspects of an emerging global threat. Braz J Microbiol. 2017;48(4):617-28.

6. World Health Organization. WHO releases list of world's most dangerous superbugs. (NEW)[Internet].STAT REPORTS; 2017[cited 2022 Jun 15]. Available from: https://www.statnews.com/2017/02/27/who-list-bacteria-antibiotic-resistance

7. World Health Organization. Report on global sexually transmitted infection surveillance, 2018[Internet]. World Health Organization; 2018[cited 2022 Jan 19]. Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/277258/9789241565691-eng.pdf?ua=1

8. ปริศนาและคณะ. ความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *N. gonorrhoeae* ในปี พ.ศ. 2555-2561 ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITIES IN N. GONORRHOEAE IN 2012 -2018. วารสารโรคเอดส์ 2563;2:42-53.

9. Kueakulpattana N, Wannigama DL, Luk-In S, Hongsing P, Hurst C, Badavath VN, et al. Multidrug-resistant Neisseria gonorrhoeae infection in heterosexual men with reduced susceptibility to ceftriaxone, first report in Thailand. Sci Rep. 2021;11(1):21659.

ภาคผนวก

ใบเบิกวัสดุวิทยาศาสตร์สำหรับหน่วยงานภายนอก

หน่วยงาน..... วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

ลำดับ	รายการ	หน่วย	จำนวนเบิก	จำนวนจ่าย	หมายเหตุ
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					
26					
27					
28					
29					
30					
31					

ผู้เบิก

ลงชื่อ.....

(.....)

ผู้จัดสั่ง

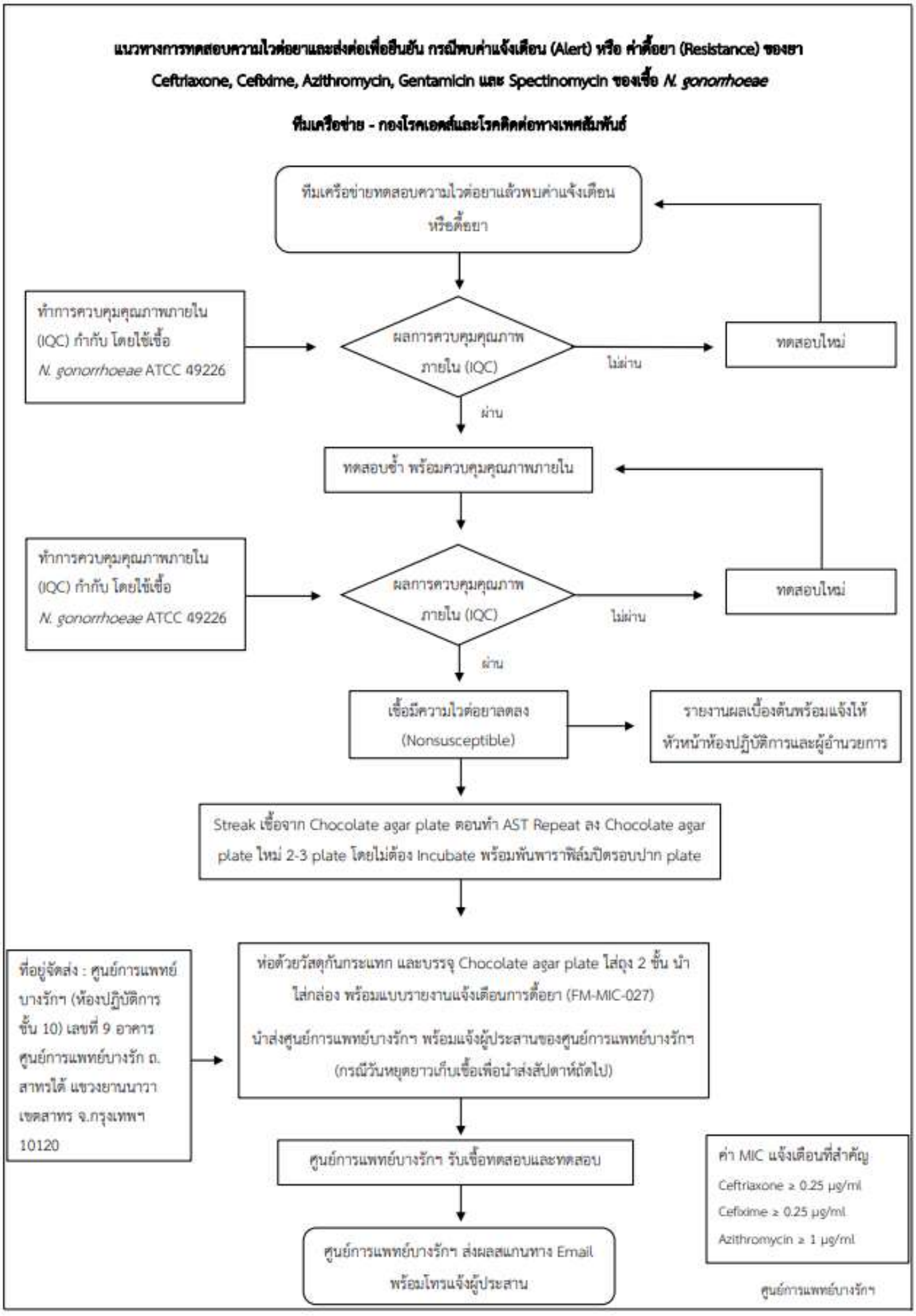
ลงชื่อ..... เจ้าหน้าที่

ลงชื่อ..... ผู้อนุมัติ

หัวหน้ากลุ่มงานเทคนิคการแพทย์

แนวทางการทดสอบความไวต่อยาและส่งต่อเพื่อยืนยัน กรณีพบค่าแจ้งเตือน (Alert) หรือ ค่าดื้อยา (Resistance) ของยา Ceftriaxone, Cefixime, Azithromycin, Gentamicin และ Spectinomycin ของเชื้อ *N. gonorrhoeae*

ทีมเครือข่าย - กองโรคเอดส์และโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์



แบบรายงานแจ้งเตือนการดื้อยา

สำหรับหน่วยงานที่ขอส่งทดสอบยืนยันการดื้อยา

ชื่อ-นามสกุล ผู้รับบริการ : _____

HN / OPD card No. : _____ อายุ : _____ ปี ห้องที่ส่งตรวจ _____

วันที่เก็บชิ้นส่งตรวจจากผู้รับบริการ ____/____/____ วันที่ทดสอบความไวต่อยา ____/____/____

ยาที่พบค่าแจ้งเตือนการดื้อยา

☐ Ceftriaxone ค่า MIC _____ µg/ml ☐ Cefixime ค่า MIC _____ µg/ml

☐ Azithromycin ค่า MIC _____ µg/ml ☐ Gentamicin ค่า MIC _____ µg/ml

☐ Spectinomycin ค่า Zone size disk _____ mm ☐ Other : _____ ค่า MIC _____ µg/ml

วันที่ทดสอบ IQC ____/____/____ ผลการควบคุมคุณภาพภายใน (IQC) ☐ ผ่าน ☐ ไม่ผ่าน

ทดสอบซ้ำหลังจากพบค่าแจ้งเตือนการดื้อยา ☐ Repeat แล้ว ☐ ยังไม่ได้ Repeat

วันที่ Re-subculture เพื่อนำส่งศูนย์การแพทย์บางรัก ____/____/____

ผู้รายงาน _____ วันที่รายงาน ____/____/____

ผู้ประสาน _____ เบอร์โทรศัพท์ _____ Email _____

หมายเหตุ _____

สำหรับศูนย์การแพทย์บางรักด้านโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ (สำหรับการตรวจยืนยัน) Lab No.

วันที่ได้รับเชื้อทดสอบ ____/____/____ วันที่ทดสอบความไวต่อยา ____/____/____

ผลการทดสอบความไวต่อยา

☐ Ceftriaxone ค่า MIC _____ µg/ml ☐ Cefixime ค่า MIC _____ µg/ml

☐ Azithromycin ค่า MIC _____ µg/ml ☐ Gentamicin ค่า MIC _____ µg/ml

☐ Spectinomycin ค่า Zone size disk _____ mm ☐ Other : _____ ค่า MIC _____ µg/ml

ผลการควบคุมคุณภาพภายใน (IQC) ☐ ผ่าน ☐ ไม่ผ่าน

หมายเหตุ _____

ผู้รายงาน _____ วันที่รายงาน ____/____/____