



แนวทางการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพ ภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว ประเทศไทย



Thailand's Integrated
Antimicrobial Resistance Surveillance
with One Health Approach Guideline



คำนิยม



การดื้อยาต้านจุลชีพเป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุข เพราะนอกจากจะเป็นภัยต่อระบบสุขภาพโดยรวม ทั้งจากการป่วยและเสียชีวิตที่เพิ่มมากขึ้นแล้ว ยังมีผลกระทบต่อเกษตร การค้าระหว่างประเทศ ตลอดจน สิ่งแวดล้อมอีกด้วย การร่วมมือกันเพื่อจัดการปัญหาเชื้อดื้อยาดังกล่าวจึงควรดำเนินการในรูปแบบเฝ้าระวังการ ดื้อยาต้านจุลชีพภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว เพื่อบูรณาการแก้ปัญหาเชื้อดื้อยาพร้อมกันทั้งในคน สัตว์ สิ่งแวดล้อม และห่วงโซ่อาหาร

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้จัดทำหนังสือ "แนวทางการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพภายใต้แนวคิด สุขภาพหนึ่งเดียวประเทศไทย" ฉบับนี้ขึ้น ร่วมกับกรมปศุสัตว์ กรมประมง กรมควบคุมมลพิษ และกรมอนามัย ซึ่งเป็นกิจกรรมในยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพ เพื่อให้การดำเนินงานเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาในประเทศ ไทยเป็นไปในทิศทางเดียวกัน

ผมขอขอบคุณและชื่นชมต่อคณะอนุกรรมการและคณะทำงาน ที่ประกอบด้วยผู้ทรงคุณวุฒิ คณาจารย์ และผู้เชี่ยวชาญจากหน่วยงานต่างๆ ทั้งจากห้องปฏิบัติการ สภาวิชาชีพ ตลอดจนภาคเอกชนที่มีส่วนร่วมในการ จัดทำและเสนอแนะข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ในการจัดทำหนังสือฉบับนี้ และหวังว่าจะได้รับการนำไปใช้ให้เกิด ประโยชน์สูงสุดในการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวของประเทศไทย เพื่อบรรลุตาม เป้าประสงค์ในการแก้ปัญหาเชื้อดื้อยาให้ประสบผลสำเร็จต่อไป

(นายศุภกิจ ศิริลักษณ์)
อธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์



คำนิยม



ในการจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพ จำเป็นต้องมีข้อมูลเชื้อมื้อยา เพื่อให้ทราบสถานการณ์และแนวโน้มของการดื้อยาต้านจุลชีพในประเทศ ดังนั้น จำเป็นต้องมีแนวทางการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพอย่างเป็นระบบ กรมปศุสัตว์ในฐานะหน่วยงานประสานหลักของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ในการเฝ้าระวังเชื้อมื้อยาต้านจุลชีพในสัตว์ ได้ร่วมจัดทำแนวทางการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวประเทศไทย ที่ได้รับรองโดยที่ประชุมคณะอนุกรรมการพัฒนาระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพหนึ่งเดียวครั้งที่ ๑/๒๕๖๕ จากความร่วมมือของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ที่มีความเชื่อมโยงกับมาตรการ ตามยุทธศาสตร์ว่าด้วยการจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพของประเทศไทย

หนังสือแนวทางการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพฉบับนี้ถือเป็นผลสำเร็จเบื้องต้นของการพัฒนาระบบการเฝ้าระวังเชื้อมื้อยาต้านจุลชีพภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวประเทศไทยที่สอดคล้องกับมาตรฐานและแนวทางในระดับสากล อันจะส่งผลให้ประเทศไทยมีระบบการจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพที่เข้มแข็งกระฉ่อนหวังเป็นอย่างยิ่งว่าหน่วยงานที่เกี่ยวข้องจะนำแนวทางการเฝ้าระวังเชื้อมื้อยาต้านจุลชีพไปดำเนินการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพได้อย่างเหมาะสม เพื่อประโยชน์ต่อการพัฒนาระบบการเฝ้าระวังการดื้อยาของประเทศตามเจตนารมณ์ของผู้จัดทำต่อไป

(นายสมชวน รัตนมังคลานนท์)

อธิบดีกรมปศุสัตว์



คำนิยม



การดื้อยาต้านจุลชีพเป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุข ซึ่งนอกจากจะเป็นภัยต่อระบบสุขภาพโดยรวมจากการเจ็บป่วย ยังส่งผลกระทบต่อเกษตร การค้าระหว่างประเทศ ตลอดจนสิ่งแวดล้อมอีกด้วย การร่วมมือกันเพื่อจัดการปัญหาเชื้อดื้อยาดังกล่าว จึงควรดำเนินการในรูปแบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว เพื่อบูรณาการแก้ไขปัญหาเชื้อดื้อยาพร้อมกันทั้งในคน สัตว์ สิ่งแวดล้อม และห่วงโซ่อาหาร

กรมควบคุมมลพิษ มีส่วนร่วมในการจัดทำหนังสือ "แนวทางการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวประเทศไทย" ฉบับนี้ขึ้น ร่วมกับ กรมปศุสัตว์ กรมประมง กรมอนามัย และกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ซึ่งเป็นกิจกรรมในยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพ เพื่อให้การดำเนินงานเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาในประเทศไทยเป็นไปในทิศทางเดียวกัน

ผมขอขอบคุณและชื่นชมต่อคณะกรรมการและคณะทำงาน ที่ประกอบด้วยผู้ทรงคุณวุฒิ คณาจารย์ และผู้เชี่ยวชาญจากหน่วยงานต่างๆ ทั้งจากห้องปฏิบัติการ สภาวิชาชีพวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ตลอดจนภาคเอกชนที่มีส่วนร่วมในการจัดทำและเสนอแนะข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ในการจัดทำหนังสือฉบับนี้ และหวังว่าจะได้รับการนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดในการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวของประเทศไทย เพื่อบรรลุตามเป้าประสงค์ในการแก้ปัญหาเชื้อดื้อยาให้ประสบผลสำเร็จต่อไป

(นายปิ่นสักก์ สุรัสวดี)
อธิบดีกรมควบคุมมลพิษ



คำนิยม



การดื้อยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial Resistance; AMR) เป็นปัญหาสำคัญระดับโลกที่ส่งผลกระทบต่อเชิงลบต่อมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อม ก่อให้เกิดการสูญเสียในมิติต่างๆ ทั้งด้านสุขภาพ การแพทย์และสาธารณสุข การเกษตรและห่วงโซ่การผลิตอาหาร รวมทั้งการสูญเสียทางเศรษฐกิจ มีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ทุกภาคส่วนควรตระหนักและให้ความร่วมมือในการแก้ไขปัญหาเพื่อลดผลกระทบต่างๆ ให้มากที่สุดแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว (One Health Approach) ภายใต้ความร่วมมือของหน่วยงานต่างๆ ที่เกี่ยวข้องเพื่อเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพจึงเป็นแนวทางที่เหมาะสม เพื่อให้การแก้ไขปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพในประเทศไทยเป็นไปในทิศทางเดียวกัน มีความเป็นเอกภาพและมีประสิทธิภาพ

กรมประมงได้มีส่วนร่วมในการจัดทำหนังสือ "แนวทางการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวประเทศไทย" ฉบับนี้ขึ้น ร่วมกับกรมปศุสัตว์ กรมควบคุมมลพิษ กรมอนามัย และกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เพื่อบูรณาการงานเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวตามแผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ พ.ศ. 2560 - 2564

ผมขอขอบคุณและชื่นชมคณะผู้จัดทำหนังสือจากภาคส่วนต่างๆ รวมทั้งภาคเอกชนที่มีส่วนร่วมในการให้ข้อมูลและข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ในการจัดทำหนังสือฉบับนี้ ผมเชื่อและหวังเป็นอย่างยิ่งว่าหนังสือฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อระบบการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพแบบบูรณาการภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวของประเทศไทย เพื่อบรรลุตามเป้าประสงค์และวัตถุประสงค์ในการจัดการปัญหาเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพให้ประสบความสำเร็จอย่างสูงสุดต่อไป

(นายเฉลิมชัย สุวรรณรักษ์)

อธิบดีกรมประมง



สารบัญ

คำนำ	1
นิยามและคำย่อ	3
บทที่ 1 บทนำ	7
ความเป็นมา	7
บทที่ 2 แนวคิดการกำหนดระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพ	9
ทฤษฎีเกี่ยวกับระบบเฝ้าระวังทางสาธารณสุข	9
ขอบข่ายของระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว	10
วัตถุประสงค์ของระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว	15
บทที่ 3 กรอบการดำเนินงานการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว	21
สิ่งที่ต้องกำหนดก่อนเริ่มดำเนินการเฝ้าระวัง	26
ระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพแบบบูรณาการบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวของประเทศไทย	27
บทที่ 4 การตรวจทางห้องปฏิบัติการ การจัดการข้อมูล และรายงานผล	38
การตรวจทางห้องปฏิบัติการ	38
การอ่านผลความไวยาต้านจุลชีพ	43
การแปลผลความไวยาต้านจุลชีพ	44
การจัดการข้อมูล	45
การรายงานผล	51
บทที่ 5 การนำผลการเฝ้าระวังไปใช้ประโยชน์	54
การประเมินผลการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพ และการใช้ยาต้านจุลชีพแบบบูรณาการ	54
การนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์	54
การวิเคราะห์ความเสี่ยง	55
บทที่ 6 ข้อเสนอแนะงานวิจัยที่ควรดำเนินการ	58
เอกสารอ้างอิง	60
ภาคผนวก	62
คณะผู้จัดทำ	100



สารบัญตาราง

ตารางที่ 1	ประเภทของการบูรณาการในระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพในแบคทีเรียจากอาหาร จำแนกตามกิจกรรมการเฝ้าระวัง	13
ตารางที่ 2	แสดงระบบเฝ้าระวัง ตัวชี้วัด และวัตถุประสงค์การใช้งานในระดับต่างๆ	17
ตารางที่ 3	ระบบการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพตามภารกิจแต่ละภาคส่วนของประเทศไทย ในปัจจุบัน	28
ตารางที่ 4	ชนิดและแหล่งที่เก็บตัวอย่าง	31
ตารางที่ 5	กรอบการทำงานการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพในภาคการสาธารณสุข (Framework for Surveillance of Antibiotic Resistance in Human-health Sector)	32
ตารางที่ 6	กรอบการทำงานการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพในปศุสัตว์ (Framework for Surveillance of Antibiotic Resistance in Food Animal)	33
ตารางที่ 7	กรอบการทำงานการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพในสัตว์น้ำ (Framework for Surveillance of Antibiotic Resistance in Aquatic Animals)	34
ตารางที่ 8	กรอบการทำงานการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพในอาหาร (Framework for Surveillance of Antimicrobial Resistance in Foods)	35
ตารางที่ 9	กรอบการทำงานการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพในสิ่งแวดล้อม (Framework for Surveillance of Antibiotic Resistance in Environment)	36
ตารางที่ 10	เปรียบเทียบระหว่าง Clinical Breakpoints และ Epidemiological cut-off value)	45
ตารางที่ 11	รายการข้อมูลแหล่งที่มาของตัวอย่าง (Origin)	46
ตารางที่ 12	รายการข้อมูลแสดงตำแหน่งทางภูมิศาสตร์ของตัวอย่าง (Location)	47
ตารางที่ 13	รายการข้อมูลแสดงรายละเอียดของตัวอย่าง (Specimen) และรายละเอียด ด้านจุลชีววิทยาของตัวอย่าง (Microbiology)	48
ตารางที่ 14	รายการข้อมูลแสดงชนิดของยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการทดสอบ (Antibiotics)	49



สารบัญภาคผนวก

ภาคผนวกที่ 1	ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์เชื้อจากตัวอย่างอาหารที่เป็นผลิตภัณฑ์จากสัตว์	62
ภาคผนวกที่ 2	ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์เชื้อจากตัวอย่างสัตว์น้ำ	65
ภาคผนวกที่ 3	ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์เชื้อจากตัวอย่างอาหาร	69
ภาคผนวกที่ 4	วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำจากสิ่งแวดล้อม	72
ภาคผนวกที่ 5	SOP การตรวจวินิจฉัยเชื้อ <i>E. coli</i> , <i>Enterococcus</i> spp. และ <i>Salmonella</i> spp. ดื้อยาจากสิ่งแวดล้อม	77
ภาคผนวกที่ 6	การตรวจหายีนดื้อยาต้านจุลชีพ	95





คำนำ

การดื้อยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial Resistance, AMR) กำลังเป็นภัยคุกคามด้านสาธารณสุขที่สำคัญในระดับโลกโดยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องทั้งในประเทศที่พัฒนาแล้วและกำลังพัฒนารวมถึงประเทศไทย การศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นผลกระทบต่อสุขภาพในระยะยาว การเสียชีวิต การสูญเสียทางเศรษฐกิจและผลกระทบขนาดใหญ่ที่จะเกิดขึ้น เช่น การไม่มียารักษาโรคติดเชื้อในอนาคต ซึ่งเป็นวิกฤติที่ยากจะหลีกเลี่ยงหากไม่มีการป้องกัน และแก้ปัญหาอย่างเหมาะสมตั้งแต่วลานี้ นานาประเทศต้องพัฒนาใช้กลยุทธ์และแผนปฏิบัติการระดับชาติในการจัดการสถานการณ์โดยประยุกต์ใช้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว (One Health Approach) เพื่อจำกัดขอบเขต หรือลดความเสี่ยงจากการดื้อยาต้านจุลชีพอย่างเหมาะสมและมีประสิทธิภาพ

สำหรับประเทศไทย การดำเนินการเพื่อเฝ้าระวังและจัดการปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพเกิดขึ้นมานานหลายสิบปี แต่เป็นการทำงานตามความสนใจเฉพาะบุคคลหรือตามภารกิจของแต่ละหน่วยงาน ในปี พ.ศ. 2560 กระทรวงสาธารณสุขร่วมกับกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน่วยงานพันธมิตร และนักวิชาการผู้ทรงคุณวุฒิจากหลายหน่วยงาน ได้ร่วมกันจัดทำแผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ พ.ศ. 2560-2564 เป็นแผนการจัดการปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพแบบบูรณาการฉบับแรกของไทย ประกอบด้วย 6 ยุทธศาสตร์ โดยการพัฒนากระบวนการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพแบบบูรณาการภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว เป็นหนึ่งในกลยุทธ์หลักในแผนฉบับนี้

ในทางทฤษฎี การเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพ จำเป็นต้องสัมพันธ์อย่างและรวบรวมอย่างเป็นระบบอย่างต่อเนื่อง เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์และแปลผลข้อมูลและแนวโน้ม และสามารถเชื่อมโยงกับมาตรการ นโยบายและการดำเนินงานด้านสาธารณสุขที่เหมาะสม ในทางปฏิบัติ การดำเนินงานเพื่อเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพจากภาคมนุษย์และสัตว์ยังคงเป็นอิสระต่อกัน โดยขาดการบูรณาการแผนการสัมพันธ์อย่าง เทคนิคการตรวจทางห้องปฏิบัติการ วิธีการวิเคราะห์ข้อมูล การแปลผลและการรายงานผล เพื่อเป็นการลดข้อจำกัดดังกล่าว ในปี พ.ศ. 2562 คณะอนุกรรมการพัฒนาระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว (ยุทธศาสตร์ที่ 1) มีมติให้เน้นถึงความสำคัญ และความจำเป็นเร่งด่วนของประเทศในการจัดตั้งระบบการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพแบบบูรณาการ เพื่อประโยชน์ในการนำเสนอข้อมูลสนับสนุนแนวทางการกำหนดนโยบายและกำกับติดตามความก้าวหน้าของแผนยุทธศาสตร์ โดยคณะอนุกรรมการได้มอบหมายให้คณะทำงานภายใต้คณะอนุกรรมการฯ ซึ่งมีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์เป็นแกนประสาน ร่วมกับหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ยกย่องผู้มีระดับชาติการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพแบบบูรณาการภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวให้สอดคล้องกับมาตรฐานและแนวทางระดับสากล ตลอดจนการวิเคราะห์ข้อมูลมีมุมมองรอบด้าน เป็นระบบ และเป็นไปตามหลักการด้านระบาดวิทยา ในการนี้ ได้เชิญมูลนิธิเพื่อการพัฒนาสุขภาพระหว่างประเทศ (International Health Policy and Plan Foundation, IHPF) ซึ่งมีประสบการณ์ในงานวิจัยเกี่ยวกับการดื้อยาต้านจุลชีพหลายโครงการ สมาคมระบาดวิทยาภาคสนามและมูลนิธิเครือข่ายฝึกอบรมระบาดวิทยาภาคสนาม (Field



Epidemiology Training Program and FETN Foundation) ซึ่งมีผู้เชี่ยวชาญด้านการพัฒนาระบบเฝ้าระวังระดับชาติหลายท่านมาร่วมดำเนินการ โดย IHPF รับหน้าที่ทบทวนคู่มือ (Guideline) ระดับนานาชาติที่เผยแพร่โดยองค์กรระหว่างประเทศ และเอกสารอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง รวมถึงการทบทวนข้อมูลเกี่ยวกับการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพที่ดำเนินการโดยหน่วยงานต่างๆ ในประเทศไทย มูลนิธิเครือข่ายฝึกอบรมระดับวิทยาสานามดำเนินการหารือกับภาคส่วนที่เกี่ยวข้อง นำข้อมูลเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับข้อกำหนดระหว่างประเทศและเอกสารมาตรฐานต่างๆ มาเป็นข้อมูลนำเข้าเพื่อการวิเคราะห์ SWOT และเสนอกรอบความร่วมมือเพื่อการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพ นอกจากนี้คณะผู้จัดทำได้ทบทวนทฤษฎีการเฝ้าระวังและการจัดกลุ่มผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย / การวิเคราะห์เกี่ยวกับบทบาท / ความรับผิดชอบขอบเขตของการเฝ้าระวังรวมถึงกลไกการทำงานร่วมกัน ตลอดจนเสนอกรอบการทำงานของผู้มีส่วนได้ส่วนเสียด้านการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว



นิยามและคำย่อ

กลุ่มสารต้านจุลชีพ	Antimicrobial class	กลุ่มของสารต้านจุลชีพที่มีโครงสร้างโมเลกุลที่สัมพันธ์กัน มักมีรูปแบบการออกฤทธิ์คล้ายกันเนื่องจากทำปฏิกิริยากับเป้าหมายตำแหน่งเดียวกัน จึงมีกลไกการดื้อยาต้านจุลชีพที่คล้ายคลึงกันด้วยความหลากหลายของคุณสมบัติของสารต้านจุลชีพภายในกลุ่มเดียวกันมักเกิดขึ้นจากการแทนที่โมเลกุล (molecular substitutions) ที่แตกต่างกัน ซึ่งทำให้มีการออกฤทธิ์ หรือคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์และเภสัชพลศาสตร์ที่แตกต่างกัน
การกำกับติดตามและประเมินผล	M&E (Monitoring and Evaluation)	การติดตาม เป็นการเก็บรวบรวมข้อมูลการปฏิบัติงานตามแผนที่มีการกำหนดไว้แล้ว เพื่อนำข้อมูลมาใช้ในการตัดสินใจ แก้ไข ปรับปรุงวิธีการปฏิบัติงานให้เป็นไปตามแผน หรือกำหนดวิธีการดำเนินงานให้เกิดผลดียิ่งขึ้น ใน Codex หมายถึง การกำกับติดตาม โดยวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่าง AMU และ AMR การประเมินผล เป็นกระบวนการเก็บรวบรวมข้อมูล วิเคราะห์ข้อมูลอย่างเป็นระบบ และนำผลมาใช้ในการเพิ่มคุณภาพและประสิทธิภาพของการดำเนินโครงการ การประเมินผลจะเกิดขึ้นในทุกขั้นตอนของโครงการ นับตั้งแต่ก่อนตัดสินใจจัดทำโครงการ ในขณะดำเนินงานในช่วงระยะต่างๆ และเมื่อโครงการดำเนินงานเสร็จแล้ว หรือประเมินผลกระทบที่เกิดขึ้นจากการดำเนินโครงการบางมิติ นำมาใช้ในการประเมินความสำเร็จของโครงการการว่าบรรลุวัตถุประสงค์และเป้าหมายของโครงการที่ตั้งไว้หรือไม่ มีปัญหาอุปสรรคอะไรบ้าง
การใช้ยาต้านจุลชีพ	AMU (Antimicrobial use)	หมายถึงข้อมูลเกี่ยวกับยาต้านจุลชีพที่ผู้ป่วย หรือสัตว์ แต่ละรายได้รับการรวบรวมข้อมูลทำในระดับบุคคล โดยมีรายละเอียดของชุดข้อมูลที่ครอบคลุมหลายด้าน เช่นข้อมูลเกี่ยวกับข้อบ่งใช้ วิธีบริหารยา และลักษณะของผู้ป่วย โดยทั่วไปการรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับ AMU ต้องใช้ทรัพยากรมาก แต่ให้ข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับแนวทางปฏิบัติในการสั่งจ่ายยาซึ่งมีความสำคัญในการกำหนดแนวทาง antimicrobial stewardship AMU มีหน่วยเป็นน้ำหนักในบางกรณีอาจใช้ AMC (Antimicrobial consumption) ซึ่งหมายถึงปริมาณการจำหน่ายสารต้านจุลชีพ (ในรูปของยาหรือวัตถุดิบ) ข้อมูลในระดับประเทศแสดงเป็น defined daily dose (DDD)
การดื้อยาต้านจุลชีพ	Antimicrobial resistance (AMR)	ความสามารถของจุลชีพในการเพิ่มจำนวนหรือมีชีวิตอยู่ในสภาวะที่มียาต้านจุลชีพในระดับที่สูงขึ้นจากระดับที่เคยยับยั้งหรือฆ่าจุลชีพชนิดนั้นได้

การเฝ้าระวัง	Surveillance	กระบวนการจัดเก็บ วิเคราะห์ และแปลผลข้อมูล ที่จำเพาะต่อผลลัพธ์ใดๆ อย่างต่อเนื่องและมีระบบ รวมถึงการนำข้อมูลที่วิเคราะห์ได้ไปเผยแพร่และใช้ประโยชน์ในด้าน การวางแผน การจัดทำมาตรการป้องกันและควบคุมปัญหาสาธารณสุข รวมถึงการประเมินผลของนโยบายหรือมาตรการอย่างทันท่วงที
การเฝ้าระวังแบบบูรณาการ	Integrated Surveillance	การรวมเอาการเฝ้าระวังเชิงรุก (active surveillance) และเชิงรับ (passive surveillance) ไว้ด้วยกันโดยใช้โครงสร้างพื้นฐานชุดเดียวกันในการรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับโรคหลายๆโรค หรือหลายพฤติกรรมที่สนใจ กับมาตรการแทรกแซง (intervention) หลายๆอย่าง (เช่น โรงพยาบาลเก็บข้อมูลโรคติดต่อหลายโรค) การจัดการเฉพาะโรคอาจประเมินโดยใช้ผลจากการบูรณาการระบบ รวมทั้งบูรณาการผู้มีส่วนได้ส่วนเสียในระบบด้วย การเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพแบบบูรณาการในคู่มือฉบับนี้หมายถึงการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพในห่วงโซ่อาหารและสิ่งแวดล้อม
คณะกรรมการมาตรฐานอาหาร	CAC (Codex Alimentarius Commission)	มีหน้าที่กำหนดมาตรฐานอาหารให้เป็นมาตรฐานสากล นอกจากนี้คำว่า "Codex" เป็นคำที่ใช้เรียก "Codex Alimentarius" ซึ่งมาจากภาษาละติน หมายถึง "Food Code" ด้วย
จุลชีพก่อโรคที่มากับอาหาร	Foodborne pathogen	เชื้อจุลชีพก่อโรคที่มีอยู่ในอาหารซึ่งอาจทำให้เกิดโรคหรือความเจ็บป่วยของมนุษย์ผ่านการบริโภคอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อโรคและ/หรือสารชีวภาพที่เชื้อสร้างขึ้น
เชื้อก่อโรค	Pathogen	จุลินทรีย์ที่อาจทำให้เกิดการติดเชื้อเจ็บป่วยหรือเป็นโรค
ตัวชี้วัด	Indicator	ปัจจัยที่สามารถวัดได้ ช่วยให้ผู้ตัดสินใจสามารถประมาณขนาดของปัญหาสุขภาพ และกำกับติดตามกระบวนการ ผลผลิต หรือผลกระทบของมาตรการแทรกแซงใดๆ ต่อประชากร
แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว	One Health approach	สุขภาพหนึ่งเดียว เป็นแนวทางบูรณาการเพื่อการป้องกันและบรรเทาภัยคุกคามต่อสุขภาพในส่วนที่มีความสัมพันธ์เชื่อมโยงกันระหว่างคน - สัตว์ - พืช - สิ่งแวดล้อม เพื่อให้บรรลุความมั่นคงด้านสุขภาพของประชาชน, ความมั่นคงด้านอาหารและโภชนาการ ตลอดจน ระบบนิเวศที่ยั่งยืนและการอำนวยความสะดวกให้เกิดการค้าที่เป็นธรรม (Fair trade)
แบคทีเรียประจำถิ่น	Commensal Bacteria	แบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตสปีชีส์อื่นๆ โดยไม่เป็นอันตรายและไม่ก่อให้เกิดโรคต่อสิ่งมีชีวิตนั้นๆ แต่ในบางสถานการณ์ก็มีโอกาสกลายเป็นเชื้อฉวยโอกาสที่ก่อโรคได้
ปศุสัตว์	Livestock	สัตว์บก เช่น สุกร โค และสัตว์ปีก ที่เลี้ยงเพื่อใช้เป็นอาหาร



พืช หรือพืชเศรษฐกิจ	Plants / Crops	พืช หรือพืชเศรษฐกิจ ที่เพาะปลูกหรือเก็บเกี่ยวไว้เป็นอาหารหรืออาหารสัตว์
สัตว์น้ำ	Aquatic Animals	ปลา หอย กุ้ง และสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำที่มีต้นกำเนิดจากสถานเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำหรือจากป่า ทุกช่วงชีวิต (รวมถึงไข่และเซลล์สืบพันธุ์)
สัตว์ป่า	Wildlife	หมายถึงสัตว์ดุร้าย (feral animal) สัตว์ป่าที่ถูกกักขัง (captive wild animals) และสัตว์ป่า (wild animal) สัตว์ดุร้าย หมายถึงสัตว์ในสายพันธุ์ที่เลี้ยงไว้ ซึ่งปัจจุบันอาศัยอยู่โดยไม่มีการกำกับดูแลหรือการควบคุมของมนุษย์โดยตรง สัตว์ป่าที่ถูกกักขังคือสัตว์ที่ฟิโนไทป์ได้รับผลกระทบจากการคัดเลือกของมนุษย์ไม่มากนัก แต่มีชีวิตอยู่ภายใต้การควบคุมหรือดูแลของมนุษย์โดยตรง หมายถึงรวมถึงสัตว์ในสวนสัตว์เลี้ยง สัตว์ป่า
สัตว์เลี้ยง	Pets	สัตว์ที่เลี้ยงไว้เพื่อเป็นเพื่อนหรือเพื่อคุ้มครองบุคคลเป็นหลัก (บางประเทศแยกระหว่าง companion animals และ pets)
สัตว์เลี้ยงเพื่อเป็นอาหาร	Food animals	สัตว์ที่เลี้ยงโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นอาหารของมนุษย์
สารต้านจุลชีพ	Antimicrobial / Antimicrobial agent	สารธรรมชาติ สารกึ่งสังเคราะห์ หรือ สารสังเคราะห์ ซึ่งเมื่อเข้าไปในร่างกายแล้วสามารถฆ่าหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลชีพได้
สิ่งแวดล้อม	Environment	สิ่งต่างๆ ที่มีลักษณะทางกายภาพและชีวภาพที่อยู่รอบตัวมนุษย์ ซึ่งเกิดขึ้นโดยธรรมชาติและสิ่งที่มนุษย์ได้ทำขึ้น (พระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2535)
องค์การสุขภาพสัตว์โลก	WOAH (World Organization for Animal Health)	เดิมชื่อ องค์การโรคระบาดสัตว์ระหว่างประเทศ (Office International des Epizooties; OIE) เป็นองค์การระหว่างรัฐบาลทำหน้าที่ดูแลด้านสุขภาพสัตว์ก่อตั้งขึ้นในปี พ.ศ. 2467 เพื่อประสานความร่วมมือในการป้องกันและควบคุมโรคระบาดสัตว์ไม่ให้ผลกระทบทางสุขภาพสัตว์และการค้าสัตว์ รวมถึงควบคุมโรคสัตว์สู่คนไม่ให้ส่งผลกระทบต่อสาธารณสุข
องค์การอนามัยโลก	WHO (World Health Organization)	เป็นองค์กรชำนาญพิเศษของสหประชาชาติ รับผิดชอบการประสานงานด้านสาธารณสุขระหว่างประเทศ ก่อตั้งเมื่อ 7 เมษายน ค.ศ.1948 องค์การนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะคุ้มครองและส่งเสริมสุขภาพอนามัยของประชาชนทั่วโลก มีสำนักงานใหญ่ตั้งอยู่ที่นครเจนีวา ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
องค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ	FAO (The Food and Agriculture Organization)	เป็นองค์กรชำนาญพิเศษของสหประชาชาติที่มุ่งดำเนินการความพยายามระหว่างประเทศในการเอาชนะความหิวโหย เป้าหมายคือการบรรลุความมั่นคงด้านอาหารสำหรับทุกคนและทำให้มั่นใจว่าผู้คนสามารถเข้าถึงอาหารที่มีคุณภาพสูงพอที่จะนำไปสู่ชีวิตที่มีสุขภาพดี



อาหาร	Food from retail store	อาหารที่ได้จากการจำหน่ายของร้านค้าปลีก ซึ่งเป็นการขายสินค้าหรือบริการให้กับผู้บริโภคขั้นสุดท้าย (Final Consumers) เช่น ตลาดสดตลาดนัด ห้างค้าส่ง/ค้าปลีก ซูเปอร์มาร์เก็ต มินิมาร์เก็ต ร้านค้า หาบเร่ แผงลอยรถเข็นร้านอาหาร เป็นต้น อาหารจากร้านค้าปลีก ในที่นี้ ครอบคลุมถึง • อาหารดิบ หมายถึงอาหารที่ยังบริโภคไม่ได้ ต้องผ่านการปรุงสุกหรือการเตรียมด้วยกรรมวิธีใดๆ ก่อนบริโภค • อาหารพร้อมปรุง หมายถึงอาหารที่ได้จัดเตรียมส่วนประกอบต่างๆ บรรจุไว้ในหน่วยภาชนะที่พร้อมจำหน่ายโดยตรงต่อผู้บริโภค เพื่อนำไปปรุงเป็นอาหารชนิดใดชนิดหนึ่งโดยเฉพาะ • อาหารพร้อมบริโภค หมายถึง อาหารที่ผลิตเรียบร้อยแล้วพร้อมบริโภคที่บรรจุในภาชนะ พร้อมจำหน่ายได้ทันที
MDR	Multidrug-resistant bacteria	แบคทีเรียที่ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ พบว่าดื้อต่อยาปฏิชีวนะอย่างน้อยหนึ่งชนิดในยาอย่างน้อยสามกลุ่มขึ้นไป
PDR	Pandrug-resistant bacteria	แบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะทุกชนิดที่มีใช้
XDR	Extensively drug-resistant bacteria	แบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะเกือบทุกชนิดที่มีใช้ แต่ยังไวต่อยาไม่เกินสองชนิด



บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมา

การดื้อยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial Resistance, AMR) ได้รับการยอมรับทั่วโลกว่าเป็นภัยคุกคามด้านสาธารณสุขที่สำคัญซึ่งส่งผลกระทบร้ายแรงต่อสุขภาพและเศรษฐกิจ ในการประชุมสมัชชาอนามัยโลก ครั้งที่ 68 เมื่อเดือนพฤษภาคม 2558 สมัชชาได้รับรองแผนปฏิบัติการระดับโลกเพื่อจัดการกับการดื้อยาต้านจุลชีพ รวมถึงการดื้อยาปฏิชีวนะซึ่งเป็นแนวโน้มการดื้อยาต้านจุลชีพที่เร่งด่วนที่สุด โดยขอให้ประเทศสมาชิกต้องพัฒนาแผนปฏิบัติการระดับชาติเพื่อนำมาใช้ลดและควบคุมการดื้อยาต้านจุลชีพ ได้กระตุ้นให้ประเทศต่างๆ มีการจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพอย่างจริงจัง ต่อมาองค์กรระหว่างประเทศต่างๆ เช่น Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO), World Organization for Animal Health (WOAH) และองค์การสหประชาชาติ ได้ให้การสนับสนุนการดำเนินการดังกล่าว

สำหรับประเทศไทย แผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพประเทศไทย พ.ศ. 2560-2564 เป็นยุทธศาสตร์แห่งชาติว่าด้วยการแก้ปัญหาเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพอย่างบูรณาการภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวฉบับแรกของประเทศ แผนยุทธศาสตร์ดังกล่าว ได้ผ่านความเห็นชอบของคณะรัฐมนตรี เมื่อวันที่ 17 สิงหาคม 2559 ประกอบด้วย 6 ยุทธศาสตร์ ดังนี้

- ยุทธศาสตร์ที่ 1 การเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว
- ยุทธศาสตร์ที่ 2 การควบคุมการกระจายยาต้านจุลชีพในภาพรวมของประเทศ
- ยุทธศาสตร์ที่ 3 การป้องกันและควบคุมการติดเชื้อในสถานพยาบาล และควบคุมกำกับดูแลการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างเหมาะสมในโรงพยาบาล คลินิก และร้านยา
- ยุทธศาสตร์ที่ 4 การป้องกันและควบคุมเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพและควบคุมกำกับดูแลการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างเหมาะสมในภาคการเกษตรและสัตว์เลี้ยง
- ยุทธศาสตร์ที่ 5 การส่งเสริมความรู้ด้านเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพและความตระหนักรู้ด้านการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างเหมาะสมแก่ประชาชน
- ยุทธศาสตร์ที่ 6 การบริหารและพัฒนากลไกระดับนโยบายเพื่อขับเคลื่อนงานด้านการดื้อยาต้านจุลชีพอย่างยั่งยืน



รายละเอียดเกี่ยวกับแผนยุทธศาสตร์ กลไกการบริหารระบบ ตลอดจนความก้าวหน้าในการดำเนินการตามแผน สามารถสืบค้นได้ที่ <https://amrthailand.net/> ในหนังสือคู่มือการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวประเทศไทยฉบับนี้ มุ่งเน้นการดำเนินการตามยุทธศาสตร์ที่ 1 เป็นหลัก โดยอาจกล่าวถึงความเชื่อมโยงกับยุทธศาสตร์อื่นตามสมควร

วัตถุประสงค์ของการจัดทำแนวทางฯ ฉบับนี้ คือ เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวของประเทศไทย ผ่านกระบวนการร่วมคิดร่วมปฏิบัติ โดยมุ่งเน้นวัตถุประสงค์และลำดับความสำคัญ หรือความจำเป็นในการใช้ประโยชน์ตามเป้าประสงค์และวัตถุประสงค์ของแผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพประเทศไทย รวมทั้งพิจารณาถึงขีดความสามารถในการดำเนินการของหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ทรัพยากรที่มีอยู่ และเพื่อให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ได้มีโอกาสทำความเข้าใจร่วมกันถึงวัตถุประสงค์ และขอบข่ายของการพัฒนาระบบเฝ้าระวังบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวของประเทศไทย และร่วมกำหนดรายละเอียดต่างๆ ร่วมกันโดยอ้างอิงแนวทางที่แนะนำโดยองค์กรไตรภาคี [WHO, FAO, WOAH (OIE)]

ขอบข่ายของแนวทางการพัฒนาระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพมุ่งเน้นเฉพาะส่วนที่ส่งผลกระทบโดยตรงด้านสาธารณสุข ซึ่งมีองค์ประกอบหลักที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาต้านจุลชีพในคน สัตว์เลี้ยงเป็นอาหาร และสิ่งแวดล้อม แต่ยังไม่ครอบคลุมถึงการเฝ้าระวังในสัตว์เลี้ยงเป็นเพื่อน สัตว์ป่า และการใช้ยาต้านจุลชีพ (AMU/AMC) คู่มือฉบับนี้มีได้ประสงค์จะใช้แทนที่คู่มือด้านเทคนิคต่างๆ ที่เผยแพร่อยู่ แต่ต้องการให้เห็นความเชื่อมโยงระหว่างแนวปฏิบัติต่างๆ ที่อ้างอิงในระดับนานาชาติ และแปลงออกมาเป็นแนวปฏิบัติที่เหมาะสมและดำเนินการได้ในประเทศไทย



บทที่ 2

แนวทางการกำหนดระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพ

ทฤษฎีเกี่ยวกับระบบเฝ้าระวังทางสาธารณสุข

การเฝ้าระวังทางสาธารณสุข หมายถึงกระบวนการที่ประกอบด้วยองค์ประกอบหลัก 4 ส่วน คือ การจัดเก็บ วิเคราะห์ และแปลผลข้อมูลทางสาธารณสุขที่เป็นไปอย่างต่อเนื่องและมีระบบ รวมถึงการนำข้อมูลที่ได้ไปเผยแพร่และใช้ประโยชน์ในด้านการวางแผน การจัดทำมาตรการป้องกันและควบคุมปัญหาสาธารณสุข รวมถึงการประเมินผลมาตรการอย่างทันที่

การใช้ประโยชน์ข้อมูลการเฝ้าระวัง

การตรวจจับทันที เมื่อเกิดเหตุการณ์	โรคระบาด
	ปัญหาสุขภาพที่เกิดขึ้นใหม่
	การเปลี่ยนแปลงวิธีปฏิบัติด้านสุขภาพ
	การเปลี่ยนแปลงการดื้อยาปฏิชีวนะ
	การเปลี่ยนแปลงการกระจายของประชากรที่มีความเสี่ยงต่อโรค
การรายงานข้อมูล ตามรอบเวลา เพื่อ	การประเมินขนาดของปัญหาสุขภาพรวมถึงค่าใช้จ่าย
	การประเมินกิจกรรมการควบคุม
	การกำหนดลำดับความสำคัญของการวิจัย
	การหาปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรค
	เป็นข้อมูลเพื่อสนับสนุนการวางแผน
	ติดตามปัจจัยเสี่ยง
	ติดตามการเปลี่ยนแปลงแนวปฏิบัติด้านสุขภาพ
	การจัดทำรายงานการแพร่กระจายของโรคและการบาดเจ็บ
จัดเก็บข้อมูล เพื่อ	อธิบายความเป็นมาและธรรมชาติของโรค
	การอำนวยความสะดวกในการวิจัยทางระบาดวิทยาและการวิจัยทาง ห้องปฏิบัติการ
	การตรวจสอบความถูกต้องของการใช้ข้อมูลเบื้องต้น
	การกำหนดลำดับความสำคัญของการวิจัย
	การจัดทำรายงานการแพร่กระจายของโรคและการบาดเจ็บ

ที่มา: ปรับจาก Thacker and Stroup 1998b, 65



วัตถุประสงค์ของการเฝ้าระวัง

ระบบเฝ้าระวังทางสาธารณสุขทำให้ได้มาซึ่งข้อมูลจากข้อเท็จจริงและข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เพื่อการตัดสินใจ และกำหนดมาตรการ (intervention) ด้านสาธารณสุขที่เหมาะสม ดังนั้นวัตถุประสงค์และการดำเนินการเพื่อให้มาตรการนั้นประสบความสำเร็จ จะเป็นตัวกำหนดการออกแบบและวิธีการดำเนินงานระบบเฝ้าระวัง

คุณสมบัติของระบบเฝ้าระวัง

ในการออกแบบระบบเฝ้าระวัง ควรคำนึงถึงคุณสมบัติต่างๆ ดังนี้

คุณสมบัติ	คำถามที่ต้องการตอบ
ประโยชน์	ระบบมีประโยชน์ตามวัตถุประสงค์เพียงใด
คุณภาพของข้อมูล	ข้อมูลที่มีอยู่มีความน่าเชื่อถือเพียงใด รายการข้อมูลในรายงานจากระบบมีความสมบูรณ์และแม่นยำเพียงใด
รวดเร็วทันการณ์	ได้รับรายงานรวดเร็วทันการณ์หรือไม่
ยืดหยุ่น	ระบบสามารถปรับเปลี่ยนให้ทันต่อการเปลี่ยนแปลงได้รวดเร็วหรือไม่
เรียบง่าย	ระบบดำเนินการได้ง่ายเพียงใด
เสถียรภาพ	ระบบเฝ้าระวังทำงานได้ดีหรือไม่ ระบบขัดข้องบ่อยหรือไม่
ความไว	สามารถตรวจจับผู้ป่วยที่ต้องการได้ดีเพียงใด
ค่าที่ทำนายเป็นบวก และบวกจริง (Predictive positive value)	จำนวนผู้ป่วยที่รายงานตรงตามนิยามโรค
เป็นตัวแทน	ระบบเป็นตัวแทนของประชากรที่ต้องการเฝ้าระวังที่ดีหรือไม่
การยอมรับ	ผู้ใช้ระบบเต็มใจที่จะมีส่วนร่วมในการเฝ้าระวังและรายงานข้อมูลของตนอย่างไร

ขอบข่ายของระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว

สุขภาพหนึ่งเดียว เป็นวิธีการแบบบูรณาการเพื่อการป้องกันและบรรเทาภัยคุกคามต่อสุขภาพตรงที่มีความเชื่อมโยงกันระหว่างคน-สัตว์-พืช-สิ่งแวดล้อม เพื่อให้บรรลุความมั่นคงด้านสุขภาพของประชาชน, ความมั่นคงด้านอาหารและโภชนาการ ตลอดจนระบบนิเวศที่ยั่งยืนและการอำนวยความสะดวกให้เกิดการค้าที่เป็นธรรม (Fair trade) การเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว เป็นแนวทางที่นักวิชาการตลอดจนองค์กรระหว่างประเทศต่างๆ สนับสนุนให้ดำเนินการมานานกว่าทศวรรษ แม้ว่าแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวจะครอบคลุมทั้งด้านสาธารณสุข เศรษฐกิจ สังคม ก็ตาม เมื่อพิจารณาลำดับความสำคัญเร่งด่วน และทรัพยากรที่ต้องใช้เพื่อดำเนินการ ระบบเฝ้าระวังในที่นี้จึงมุ่งเน้นเฉพาะส่วนที่ส่งผลกระทบโดยตรงด้านสาธารณสุข ซึ่งมีองค์ประกอบหลักที่เกี่ยวข้องกับการจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพในคน สัตว์ และสิ่งแวดล้อม แต่ยังไม่ครอบคลุมถึง



มิติอื่นๆ คู่มือฉบับนี้มีได้ประสงค์จะใช้แทนที่คู่มือด้านเทคนิคต่างๆ ที่เผยแพร่อยู่ แต่ต้องการให้เห็นความเชื่อมโยงระหว่างคู่มือต่างๆ และแปลงออกมาเป็นแนวปฏิบัติที่สามารถปฏิบัติได้จริง

เป็นที่เข้าใจกันดีว่าวงจรการส่งผ่านเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพนั้นสามารถถ่ายทอดจากคน สัตว์ สิ่งแวดล้อมได้ โดยมีห่วงโซ่อาหารเป็นช่องทางหลัก ซึ่งสิ่งแวดล้อมน่าจะเป็นตัวกลางที่สำคัญ แม้ว่าปัจจุบันการประเมินความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพจากสิ่งแวดล้อมจะยังมีข้อมูลไม่มากนัก ความเสี่ยงต่อสุขภาพจากเชื้อมีสาเหตุหลายประการ เช่น การที่มนุษย์รับเชื้อดื้อยาจากสัตว์ผ่านการบริโภคเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์อาหารจากสัตว์ที่ปนเปื้อนหรือไม่ได้ผ่านการปรุงอย่างเหมาะสม ทำให้เกิดโรคติดเชื้อจากอาหาร หรือ อาหารเป็นพิษ ความเสี่ยงที่จะพบเชื้อดื้อยาชนิดใหม่ในห่วงโซ่อาหารโดยมียาต้านจุลชีพที่ใช้ในกระบวนการผลิตหรือยาต้าน จุลชีพที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมเป็นตัวเร่ง นอกจากนี้สัตว์อาจได้รับเชื้อหรือยีนดื้อยาจากมนุษย์ผ่านการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม เป็นต้น

ดังนั้น การเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวจึงมีประโยชน์ในการใช้งานในหลายประเด็น เช่น การเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาใหม่ การกำกับติดตามผลการดำเนินการตามมาตรการที่แต่ละภาคส่วนดำเนินการ การประกันคุณภาพอาหารปลอดภัย นอกจากนี้ Tripartite (WHO, FAO, WOA) ได้แนะนำให้ใช้การเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว เป็นเครื่องชี้วัดเพื่อกำกับติดตามผลการดำเนินการตามมาตรการต่างๆ ที่ใช้เพื่อการจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพ ในภาพรวม ในระดับผลลัพธ์ (outcome) ซึ่งบ่งชี้ปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพคน ห่วงโซ่อาหาร และสิ่งแวดล้อม มีสถานะเช่นไร และมาตรการต่างๆ ที่ได้ดำเนินการไปนั้นส่งผลให้ขนาดของปัญหาลดลงหรือไม่ อย่างไร

องค์การระหว่างประเทศเช่นองค์การอนามัยโลก (WHO) และ องค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) ได้ออกแนวทางการดำเนินงานหลายเล่ม เพื่อขานรับ Global Action Plan อาทิ WHO ได้ริเริ่ม Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) เมื่อเดือนตุลาคม 2558 โดยมุ่งให้ประเทศสมาชิกพัฒนาระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพในคน ในรูปแบบที่เปรียบเทียบกันได้ และเร่งให้ประเทศสมาชิกพัฒนาระบบเฝ้าระวังของตนเอง นอกจากนี้ CODEX ได้จัดทำเอกสาร Code of Practice to Minimize and Contain Foodborne Antimicrobial Resistance (CXC 61) Guidelines for Risk Analysis of Foodborne Antimicrobial Resistance (CXG 88) และ Guidelines on integrated Monitoring and Surveillance of Foodborne Antimicrobial Resistance (CXG 94). โดยอธิบายถึงหลักปฏิบัติเพื่อลดและควบคุมการดื้อยาต้านจุลชีพในอาหาร แนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของการดื้อยาต้าน จุลชีพในอาหาร และแนวทางบูรณาการการติดตามและเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพในอาหาร

ต่อมาในปี พ.ศ. 2560 องค์การอนามัยโลก (WHO) และ องค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) โดย Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance (AGISAR) ได้ออกแนวทางการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว โดยมุ่งเน้นการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพในห่วงโซ่อาหาร หรือ Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance in



Foodborne Bacteria: Application of a One Health Approach อย่างไรก็ตาม แนวทางดังกล่าว ไม่ได้ระบุชัดเจนถึงการประเมินผลการเฝ้าระวังแบบสุขภาพหนึ่งเดียว เพียงแต่นำมาเน้นการเก็บข้อมูลให้สอดคล้องกันเท่านั้น โดยการปฏิบัติได้แนะนำให้ดูตัวอย่างจากประเทศต่างๆ ที่มีการดำเนินการอยู่แล้ว ซึ่งก็มีความแตกต่างกันในแต่ละประเทศ จึงเป็นการยากสำหรับประเทศที่เพิ่งเริ่มดำเนินการในการทำความเข้าใจและนำมาปฏิบัติ

ต่อมาในปี พ.ศ. 2562 สำนักงาน FAO ภาคพื้นเอเชียแปซิฟิก ได้จัดทำ Regional Antimicrobial Resistance Monitoring and Surveillance Guidelines – Volume 1 ขึ้น เพื่อใช้เป็นแนวทางการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพในห่วงโซ่อาหารสำหรับภาคการเกษตร และ ในปี 2564 WHO ได้ออกแนวทาง WHO integrated global surveillance on ESBL-producing *E. coli* using a “One Health” approach: Implementation and opportunities ซึ่งอธิบายการเฝ้าระวังแบบสุขภาพหนึ่งเดียวครบทุกภาคส่วนแบบง่าย โดยใช้ Single key indicator ได้แก่ *E. coli* เพียงเชื้อเดียว โดยปรับจากแนวทางของ AGISAR และ GLASS

เป็นที่เข้าใจกันดีว่าการจัดการปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพจำเป็นต้องอาศัยแนวคิดการจัดการแบบสุขภาพหนึ่งเดียว เนื่องจากวงจรของการกลายพันธุ์ของเชื้อที่ทำให้เกิดการดื้อยาต้านจุลชีพ และการถ่ายทอดเชื้อและยีนดื้อยาต้านจุลชีพระหว่างคน สัตว์ สิ่งแวดล้อม ที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณการใช้ยาต้านจุลชีพในภาพรวมนั้น ทำให้การจัดการปัญหาแบบต่างคนต่างทำ อาจไม่นำไปสู่ผลลัพธ์ที่คาดหวังได้ ในการกำหนดกรอบการทำงานร่วมกันจึงเริ่มจากการทำความเข้าใจวัตถุประสงค์ และขอบข่ายของการพัฒนาระบบเฝ้าระวังบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวของประเทศไทยร่วมกัน จากนั้นจึงกำหนดรายละเอียดต่างๆ ตามความจำเป็น

ในที่นี่ จึงได้เสนอแนวทางการพัฒนาระบบเฝ้าระวังบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวของประเทศไทย ผ่านกระบวนการร่วมคิดร่วมปฏิบัติ โดยมุ่งเน้นวัตถุประสงค์และลำดับความสำคัญหรือความจำเป็นในการใช้ประโยชน์ รวมทั้งพิจารณาถึงขีดความสามารถในการดำเนินการของหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ทรัพยากรที่มีอยู่ เพื่อตอบโจทย์เป้าหมายและวัตถุประสงค์ของแผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพประเทศไทย โดยคณะผู้จัดทำได้ร่วมกันศึกษาแนวทางที่ออกโดยองค์การระดับนานาชาติ และข้อมูลของประเทศ ทั้งนี้อาจจะยังไม่ครอบคลุมในทุกประเด็นที่เกี่ยวข้อง การวิจัยและพัฒนาเพิ่มเติมในอนาคตยังมีความจำเป็นเพื่อให้สามารถใช้ประโยชน์สูงสุดจากการเฝ้าระวังบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวนอกเหนือจากการรวบรวมข้อมูลอย่างเดียว โดยมุ่งหวังว่าการร่วมคิดร่วมทำจะส่งผลให้เกิดความรู้ความเข้าใจในการดำเนินการในภาคส่วนต่างๆ ตลอดจนความสัมพันธ์ที่ดีที่ช่วยนำไปสู่การพัฒนาการใช้ประโยชน์จากแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวได้อย่างสมประโยชน์ คู่มือฉบับนี้ มิได้มีวัตถุประสงค์จะใช้แทนที่คู่มือ มาตรฐาน แนวทาง ในระดับนานาชาติ ที่มีรายละเอียดครบถ้วนอยู่แล้ว แต่มุ่งให้เกิดความเข้าใจร่วมกัน และนำไปใช้ปฏิบัติงานได้จริงตามภารกิจที่หน่วยงานรับผิดชอบ และสามารถนำมาใช้ประโยชน์ร่วมกันได้ แต่ก็ยังต้องอ้างอิงคำแนะนำด้านวิชาการจากคู่มือต้นฉบับ



การประยุกต์ใช้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว

ขณะที่ปรึกษาด้านการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียแบบบูรณาการ ขององค์การอนามัยโลก (ปี พ.ศ. 2560) ได้นิยามไว้ว่า การเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียจากอาหารแบบบูรณาการ หมายถึง การรวบรวม การตรวจสอบความถูกต้อง การวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลด้านจุลชีววิทยาและระบาดวิทยาของเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพที่ส่งต่อทางอาหาร (foodborne pathogens) ผ่านคน สัตว์ และอาหาร และเกี่ยวเนื่องกับยาต้านจุลชีพที่ใช้ในมนุษย์และสัตว์ ซึ่งเป็นการลดรูปจากสุขภาพหนึ่งเดียว ลงมาเป็นการบูรณาการชุดข้อมูลการดื้อยาต้านจุลชีพจากแหล่งต่างๆ คือ คน สัตว์ และอาหาร รวมทั้งตัวอย่างการวิเคราะห์แบบบูรณาการและรูปแบบการรายงาน แต่ยังไม่มีการพูดถึงสุขภาพหนึ่งเดียวในแง่มุมอื่น เช่น การสร้างความร่วมมือระหว่างภาคส่วนอื่นๆ เช่น สิ่งแวดล้อม สัตว์เลี้ยง และการแบ่งปันข้อมูล Aenishaenslin และคณะ (2562) ได้สรุปการบูรณาการกิจกรรมต่างๆ ที่เกี่ยวกับการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ประเภทของการบูรณาการในระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพในแบคทีเรียจากอาหาร
จำแนกตามกิจกรรมการเฝ้าระวัง

กิจกรรมการเฝ้าระวัง	การบูรณาการข้อมูล	การบูรณาการการปฏิบัติงานและกระบวนการ	การบูรณาการระหว่างสถาบัน สาขาวิชาชีพและมุมมองที่หลากหลาย
การรวบรวมข้อมูล	การบูรณาการข้อมูลการดื้อยาต้านจุลชีพ จาก - คน อาหารสัตว์ และสิ่งแวดล้อม - สัตว์ต่างสายพันธุ์ - สัตว์สายพันธุ์เดียวกัน แต่ใช้วิธีการผลิตที่แตกต่างกัน (ตัวอย่างเช่น เลี้ยงแบบอินทรีย์ เทียบกับการผลิตอื่นๆ) - จุดเก็บตัวอย่างที่แตกต่างกัน (ฟาร์ม โรงฆ่าสัตว์ เนื้อค้าปลีก น้ำ ดิน) - สายพันธุ์จุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน; - สารต้านจุลชีพที่แตกต่างกัน - กิจกรรมการเฝ้าระวังเชิงรุกและเชิงรับ การบูรณาการข้อมูลการใช้ยาต้านจุลชีพและปัจจัยเสี่ยงอื่นๆ (เช่น วิธีปฏิบัติในการจัดการฟาร์ม)	การปรับเทียบมาตรฐานระหว่างภาคสุขภาพคนและสัตว์ ในประเด็นดังนี้ - วิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการ - หน่วยวัด ที่ใช้ในการวิเคราะห์ผล และการรายงานผลการดื้อยาต้านจุลชีพ และการเลือกใช้ยาต้านจุลชีพ	การบูรณาการ - การรวบรวมข้อมูลในองค์กรท้องถิ่นหรือระดับชาติหนึ่งองค์กร (เทียบกับหลายองค์กรที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพของสัตว์และสุขภาพของคน); และ - การวิเคราะห์ตัวอย่างในห้องปฏิบัติการหนึ่ง (เทียบกับห้องปฏิบัติการอื่นๆ ด้านสุขภาพของสัตว์ สุขภาพของคน หรือด้านอื่นๆ)



กิจกรรม การเฝ้าระวัง	การบูรณาการข้อมูล	การบูรณาการการปฏิบัติงาน และกระบวนการ	การบูรณาการระหว่าง สถาบัน สาขาวิชาชีพ และมุมมองที่หลากหลาย
การวิเคราะห์ข้อมูล และแปลผล	การเปรียบเทียบข้อมูลเกี่ยวกับ ความต้านทานต่อยาต้านจุลชีพ และการใช้ยาต้านจุลชีพจาก: - คน สัตว์ และสิ่งแวดล้อม - สัตว์ต่างสายพันธุ์ - สินค้าโภคภัณฑ์จากสัตว์ที่ แตกต่างกัน - จุดเก็บตัวอย่างที่แตกต่างกัน - สัตว์เลี้ยงที่ป่วย สุขภาพดีและคน - ตำแหน่งทางภูมิศาสตร์ที่ แตกต่างกัน - การเปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาผ่านไป	การวิเคราะห์ทางสถิติแบบบูรณา การที่ซับซ้อนมากขึ้น (เทียบกับการ เปรียบเทียบแนวโน้มอย่างง่าย ของข้อมูลจากแหล่งต่างๆ)	การบูรณาการการวิเคราะห์ ข้อมูลและแปลผล - ดำเนินการในหน่วยงาน เดียว (แผนการทำงานแบบ ต่างคนต่างทำในภาคส่วน ของตนเอง) - มีทีมวิเคราะห์ข้อมูลทีม เดียว (แผนการทำงานแบบ ต่างคนต่างทำ) - ใช้มุมมองจากผู้เชี่ยวชาญ หลายสาขารวมถึงให้ผู้มี ส่วนได้ส่วนเสียมีส่วนร่วม ในการเผยแพร่ด้วย
	- การวิเคราะห์ความเชื่อมโยง ระหว่างการใช้ยาต้านจุลชีพ ปัจจัยเสี่ยงอื่นๆ และการดื้อยา ต้านจุลชีพ	การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของ แนวโน้มการดื้อยาต้านจุลชีพ: - ใช้ข้อมูลจากแหล่งต่างๆ และ - หาความสัมพันธ์กับปัจจัยเสี่ยง	
การเผยแพร่ข้อมูลการ เฝ้าระวัง	การบูรณาการข้อมูลจากแหล่ง ข้อมูลต่างๆ ในกิจกรรมการ รายงาน (เทียบกับการรายงาน แยกตามแหล่งข้อมูล)	การรายงาน: - ใช้รูปแบบหลักที่เป็นแนวทาง เดียวกันทั้งภาคสุขภาพสัตว์และ สุขภาพคน (เทียบกับหลาย รูปแบบ) - รายงานต่อผู้มีส่วนได้ส่วนเสียทั้ง ด้านสุขภาพคน และสุขภาพสัตว์ ผ่านกิจกรรมอย่างน้อยหนึ่ง กิจกรรมที่จัดร่วมกัน (เช่น รายงานหนึ่งฉบับ หรือการร่วม ประชุม 1 ครั้ง) - ปรับการรายงานให้เข้ากับผู้มี ส่วนได้ส่วนเสียจากด้านสุขภาพ คน และสุขภาพสัตว์ (กิจกรรม การรายงานอื่นๆ)	การเผยแพร่ข้อมูลสารสนเทศ - ควรประสานโดยหน่วยงาน เดียว และ - ใช้มุมมองจากผู้เชี่ยวชาญ หลายสาขารวมถึงให้ผู้มี ส่วนได้ส่วนเสียมีส่วนร่วม ในการเผยแพร่ด้วย



กระบวนการออกแบบระบบเฝ้าระวัง

คณะทำงานพัฒนาระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว ประกอบด้วยผู้แทนจากหน่วยงานที่มีภารกิจด้านการจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพ ได้แก่ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรม ปศุสัตว์ กรม ประมง กรมควบคุมมลพิษ กรมอนามัย กรมควบคุมโรค สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ผู้เชี่ยวชาญจากมหาวิทยาลัยต่างๆ ได้มาร่วมกันออกแบบระบบเฝ้าระวังร่วมกัน นอกจากนี้ ยังมีทีมวิจัยจากสำนักงานพัฒนา นโยบายสุขภาพระหว่างประเทศ (International Health Policy Program, IHPP) และมูลนิธิเครือข่ายฝึกอบรม ระบาดวิทยาภาคสนาม (FETN Foundation) ร่วมดำเนินการด้วย ขั้นตอนการทำงานประกอบด้วย

1. การทบทวนคู่มือ (Guideline) ต่างๆ ที่เผยแพร่โดยองค์การระหว่างประเทศ และเป็นที่ยอมรับในระดับสากล (IHPP)
2. การทบทวนสถานการณ์การเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพของประเทศไทย (IHPP)
3. การวิเคราะห์การวิเคราะห์สภาพแวดล้อมและศักยภาพ หรือ SWOT (IHPP & FETN)
4. การออกแบบกรอบการดำเนินงาน (Framework) โดยใช้เอกสาร Zambia's Integrated Antimicrobial Resistance Surveillance Framework (January 2020) มาเป็นต้นแบบ และปรับปรุงรายละเอียดด้านเทคนิคต่างๆ ให้เหมาะสมกับบริบทของประเทศไทย
5. การรับฟังความคิดเห็น โดยนำเสนอต่อคณะอนุกรรมการ ผู้เชี่ยวชาญ และผู้แทนหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เพื่อรับทราบข้อมูล ความเห็น ข้อเสนอแนะเพื่อการปรับปรุง
6. เสนอขอรับความเห็นชอบ

วัตถุประสงค์ของระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว

ระบบเฝ้าระวังตามทฤษฎีนั้น ประกอบด้วยองค์ประกอบหลัก 4 ข้อ ได้แก่ (1) การรวบรวมข้อมูล (2) การวิเคราะห์ (3) การเผยแพร่ข้อมูลสารสนเทศ และ (4) การตอบสนอง ระบบเฝ้าระวังที่เป็นระบบโดยแท้จริง ควรต้องดำเนินการอย่างต่อเนื่อง ใช้ทรัพยากรและข้อมูลที่ปรับจากงานประจำให้ตอบวัตถุประสงค์การใช้งาน ทั้งนี้เพื่อให้สามารถดำเนินการโดยไม่เป็นภาระต่อระบบงานปกติมากเกินไปจนความจำเป็น ระบบเฝ้าระวังควรเป็นตัวแทนซึ่งสะท้อนให้เห็นถึงลักษณะของประชากรที่สัมพันธ์กับเวลา สถานที่ และบุคคล เพื่อบ่งชี้ทั้งการเกิดเหตุการณ์สุขภาพเมื่อเวลาผ่านไป และแสดงให้เห็นการกระจายของบุคคลและสถานที่ของเหตุการณ์นั้นในประชากร ณ เวลาใดๆ ได้อย่างแม่นยำ วัตถุประสงค์ของระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว



- 1) เพื่อทราบสถานการณ์การดื้อยาต้านจุลชีพของประเทศ
 - เพื่อทราบสถานการณ์ของการดื้อยาต้านจุลชีพ ของเชื้อสำคัญ (priority pathogens) ที่เป็นปัญหาสาธารณสุข ในห่วงโซ่อาหาร และสิ่งแวดล้อม
- 2) เพื่อประเมินผลกระทบของการป่วย ตาย จากเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ
 - ประเมินอัตราตายจากการติดเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ (Attributable mortality of AMR)
 - ประเมินภาระโรค (Burden) เช่นดัชนีปีสุขภาวะที่ปรับด้วยความบกพร่องทางสุขภาพ (Disability-Adjusted Life Year, DALY)
- 3) เพื่อกำกับติดตามและประเมินผลของมาตรการต่างๆ ที่ดำเนินการเพื่อลดปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพในแต่ละภาคส่วน ทั้งในภาพรวมของแผนยุทธศาสตร์ หรือรายมาตรการ (Monitoring and Evaluation)
 - การประเมินผลการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพแบบบูรณาการบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว เป็นการประเมินผลลัพธ์ที่สืบเนื่องมาจากการดำเนินมาตรการในภาคส่วนต่างๆ ทั้งคน สัตว์ (พืช) สิ่งแวดล้อม
 - การกำกับติดตาม โดยวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่าง AMU และ AMR
- 4) การใช้ประโยชน์เชิงนโยบาย เช่น ผลการบังคับใช้กฎหมายหรือมาตรการควบคุมต่างๆ การประเมินผลกระทบจากการดื้อยาต้านจุลชีพในมิติต่างๆ (ภาระโรค อัตราป่วย ตาย จากเชื้อชนิดต่างๆ)
- 5) ระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว มีความเชื่อมโยงกับระบบเฝ้าระวังที่ดำเนินการเพื่อการจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพตามภารกิจของหน่วยงาน ซึ่งมีเป้าหมายการใช้ประโยชน์เฉพาะ เช่น
 - วัตถุประสงค์การเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพในคน
 - ทราบสถานการณ์และแนวโน้มเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ
 - ตรวจจับการระบาด
 - นำข้อมูลไปใช้เพื่อวางแผนการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างสมเหตุผล
 - การดูแลรักษาผู้ป่วยจากการติดเชื้อด้านจุลชีพ
 - การควบคุมการติดเชื้อในโรงพยาบาลและชุมชน
 - วัตถุประสงค์ในการเฝ้าระวังและตรวจติดตามเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพในปศุสัตว์
 - ทราบสถานการณ์และแนวโน้ม รวมทั้งแหล่งการเกิดเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ
 - ตรวจหากลไกการดื้อยาต้านจุลชีพที่เกิดขึ้นใหม่
 - นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความเสี่ยงต่อสุขภาพสัตว์และคน
 - นำข้อมูลไปใช้ประกอบการกำหนดนโยบายทางด้านสุขภาพสัตว์และคนด้านการจัดการเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ



ระบบเฝ้าระวัง และข้อเสนอตัวอย่างวัตถุประสงค์การใช้งานของระบบที่มีอยู่แล้ว เพื่อใช้ประโยชน์ในการดำเนินงานตามแผนยุทธศาสตร์ฯ ได้สรุปไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงระบบเฝ้าระวัง ตัวชี้วัด และวัตถุประสงค์การใช้งานในระดับต่างๆ

รูปแบบ	ระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพ	วัตถุประสงค์	วิธีดำเนินการ	เป้าหมาย/ตัวชี้วัดที่เกี่ยวข้อง
ภาระโรคจากการติดเชื้อดื้อยา (AMR burden)	1. Burden of infectious disease in disability adjusted life-years ^a per 100,000 population	เพื่อวัดภาระโรคที่เกิดจากโรคติดเชื้อ	งานวิจัย	ภาระโรคที่ลดลงเป็นผลกระทบจากการจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพ
	2. Attributable mortality of AMR bloodstream infections	เป็นการวัดอัตราการตายจากการติดเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพในกระแสเลือด (ที่หักลบการตายจากสาเหตุอื่นที่ไม่ใช่เชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ)	งานวิจัยที่ใช้ข้อมูลการตรวจหาความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพจากงานประจำ ประกอบกับข้อมูลอื่นๆ ที่ต้องจัดเก็บเพิ่มเติม	อัตราป่วย/ตาย จากเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพลดลง
ระบบห้องปฏิบัติการ	3. ระบบเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพในคน (NARST)	เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพที่ก่อโรคในคน และติดตามแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาผ่านไปอย่างต่อเนื่อง	ระบบเฝ้าระวัง ใช้ข้อมูลผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพจากงานประจำและดำเนินการต่อเนื่อง ประเมินผลรายปี โดยวัดสัดส่วนของเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพสายพันธุ์แรกต่อเชื้อชนิดเดียวกันที่พบทั้งหมดในช่วงเวลาที่กำหนด แสดงผลเป็นแอนติไบโอแกรม	เชื้อดื้อยาต้านจุลชีพลดลง และอัตราการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อก่อโรคช้าลงกว่าเดิม



รูปแบบ	ระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพ	วัตถุประสงค์	วิธีดำเนินการ	เป้าหมาย/ตัวชี้วัดที่เกี่ยวข้อง
ระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพแบบค้นหาผู้ป่วย	4. ระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพแบบค้นหาผู้ป่วย [Case-finding comprehensive (เช่น WHO GLASS)]	ระบบเฝ้าระวังระดับประเทศเพื่อการแลกเปลี่ยนข้อมูลในประเทศและนานาชาติ ติดตามแนวโน้มการดื้อยาต้านจุลชีพและสัดส่วนของผู้ป่วยติดเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพในระดับโลกของ fast-growing bacteria ที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อทั่วไป และให้ WHO กำหนดรายการ WHO Model Lists of Essential Medicines และการจัดกลุ่มยาต้านจุลชีพ (WHO AWaRe)	ระบบเฝ้าระวัง ใช้ข้อมูลผลการทดสอบความไวของเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพจากงานประจำ และข้อมูลประวัติการป่วยของผู้ป่วยโดยระบุชนิดตัวอย่างและชนิดเชื้อก่อโรคที่สนใจ ดำเนินการต่อเนื่อง ประเมินผลรายปี	- การลดอุบัติการณ์การติดเชื้อในโรงพยาบาล - การกำกับติดตามผลของมาตรการการป้องกันและควบคุมการติดเชื้อ รวมทั้งการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างสมเหตุผล
ระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพแบบค้นหาผู้ป่วย	5. Case based surveillance (เช่น DeNARS)	เฝ้าระวังผู้ป่วยติดเชื้อดื้อยาที่มีความสำคัญสูง (Critically important multidrug resistant Organisms) 5 ชนิด (Vancomycin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> , Vancomycin-resistant <i>Enterococcus</i> spp., Colistin-resistant <i>Acinetobacter baumannii</i> , Colistin-resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> และ Third generation cephalosporin resistant <i>Neisseria gonorrhoeae</i>)	พัฒนาเครือข่ายการสื่อสารข้อมูลระหว่างสถานพยาบาลไปยังระดับจังหวัด ระดับเขต และส่วนกลาง โดยให้ส่งแบบรายงาน AMR-1 ผ่านทาง web application ภายใน 7 วันหลังพบผู้ป่วยติดเชื้อดื้อยา	หาแนวทางการป้องกัน ควบคุม และตอบสนองต่อการระบาด



รูปแบบ	ระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพ	วัตถุประสงค์	วิธีดำเนินการ	เป้าหมาย/ตัวชี้วัดที่เกี่ยวข้อง
ระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพแบบค้นหาผู้ป่วย	6. IPC-AMR surveillance (เช่น ระบบที่ดำเนินการโดยสถาบันบำราศนราดูร)	รายงานการเฝ้าระวังการติดเชื้อในโรงพยาบาล	จำแนกประเภทการติดเชื้อตามตำแหน่งการติดเชื้อ ชนิดของเชื้อที่พบ ผลการตรวจการดื้อยา ชนิดของสิ่งส่งตรวจ และผลลัพธ์การรักษาผู้ป่วย ทั้งในรูปแบบภาคตัดขวางและแนวโน้ม ประมวลผลและรายงานโดยโปรแกรมประมวล - ร้อยละการติดเชื้อใน ร.พ. (ราย/100 ราย) - อัตราการติดเชื้อใน ร.พ. (ครั้ง/1000 วันนอน)	การลดอุบัติการณ์การติดเชื้อในโรงพยาบาล
ระบบเฝ้าระวังภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว	7. AMR in foodborne pathogens	เฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพในห่วงโซ่อาหาร อาหารปลอดภัย มาตรการเพื่อการส่งออก	ระบบเฝ้าระวัง เชื้อดื้อยาต้านจุลชีพในห่วงโซ่อาหาร 4 ชนิดในปศุสัตว์ (<i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp. และ <i>Campylobacter</i> spp.)	การลดอุบัติการณ์การติดเชื้อในโรงพยาบาล ฟาร์ม และชุมชน รวมทั้งลดการปนเปื้อนเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพในสิ่งแวดล้อม M&E สำหรับแผนปฏิบัติการ การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพในภาพรวม
	8. Tricycle Surveillance	เป็นระบบเฝ้าระวังระยะยาว ที่ประยุกต์ใช้สุขภาพหนึ่งเดียวเพื่อประเมินผลลัพธ์จากมาตรการ (interventions) ที่ดำเนินการเพื่อการจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพในภาพรวมโดยดำเนินการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพในคน สัตว์ สิ่งแวดล้อมไปพร้อมๆ กัน	เป็นการเชื่อมโยงระบบเฝ้าระวังในคน (GLASS) กับระบบเฝ้าระวังในห่วงโซ่อาหาร (AGISAR) และสิ่งแวดล้อม โดยใช้ ESBL <i>E. coli</i> เป็นตัวชี้วัดเพียงเชื้อเดียว	กำกับติดตามผลการดำเนินการตามแผนปฏิบัติการการจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพในภาพรวม



กรอบการทำงานการเฝ้าระวังบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวในคู่มือฉบับนี้ ได้นำเอาแนวทางการเฝ้าระวังบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวจาก WHO Tricycle Surveillance , AGISAR และ CODEX มาออกแบบร่วมกัน โดยเชื่อมโยงระหว่างกรอบการเฝ้าระวังในภาคการสาธารณสุข อาหารปลอดภัย สิ่งแวดล้อม และแหล่งข้อมูลตั้งต้นซึ่งมาจากการประจำทั้งจากภาคการสาธารณสุข ห่วงโซ่อาหาร (ปศุสัตว์ สัตว์น้ำ อาหาร) และสิ่งแวดล้อม เพื่อมุ่งนำมาใช้ประโยชน์ร่วมกัน ครอบคลุมมาตรการที่ควรต้องดำเนินการตามแผนยุทธศาสตร์ สำหรับการดื้อยาต้านจุลชีพในพืชนั้น หน่วยงานเจ้าภาพแจ้งว่ายังไม่มีข้อมูลที่บ่งชี้การเกิดความเสี่ยงอย่างชัดเจน จึงยังไม่ได้บรรจุอยู่ในกรอบการดำเนินงาน โดยยังต้องทำการวิจัยเพิ่มเติมเพื่อให้มีความชัดเจนยิ่งขึ้น

การเฝ้าระวังที่เป็นงานวิจัย และไม่มีแผนจะดำเนินการอย่างต่อเนื่องครบ 4 องค์ประกอบของระบบเฝ้าระวัง ไม่อยู่ในขอบข่ายของคู่มือฉบับนี้ อย่างไรก็ตามข้อมูลจากงานวิจัยสามารถนำมาใช้ประโยชน์เพื่อการประเมินสถานการณ์ประกอบการวางแผนงานต่างๆ ได้ตามความเหมาะสม

ระดับการบูรณาการ

การออกแบบระบบเฝ้าระวังในที่นี้ มุ่งการบูรณาการตั้งแต่การวางแผน การดำเนินงาน การวิเคราะห์และประเมินผล และการรายงาน โดยทำความเข้าใจวัตถุประสงค์ และออกแบบร่วมกัน กำหนดเป้าหมายและกรอบเวลาเพื่อให้สามารถนำไปดำเนินงานได้สอดคล้องกัน และให้มีการประชุมแลกเปลี่ยนเป็นระยะเพื่อติดตามความก้าวหน้าและปรับปรุงการดำเนินงาน ทั้งนี้ต้องสัมพันธ์กับการดำเนินงานในยุทธศาสตร์อื่นด้วย

การวางแผนการเก็บตัวอย่างและรวบรวมข้อมูล

- การคัดเลือกชนิดของเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพที่สนใจ
- การกำหนดแนวทางการเก็บตัวอย่าง เช่น พื้นที่ที่คาดว่าจะมีปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดการดื้อยาต้านจุลชีพสูง และระยะเวลาที่จะดำเนินการเก็บตัวอย่าง
- การตกลงร่วมกันเพื่อเลือกวิธีวิเคราะห์และการแปลผลให้เป็นมาตรฐานเดียวกันให้สามารถเทียบเคียงกันได้
- กำหนดรายการข้อมูลที่ต้องจัดเก็บในแต่ละภาคส่วน รวมทั้งรูปแบบการรายงานผล

การวิเคราะห์ข้อมูลและการแปลผล

- กำหนดแนวทางการวิเคราะห์ข้อมูล การแปลผล การประเมินผล และการจัดทำรายงาน

การเผยแพร่ข้อมูล

- วิธีการรายงานและความถี่ในการรายงาน



บทที่ 3

กรอบการดำเนินงานการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพภายใต้แนวคิด สุขภาพหนึ่งเดียว

จากแนวคิดการออกแบบระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพที่กล่าวมาแล้ว ได้กำหนดกรอบการดำเนินงานการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพแบบบูรณาการบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวของประเทศไทย หรือ Thailand Integrated AMR surveillance with One Health Approach โดยคำนึงถึงบริบทของประเทศไทย และความจำเป็นที่แต่ละภาคส่วนต้องดำเนินการตามเงื่อนไขข้อตกลงต่างๆ แนวทางที่ใช้อ้างอิงเป็นหลักมีดังนี้

1. Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (WHO)

การเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพในระดับโลก หรือ Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) เป็นแนวทางเพื่อให้ประเทศพัฒนาระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพ ให้มีวิธีการและข้อมูลที่เป็นมาตรฐานเดียวกัน สามารถแลกเปลี่ยนในระดับประเทศและระดับโลกได้ คู่มือ GLASS ขององค์การอนามัยโลก แนะนำให้ผู้ประสานงานระดับชาติ หรือ National Coordinating Center (NCC) ร่วมมือกับหน่วยงานระดับประเทศที่รับผิดชอบในการประสานงานยุทธศาสตร์ชาติ กำหนดวัตถุประสงค์ของระบบเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพระดับประเทศ โดยวัตถุประสงค์ในระดับประเทศควรขึ้นอยู่กับ 3 ประเด็นหลักดังนี้:

- 1.1 ลำดับความสำคัญด้านสาธารณสุขเฉพาะของประเทศ
- 1.2 การประเมินสถานการณ์การดื้อยาต้านจุลชีพในประเทศเบื้องต้น
- 1.3 เป้าประสงค์และวัตถุประสงค์ที่กำหนดไว้ในยุทธศาสตร์ชาติในภาพรวมเพื่อมุ่งแก้ไขปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพ

การดำเนินการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ 8 ชนิดแบบ Case finding-based surveillance โดยดำเนินการเฉพาะตัวอย่าง 4 ประเภทรวมกับการระบุชนิดเชื้อก่อโรค ได้แก่ *Acinetobacter* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* spp., *Streptococcus pneumoniae* และ *Staphylococcus aureus* ในตัวอย่างเลือด *E. coli* และ *K. pneumoniae* ในตัวอย่างปัสสาวะ *Salmonella* spp. และ *Shigella* spp. ในตัวอย่างอุจจาระ และ *Neisseria gonorrhoeae* ในตัวอย่างระบบสืบพันธุ์ และ swab จากคอ โดยเก็บข้อมูลประวัติการติดเชื้อของผู้ป่วยร่วมกับข้อมูลเชื้อก่อโรคที่พบ นอกจากนี้ ยังควรพิจารณาชนิดของเชื้อสำคัญ รูปแบบการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อโรคและยาให้เหมาะสมกับปัญหาและบริบทของประเทศ



สำหรับประเทศไทย ได้คัดเลือกเชื้อสำคัญที่ต้องเฝ้าระวัง 9 ชนิด ที่เป็นปัญหาของประเทศไทยจากระบบเฝ้าระวังที่ใช้ข้อมูลเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพทุกชนิดจากงานประจำ มาเพื่อทำการเฝ้าระวังแบบ Case finding เป็นการเฉพาะ ดังนี้

Gram Negative	Gram Positive
<i>Acinetobacter baumannii</i> - Carbapenem - Colistin	<i>Enterococcus</i> - Vancomycin (VRE)
<i>Escherichia coli</i> - Carbapenem - Colistin - Fluoroquinolone - 3rd Generation Cephalosporins (ESBL)	<i>Staphylococcus aureus</i> - Methicillin (MRSA) - Vancomycin
<i>Klebsiella pneumoniae</i> - Carbapenem - Colistin - 3rd Generation Cephalosporins (ESBL)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> - Penicillin - Ceftriaxone or Cefotaxime
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> - Cefotaxime	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> - Carbapenem - Colistin	
<i>Salmonella spp.</i> - Colistin - Fluoroquinolone - 3rd Generation Cephalosporins (ESBL)	

ด้วยแนวคิดเดียวกันนี้ ภาศปศสสัตว์ได้เลือกเชื้อและยาเพื่อเฝ้าระวังในสัตว์ป่วย ตามที่ระบุในแผนยุทธศาสตร์ ฯ ฉบับที่ 1



2. Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance in Foodborne Bacteria: Application of a One Health Approach (2017, WHO)

คู่มือ Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance in Foodborne Bacteria: Application of a One Health Approach ซึ่งเป็นความร่วมมือระหว่าง WHO FAO และ WOAHP โดย Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance (AGISAR) เป็นแนวทางการเฝ้าระวังเชื้อก่อโรคที่พบในอาหารโดยประยุกต์ใช้แนวทางสุขภาพหนึ่งเดียว เป็นการบูรณาการระหว่าง GLASS และ CODEX ซึ่งเป็นแนวทางการจัดการความเสี่ยงด้านอาหาร หรืออาหารปลอดภัย เชื้อที่ใช้ในการเฝ้าระวังนั้น ในระดับโลก โดยส่วนใหญ่ *Salmonella* จะถูกเลือกเป็นลำดับแรก ตามด้วย *Campylobacter* spp. ส่วน *E. coli* เป็นเชื้อที่พบทั่วไปโดยบางสายพันธุ์อาจเป็นเชื้อก่อโรค จึงสามารถใช้เป็น sentinel organism ได้ ทั้ง *E. coli* และ *Enterococcus* spp. เป็น reservoirs ของยีนดื้อยาที่สามารถถ่ายทอดไปยังเชื้อก่อโรคในคนผ่านทางเดินอาหารได้ ดังนั้น จึงสามารถให้ข้อมูลการส่งผ่านยีนดื้อยาในเชื้อแกรมลบและแกรมบวกในห่วงโซ่อาหาร ทั้งนี้ ประเทศสามารถเพิ่มเชื้อแบคทีเรียอื่นๆที่เป็นปัญหา ในระบบเฝ้าระวังตามสถานการณ์ได้ โดยพิจารณาถึงลำดับความสำคัญทางสาธารณสุข การใช้ยาต้านจุลชีพ และภาระโรคที่เกิดจากโรคติดเชื้อที่มากับอาหาร เช่น *Staphylococcus* และ *Clostridium* รวมทั้งเชื้อที่เกี่ยวข้องกับสัตว์น้ำ เช่น *Vibrio*

3. Monitoring and surveillance of antimicrobial resistance in bacteria from healthy food animals intended for consumption. Regional Antimicrobial Resistance Monitoring and Surveillance Guidelines – Volume 1. (2019, FAO)

คู่มือ Regional antimicrobial resistance monitoring and surveillance guidelines ฉบับนี้กำหนดแนวทางการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพในปศุสัตว์ที่เลี้ยงเพื่อการบริโภคโดยใช้แนวทางตามมาตรฐานสากล ได้แก่ WOAHP Terrestrial Animal Health Code Section 6.7.2 (WOAHP, 2012a) และสหภาพยุโรป กลุ่มตัวอย่างเป็นสัตว์สุขภาพดีที่เลี้ยงเป็นอาหาร อาหารที่ทำจากเนื้อสัตว์ (ในที่นี้หมายถึงเนื้อสัตว์ที่วางขายในท้องตลาด และอาหารขยาปลีกที่มีเนื้อสัตว์เป็นส่วนประกอบ) เชื้อที่แนะนำให้เฝ้าระวังได้แก่เชื้อก่อโรคอาหารเป็นพิษที่ก่อให้เกิดผลกระทบสูงต่อด้านสาธารณสุข ได้แก่ *Salmonella enterica* and *Campylobacter* spp. (*C. jejuni* และ *C. coli*) เชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นได้แก่ *E. coli* เป็นตัวแทนแกรมลบ และ *Enterococcus* spp. (*E. faecium* and *E. faecalis*) เป็นตัวแทนแกรมบวก

การเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพต้านจุลชีพ และการตรวจติดตาม (monitoring) ความชุก รวมทั้งแนวโน้มของแบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพในปศุสัตว์ในแต่ละขั้นตอนของห่วงโซ่อาหาร เป็นสิ่งสำคัญในการกำหนดนโยบายด้านสุขภาพสัตว์และความปลอดภัยอาหาร เพื่อลดการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ และให้การเลือกใช้อย่างเหมาะสมในการรักษาเป็นไปอย่างเหมาะสม



สำหรับประเทศไทย นอกเหนือจากความสำคัญด้านสาธารณสุขแล้ว ยังเป็นประเทศผู้ส่งออกสินค้าประเภทอาหาร ดังนั้นทั้งภาคปศุสัตว์และภาคการเกษตรจึงได้ดำเนินการเฝ้าระวังการปนเปื้อนและการดื้อยาต้านจุลชีพใน *E. coli*, *Salmonella* spp., *E. faecalis*, *E. faecium* และ *Campylobacter* spp. โดยข้อมูลในภาคการสาธารณสุขครอบคลุมเชื้อกลุ่มนี้อยู่แล้ว ทั้งนี้ภาคการเกษตรใช้แนวทางการดำเนินการตาม FAO และภาคการสาธารณสุขใช้ตาม GLASS

อย่างไรก็ดี ในการเฝ้าระวังแบบบูรณาการพบว่าข้อมูลการตรวจ *Campylobacter* spp. ในคนนั้นมีจำนวนไม่มาก เนื่องจากมีโรงพยาบาลจำนวนน้อยที่ตรวจ/ส่งตรวจแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนในปริมาณที่จำกัด

4. WHO integrated global surveillance on ESBL-producing *E. coli* using a “One Health” approach: implementation and opportunities (2021, WHO)

การเฝ้าระวังแบบ Tricycle สามารถประยุกต์ใช้ผลจากการเฝ้าระวังใน คน ห่วงโซ่อาหาร และสิ่งแวดล้อม โดยในคนจะใช้ข้อมูลจากระบบเฝ้าระวัง GLASS ส่วนข้อมูล ESBL *E. coli* ในห่วงโซ่อาหารใช้ข้อมูลจากระบบเฝ้าระวังและตรวจติดตามเชื้อดื้อยาด้านจุลชีพในปศุสัตว์ หรือ integrated AMR Surveillance ที่ดำเนินการตามแนวทาง WHO/FAO (Codex) สำหรับการเฝ้าระวัง ESBL *E. coli* ในสิ่งแวดล้อมนั้น ปัจจุบันยังอยู่ระหว่างการศึกษานำร่อง ในระยะแรกนี้มีการนำร่องการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาด้านจุลชีพในสิ่งแวดล้อมของฟาร์ม (กรมปศุสัตว์ และกรมประมง) น้ำผิวดิน (กรมควบคุมมลพิษ) และน้ำจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงพยาบาล (กรมอนามัย) ผู้แทนจากหน่วยงานที่เกี่ยวข้องได้ร่วมวางแผนการเฝ้าระวังและประเมินความเสี่ยงการดื้อยาด้านจุลชีพในสิ่งแวดล้อมดังที่แสดงไว้ในกรอบการทำงาน ในอนาคตหากมีการเพิ่มเติมภาคส่วนอื่น เช่น น้ำจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานยา สัตว์เลี้ยงเป็นเพื่อน พืช ก็สามารถประยุกต์ใช้หลักการเดียวกันได้ การประเมินผลโดยการเปรียบเทียบความชุกของเชื้อดื้อยาด้านจุลชีพที่พบจากแหล่งต่างๆ และศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อโดยการศึกษาระดับยีนที่สัมพันธ์กับการใช้ยาด้านจุลชีพของประเทศไทย

การคัดเลือกเชื้อจุลชีพที่สามารถใช้เพื่อการเฝ้าระวังร่วมกันทุกภาคส่วน ได้แก่ คน ปศุสัตว์ สัตว์น้ำ อาหาร (pre marketing และ post marketing) สิ่งแวดล้อมในฟาร์ม และสิ่งแวดล้อมนอกฟาร์มนั้นแนวคิดการเฝ้าระวังแบบ Tricycle ขององค์การอนามัยโลก ได้เลือกดำเนินการในแบคทีเรียชนิดเดียว คือ ESBL *E. coli*

Extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) คือเอนไซม์ที่ทำให้แบคทีเรียแกรมลบดื้อต่อยาต้านจุลชีพกลุ่ม beta lactam ซึ่ง beta-lactamase inhibitors สามารถยับยั้งเอนไซม์นี้ได้ เอนไซม์นี้ทำให้การรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจาก ESBL-producing bacteria ด้วย cephalosporin ล้มเหลว ตั้งแต่ต้นศตวรรษนี้เป็นต้นมา พบแบคทีเรียที่สร้าง ESBL เพิ่มขึ้นในคนเช่นเดียวกับใน isolate ที่ได้จากสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากสัตว์ปีก ปัจจุบัน CTX-M type ESBL พบแพร่หลายมากที่สุดในคน ยีน ESBL มักจะอยู่บนพลาสมิด และสามารถถ่ายทอดระหว่างแบคทีเรียต่างสายพันธุ์ได้ พลาสมิดเหล่านี้มักจะมียีนต้านยาด้านจุลชีพอื่นๆ เช่นกันทำให้แบคทีเรีย



ดื้อต่อยาหลายขนาน นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ระหว่างพลาสมิดที่มียีน ESBL และยีน ESBL ที่แยกได้จากผู้ป่วย และจากสัตว์ปีก ขึ้นอยู่กับความสัมพันธ์ พันธุกรรม และระบาดวิทยา ข้อมูลล่าสุดชี้ให้เห็นว่าทั้งการส่งอาหารและการสัมผัสโดยตรงมีบทบาทในการส่งผ่านเชื้อจากสัตว์ที่เป็นอาหารสู่คน

เหตุผลที่ Tricycle เลือก ESBL *E. coli* เป็นตัวชี้วัดเพียงเชื้อเดียว มีดังนี้

1. ความชุกของ ESBL *E. coli* ในคน มีความหลากหลายในพื้นที่ต่างๆ ทั้งในประเทศและระหว่างประเทศ ตลอดจนในช่วงเวลาที่ผ่านไป
2. การพบความหลากหลายของความชุกของ ESBL *E. coli* ในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ ในส่วนต่างๆ ของโลกแสดงถึงความเกี่ยวข้องของความชุกของ ESBL *E. coli* ในคนกับการใช้ยาต้านจุลชีพในห่วงโซ่อาหาร และการพบ ESBL *E. coli* ในสิ่งแวดล้อม
3. การใช้มาตรการที่ส่งผลต่อการลดการรับหรือสัมผัสยาต้านจุลชีพในสัตว์หรือคน จะตามมาด้วยการพบ ESBL *E. coli* ลดลงด้วย
4. ESBL *E. coli* ดื้อต่อยาต้านจุลชีพในกลุ่ม critically important จึงเป็นตัวแบ่งบอกระดับและแนวโน้มของปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพที่ดี นอกจากนี้ การติดเชื้อนี้ยังส่งผลให้ป่วยหนักหรือเสียชีวิตและกระทบต่อค่าใช้จ่ายด้านสุขภาพ และภาระโรค
5. ESBL *E. coli* เป็นจุดเปลี่ยนของวิวัฒนาการในการดื้อยาต้านจุลชีพ การที่เชื้อดื้อต่อยา beta-lactam เกือบทุกชนิดทำให้ต้องหันไปใช้ยาในกลุ่มทางเลือกสุดท้าย (last resort) ได้แก่ carbapenems หรือ colistin ซึ่งทำให้พบเชื้อ *Enterobacterales* ที่ดื้อต่อยา 2 กลุ่มนี้เพิ่มขึ้น ซึ่งปัจจุบันยังไม่มียาที่มีประสิทธิภาพต่อเชื้อกลุ่มนี้

แม้ว่าจะไม่ครอบคลุมขอบเขตทั้งหมดของปัญหาเชื้อดื้อยา แต่ผลลัพธ์ของการเฝ้าระวังแบบ Tricycle จะให้ข้อมูลเชิงลึกที่เฉพาะเจาะจงและมีประโยชน์ในการระบุบทบาทของทั้งสามภาคส่วน ได้แก่ สุขภาพคน ห่วงโซ่อาหาร และสิ่งแวดล้อม ที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์และการแพร่กระจายของ ESBL *E. coli* ความเข้าใจนี้เป็นสิ่งจำเป็นในการวางแผนการควบคุมที่มีประสิทธิภาพ จากข้อมูลสถานการณ์การดื้อยาต้านจุลชีพของประเทศไทย พบ ESBL *E. coli* เป็นสัดส่วนที่มากเป็นลำดับต้นๆ โดยเป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดการป่วยรุนแรง นอกจากนี้ยังพบได้ทั้งในห่วงโซ่อาหาร สิ่งแวดล้อม ดังนั้น ประเทศไทยจึงควรดำเนินการตามแนวทางขององค์การอนามัยโลกในระยะเริ่มแรกนี้

จากที่กล่าวมานี้ จะเห็นได้ว่าการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวนั้น มีความเชื่อมโยงกับการเฝ้าระวังในคน (คนป่วย) และห่วงโซ่อาหาร (คนที่ไม่ป่วย สัตว์ อาหาร สิ่งแวดล้อม) ที่ดำเนินการเป็นประจำตามภารกิจหน่วยงาน ดังนั้น การเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพแบบบูรณาการบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวของประเทศไทย จึงควรเริ่มจากการกำหนดวัตถุประสงค์ของการเฝ้าระวัง และปรับระบบจากสิ่งที่ดำเนินการอยู่ในงานประจำให้สอดคล้องเชื่อมโยง สามารถให้ข้อมูลตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการใช้งานได้



การพัฒนาระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว ใช้แนวทางบนฐานความเสี่ยง (Risk based approach) โดยอ้างอิงข้อมูลทางวิชาการที่เกี่ยวกับเชื้อดื้อยาที่มีอยู่ในประเทศ ความเสี่ยงจากเชื้อดื้อยานั้นมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลาจึงต้องมีการประเมินและปรับปรุงอย่างต่อเนื่อง ในระยะแรกที่เริ่มดำเนินการอาจจะยังมีข้อมูลหรือหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ไม่ครบถ้วนเพียงพอที่จะประเมินความเสี่ยง CAC จัดกลุ่มกิจกรรมการพัฒนาระบบเฝ้าระวังฯ ไว้เป็น 3 ระยะ คือ 1) การเตรียมการ 2) การเริ่มดำเนินการ 3) การประเมิน ทบทวน ปรับปรุง หรือ ขยาย

1) การเตรียมการ ให้เริ่มจากการกำหนดวัตถุประสงค์ของระบบเฝ้าระวังให้ชัดเจน และคำนึงถึงแผนงานด้านอาหารปลอดภัยและปฏิบัติการ (แผนยุทธศาสตร์) การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพของประเทศที่มีอยู่แล้วในประเด็นต่างๆ อย่างน้อยดังนี้

- เหตุผลหลักในการรวบรวมข้อมูล (เช่น การประเมินแนวโน้มเมื่อเวลาผ่านไป เพื่อให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์สำหรับการประเมินความเสี่ยงและการบริหารความเสี่ยง เพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับ AMR และ AMU ในอาหาร เพื่อให้ข้อมูลที่สอดคล้องกัน สามารถรวบรวมในประเทศ นำมาเปรียบเทียบ แลกเปลี่ยน ใช้ ทั้งระดับประเทศ หรือระดับนานาชาติได้อย่างง่ายดาย)
- ครอบคลุมของแผนการติดตามและการเฝ้าระวัง (เช่น ข้อมูลตัวแทนระดับประเทศหรือระดับภูมิภาค หรือเป็นการสุ่มตัวอย่างอย่างง่าย)
- กรอบเวลา เช่น ความถี่การรายงาน
- วิธีการสื่อสารแลกเปลี่ยน หรือเผยแพร่ข้อมูล ตลอดจนการใช้ประโยชน์ข้อมูลเพื่อการประเมินในอนาคต

นอกจากนี้ การรักษาความลับและการจัดการข้อมูล เป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องกำหนดไว้ให้ชัดเจน และเมื่อกำหนดวัตถุประสงค์แล้ว ควรจัดลำดับความสำคัญของเชื้อ ยีน หรือชนิดของตัวอย่างที่จะเฝ้าระวัง โดยอาศัยข้อมูลระบาดวิทยา ข้อมูลผลกระทบต่อสุขภาพ เป็นต้น

สิ่งที่ต้องกำหนดก่อนเริ่มดำเนินการเฝ้าระวัง

- ระบุชนิดของแบคทีเรียที่มีความสำคัญสูง ชนิดของยาต้านจุลชีพที่จะเฝ้าระวัง ตลอดจนผลิตภัณฑ์อาหารที่ต้องครอบคลุม โดยอาศัยข้อมูลของประเทศ ร่วมกับข้อเสนอในระดับนานาชาติ
- ห่วงโซ่การผลิตและการกระจายอาหาร ตำแหน่งและความถี่การเก็บตัวอย่างที่สอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของการเฝ้าระวัง



- แผนการเก็บตัวอย่าง วิธีวิเคราะห์ วิธีกรารายงาน
- การปรับเทียบมาตรฐานการวิเคราะห์ และวิธีวิเคราะห์ เพื่อให้เทียบเคียงกันได้
- ชัดความสามารถที่ต้องมี

2) การเริ่มดำเนินการ การเฝ้าระวังและกำกับติดตามการดื้อยาต้านจุลชีพแบบบูรณาการตามความหมายของ CAC นั้น ประกอบด้วย การเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพ การเฝ้าระวังการใช้ยาต้านจุลชีพ และการบูรณาการการวิเคราะห์ผลและรายงาน ทั้งนี้ เมื่อดำเนินการไประยะหนึ่งและได้ข้อมูลเพียงพอ อาจปรับระบบเฝ้าระวังให้ตรงกับสถานการณ์ได้ ข้อมูลที่ใช้อาจประกอบด้วย

- สิ่งที่พบจากการเฝ้าระวัง
- ระบาดวิทยาของเชื้อจุลชีพดื้อยา (ในคนเป็นหลัก แต่ในห่วงโซ่อาหารและสิ่งแวดล้อมก็อาจเกี่ยวข้องด้วย)
- บัญชีความเสี่ยงและผลการประเมินความเสี่ยง

ผลจากการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพควรเปรียบเทียบกับผลการกำกับติดตามการใช้ยาต้านจุลชีพ เพื่อติดตามแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงตามระยะเวลา ระหว่างพื้นที่ระหว่าง host หรือระหว่างสปีชีส์ของเชื้อ จุลชีพหรือกลุ่มยาต้านจุลชีพ

3) การประเมิน ทบทวน ปรับปรุง หรือขยาย ควรดำเนินการอย่างสม่ำเสมอ และควรมีกรอบการดำเนินงาน และ/หรือ แผนการดำเนินงานเพื่อการประเมินผล

ระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพแบบบูรณาการบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวของประเทศไทย

การคัดเลือกเชื้อเพื่อทำการเฝ้าระวัง

สำหรับประเทศไทย ปัญหาการดื้อยาที่สำคัญ คือ การดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบในโรงพยาบาล เช่น *Acinetobacter* spp. และ *Pseudomonas* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิตจากการติดเชื้อในโรงพยาบาล ส่วนเชื้อแบคทีเรียที่เป็นปัญหาในชุมชน เช่น *E. coli*, *Klebsiella* spp. และ *N. gonorrhoeae* และเชื้อแบคทีเรียที่เป็นปัญหาในการเลี้ยงสัตว์และปศุสัตว์ในอาหาร คือ *E. coli*, *Campylobacter* spp. และ *Salmonella* spp. การดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้เป็นสิ่งที่น่ากังวล เนื่องจากทางเลือกในการรักษามีจำกัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากดื้อต่อยาปฏิชีวนะกลุ่ม carbapenem และ colistin ซึ่งเป็นยาต้านสุดท้ายในการรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยา การศึกษาเบื้องต้นในประเทศไทยพบว่าการติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพประมาณ



ปีละ 88,000 ราย โดยเสียชีวิตประมาณปีละ 38,000 ราย คิดเป็นการสูญเสียทางเศรษฐกิจโดยรวมสูงถึง 4.2 หมื่นล้านบาท

จากที่กล่าวมาแล้วข้างต้น จึงมีระบบเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพตามภารกิจต่างๆ ที่ดำเนินการอยู่แล้วดังแสดง ในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ระบบการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพตามภารกิจแต่ละภาคส่วนของประเทศไทยในปัจจุบัน
(Current AMR surveillance systems according to sectoral mission in Thailand)

คน (Human)	ปศุสัตว์ (Livestock)	สัตว์น้ำ (Fishery)	อาหาร (Food)	สิ่งแวดล้อม (Environment)
- <i>Escherichia coli</i> - <i>Salmonella</i> spp. - <i>Enterococcus faecalis</i> - <i>Enterococcus faecium</i> - <i>Acinetobacter</i> spp. - <i>Klebsiella pneumoniae</i> - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> - <i>Shigella</i> spp. - <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Streptococcus pneumoniae</i>	- <i>Escherichia coli</i> - <i>Salmonella</i> spp. - <i>Enterococcus faecalis</i> - <i>Enterococcus faecium</i> - <i>Campylobacter</i> spp. (<i>C. coli</i> และ <i>C. jejuni</i>)	- <i>Escherichia coli</i> - <i>Salmonella</i> spp. - <i>Enterococcus faecalis</i> - <i>Enterococcus faecium</i> - <i>Vibrio cholerae</i> - แบคทีเรียที่แยกจากสัตว์น้ำป่วย เช่น <i>Aeromonas</i>, <i>Streptococcus</i>, <i>Vibrio</i>	- <i>Escherichia coli</i> - <i>Salmonella</i> spp. - <i>Enterococcus faecalis</i> - <i>Enterococcus faecium</i> - <i>Staphylococcus aureus</i>	- <i>Escherichia coli</i> - <i>Salmonella</i> spp. - <i>Enterococcus faecalis</i> - <i>Enterococcus faecium</i>
คน= คนป่วย คนสุขภาพดี Tricycle แนะนำให้เก็บตัวอย่าง อุจจาระของหญิงมีครรภ์ เฝ้าระวังเชื้อ <i>E. coli</i>	สัตว์สุขภาพดี			

จากตาราง เชื้อที่สามารถใช้ในการเฝ้าระวังตลอดห่วงโซ่อาหาร 4 เชื้อคือ *E. coli*, *Salmonella* spp., *E. faecalis*, และ *E. faecium* อนึ่ง ข้อมูลการตรวจ *Campylobacter* ในคน มีจำนวนไม่มาก เนื่องจากมีโรงพยาบาลจำนวนน้อยที่ตรวจ/ส่งตรวจเชื้อแบคทีเรียไร้อากาศ ดังนั้นจึงไม่สามารถเปรียบเทียบข้อมูลของเชื้อนี้ระหว่างคนและอาหารได้ตามแผนการเฝ้าระวังและตรวจติดตามเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ ทั้งนี้จะขอกกล่าวถึงความสำคัญด้านสาธารณสุขของเชื้อข้างต้นโดยสังเขปดังนี้



Commensal *E. coli* เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นที่พบมากที่สุดในการลำไส้ใหญ่หรือในอุจจาระของคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิด การตรวจพบ *E. coli* ในน้ำ อาหารและเครื่องดื่มต่างๆ เป็นตัวบ่งชี้ของการปนเปื้อนอุจจาระ ในผู้ป่วย *E. coli* เป็นสปีชีส์ที่แยกได้บ่อยที่สุดจากสิ่งส่งตรวจและเป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ ตลอดจนการติดเชื้อทั้งในระบบทางเดินอาหารและนอกทางเดินอาหาร

Salmonella spp. แบคทีเรียชนิดนี้ก่อโรคทางเดินอาหาร โดยมักเกิดจากการบริโภคอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อนี้ เมื่อติดเชื้อจะทำให้เกิดอาการ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง มีไข้ ถ่ายเหลวเป็นน้ำ หลังจากได้รับเชื้อภายใน 12-72 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังสามารถเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดได้

E. faecalis, และ *E. faecium* เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในระบบทางเดินอาหารทั้งในคนและสัตว์ที่เป็นอาหาร แบคทีเรียสามารถย้ายไปตามส่วนอื่นเพื่อก่อโรคในหลายระบบของร่างกายคน นอกจากนี้ยังเป็นสาเหตุของการติดเชื้อในโรงพยาบาลที่พบบ่อยเป็นอันดับสองรองจาก *E. coli* เนื่องจากมีความทนทานต่อสารเคมีและสิ่งแวดล้อมที่ขาดแคลนอาหารได้ดี โดยพบเป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ การติดเชื้อในกระแสเลือด (bacteremia) โรคลิ้นหัวใจอักเสบ (endocarditis) โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (meningitis) โดยเฉพาะผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ (immunocompromised patients) หากพบ *Enterococcus* ที่ดื้อ vancomycin จะต้องวินิจฉัยระดับ species เพราะถ้าเป็น *E. faecium* หรือ *E. faecalis* จำเป็นต้องแยกผู้ป่วยเพื่อป้องกันการแพร่กระจายของยีนดื้อยา vancomycin ชนิด *vanA* หรือ *vanB* สำหรับสัตว์ เมื่อบริโภคอาหารหรือน้ำที่มียาต้านจุลชีพ แบคทีเรียในลำไส้ของสัตว์จะปรับตัวให้เกิดการดื้อยาได้ แล้วแพร่กระจายผ่านอุจจาระสู่สิ่งแวดล้อม จึงเป็นแบคทีเรียอีกชนิดที่ใช้บ่งชี้การปนเปื้อนของอุจจาระ ในอาหาร นมและน้ำดื่ม รวมทั้งเป็นปัจจัยร่วมในการส่งต่อการดื้อยาอีกด้วย

องค์ประกอบที่สำคัญของแผนการเฝ้าระวังและการตรวจติดตามเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ มีดังนี้

- ก. ข้อมูลทางวิทยาการระบาดที่ได้จากการสำรวจ งานวิจัย บัญชีความเสี่ยง (risk profile) หรือการประเมินความเสี่ยง และหลักสถิติ มาใช้กำหนดขอบข่ายและวางแผนการเฝ้าระวังและการตรวจติดตามเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ
- ข. การกำหนดแผนการเฝ้าระวังเฉพาะกลุ่มเฉพาะพื้นที่ (sentinel programme) เพื่อเลือกกลุ่มตัวอย่างที่เฝ้าระวังใช้เป็นตัวแทนของกลุ่มประชากร ในที่นี้ กรมปศุสัตว์ ได้กำหนดเป้าหมายในระดับประเทศ โดยเลือกดำเนินการในไก่และสุกรเป็นลำดับแรก จากทุกจังหวัดของประเทศ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เป็นผู้คัดเลือกชนิดของอาหารขายปลีกที่มีความเสี่ยง เช่น อาหารที่มีส่วนผสมเป็นเนื้อสัตว์ และเก็บตัวอย่างจากพื้นที่ที่คัดเลือก โดยใช้เกณฑ์การประมาณค่าจำนวนตัวอย่างตามหลักสถิติ ตามแนวทางของ FAO



ค. สุ่มตัวอย่างในแต่ละขั้นตอนของห่วงโซ่อาหาร ดังนี้

ขั้นตอน	สัตว์เลี้ยงเป็นอาหาร	ประมง	อาหาร
การผลิต	ฟาร์ม น้ำทิ้งจากฟาร์ม	บ่อเพาะเลี้ยง น้ำจากบ่อเพาะเลี้ยง	สถานที่ผลิต
การฆ่าสัตว์และตัดแต่ง	โรงฆ่าสัตว์ โรงตัดแต่งและบรรจุ		
การจำหน่ายสินค้าไปยัง ผู้บริโภค	สถานที่วางจำหน่ายเนื้อสัตว์	สถานที่วางจำหน่าย	สถานที่วางจำหน่าย อาหารที่มีบริการส่งตรง

ง. เพาะแยกแบคทีเรียจากตัวอย่างที่สุ่มเก็บ และทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ
กรณีพบเชื้อดื้อยาดำเนินการตรวจหายีนดื้อยาตามที่กำหนดในกรอบการทำงานฯ

ฉ. บันทึกและรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณ

การสุ่มตัวอย่าง

ก. แผนการสุ่มตัวอย่าง

- 1) วิธีที่ใช้ในการสุ่มตัวอย่างมีความถูกต้องเหมาะสมและเป็นไปตามหลักสถิติ เพื่อให้มั่นใจว่า
ตัวอย่างที่ได้สามารถเป็นตัวแทนกลุ่มประชากรที่ต้องทำการเฝ้าระวังและตรวจติดตามเชื้อดื้อยา
ต้านจุลชีพได้
- 2) กำหนดรายละเอียดของแผนการสุ่มตัวอย่าง ดังนี้



ตารางที่ 4 ชนิดและแหล่งที่เก็บตัวอย่าง

รายละเอียด	ปศุสัตว์	สัตว์น้ำ	อาหาร
แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	ฟาร์ม โรงฆ่าสัตว์ โรงตัดแต่งและบรรจุ สถานที่วางจำหน่ายเนื้อสัตว์	บ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ	สถานที่ผลิต สถานที่วางจำหน่าย ร้านอาหารที่มีบริการส่งตรง
ชนิดตัวอย่าง	สุกร ไก่	กุ้งขาว, กุ้งก้ามกราม, ปลานิล, ปลากระพง, ปลาดุก	ปรับเปลี่ยนตามความเสี่ยง เช่น อาหารพร้อมปรุง
สถานะทางสุขภาพ	สัตว์สุขภาพดี	-	-
วิธีการเลือกตัวอย่าง	- การสุ่มตัวอย่างเป้าหมาย (targeted sampling) - การสุ่มตัวอย่างโดยใช้ ความน่าจะเป็นอย่างมี ระบบ (systemic random sampling) - การสุ่มตัวอย่างโดยไม่ใช้ ความน่าจะเป็น (non- random sampling)	- การสุ่มตัวอย่างเป้าหมาย (targeted sampling) - การสุ่มตัวอย่างโดยใช้ ความน่าจะเป็นอย่างมี ระบบ (systemic random sampling) - การสุ่มตัวอย่างโดยไม่ใช้ ความน่าจะเป็น (non- random sampling)	- การสุ่มตัวอย่างเป้าหมาย (targeted sampling) - การสุ่มตัวอย่างโดยใช้ ความน่าจะเป็นอย่างมี ระบบ (systemic random sampling) - การสุ่มตัวอย่างโดยไม่ใช้ ความน่าจะเป็น (non- random sampling)
สถานะของแผนงาน	ระบบเฝ้าระวัง	ประเมินความเสี่ยง	ประเมินความเสี่ยง

กรอบการทำงานในภาคการสาธารณสุข การเกษตร การประมง และสิ่งแวดล้อม ที่ได้ออกแบบร่วมกัน
แสดงรายละเอียดในตารางแยกราชภาคส่วน ดังนี้

ตารางที่ 5 กรอบการทำงานการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพในภาคการสาธารณสุข

(Framework for Surveillance of Antibiotic Resistance in Human-health Sector)

	Phase 1 (0–3 years) 2563 - 2565	Phase 2 (4–5 years) 2566 - 2567	Phase 3 (>5 years) 2568 เป็นต้นไป
Sample type(s)	ตัวอย่างผู้ป่วยทุกชนิด	ตัวอย่างผู้ป่วยทุกชนิด	ตัวอย่างผู้ป่วยทุกชนิด
Bacteria for AST	<i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i>		
Antibiotics for AST	<i>E. coli</i> : ampicillin, amikacin, ceftriaxone, cefotaxime, ceftazidime, cefepime, ciprofloxacin, colistin, ertapenem, imipenem, meropenem และ trimethoprim/sulfamethoxazole <i>Salmonella</i> spp.: ampicillin, trimethoprim/sulfamethoxazole, ciprofloxacin, ceftriaxone, cefotaxime, imipenem และ colistin สำหรับตัวอย่างจาก extraintestinal tract และ ampicillin, trimethoprim/sulfamethoxazole และ ciprofloxacin สำหรับตัวอย่างจาก intestinal tract <i>E. faecalis</i> : ampicillin, penicillin และ vancomycin และสำหรับตัวอย่างจาก urinary tract ใช้ยา ciprofloxacin, levofloxacin, tetracycline และ fosfomycin <i>E. faecium</i> : ampicillin, penicillin และ vancomycin และสำหรับตัวอย่างจาก urinary tract ใช้ยา ciprofloxacin, levofloxacin, และ tetracycline		
Genetic markers	- ยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ ESBLs กลุ่ม CTX-M - ยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ Carbapenemase (<i>blaKPC</i>, <i>blaNDM-1</i>, <i>blaVIM</i>, <i>blaIMP</i>, <i>blaOXA</i>-type) - ยีนควบคุมการดื้อ colistin (<i>mcr1-mcr10</i>) - ยีนควบคุมการดื้อยาของเชื้อ <i>E. faecalis</i> และ <i>E. faecium</i> (<i>vanA</i>, <i>vanB</i>)		
Provinces	25 จังหวัด	50 จังหวัด	
Sampling sites	โรงพยาบาลประจำจังหวัด 25 แห่ง	โรงพยาบาลประจำจังหวัด 50 แห่ง	
Number of sampling sites /province	1	1	1
Total number of samples/province/year	จำนวนที่ส่งตรวจในงานประจำ		
Frequency of sampling	ทุกเดือน		
AST interpretation method	CLSI		
Number of laboratories	ส่วนกลาง 1 แห่ง	ส่วนกลาง 1 แห่ง / ส่วนภูมิภาค 4 แห่ง	
Training requirement	1. การวิเคราะห์ข้อมูลเชื้อดื้อยา 2. การวิเคราะห์ข้อมูล antibiogram	1. การวิเคราะห์ข้อมูลผู้ป่วยติดเชื้อดื้อยา 2. การวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อตรวจจับการระบาด	1. การวิเคราะห์อัตราผู้ป่วยติดเชื้อดื้อยาเทียบกับอัตราผู้ป่วยติดเชื้อที่ไม่ติดเชื้อดื้อยา (R vs S) และอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยที่ไม่มีการติดเชื้อ (R vs NI)
Responsible stakeholder	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์		



ตารางที่ 6 กรอบการทำงานการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพในปศุสัตว์

(Framework for Surveillance of Antibiotic Resistance in Food Animals)

	Phase 1 (0–3 years) 2563 - 2565	Phase 2 (4–5 years) 2566 - 2567	Phase 3 (>5 years) 2568 เป็นต้นไป
Sample type(s)	โรงฆ่า: Caecum Meat สถานที่จำหน่าย: Meat	โรงฆ่า: Caecum Meat สถานที่จำหน่าย: Meat ฟาร์ม: Feed	
Bacteria for AST	<i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i>		
Antibiotics for AST	<i>E. coli</i> : ampicillin, ceftazidime, cefotaxime, ciprofloxacin, colistin, meropenem, tetracycline และ trimethoprim/sulfamethoxazole <i>Salmonella</i> spp.: ampicillin, ceftazidime, cefotaxime, ciprofloxacin, colistin, meropenem, tetracycline และ trimethoprim/sulfamethoxazole <i>E. faecalis</i> : ampicillin, erythromycin, linezolid, teicoplanin, tetracycline และ vancomycin <i>E. faecium</i> : ampicillin, erythromycin, linezolid, teicoplanin, tetracycline และ vancomycin		
Genetic markers	- ยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ ESBLs กลุ่ม CTX-M - ยีนควบคุมการดื้อ colistin (<i>mcr1-mcr10</i>)	- ยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ ESBLs กลุ่ม CTX-M - ยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ Carbapenemase (<i>blaKPC</i> , <i>blaNDM-1</i> , <i>blaVIM</i> , <i>blaIMP</i> , <i>blaOXA</i> -type) - ยีนควบคุมการดื้อ colistin (<i>mcr1-mcr10</i>) - ยีนควบคุมการดื้อยาของเชื้อ <i>E. faecalis</i> และ <i>E. faecium</i> (<i>vanA</i> , <i>vanB</i>)	
Provinces	77 จังหวัด		
Sampling sites	โรงฆ่า / สถานที่จำหน่าย	ฟาร์ม / โรงฆ่า / สถานที่จำหน่าย	
Number of sampling sites /province	Caecum จากโรงเชือดไก่, โรงเชือดสุกร เนื้อไก่, เนื้อสุกร จากโรงเชือด เนื้อไก่, เนื้อสุกร จากสถานที่จำหน่าย	ประมาณ 700 - 800 ตัวอย่าง/77 จังหวัด ประมาณ 700 - 800 ตัวอย่าง/77 จังหวัด ประมาณ 700 - 800 ตัวอย่าง/77 จังหวัด	
Total number of samples/province/year	ประมาณ 4200 – 4800 ตัวอย่าง/77 จังหวัด/ปี		
Frequency of sampling	1 ครั้ง/เดือน		
AST interpretation method	CLSI, EUCAST		
Number of laboratories	ส่วนกลาง 2 แห่ง / ส่วนภูมิภาค 8 แห่ง		
Training requirement	-		
Responsible stakeholder	กรมปศุสัตว์		



ตารางที่ 7 กรอบการทำงานการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพในสัตว์น้ำ
(Framework for Surveillance of Antibiotic Resistance in Aquatic Animals)

	Phase 1 (0–3 years) 2563 - 2565	Phase 2 (4–5 years) 2566 - 2567	Phase 3 (>5 years) 2568 เป็นต้นไป
Sample type(s)		อวัยวะเป้าหมาย (เหงือก, ระบบทางเดินอาหาร) จากสัตว์น้ำเพื่อการบริโภค	
Bacteria for AST		<i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella</i> spp.	<i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i>
Antibiotics for AST		<i>E. coli</i> & <i>Salmonella</i> spp.: ampicillin, cefotaxime, ceftazidime, colistin, ciprofloxacin, trimethoprim/sulfamethoxazole <i>E. faecalis</i> & <i>E. faecium</i> : ampicillin, ciprofloxacin, tetracycline, vancomycin	
Genetic markers			- ยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ ESBLs กลุ่ม CTX-M - ยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ Carbapenemase (<i>blaKPC</i>, <i>blaNDM-1</i>, <i>blaVIM</i>, <i>blaIMP</i>, <i>blaOXA-type</i>) - ยีนควบคุมการดื้อ colistin (<i>mcr1-mcr10</i>) - ยีนควบคุมการดื้อยาของเชื้อ <i>E. faecalis</i> และ <i>E. faecium</i> (<i>vanA</i>, <i>vanB</i>)
Provinces		- จังหวัดที่มีการเลี้ยงกุ้งทะเลตามสัดส่วน โดยเก็บตัวอย่างคิดเป็น 60% ของการเลี้ยงกุ้งทะเลทั้งหมดในประเทศ - จังหวัดที่มีการเลี้ยงปลานิลตามสัดส่วน โดยเก็บตัวอย่างคิดเป็น 60% ของการเลี้ยงปลานิลทั้งหมดในประเทศ	
Sampling sites		- บ่อเลี้ยงกุ้งทะเลจากจังหวัดที่มีการเลี้ยงกุ้งทะเลตามสัดส่วน โดยคิดเป็น 60% ของการเลี้ยงกุ้งทะเลทั้งหมดในประเทศ - บ่อและกระชังเลี้ยงปลานิลจากจังหวัดที่มีการเลี้ยงปลานิลตามสัดส่วน โดยคิดเป็น 60% ของการเลี้ยงปลานิลทั้งหมดในประเทศ	
Number of sampling sites /province		ตามสัดส่วนผลผลิตจากการเลี้ยงสัตว์น้ำแต่ละชนิด	
Total number of samples/province/year		สัตว์น้ำปกติ: ประมาณ 800 ตัวอย่าง/20 จังหวัด/ปี สัตว์น้ำป่วย: จำนวนตัวอย่างที่ส่งตรวจในงานประจำ	
Frequency of sampling		3-4 เดือน/ครั้ง/จังหวัด	
AST interpretation method		CLSI, EUCAST	
Number of laboratories		กองวิจัยและพัฒนาสุขภาพสัตว์น้ำ กรมประมง	
Training requirement		การตรวจวิเคราะห์เชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ, การแปลผลวิเคราะห์, การเก็บข้อมูลอย่างเป็นระบบ	
Responsible stakeholder		กรมประมง	



ตารางที่ 8 กรอบการทำงานการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพในอาหาร

(Framework for Surveillance of Antimicrobial Resistance in Foods)

	Phase 1 (0–3 years) 2563 - 2565	Phase 2 (4–5 years) 2566 - 2567	Phase 3 (>5 years) 2568 เป็นต้นไป
Sample type(s)		อาหารดิบ ชนิดตัวอย่างอ้างอิงตามกรมประมง	อาหารดิบ ชนิดตัวอย่างอ้างอิงตามกรมประมง
Bacteria for AST (ชนิดของเชื้อที่ตรวจ อาจคัดเลือกเฉพาะ บางชนิดตามความเหมาะสม โดยพิจารณา จากโอกาสการพบเชือนั้นๆ ในอาหารชนิดที่ ทำการศึกษาในแต่ละปี หรือตามความเสี่ยง ต่อผู้บริโภค)	<i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i>		
Antibiotics for AST	<i>E. coli</i> & <i>Salmonella</i> spp.: amikacin, ampicillin, cefepime, ceftazidime, ceftriaxone, ciprofloxacin, colistin, ertapenem, imipenem, meropenem, trimethoprim/sulfamethoxazole <i>E. faecalis</i> & <i>E. faecium</i> : ampicillin, gentamicin, linezolid, penicillin G, vancomycin		
Genetic markers	- ยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ ESBLs กลุ่ม CTX-M - ยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ Carbapenemase (<i>blaKPC</i>, <i>blaNDM-1</i>, <i>blaVIM</i>, <i>blaIMP</i>, <i>blaOXA-type</i>) - ยีนควบคุมการดื้อ colistin (<i>mcr1-mcr10</i>) - ยีนควบคุมการดื้อยาของเชื้อ <i>E. faecalis</i> และ <i>E. faecium</i> (<i>vanA</i>, <i>vanB</i>)		
Sampling sites	ร้านค้าปลีก ตำแหน่งที่สอดคล้องตามลุ่มแม่น้ำที่กรมควบคุมมลพิษกำหนดจุดเก็บตัวอย่างในแต่ละปี		
Number of sampling sites /province	พิจารณาตามความเสี่ยงและความครอบคลุมของสถานที่ผลิต/จำหน่ายในแต่ละพื้นที่		
Total number of samples/province/year	ประมาณ 200 ตัวอย่าง		
Frequency of sampling	อย่างน้อยปีละ 1 ครั้ง		
AST interpretation method	CLSI		
Number of laboratories	อย่างน้อย 3 แห่ง (ส่วนกลาง 1 แห่ง, ส่วนภูมิภาค 2 แห่ง)		
Training requirement	1. การวางแผนเก็บตัวอย่างและการเก็บตัวอย่าง 2. ความรู้ด้านการตรวจวิเคราะห์แบคทีเรียในอาหาร 3. การทดสอบความไวของเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ รวมถึงการแปลผล 4. ความรู้เกี่ยวกับการสร้างและจัดการชุดข้อมูลผลการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยา 5. ความรู้ใหม่เกี่ยวกับเชื้อดื้อยา/ยีนดื้อยา/การตรวจวิเคราะห์ยีนดื้อยา 6. การประเมินความเสี่ยง		
Responsible stakeholder	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์		

ตารางที่ 9 กรอบการทำงานการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพในสิ่งแวดล้อม

(Framework for Surveillance of Antimicrobial Resistance in Environment)

	Phase 1 (0–3 years) 2563 - 2565	Phase 2 (4–5 years) 2566 - 2567	Phase 3 (>5 years) 2568 เป็นต้นไป
Sample type(s)	1. น้ำผิวดินจากแม่น้ำสายหลักภาคกลาง 2. ระบบบำบัดน้ำเสีย - ระบบบำบัดน้ำเสียรวมของชุมชน - ระบบบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาล 3. ฟาร์มสุกร - น้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร	1. น้ำผิวดินจากแม่น้ำสายหลักภาคกลาง 2. ระบบบำบัดน้ำเสีย - ระบบบำบัดน้ำเสียรวมของชุมชน - ระบบบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาล 3. ฟาร์มปศุสัตว์ - น้ำทิ้งจากฟาร์มปศุสัตว์ 4. ฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ - น้ำจากบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ 5. ชยะ (ตลาด) - น้ำล้างตลาด (*การกำหนดจุดเก็บตัวอย่างน้ำจะพิจารณาจากผลการติดตามและเฝ้าระวังเชื้อดื้อยา ระยะ 1)	1. น้ำผิวดินจากแม่น้ำสายหลักภาคกลาง 2. ระบบบำบัดน้ำเสีย - ระบบบำบัดน้ำเสียรวมของชุมชน - ระบบบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาล 3. ฟาร์มปศุสัตว์ - น้ำทิ้งจากฟาร์มปศุสัตว์ 4. โรงเชือด - น้ำทิ้งจากโรงเชือด 5. ฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ - น้ำจากบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ 6. ชยะ (ตลาด, บ่อขยะ) - น้ำล้างตลาด - น้ำทิ้งจากบ่อขยะ 7. โรงงานยา - ระบบบำบัดน้ำเสีย (*การกำหนดจุดเก็บตัวอย่างน้ำจะพิจารณาจากผลการติดตามและเฝ้าระวังเชื้อดื้อยา ระยะ 2)
Bacteria for AST	<i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i>		
Antibiotics for AST	1. น้ำในแม่น้ำ/น้ำจากระบบบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาล/ระบบบำบัดน้ำเสียรวมของชุมชน/น้ำล้างตลาด/น้ำทิ้งจากบ่อขยะ <i>E. coli</i>: ampicillin, amikacin, ceftriaxone, cefotaxime, ceftazidime, cefepime, ciprofloxacin, colistin, ertapenem, imipenem, meropenem และ trimethoprim/sulfamethoxazole <i>Salmonella</i> spp.: ampicillin, trimethoprim/sulfamethoxazole, ciprofloxacin, ceftriaxone, cefotaxime, imipenem และ colistin <i>E. faecalis</i>: ampicillin, penicillin, ciprofloxacin, levofloxacin, tetracycline, fosfomycin และ vancomycin <i>E. faecium</i>: ampicillin, penicillin, ciprofloxacin, levofloxacin, tetracycline และ vancomycin 2. น้ำทิ้งจากฟาร์มปศุสัตว์, โรงเชือด <i>E. coli</i> & <i>Salmonella</i> spp.: ampicillin, ceftazidime, cefotaxime, ciprofloxacin, colistin, meropenem, tetracycline, trimethoprim/sulfamethoxazole <i>E. faecalis</i> & <i>E. faecium</i>: ampicillin, erythromycin, tetracycline, vancomycin 3. น้ำจากบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ <i>E. coli</i> & <i>Salmonella</i> spp.: ampicillin, cefotaxime, ceftazidime, ciprofloxacin, colistin, trimethoprim/sulfamethoxazole <i>E. faecalis</i> & <i>E. faecium</i>: ampicillin, cefotaxime, ceftazidime, tetracycline		



Genetic markers	- ยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ ESBLs กลุ่ม CTX-M - ยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ Carbapenemase (<i>blaKPC</i>, <i>blaNDM-1</i>, <i>blaVIM</i>, <i>blaIMP</i>, <i>blaOXA-type</i>) - ยีนควบคุมการดื้อ colistin (<i>mcr1-mcr10</i>) - <i>E. faecalis</i> / <i>E. faecium</i> (<i>vanA</i>, <i>vanB</i>)		
Provinces	จังหวัดลุ่มน้ำตามภาคกลาง 1 ลุ่มน้ำ	จังหวัดลุ่มน้ำตามภาคกลาง 1 ลุ่มน้ำ	จังหวัดลุ่มน้ำตามภาคกลาง 1 ลุ่มน้ำ
Number of sampling sites/province	- น้ำในแม่น้ำ แม่น้ำภาคกลาง 1-2 แห่ง/จังหวัด - โรงพยาบาล อย่างน้อย 1 แห่ง/จังหวัด ระบบบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาล 3 ตัวอย่าง/แห่ง - ฟาร์มสุกร อย่างน้อย 1-2 ฟาร์ม/จังหวัด - ระบบบำบัดน้ำเสียรวมของชุมชน อย่างน้อย 1-2 แห่ง น้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียรวมของชุมชน อย่างน้อย 2 ตัวอย่าง/แห่ง	- น้ำในแม่น้ำ แม่น้ำภาคกลาง 1-2 แห่ง/จังหวัด - โรงพยาบาล อย่างน้อย 1 แห่ง/จังหวัด ระบบบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาล 3 ตัวอย่าง/แห่ง - ฟาร์มปศุสัตว์ อย่างน้อย 1-2 ฟาร์ม/จังหวัด - ฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ อย่างน้อย 1-2 ฟาร์ม/จังหวัด น้ำจากบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ 1-3 ตัวอย่าง/ฟาร์ม - ตลาด 1-2 แห่ง/จังหวัด น้ำล้างตลาดอย่างน้อย 3 ตัวอย่าง/แห่ง - ระบบบำบัดน้ำเสียรวมของชุมชน อย่างน้อย 1-2 แห่ง น้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียรวมของชุมชน อย่างน้อย 2 ตัวอย่าง/แห่ง	- น้ำในแม่น้ำ แม่น้ำภาคกลาง 1-2 แห่ง/จังหวัด - โรงพยาบาล อย่างน้อย 1 แห่ง/จังหวัด ระบบบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาล 3 ตัวอย่าง/แห่ง - ฟาร์มปศุสัตว์ อย่างน้อย 1-2 ฟาร์ม/จังหวัด - โรงเชือด อย่างน้อย 1-2 แห่ง/จังหวัด - ฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ อย่างน้อย 1-2 ฟาร์ม/จังหวัด น้ำจากบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ 1-3 ตัวอย่าง/ฟาร์ม - ตลาด, บ่อขยะ 1-2 แห่ง/จังหวัด น้ำทิ้งจากบ่อขยะอย่างน้อย 1 ตัวอย่าง/แห่ง น้ำล้างตลาดอย่างน้อย 3 ตัวอย่าง/แห่ง - ระบบบำบัดน้ำเสียรวมของชุมชน อย่างน้อย 1-2 แห่ง น้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียรวมของชุมชน อย่างน้อย 2 ตัวอย่าง/แห่ง - โรงงานยา อย่างน้อย 1 แห่ง/จังหวัด ระบบบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาล 3 ตัวอย่าง/แห่ง
Total number of samples/province/year	อย่างน้อย 10 ตัวอย่าง/จังหวัด/ปี	อย่างน้อย 16 ตัวอย่าง/จังหวัด/ปี	อย่างน้อย 19 ตัวอย่าง/จังหวัด/ปี
Frequency of sampling	1 ครั้ง/ปี		
AST interpretation method	CLSI, EUCAST		
Number of laboratories	ส่วนกลาง 4 แห่ง ส่วนภูมิภาค 11 แห่ง	ส่วนกลาง 4 แห่ง ส่วนภูมิภาค 11 แห่ง	ส่วนกลาง 4 แห่ง ส่วนภูมิภาค 11 แห่ง
Training requirement	การวิเคราะห์เชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ	การวิเคราะห์เชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ	การวิเคราะห์เชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ
Responsible stakeholder	- กรมควบคุมมลพิษ - กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ - กรมอนามัย - กรมปศุสัตว์ - กรมประมง	- กรมควบคุมมลพิษ - กรมอนามัย - กรมปศุสัตว์ - กรมประมง - สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา - กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์	



บทที่ 4

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ การจัดการข้อมูล และรายงานผล

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

การตรวจทางห้องปฏิบัติการในคู่มือฉบับนี้จะกล่าวถึงการตรวจวิเคราะห์เชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ ทั้งนี้จะกล่าวถึงหลักการและวิธีการพอสังเขป เนื่องจากจะเป็นวิธีที่อ้างอิงจากคู่มือปฏิบัติการ และวิธีมาตรฐานทั้งในและต่างประเทศเป็นหลัก

การตรวจวิเคราะห์เชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ

1. การตรวจวิเคราะห์เชื้อดื้อยาต้านจุลชีพจากตัวอย่างผู้ป่วย ตัวอย่างอาหารที่เป็นผลิตภัณฑ์จากสัตว์ตัวอย่างสัตว์น้ำ และตัวอย่างอาหาร

คู่มือฉบับนี้จะไม่ได้อธิบายรายละเอียดเชิงลึกของวิธีการแยกเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างข้างต้น เนื่องจากการแยกเชื้อจะปฏิบัติตามวิธีมาตรฐานสากลและข้อกำหนดตามประเภทของตัวอย่าง โดยจะแสดงเป็นขั้นตอนการตรวจหา *E. coli*, *Salmonella* และ *Enterococcus* จากตัวอย่างอาหารที่เป็นผลิตภัณฑ์จากสัตว์ไว้ในภาคผนวกที่ 1 จากตัวอย่างสัตว์น้ำในภาคผนวกที่ 2 และจากตัวอย่างอาหารพร้อมปรุง/พร้อมบริโภคที่มีเนื้อสัตว์เป็นส่วนประกอบในภาคผนวกที่ 3

วิธีตรวจวิเคราะห์เชื้อดื้อยาต้านจุลชีพสามารถใช้วิธีเดียวกันในการตรวจพิสูจน์เชื้อดื้อยาจากตัวอย่างแต่ละประเภทได้ โดยการวิเคราะห์เชื้อดื้อยาต้านจุลชีพทางห้องปฏิบัติการประกอบด้วย 2 องค์ประกอบหลักได้แก่ การวินิจฉัยชนิดของเชื้อแบคทีเรีย และ การทดสอบความไวของเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ

2. การตรวจวิเคราะห์เชื้อดื้อยาต้านจุลชีพจากตัวอย่างน้ำในสิ่งแวดล้อม

ตัวอย่างน้ำจากสิ่งแวดล้อมในคู่มือฉบับนี้ครอบคลุมน้ำที่เก็บจากแหล่งน้ำต่างๆ ที่มีความเกี่ยวข้องในการส่งต่อเชื้อดื้อยา หรือเป็นแหล่งน้ำที่อาจพบยาต้านจุลชีพตกค้าง ได้แก่ น้ำผิวดิน (surface water) น้ำทิ้งในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ น้ำจากบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ น้ำจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงพยาบาล และโรงงานยาปฏิชีวนะ โดยวิธีการเก็บตัวอย่างน้ำ จะแบ่งตามประเภทของแหล่งน้ำดังนี้



2.1 วิธีเก็บตัวอย่างน้ำ

2.1.1 ตัวอย่างน้ำผิวดิน: แม่น้ำ ลำคลอง น้ำทิ้งในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ และน้ำจากบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (ภาคผนวกที่ 4.1)

การเก็บตัวอย่างน้ำในกลุ่มนี้ จะดำเนินการตามวิธีที่อ้างอิงจากคู่มือการปฏิบัติงานการดำเนินการติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน, สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม 2561 (ภาคผนวกที่ 4.1)

2.1.2 ตัวอย่างน้ำจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงพยาบาล และโรงงานยาปฏิชีวนะ

ใช้วิธีที่อ้างอิงจากคู่มือการสุ่มเก็บ การบรรจุและการเก็บรักษาสภาพตัวอย่างน้ำเสีย น้ำทิ้ง เพื่อการตรวจวิเคราะห์และทดสอบในห้องปฏิบัติการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข 2554 โดยการเก็บตัวอย่างน้ำเป็นการเก็บแบบจ้วง (Grab sample) คือการเก็บตัวอย่างแบบจ้วงเก็บที่ระดับความลึกประมาณครึ่งหนึ่งของบ่อที่ต้องการสุ่มตัวอย่าง เทตัวอย่างน้ำที่ได้จากการสุ่มเก็บรวบรวมในถังรวมก่อนนำไปแยกบรรจุลงขวดตัวอย่างขนาด 250 มิลลิลิตรและถุงใส่ตะกอนซีลล็อก นำมาแยกวิเคราะห์เชื้อแบคทีเรีย โดยปกติการเก็บตัวอย่างน้ำเสียในโรงพยาบาลจะใช้วิธีนี้ ตัวอย่างน้ำเสียที่เก็บจะมีคุณสมบัติแตกต่างกันตามเวลาที่เก็บ จึงทำให้ต้องพิจารณาถึงผลในการเก็บตัวอย่างจะทำให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้อง ในแต่ละระบบต้องเก็บน้ำเสียก่อนเข้าระบบบำบัดน้ำเสีย น้ำทิ้งจากการบำบัดและกากตะกอนรวมเป็น 3 ตัวอย่างต่อหนึ่งระบบบำบัด

2.1.3 ตัวอย่างน้ำจากระบบบำบัดน้ำเสียรวมของชุมชน

ใช้วิธีอ้างอิงจากคู่มือ คู่มือเก็บตัวอย่างน้ำจากระบบบำบัดน้ำเสียรวมของชุมชน, สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม 2550 (ภาคผนวกที่ 4.2)

2.2 วิธีแยกเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพจากตัวอย่างน้ำ

ตัวอย่างน้ำจากสิ่งแวดล้อมมีการปนเปื้อนเชื้อในธรรมชาติจำนวนมาก ดังนั้นการแยกเชื้อเป้าหมายจึงจำเป็นต้องใช้วิธีคัดกรองในเบื้องต้น วิธีที่ใช้ได้ปรับจากวิธีที่ใช้ตรวจคัดกรองเชื้อ ESBL *E. coli* ด้วยยา cefotaxime 4 µg/ml จากตัวอย่างน้ำในสิ่งแวดล้อมในระบบเฝ้าระวังแบบ Tricycle โดยเพิ่มการคัดกรองเชื้อ *Salmonella* ดื้อยาต้านจุลชีพด้วยยา ciprofloxacin 1 µg/ml และคัดกรองเชื้อ *E. faecium* และ *E. faecalis* ดื้อยาต้านจุลชีพด้วยยา vancomycin 6 µg/ml รวมทั้งเพิ่มวิธีตรวจคัดกรองเชื้อทั้ง 3 ชนิดในตัวอย่างตะกอนจากระบบบำบัดน้ำทิ้ง จากนั้นนำเชื้อที่พบมาตรวจวินิจฉัยชนิดเชื้อและทดสอบความไวต่อยาตามวิธีที่เหมาะสม ชนิดของยาที่ทดสอบจะเป็นไปตามที่กำหนดไว้ในตารางรอบการทำงานการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพของตัวอย่างแต่ละประเภท SOP การตรวจวินิจฉัยเชื้อ *E. coli*, *Enterococcus* spp. และ *Salmonella* spp. ดื้อยาจากสิ่งแวดล้อม (ภาคผนวกที่ 4) โดยวิธีดังกล่าวได้พัฒนาจากเอกสารที่ได้รับการตีพิมพ์ร่วมด้วยจึงสามารถครอบคลุมตัวอย่างน้ำจากแหล่งที่มาได้หลายประเภท



3. การวินิจฉัยชนิดของเชื้อแบคทีเรีย สามารถทำได้หลายวิธี ดังนี้

3.1 วิธีมาตรฐาน ได้แก่การตรวจลักษณะรูปร่าง ขนาดของโคโลนี ความสามารถในการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ การดิสสีและลักษณะรูปร่าง การเรียงตัวของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ร่วมกับการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี ซึ่งมีทั้งประเภทที่ไม่ใช้เครื่องและใช้เครื่องทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีอัตโนมัติ

3.2 วิธีตรวจลายพิมพ์โปรตีน ด้วยเครื่อง Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) โดยการผสมเชื้อกับสารประกอบออร์แกนิก “เมทริกซ์ (matrix)” ที่ช่วยดูดซับพลังงาน การยิงด้วยเลเซอร์จะทำให้ส่วนผสมแยกตัวเป็นโปรตอนเคลื่อนที่ในท่อสุญญากาศด้วยความเร็วที่ขึ้นกับขนาด มวลต่อประจุ (m/z) โดย m คือ มวลของสารและ z คือประจุบวกของไอออน ระยะเวลาที่ไอออนเดินทาง เรียกว่า time of flight ข้อมูลที่ได้จะถูกนำมาวิเคราะห์และสร้างรูปแบบของ m/z peak ที่เรียงตัวกันเป็น peptide mass fingerprint (PMF) ซึ่งนำมาเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลในเครื่องเพื่อวินิจฉัยชนิดเชื้อ อย่างไรก็ตามแม้ว่าวิธีนี้จะเป็นที่ยอมรับ ข้อควรระวังคือ การใช้ฐานข้อมูลเชื้อที่ไม่เป็นปัจจุบันหรือไม่รวมเชื้อspeciesใหม่เข้าไปอาจไม่ครอบคลุมทำให้ผลการตรวจวินิจฉัยมีความคลาดเคลื่อน นอกจากนี้ยังมีรายงานวิชาการแสดงให้เห็นว่า เชื้อที่มีความใกล้เคียงกันทางพันธุกรรมสูงแม้จะมีชื่อต่าง species กัน เช่น *E. coli* และ *Shigella* หรือเชื้อที่มีชื่อเป็น กลุ่ม/complex จะมีลายพิมพ์โปรตีนที่แตกต่างกันน้อยมากและไม่สามารถแยก species ได้

3.3 วิธีตรวจทางอณูพันธุศาสตร์ เช่น Polymerase Chain Reaction (PCR) และการตรวจลำดับเบสของกรดนิวคลีอิก (DNA sequencing และ Whole genome sequencing, WGS) โดยวิธี PCR และการตรวจลำดับเบสของกรดนิวคลีอิกแบบ WGS ยังใช้ตรวจหาชนิดยาร่วมด้วย แต่วิธี PCR มีต้นทุนต่ำกว่าจึงเป็นที่นิยมมากกว่า รายละเอียดวิธี PCR ที่ใช้ตรวจหาชนิดยาร่วมกันที่กำหนดไว้ใน ตารางที่ 5 กรอบการทำงาน การเฝ้าระวังการดื้อยาด้านจุลชีพในภาคการสาธารณสุขแสดงไว้ในภาคผนวกที่ 5

การวินิจฉัยชนิดของเชื้อแต่ละวิธีมีข้อดีและข้อจำกัดแตกต่างกัน สามารถเลือกใช้ตามความเหมาะสมและงบประมาณของหน่วยงาน แต่ทุกวิธีจำเป็นต้องมีการควบคุมคุณภาพอย่างสม่ำเสมอ ร่วมกับการปรับปรุงฐานข้อมูลให้เป็นปัจจุบันอย่างต่อเนื่องหากใช้เครื่องทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีอัตโนมัติ หรือ วิธีที่ใช้หลักการ MALDI-TOF MS เพื่อให้ผลที่ได้มีความถูกต้อง เชื่อถือได้ เนื่องจากการติดเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดจะใช้ยารักษาที่แตกต่างกัน ดังนั้นการวินิจฉัยชนิดเชื้อแบคทีเรียจึงมีผลต่อความสำเร็จในการรักษาเป็นอย่างมาก



4. การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ

เป็นวิธีวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการที่จะบ่งชี้ว่าแบคทีเรียเชื้อต่อยาต้านจุลชีพชนิดใด วิธีการทดสอบมีหลายแบบ ทั้งการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ และยังมีการตรวจหาเอนไซม์ที่ทำลายยาต้านจุลชีพ ในคู่มือฉบับนี้จะขออ้างอิงวิธีตามมาตรฐานของ CLSI โดยขอกล่าวถึงวิธีที่นำมาใช้ทดสอบกับเชื้อ *E. coli*, *Salmonella* spp. *E. faecium* และ *E. faecalis* เป็นหลัก ซึ่งประกอบด้วย

4.1 Kirby Bauer's method หรือ Disk diffusion เป็นการทดสอบเชิงคุณภาพ ตามมาตรฐาน CLSI ฉบับ M02 (13^{ed}) ทดสอบโดยป้ายเชื้อแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ วางแผ่นยาทดสอบ บ่มเชื้อตามเวลาที่กำหนด วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีเชื้อเจริญรอบแผ่นยาเทียบกับตารางแปลผลตามมาตรฐานของ CLSI M100 (32^{ed})

4.2 การทดสอบหาค่า MIC เป็นการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพแบบปริมาณวิเคราะห์ โดยการผสมสารต้านจุลชีพที่มีความเข้มข้นจากสูงไปหาต่ำกับอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วใส่เชื้อลงไป นำไปบ่มเพาะเชื้อข้ามคืนในตู้บ่ม 35°C ทำการตรวจหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารต้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ทดสอบ การหาค่า MIC ทำได้ 3 วิธี คือ วิธีที่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดวุ้นผสมกับยาต้านจุลชีพ เรียกว่า agar dilution method วิธีที่ผสมยาต้านจุลชีพด้วยอาหารเหลว เรียกว่า broth dilution method และวิธี E-test สำหรับวิธี broth dilution สามารถกระทำได้ 2 วิธี ได้แก่ macrodilution และ microdilution broth method ซึ่งวิธีหลังเป็นวิธีที่นิยมมากกว่าเพราะสิ้นเปลืองสารน้อยกว่า

ห้องปฏิบัติการที่เป็น Sentinel เช่น ห้องปฏิบัติการเครือข่าย GLASS ในภาคการสาธารณสุข ควรต้องมีการตรวจทดสอบหาค่า MIC กรณีมีความจำเป็นต้องปรับวิธีการ เช่น ปรับความเข้มข้นของยาต้านจุลชีพ ขอให้มีการหารือระหว่างเครือข่ายห้องปฏิบัติการด้วย เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาการนำข้อมูลมาเปรียบเทียบกันไม่ได้

4.3 การตรวจการสร้างเอนไซม์

4.3.1 Extended-spectrum β -lactamase (ESBL) เป็นเอนไซม์ที่เชื้อสร้างขึ้นจากการกลายพันธุ์ของยีน เป็นผลให้เชื้อสามารถทำลายยาในกลุ่ม penicillins, third generation cephalosporins (ceftazidime, cefotaxime และ ceftriaxone) และกลุ่ม aztreonam เชื้อในกลุ่ม *Enterobacterales* เช่น *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca* ส่วนใหญ่สร้าง ESBL วิธีตรวจการสร้าง ESBL ใช้การทดสอบความไวของเชื้อต่อยา ceftazidime (30 μ g) และ ceftazidime-clavulanic acid ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 1 และทดสอบความไวของเชื้อต่อยา cefotaxime (30 μ g) และ cefotaxime-clavulanic acid ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 2 หากผล inhibition zone ของยาแต่ละคู่ต่างกัน ≥ 5 มม.แสดงว่าเชื้อสร้างเอนไซม์ ESBL ทั้งนี้ควรทดสอบควบคู่กับเชื้อควบคุมที่สร้าง ESBL *K. pneumoniae* ATCC 70063 และเชื้อที่ไม่สร้าง ESBL *E. coli* ATCC 25922



4.3.2 Cabarpenemases เป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่มีความสามารถย่อยสลายยาต้านจุลชีพ

เกือบทุกชนิดในกลุ่มยาที่มีโครงสร้าง β -lactam ring พบได้ทั้งในแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบกลุ่ม *Enterobacterales* แต่ชนิดที่พบในเชื้อแกรมบวกจะมีคุณสมบัติ ส่วนใหญ่ถูกยับยั้งได้ด้วย Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) จึงถูกให้ชื่อว่า metalloenzyme ต่างจากชนิดที่พบในเชื้อแกรมลบ ซึ่งส่วนใหญ่ถูกยับยั้งได้ด้วย β -lactamase inhibitors clavulanic acid และ tazobactam ต่อมาเริ่มพบ cabarpenemases กลุ่ม metalloenzyme ในเชื้อแกรมลบมากขึ้น วิธีทดสอบการสร้าง cabarpenemases ตามที่กำหนดไว้ใน CLSI M100 (32^{ed}) ใช้การทดสอบที่เรียกว่า Modified Carbapenem Inactivation Methods (mCIM) ซึ่งใช้ทดสอบเชื้อกลุ่ม *Enterobacterales* และ เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* วิธีการทดสอบไม่ยุ่งยากและให้ผลแม่นยำ โดยบ่ม disk ยา meropenem 10 μ g ในอาหารเหลว (Tryptic soy broth) ที่ผสมเชื้อที่ต้องการทดสอบการสร้าง cabarpenemases ไว้แล้ว ที่อุณหภูมิ 35-37 °C นาน 4 ชม. จากนั้นใช้หลอดดูดเชื้อเขี่ยเอา disk ยานำมาวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับทดสอบยาที่ป้ายเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 ไว้ นำไปบ่มที่ 35-37 °C นาน 18-24 ชม.

- หากเชื้อที่ถูกทดสอบสร้าง cabarpenemases ยา meropenem จะถูกย่อยสลายภายใน 4 ชม. ผลคือจะไม่มี inhibition zone หรือมีขนาด 6-15 มม. รอบ disk ยาบनจานเลี้ยงเชื้อ *E. coli* ATCC 25922
- หากเชื้อไม่สร้าง cabarpenemases ยา meropenem จะคงอยู่และยับยั้งการเจริญของ เชื้อ *E. coli* ATCC 25922 โดยจะเห็น inhibition zone ขนาด ≥ 19 มม. รอบ disk ยา

การทดสอบควรทำควบคู่กับเชื้อควบคุม *K. pneumoniae* ATCC BAA-1707 (ผล KPC บวก), ATCC BAA-2146 (ผล NDM บวก) และ *K. pneumoniae* ATCC BAA-1706 (ผลลบ)

4.4 การทดสอบความไวของเชื้อต่อยา colistin โดยที่ยา colistin มีโมเลกุลขนาดใหญ่จึงซึม

ผ่านอาหารแข็งได้ไม่ดี การหาค่า MIC ต้องใช้วิธี broth microdilution หรือวิธี colistin broth disk elution (CBDE) หรือดูการเจริญบนอาหารแข็งที่ผสมยาที่มีความเข้มข้นลดหลั่นลงไป จึงจะได้ผลที่น่าเชื่อถือตามที่กำหนดไว้ใน CLSI M100 (32^{ed}) ในที่นี้จะขอกล่าวถึงวิธี CBDE เป็นวิธีที่มีความยุ่งยากน้อยที่สุด การทดสอบเริ่มจากการเตรียมหลอดแก้วฝาเกลียวที่ใส่อาหารเหลวชนิด cation Adjusted Mueller Hinton Broth 10 ml จำนวน 4 หลอด นำ disk ยา colistin 10 μ g จำนวน 1, 2 และ 4 disk ใส่ลงในหลอดแก้วที่เตรียมไว้ทีละหลอดตามลำดับ หลอดสุดท้ายไม่ต้องใส่ disk ยาใช้เป็นหลอดควบคุม เขย่าเบาๆ ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นดูดเชื้อที่ต้องการทดสอบ ซึ่งเตรียมเป็นความเข้มข้นที่ 0.5 McFarland ในปริมาตร 50 μ l ใส่หลอดแก้วแต่ละหลอด บ่มที่ 33-35 °C นาน 16-20 ชม. แล้วตรวจสอบความขุ่นของเชื้อในหลอดแก้วทุกหลอด ค่า MIC คือค่าความเข้มข้นของยาที่ต่ำสุดในหลอดแก้วที่ไม่มีเชื้อเจริญ กล่าวคือสามารถยับยั้งเชื้อได้และ MIC ≥ 4 μ g/ml หมายถึงเชื้อมีความไวต่อยา colistin ทั้งนี้ต้อง



ควบคุมคุณภาพด้วยการทดสอบควบคู่กับเชื้อควบคุมผลบวก *E. coli* ATCC BAA-3170 ซึ่งมียีนดื้อยา *mcr-1* (mobile colistin resistance)

4.5 Epsilometer test (E-test) เป็นวิธีทางห้องปฏิบัติการที่ใช้ตรวจหาความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพแบบวิเคราะห์ปริมาณโดยหลักการของ agar diffusion โดยเคลือบยาต้านจุลชีพในระดับความเข้มข้นที่ลดลงบนแผ่นพลาสติกโดยมีตัวเลขกำกับความเข้มข้นของยาด้วย เมื่อวางลงบนจานอาหารที่ป้ายเชื้อสำหรับทดสอบแล้ว ยาจะซึมในเนื้อวุ้นแบบ exponential gradient ตามสัดส่วนความเข้มข้นของยา เมื่อบ่มครบตามกำหนดเวลา จะเห็น inhibition zone แบบ ellipse จุดตัดของinhibition zone กับขอบของแผ่นพลาสติกเคลือบยาคือค่า MIC วิธี E-test ได้รับการยอมรับและนำไปใช้อย่างแพร่หลายแม้จะไม่ใช่วิธีที่ CLSI แนะนำ อย่างไรก็ตามข้อควรระวังคือการอ่านและการแปลผล ซึ่งได้แก่

- กรณีเชื้อขึ้นชิดขอบของแถบยาตลอดแนว ให้รายงานค่าMIC มากกว่าค่าสูงสุดของความเข้มข้นยาที่ระบุบนแถบยา E-test
- กรณีจุดตัดของ inhibition zone ต่ำกว่าความเข้มข้นของยาที่ต่ำสุดบนแถบพลาสติก ให้รายงาน MIC ต่ำกว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่ระบุ
- กรณีจุดตัดของinhibition zone ที่อ่านได้อยู่ระหว่างค่าความเข้มข้นของยาบนแถบพลาสติก ให้รายงาน MIC ของค่าความเข้มข้นที่สูงกว่า

นอกจากนี้ควรมีการควบคุมคุณภาพด้วยเชื้อมาตรฐาน *E. coli* ATCC 25922 สำหรับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบและ *S. aureus* ATCC 25913 สำหรับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก

5. การอ่านผลความไวยาต้านจุลชีพ

การอ่านผลการทดสอบความไวแบบเชิงปริมาณ (zone size หรือ minimum inhibitory concentration, MIC) ให้ข้อมูลเชิงลึกที่สื่อถึงการดื้อยาในระดับระบาดวิทยาโมเลกุลมากกว่าการอ่านผลแบบ resistant, intermediate, and susceptible ดังนี้

- 5.1 สามารถประเมินคุณภาพของข้อมูลได้
- 5.2 สามารถนำมาคำนวณใหม่ได้หากต้องการแปลผลโดยใช้คู่มือเล่มอื่น (CLSI หรือ EUCAST แปลผลทางระบาดวิทยาหรือทางคลินิก ตลอดจนแปลผลใหม่เมื่อคู่มือมีการเปลี่ยนแปลง)
- 5.3 phenotypic characterization ตามระดับของการดื้อยา
- 5.4 จำแนกเชื้อกลุ่มย่อยที่มีความแตกต่างกันชัดเจนได้



5.5 ประเมินความเพียงพอ (adequacy) และความทน (robustness) ของเงื่อนไขอ้างอิงในการแปลผลในประเทศไทย กรมปศุสัตว์ใช้การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพโดยวิธี MIC ทั้งหมด

6. การแปลผลความไวยาต้านจุลชีพ

การแปลผลความไวยาต้านจุลชีพทำได้ 2 วิธีคือ Clinical Breakpoints และ Epidemiological cut-off value การเลือกใช้วิธีใดขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการแปลผลนั้นๆ

6.1 Clinical Breakpoints

Clinical Breakpoints (CBPs) หมายถึงค่าที่ใช้เพื่อคาดการณ์ผลการรักษาการติดเชื้อด้วยยาต้านจุลชีพโดยใช้การบริหารยาในขนาดมาตรฐาน ค่า CBPs นี้มีประโยชน์สำหรับการเฝ้าระวังเพื่อให้แพทย์ใช้เป็นแนวทางการเลือกใช้ยาแบบ empiric ตลอดจนการนำไปปรับปรุงคู่มือและวิธีการใช้ยาต้านจุลชีพให้เหมาะสมกับสถานการณ์ (CLSI, 2011)

6.2 Epidemiological cut-off (ECOFFs หรือ ECV)

การแปลผลการเฝ้าระวังการติดเชื้อยาต้านจุลชีพแบบบูรณาการ แนะนำให้ใช้ค่า Epidemiological cut-off (ECOFFs) เพื่อให้มั่นใจว่าการรายงานผลการเฝ้าระวังจะเป็นไปในทิศทางเดียวกัน และเปรียบเทียบกันได้ และใช้ Clinical Breakpoint ประเมินเมื่อต้องการประเมินความเสี่ยงด้านสาธารณสุขที่เกิดจากเชื้อที่สนใจและกลไกการดื้อยา ECOFFs เป็นค่า MICs ที่แยกระหว่างเชื้อกลุ่มที่ acquired decrease in susceptibility (non-wild-type populations) ออกจาก wild-type susceptible populations การจำแนกกลุ่มเชื้อโดยอ้างอิงกับ wild-type populations มีความนิ่งและแยกความแตกต่างจากกลุ่มที่เกิดการเปลี่ยนแปลงความไวต่อยาต้านจุลชีพได้ชัดเจน สามารถใช้ช่วยในการเปรียบเทียบข้อมูลจากแหล่งที่ใช้ Clinical Breakpoints ต่างกัน และลดความจำเป็นที่จะต้องคำนวณผลใหม่เมื่อมีการเปลี่ยนแปลง Clinical Breakpoints อีกด้วย นอกจากนี้ยังใช้ในกรณีที่ไม่มีกำหนด Clinical Breakpoints เอาไว้

6.3 เกณฑ์การแปลผลและวัตถุประสงค์

การเปรียบเทียบผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพจากการเฝ้าระวังและติดตามการดื้อยาในสัตว์สุขภาพดี และอาหารเป็นการใช้ประโยชน์ด้านสาธารณสุขให้ใช้ค่า ECOFF การเปรียบเทียบระดับการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อจากสัตว์และอาหาร กับเชื้อจากคน จะช่วยในการตรวจจับการดื้อยาที่รับมาได้ การเปรียบเทียบผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อจากมนุษย์และสัตว์ ให้ใช้ค่า CBPs



กล่าวโดยสรุป การเฝ้าระวังใช้ค่า ECOFF ส่วนการใช้เพื่อวางแผนการใช้อย่างต้านจุลชีพในการรักษาโรค ใช้ CBPs ในกรณีที่เปรียบเทียบระหว่างเชื้อจุลชีพที่พบในคนและในภาคส่วนอื่นๆ ให้ใช้ CBPs ตัวอย่างเช่น การเฝ้าระวังแบบ Tricycle

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบระหว่าง Clinical Breakpoints และ Epidemiological cut-off value)

	Clinical Breakpoint	Epidemiological cut-off value
การใช้งาน	- คาดการณ์ผลการรักษา - คัดเลือกยาเพื่อรักษาแบบ - คาดการณ์ล่วงหน้า (empirical treatment) - การปรับปรุงแนวทางและวิธีปฏิบัติในการรักษาตรวจ - การเปลี่ยนแปลง intrinsic vulnerability ของประชากรเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ	ตรวจจับการเปลี่ยนแปลง intrinsic vulnerability ของประชากรเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ
ความเกี่ยวข้อง	ด้านคลินิก	ด้านระบาดวิทยา
Threshold	Breakpoint	Cut-off value
ข้อพิจารณาในการกำหนด Threshold	- เภสัชจลนศาสตร์ (Pharmacokinetics) และ - เภสัชพลศาสตร์ (Pharmacodynamics) - ประสิทธิภาพทางคลินิก - ขนาดยา - วิธีบริหารยา	ข้อมูลการกระจาย (distribution) ของค่า MIC
การจัดแบ่งกลุ่ม	susceptible/intermediate/resistant	wild-type/non-wild-type
การประยุกต์ใช้จำเพาะต่อสปีชีส์ของสัตว์	จำเพาะ	ไม่จำเพาะ
การประยุกต์ใช้จะได้รับผลกระทบเมื่อมีการเปลี่ยนแปลง breakpoint เมื่อมีข้อมูลใหม่	กระทบ	ไม่กระทบ

การจัดการข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลโดยโปรแกรม WHONET กำหนดชุดข้อมูลที่แต่ละภาคส่วนต้องจัดเก็บ ดังนี้



ตารางที่ 11 รายการข้อมูลแหล่งที่มาของตัวอย่าง (Origin)

หมายเหตุ “ความยาว” ในช่อง “value” หมายถึงขนาดของสตริง

Type	Variable	Description	Value	Comment
All	COUNTRY_A	Country (ประเทศ)	ตัวอักษร ความยาว 3 อักขระ (THA)	
	LABORATORY	Laboratory (ห้องปฏิบัติการ)	ตัวอักษร ความยาว 3 อักขระ (ชื่อย่อห้องปฏิบัติการ)	
	ORIGIN	Origin (ที่มาของตัวอย่าง)	ตัวอักษร ความยาว 1 อักขระ (Human, Animal, Food, Environment)	
	PATIENT_ID	Identification number (เลขประจำตัวผู้ป่วย/ตัวอย่าง)	ตัวเลข ความยาว 12 อักขระ	
	LAST_NAME	Last name (นามสกุลผู้ป่วย)	ตัวอักษร ความยาว 30 อักขระ	มีเฉพาะ Human
	FIRST_NAME	First name (ชื่อผู้ป่วย/ชื่อตัวอย่าง)	ตัวอักษร ความยาว 20 อักขระ	มีเฉพาะ Human
	SEX	Sex (เพศ)	ตัวอักษร ความยาว 1 อักขระ (Female (f), Male (m), Other (o), Unknown (u))	มีเฉพาะ Human, Animal
	DATE_BIRTH	Date of birth (วันเดือนปีเกิด)	รูปแบบวันที่ ความยาว 8 อักขระ (ตัวเลข วัน/เดือน/ปี ค.ศ. เช่น 30/12/1996)	มีเฉพาะ Human
	AGE	Age (อายุ)	ตัวเลข+ตัวอักษร ความยาว 3 อักขระ (เช่น 3d, 5w, 9m อายุที่นับเป็นปี ใส่เฉพาะตัวเลข)	[Age]=[Specimen date]- [Date of Birth] มีเฉพาะ Human, Animal
	PAT_TYPE	Age category (ช่วงอายุ)	ตัวอักษร ความยาว 3 อักขระ (Newborn (n), Pediatric (ped), Adult (adu), Geriatric (ger), Unknown (unk), Other (o))	มีเฉพาะ Human, Animal
	SPECIES	Species (สายพันธุ์)	ตัวอักษร ความยาว 10 อักขระ (เช่น Cattle (bov), Swine (por), Chicken (chi))	มีเฉพาะ Animal, Plant
	ANIM_TYPE	Animal type (กลุ่มสัตว์)	ตัวอักษร ความยาว 10 อักขระ (เช่น Dairy (dai), Pet (pet), Egg-laying (egg))	มีเฉพาะ Animal
	MARKET_CAT	Market category (ประเภทของตลาด)	ตัวอักษร ความยาว 3 อักขระ (เช่น Domestic (d), Imported (i), Unknown (u))	มีเฉพาะ Animal, Food, Animal feed, Plant
	FOOD	Food (ชื่ออาหาร)	ตัวอักษร ความยาว 15 อักขระ	มีเฉพาะ Food, Animal feed, Plant



ตารางที่ 12 รายการข้อมูลแสดงตำแหน่งทางภูมิศาสตร์ของตัวอย่าง (Location)

	Type	Variable	Description	Value	Comment
Begin	All	COUNTRY_A	Country (ประเทศ)	ตัวอักษร ความยาว 3 อักขระ (THA)	
		LABORATORY	Laboratory (ห้องปฏิบัติการ)	ตัวอักษร ความยาว 3 อักขระ (ชื่อย่อห้องปฏิบัติการ)	
		ORIGIN	Origin (ที่มาของตัวอย่าง)	ตัวอักษร ความยาว 1 อักขระ (Human, Animal, Food, Environment)	
Location	All	WARD	Location (สถานที่เก็บตัวอย่าง)	ตัวอักษร ความยาว 20 อักขระ	
		INSTITUT	Institution (หน่วยงาน)	ตัวอักษร ความยาว 3 อักขระ (เช่น Department of Health)	มีเฉพาะ Human
		DEPARTMENT	Department (แผนก)	ตัวอักษร ความยาว 20 อักขระ (เช่น Emergency, Medicine, Pediatrics)	มีเฉพาะ Human
		WARD_TYPE	Location type (ลักษณะสถานที่เก็บตัวอย่าง)	ตัวอักษร ความยาว 3 อักขระ (เช่น Outpatient (out), Inpatient (in), Intensive care unit (icu))	มีเฉพาะ Human
		DATE_ADMIS	Date of admission (วันที่รับเข้ารับรักษา)	รูปแบบวันที่ ความยาว 8 อักขระ ตัวเลข วัน/เดือน/ปีค.ศ. เช่น 30/12/2020	มีเฉพาะ Animal, Food, Animal feed, Plant, Environment
		CITY	City (ที่อยู่สถานที่เก็บตัวอย่าง)	ตัวอักษร ความยาว 30 อักขระ	มีเฉพาะ Animal, Food, Animal feed, Plant, Environment
		COUNTY	County (เขตที่เก็บตัวอย่าง)	ตัวอักษร ความยาว 30 อักขระ	มีเฉพาะ Animal, Food, Animal feed, Plant, Environment
		STATE	State (จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง)	ตัวอักษร ความยาว 20 อักขระ	



ตารางที่ 13 รายการข้อมูลแสดงรายละเอียดของตัวอย่าง (Specimen) และรายละเอียดด้านจุลชีววิทยา
ของตัวอย่าง (Microbiology)

	Type	Variable	Description	Value	Comment
Begin	All	COUNTRY_A	Country (ประเทศ)	ตัวอักษร ความยาว 3 อักขระ (THA)	
		LABORATORY	Laboratory (ห้องปฏิบัติการ)	ตัวอักษร ความยาว 3 อักขระ (ชื่อย่อห้องปฏิบัติการ)	
		ORIGIN	Origin (ที่มาของตัวอย่าง)	ตัวอักษร ความยาว 1 อักขระ (Human, Animal, Food, Environment)	
Specimen	All	SPEC_NUM	Specimen number (หมายเลข specimen)	ตัวอักษร ความยาว 20 อักขระ	ส่วนย่อยของหมายเลข ตัวอย่าง
		SPEC_DATE	Specimen date (วันที่เก็บ specimen)	รูปแบบวันที่ ความยาว 8 อักขระ (ตัวเลข วัน/เดือน/ปีค.ศ. เช่น 30/12/2020)	
		SPEC_TYPE	Specimen type (ชนิดของ specimen)	ตัวอักษร ความยาว 2 อักขระ (เช่น Blood (bl), Pus (ps), Urine (ur), Fresh egg (10.1), Fresh meat (8.1), Fish(fresh) (9.1.1))	
		SPEC_REAS	Reason (สาเหตุที่ส่งตรวจ)	ตัวอักษร ความยาว 3 อักขระ (เช่น Diagnostic (d), Research (r), Surveillance (v))	
Microbiology	All	ORGANISM	Organism (สายพันธุ์เชื้อที่ตรวจพบ)	ตัวอักษร ความยาว 3 อักขระ (เช่น Escherichia coli (eco), Enterococcus faecalis (efa))	
		SEROTYPE	Serotype (serotype ของเชื้อที่ตรวจพบ)	ตัวอักษร ความยาว 40 อักขระ (เช่น Salmonella Derby (drb))	



ตารางที่ 14 รายการข้อมูลแสดงชนิดของยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการทดสอบ (Antibiotics)

Section	Variable			Discription	Value
	Disk	MIC	E-test		
Animal	AMP_ND10	AMP_NM	AMP_NE	ampicillin	(CLSI, EUCAST) 10ug
	CAZ_ND30	CAZ_NM	CAZ_NE	ceftazidime	(CLSI, SRGA, BSAC) 30ug
	CTX_ND30	CTX_NM	CTX_NE	cefotaxime	(CLSI, SRGA, BSAC) 30ug
	CIP_ND5	CIP_NM	CIP_NE	ciprofloxacin	(CLSI, EUCAST) 5ug
	COL_ND10	COL_NM	COL_NE	colistin	(CLSI, EUCAST) 10ug
	MEM_ND10	MEM_NM	MEM_NE	meropenem	(CLSI, EUCAST) 10ug
	TCY_ND30	TCY_NM	TCY_NE	tetracycline	(CLSI, EUCAST) 30ug
	SXT_ND1.2	SXT_NM	SXT_NE	trimethoprim/ sulfamethoxazole	(CLSI, EUCAST) 1.25/23.75 ug
	ERY_ND15	ERY_NM	ERY_NE	erythromycin	(CLSI, EUCAST) 15ug
	LNZ_ND30	LNZ_NM	LNZ_NE	linezolid	(CLSI) 30ug
	LNZ_ND10				(EUCAST) 10ug
	TEC_ND30	TEC_NM	TEC_NE	teicoplanin	(CLSI, EUCAST) 30ug
	VAN_ND30	VAN_NM	VAN_NE	vancomycin	(CLSI, AFA) 30 ug
	VAN_ND5				(EUCAST, NEO) 5 ug
Aquatic animal	AMP_ND10	AMP_NM	AMP_NE	ampicillin	(CLSI, EUCAST) 10ug
	CAZ_ND30	CAZ_NM	CAZ_NE	ceftazidime	(CLSI, SRGA, BSAC) 30ug
	CTX_ND30	CTX_NM	CTX_NE	cefotaxime	(CLSI, SRGA, BSAC) 30ug
	CIP_ND5	CIP_NM	CIP_NE	ciprofloxacin	(CLSI, EUCAST) 5ug
	COL_ND10	COL_NM	COL_NE	colistin	(CLSI, EUCAST) 10ug
	SXT_ND1.2	SXT_NM	SXT_NE	trimethoprim/ sulfamethoxazole	(CLSI, EUCAST) 1.25/23.75 ug
	TEC_ND30	TEC_NM	TEC_NE	teicoplanin	(CLSI, EUCAST) 30ug
	VAN_ND30	VAN_NM	VAN_NE	vancomycin	(CLSI, AFA) 30 ug
	VAN_ND5				(EUCAST, NEO) 5 ug
Environment	AMP_ND10	AMP_NM	AMP_NE	ampicillin	(CLSI, EUCAST) 10ug
	AMK_ND30	AMK_NM	AMK_NE	amikacin	(CLSI, EUCAST) 30ug
	CRO_ND30	CRO_NM	CRO_NE	ceftriaxone	(CLSI, EUCAST) 30ug
	CAZ_ND30	CAZ_NM	CAZ_NE	ceftazidime	(CLSI, SRGA, BSAC) 30ug
	CTX_ND30	CTX_NM	CTX_NE	cefotaxime	(CLSI, SRGA, BSAC) 30ug
	FEP_ND30	FEP_NM	FEP_NE	cefepime	(CLSI, EUCAST) 30ug
	CIP_ND5	CIP_NM	CIP_NE	ciprofloxacin	(CLSI, EUCAST) 5ug
	COL_ND10	COL_NM	COL_NE	colistin	(CLSI, EUCAST) 10ug
	ERY_ND15	ERY_NM	ERY_NE	erythromycin	(CLSI, EUCAST) 15ug
	IPM_ND10	IPM_NM	IPM_NE	imipenem	(CLSI, EUCAST) 10ug
	MEM_ND10	MEM_NM	MEM_NE	meropenem	(CLSI, EUCAST) 10ug



Thailand's Integrated Antimicrobial Resistance Surveillance
with One Health Approach Guideline

Section	Variable			Discription	Value
	Disk	MIC	E-test		
Environment	SXT_ND1.2	SXT_NM	SXT_NE	trimethoprim/ sulfamethoxazole	(CLSI, EUCAST) 1.25/23.75 ug
	PEN_ND10	PEN_NM	PEN_NE	penicillin G	(CLSI) 10 unit
	PEN_ND1				(EUCAST) 1 unit
	LVX_ND5	LVX_NM	LVX_NE	levofloxacin	(CLSI, EUCAST) 5ug
	TCY_ND30	TCY_NM	TCY_NE	tetracycline	(CLSI, EUCAST) 30ug
	FOS_ND20	FOS_NM	FOS_NE	fosfomycin	(CLSI, EUCAST) 200ug
	VAN_ND30	VAN_NM	VAN_NE	vancomycin	(CLSI, AFA) 30 ug
	VAN_ND5				(EUCAST, NEO) 5 ug
	ERY_ND15	ERY_NM	ERY_NE	erythromycin	(CLSI, EUCAST) 15ug
	LNZ_ND30	LNZ_NM	LNZ_NE	linezolid	(CLSI) 30ug
	LNZ_ND10				(EUCAST) 10ug
Food	AMP_ND10	AMP_NM	AMP_NE	ampicillin	(CLSI, EUCAST) 10ug
	AMK_ND30	AMK_NM	AMK_NE	amikacin	(CLSI, EUCAST) 30ug
	CRO_ND30	CRO_NM	CRO_NE	ceftriaxone	(CLSI, EUCAST) 30ug
	CAZ_ND30	CAZ_NM	CAZ_NE	ceftazidime	(CLSI, SRGA, BSAC) 30ug
	CTX_ND30	CTX_NM	CTX_NE	cefotaxime	(CLSI, SRGA, BSAC) 30ug
	FEP_ND30	FEP_NM	FEP_NE	cefepime	(CLSI, EUCAST) 30ug
	CIP_ND5	CIP_NM	CIP_NE	ciprofloxacin	(CLSI, EUCAST) 5ug
	COL_ND10	COL_NM	COL_NE	colistin	(CLSI, EUCAST) 10ug
	ERY_ND15	ERY_NM	ERY_NE	erythromycin	(CLSI, EUCAST) 15ug
	IPM_ND10	IPM_NM	IPM_NE	imipenem	(CLSI, EUCAST) 10ug
	MEM_ND10	MEM_NM	MEM_NE	meropenem	(CLSI, EUCAST) 10ug
	SXT_ND1.2	SXT_NM	SXT_NE	trimethoprim/ sulfamethoxazole	(CLSI, EUCAST) 1.25/23.75 ug
	GEN_ND10	GEN_NM	GEN_NE	gentamicin	(CLSI, EUCAST) 10ug
	PEN_ND10	PEN_NM	PEN_NE	penicillin G	(CLSI) 10 unit
	PEN_ND1				(EUCAST) 1 unit
	LNZ_ND30	LNZ_NM	LNZ_NE	linezolid	(CLSI) 30ug
	LNZ_ND10				(EUCAST) 10ug
	VAN_ND30	VAN_NM	VAN_NE	vancomycin	(CLSI, AFA) 30 ug
	VAN_ND5				(EUCAST, NEO) 5 ug



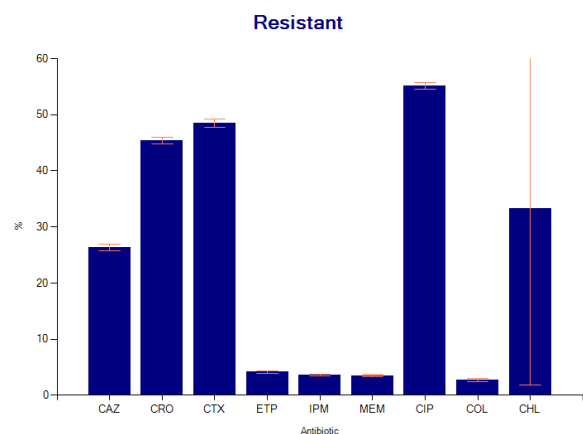
การรายงานผล

การรายงานผลจากการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพแบบบูรณาการ มีการกำหนดรูปแบบของข้อมูล/ฐานข้อมูล โปรแกรมสำหรับวิเคราะห์ข้อมูล และทำการวิเคราะห์ข้อมูลการเฝ้าระวังอย่างครอบคลุมจากทุกแหล่ง มีการตรวจสอบและประเมินคุณภาพของข้อมูล ตลอดจนควบคุมคุณภาพของการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการเพื่อให้แน่ใจว่าข้อมูลถูกต้องและได้รายงานผลที่มีคุณภาพ

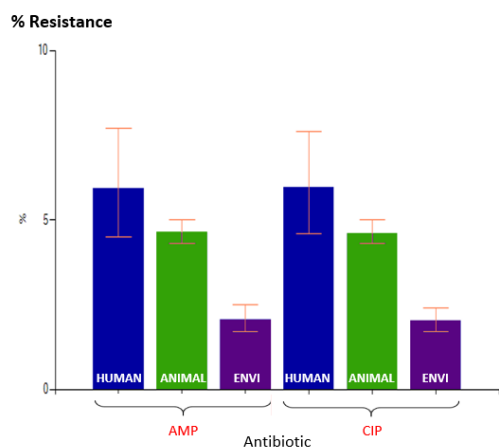
รายงานผลการเฝ้าระวังการดื้อยาควรใช้ภาษาที่สามารถเข้าใจได้โดยผู้ที่ไม่ใช่ผู้เชี่ยวชาญ โดยมีการสรุปเพื่อช่วยให้ผู้รับรายงานเข้าใจความเสี่ยง อันตราย และความหมายของแนวโน้มที่มีนัยสำคัญหรือที่น่าสังเกต การรายงานผลสามารถทำได้หลายรูปแบบ เช่น แสดงการดื้อยาต้านจุลชีพชนิดต่างๆ ของเชื้อชนิดเดียว แสดงการดื้อยาชนิดต่างๆ ของเชื้อเดียวกันจากแหล่งที่มาต่างกัน ตลอดจนแสดงการดื้อยาแบบหลายยาและหลายกลุ่มยา (MDR / XDR / PDR)

การวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อรายงานและสื่อสารความเสี่ยงให้ทราบถึงแนวโน้มการดื้อยาที่เกิดขึ้นในคน สัตว์ สิ่งแวดล้อม และห่วงโซ่อาหาร เป็นประโยชน์ในการดำเนินการวางแผนเพื่อเฝ้าระวัง ควบคุม และลดความเสี่ยงจากการดื้อยาที่อาจเกิดขึ้นได้

1. การดื้อยาต้านจุลชีพชนิดต่างๆ ของเชื้อชนิดเดียว



2. การดื้อยาชนิดต่างๆ ของเชื้อเดียวกันจากแหล่งที่มาต่างกัน





Thailand's Integrated Antimicrobial Resistance Surveillance with One Health Approach Guideline

3. การดื้อยาแบบ MDR / XDR / PDR

Identification number	Location	Specimen number	Specimen date	Specimen type	Organism	Organism type	Profile	Resistance profile	MDR	XDR	PDR
00436923		20670	28/12/2020	ur	eco		PL-CF-	AMP SAM --- CZO FEP ---	Ignore isolate	Ignore isolate	Ignore isol
00556521	บ้าน	60587	29/2/2020	ps	en-		PL-CF-	AMP SAM --- CZO FEP ---	Ignore isolate	Ignore isolate	Ignore isol
00043452	อำเภอก	18169	11/2/2020	bl	kpn		PL-CF-	AMP SAM --- CZO FEP ---	Ignore isolate	Ignore isolate	Ignore isol
00179506	อำเภอก	51299	16/2/2020	sp	kpn		PL-CF-	AMP SAM --- CZO FEP ---	Ignore isolate	Ignore isolate	Ignore isol
00201430	VIP6	60586	29/2/2020	ps	kpn		PL-CF-	AMP SAM --- CZO FEP ---	Ignore isolate	Ignore isolate	Ignore isol
00219449	ICU2	51309	17/2/2020	sp	kpn		PL-CF-	AMP SAM --- CZO FEP ---	Ignore isolate	Ignore isolate	Ignore isol
00239567	อำเภอก	51362	23/2/2020	sp	kpn		PL-CF-	AMP SAM --- CZO FEP ---	Ignore isolate	Ignore isolate	Ignore isol
00513674	ICU2	51244	10/2/2020	sp	kpn		PL-CF-	AMP SAM --- CZO FEP ---	Ignore isolate	Ignore isolate	Ignore isol
00005955	อำเภอก	18325	13/2/2020	bl	ps-		PL-CF-	AMP SAM --- CZO FEP ---	Ignore isolate	Ignore isolate	Ignore isol
00005955	อำเภอก	18326	13/2/2020	bl	ps-		PL-CF-	AMP SAM --- CZO FEP ---	Ignore isolate	Ignore isolate	Ignore isol
00377571	สภมกร	51236	10/2/2020	sp	ps-		PL-CF-	AMP SAM --- CZO FEP ---	Ignore isolate	Ignore isolate	Ignore isol
00274785		21055	28/12/2020	sp	eco		L--	SAM --- ---	Ignore isolate	Ignore isolate	Ignore isol
01377236	อำเภอก	11197	24/3/2020	bl	gm+		L--	SAM --- ---	Ignore isolate	Ignore isolate	Ignore isol
TT028474	โศภนา	15319	17/4/2020	bl	eco		L--	SAM --- ---	Ignore isolate	Ignore isolate	Ignore isol
01047411	อำเภอก	20149	5/1/2020	sp	ed		L-C-	SAM --- CZO ---	Ignore isolate	Ignore isolate	Ignore isol
00031516	อำเภอก	51405	27/2/2020	sp	ps-	อำเภอก	L-C-	SAM --- CZO ---	Ignore isolate	Ignore isolate	Ignore isol

การประเมินผล

คน	ปศุสัตว์และประมง	อาหาร	สิ่งแวดล้อม
AGISAR (คนปกติ) ใช้ ECOFF % resistance	AGISAR/FAO ใช้ ECOFF % resistance	AGISAR/FAO ใช้ ECOFF % resistance	AGISAR/FAO ใช้ ECOFF % resistance
Clinical Breakpoint % resistance	Clinical Breakpoint % resistance	Clinical Breakpoint % resistance	Clinical Breakpoint % resistance



Tricycle

คน	ปศุสัตว์และประมง	อาหาร/ตลาดสด	สิ่งแวดล้อม
<u>การติดเชื้อในโรงพยาบาล</u> ใช้ผลการตรวจหา ESBL <i>E. coli</i> จากตัวอย่างติดเชื้อในกระแสเลือด การประเมินผลความชุก ทำได้ 2 วิธี ดังนี้ - Isolate-based matrix ตัวตั้ง = จำนวนตัวอย่าง blood culture ที่พบ ESBL producing <i>E. coli</i> ตัวหาร 1. จำนวนตัวอย่าง blood culture ที่พบ EC ทั้งหมด ที่นำมาตรวจหา ESBL - Sample based matrix ตัวตั้ง = จำนวนผู้ป่วยที่พบ ESBL EC ตัวหาร 1. จำนวนผู้ป่วย blood culture ที่ส่งตรวจทั้งหมด 2. จำนวนผู้ป่วย blood culture ที่ส่งตรวจและพบผลบวกจากเชื้อ แบคทีเรียทั้งหมด 3. จำนวนผู้ป่วย ที่ blood culture พบ EC ทั้งหมด			
<u>การติดเชื้อในชุมชน</u> (ตัวอย่างอุจจาระหญิงมีครรภ์ที่เก็บ ก่อนคลอด) จำนวนตัวอย่างที่พบ ESBL EC/ จำนวนตัวอย่างที่เก็บทั้งหมด	ไส้ติ่ง (caecum) จากโรงฆ่าสัตว์ จำนวนตัวอย่างที่พบ ESBL EC/จำนวนตัวอย่าง ที่เก็บทั้งหมด	ไส้ติ่ง (caecum) จากตลาดสด จำนวนตัวอย่างที่พบ ESBL EC/จำนวนตัวอย่าง ที่เก็บทั้งหมด	- Concentration of ESBL-EC; - Concentration of <i>E. coli</i>; - Ratio of ESBL-EC over <i>E. coli</i>.



บทที่ 5

การนำผลการเฝ้าระวังไปใช้ประโยชน์

การประเมินผลการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพ และการใช้ยาต้านจุลชีพแบบบูรณาการ

เป็นการประเมินผลการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพ และการใช้ยาต้านจุลชีพแบบบูรณาการ ตามความหมายของ Integrated AMR Surveillance ของ AGISAR และ CAC เป็นการติดตามแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของ AMR และ AMU อย่างไรก็ดี ในคู่มือต่างๆ ยังไม่มีการกำหนดรูปแบบที่แน่นอนในการประเมินผล ทั้งนี้ AGISAR แนะนำให้ดูตัวอย่างจากประเทศต่างๆ เช่น MARAN ของเนเธอร์แลนด์ หรือ ของแคนาดา

การนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์

ข้อมูลจากการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ดังนี้

1. ประมาณความชุกของเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพในแหล่งสะสม (reservoir) แต่ละชนิด
2. ประเมินขนาดของปัญหาเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแปรตามเวลาและสถานที่
3. ติดตามแนวโน้มและการกระจายของเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพและกลไกที่ทำให้เกิดเชื้อดื้อยา
4. เฝ้าระวังเชื้อยาต้านจุลชีพหายาก เชื้อดื้อยาหรือยีนดื้อยาชนิดใหม่
5. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อดื้อยาและการใช้ยาต้านจุลชีพ
6. ให้ข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์ความเสี่ยงจากเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพที่ปนเปื้อนในอาหาร
7. สร้างสมมติฐานเกี่ยวกับแหล่งที่มาและแหล่งสะสมเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพนั้นๆ
8. กำหนดและประเมินประสิทธิผลของมาตรการเพื่อควบคุมการเกิดและแพร่กระจายเชื้อดื้อยา
9. เป็นแนวทางการกำหนดนโยบายเพื่อการใช้ยาในโรงพยาบาล ชุมชน การเกษตร การประมง และการใช้ยาของสัตว์แพทย์
10. สนับสนุนการศึกษาและให้ความรู้ที่มีวัตถุประสงค์เพื่อลดอันตรายจากเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพที่มีอยู่ และเชื้ออุบัติใหม่
11. นำข้อมูลไปใช้ประกอบการกำหนดนโยบายทางด้านสุขภาพสัตว์และคนด้านการจัดการความเสี่ยงเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ



การวิเคราะห์ความเสี่ยง

ความตกลงทั่วไปว่าด้วยภาษีศุลกากรและการค้า (อังกฤษ: General Agreement on Tariffs and Trade; ตัวย่อ: GATT) เป็นความตกลงระหว่างประเทศเพื่อส่งเสริมประโยชน์ทางการค้าและเศรษฐกิจที่ร่วมกันลงนามเมื่อ พ.ศ. 2490 มีเป้าหมายเพื่อให้เกิดการค้าเสรีโดยการลดภาษีศุลกากรและอุปสรรคอื่นๆ ที่เกี่ยวกับสินค้าประเภทอาหารระหว่างประเทศ การเจรจาครั้งที่ 8 ที่เรียกว่า "รอบอุรุกวัย" (Uruguay Round) มีผลให้เกิดการจัดตั้งองค์การนาชาติขึ้นมาใหม่คือ "องค์การการค้าโลก" (WTO) เพื่อทำหน้าที่เกี่ยวกับเรื่องนี้โดยตรง

ตามกฎและวินัยของข้อตกลง WTO ความตกลงว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Sanitary and Phytosanitary Standard: SPS) และความตกลงว่าด้วยอุปสรรคทางเทคนิคต่อการค้า (Technical Barriers to Trade Agreement: TBT) ได้ออกแบบไว้เพื่อจำกัดผลกระทบทางลบของมาตรการด้านอาหารปลอดภัยที่ไม่สามารถให้เหตุผลได้ ที่มีต่อการค้า ซึ่งหมายถึงต้องมีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เท่านั้นที่จะนำมาอ้างอิงเพื่อกำหนดข้อจำกัดทางการค้าอาหารได้ ดังนั้น การเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพในห่วงโซ่อาหารนั้น นอกจากเป็นความจำเป็นทางสาธารณสุขในการวิเคราะห์ความเสี่ยงต่อสุขภาพแล้วนั้น ยังมีความจำเป็นต่อขีดความสามารถในการแข่งขันทางการค้าของประเทศอีกด้วย

การวิเคราะห์ความเสี่ยงเป็นเครื่องมือสำคัญในการประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของคนจากจุลินทรีย์ดื้อยาต้านจุลชีพในอาหารและกำหนดกลยุทธ์การจัดการความเสี่ยงที่เหมาะสมเพื่อควบคุมความเสี่ยงเหล่านั้น ข้อมูลจากการเฝ้าระวังมีความสำคัญในการนำไปประกอบการวิเคราะห์ความเสี่ยง ตลอดจนการกำหนดนโยบายและมาตรการต่างๆ หากจำเป็น

จากการศึกษาคู่มือการวิเคราะห์ความเสี่ยงที่เผยแพร่โดยองค์กรต่างๆ พบว่า มีขอบข่ายของเนื้อหาสาระแตกต่างกันโดยบางส่วนขึ้นกับกรอบงานในสาขาที่เป็นเป้าหมายแต่ยังคงไว้ซึ่งหลักการเดียวกัน สำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงจากเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพในห่วงโซ่อาหารนั้น จะขอกล่าวโดยย่อพอให้เข้าใจถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยง ตามแนวทางของ Codex เนื่องจากมีกรอบการทำงานครอบคลุมความเสี่ยงจากเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพในห่วงโซ่อาหารที่ครอบคลุมมากที่สุด รายละเอียดเพิ่มเติมสามารถศึกษาได้ในเอกสาร Guidelines for Risk Analysis of Foodborne Antimicrobial Resistance (CXG 77) ของ Codex ซึ่งได้ให้กรอบการวิเคราะห์ความเสี่ยง (risk analysis framework) ที่มีโครงสร้างเพื่อจัดการกับความเสี่ยงต่อสุขภาพของมนุษย์ที่พบในอาหารและอาหารสัตว์ รวมถึงการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และการแพร่กระจายผ่านอาหารและอาหารสัตว์ของเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ ส่วนเริ่มต้นของกรอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงประกอบด้วย “Preliminary Risk Management Activities” หรือ “กิจกรรมการบริหารความเสี่ยงเบื้องต้น” ซึ่งดำเนินการโดยผู้จัดการความเสี่ยง (Risk manager) ซึ่งช่วยให้ผู้จัดการความเสี่ยงตัดสินใจว่าจะดำเนินการอย่างไร ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับการกำหนดนโยบายการประเมินความเสี่ยงและการว่าจ้างการประเมินความเสี่ยงหรือการดำเนินการที่เหมาะสมอื่นๆ หากมีการตัดสินใจให้ดำเนินการประเมินความเสี่ยง Preliminary Risk Management Activities จะให้ข้อมูลพื้นฐานบางอย่างที่จำเป็นสำหรับผู้ประเมิน



ความเสี่ยงในการดำเนินการนี้ ส่วนต่างๆ ของกรอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงที่ตามมา ได้แก่ การระบุ (identification) การประเมิน (evaluation) การเลือก (selection) และการดำเนินการจัดการความเสี่ยงที่เหมาะสม เพื่อลดและควบคุมความเสี่ยงต่อสุขภาพของมนุษย์ ผู้จัดการความเสี่ยงมีหน้าที่รับผิดชอบในการตรวจสอบว่ามาตรการการจัดการความเสี่ยงที่ดำเนินการนั้นบรรลุผลตามที่กำหนดไว้ จำกัดผลลัพธ์ที่ไม่ต้องการให้เกิดขึ้นจากมาตรการที่ตั้งไว้ และบรรลุเป้าหมายการบริหารความเสี่ยงได้ การสื่อสารที่ีระหว่างผู้ประเมินความเสี่ยง (risk assessors) ผู้จัดการความเสี่ยง และผู้มีส่วนได้ส่วนเสียเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงที่โปร่งใสและมีข้อมูลครบถ้วน

การวิเคราะห์ความเสี่ยงตามเอกสารของ Codex คือกระบวนการที่ประกอบด้วย 3 องค์ประกอบ คือ 1) การประเมินความเสี่ยง (risk assessment) 2) การบริหารความเสี่ยง (risk management) และ 3) การสื่อสารความเสี่ยง (risk communication) อย่างไรก็ตาม การประเมินความเสี่ยงต้องมีข้อมูลจากการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ ข้อมูลการใช้ยาต้านจุลชีพต่างๆ ตลอดจนข้อมูลอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับระบาดวิทยาของเชื้อนั้นๆ

การประเมินความเสี่ยง (risk assessment) ประกอบด้วยขั้นตอนย่อย 4 ขั้นตอน ได้แก่ 1.1) การระบุอันตราย (Hazard identification) 1.2) การแสดงลักษณะเฉพาะของอันตราย (hazard characterization) 1.3) การประเมินการได้รับสัมผัส (Exposure assessment) และ 1.4) การแสดงลักษณะเฉพาะของความเสี่ยง (Risk characterization)

1.1) การระบุอันตราย (Hazard identification) หมายถึงการชี้บ่งแบคทีเรียก่อโรคที่ดื้อยาจากสัตว์สู่คน หรือ ยีนดื้อยาที่พบในเชื้อประจำถิ่น ที่ถูกคัดเลือกจากการใช้ยาต้านจุลชีพในสัตว์ และอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับการก่อโรคในคนได้ ขั้นตอนนี้อาศัยข้อมูลจากการทบทวนวรรณกรรม และข้อมูลจากระบบเฝ้าระวัง เพื่อระบุสายพันธุ์ของเชื้อ หรือยีนที่อาจมีความเสี่ยงที่ส่งผลต่อสุขภาพคน ขั้นตอนนี้ต้องใช้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์

1.2) การแสดงลักษณะเฉพาะของอันตราย (hazard characterization) หมายถึง การประเมินลักษณะของผลเสียต่อสุขภาพ ในเชิงคุณภาพหรือเชิงปริมาณ หรือทั้งสองอย่าง รวมถึงคุณลักษณะของคนที่เป็น host matrix ของอาหารที่มีผลต่อการรอดชีวิตหรือการเจริญเติบโตของเชื้อ ทั้งนี้เพื่อประเมินความเป็นไปได้ของเชื้อหรือยีนที่จะก่อโรค เช่น การเป็นสาเหตุให้ความถี่ของการป่วยเพิ่มขึ้น ขั้นตอนนี้อาจรวมถึง dose-respons หากมีข้อมูล

1.3) การประเมินการได้รับสัมผัส (Exposure assessment) หมายถึง การประเมินในเชิงคุณภาพและหรือเชิงปริมาณของอันตราย ที่ได้รับเข้าสู่ร่างกายจากอาหาร รวมทั้งการได้รับสัมผัสจากแหล่งอื่นๆ ถ้าเกี่ยวข้อง ในที่นี้หมายถึงการใช้ยาต้านจุลชีพในภาคการเกษตรต่างๆ หรือในขั้นตอนการผลิต เช่น ในอาหารสัตว์ สัตว์เลี้ยงเป็นอาหาร พืชไร่ ซึ่งยาต้านจุลชีพจะทำให้เกิดกระบวนการคัดเลือกสายพันธุ์หรือยีนดื้อยา (selective pressure) และแพร่กระจายไปยังภาคส่วนอื่นๆ ได้ ขั้นตอนการประเมินนี้ครอบคลุมทั้ง pre และ post harvest



ในกรณีที่พิจารณาเฉพาะปัจจัยที่ทำให้เกิดการดื้อยาเพียงอย่างเดียว รวมทั้งในเชื้อประจำถิ่นด้วย ต้องพิจารณาว่าปัจจัยนั้นๆ สามารถถ่ายทอดไปยังเชื้อก่อโรคในคนและทำให้เกิดการดื้อยา โดยคำนึงถึงการสัมผัสกับอาหารสัตว์ที่มียาต้านจุลชีพ ที่อาจเร่งการคัดเลือกยีนดื้อยา และการถ่ายทอดไปยังสัตว์เลี้ยงเป็นอาหาร รวมทั้งสัตว์น้ำด้วย

1.4) การแสดงลักษณะเฉพาะของความเสี่ยง (Risk characterization) หมายถึง การคาดคะเนโอกาสเกิดและความรุนแรงของผลกระทบที่จะเกิดต่อสุขภาพในประชากรกลุ่มใดๆ ทั้งในเชิงคุณภาพหรือเชิงปริมาณ รวมทั้งความไม่แน่นอนอื่นๆ ที่อาจเกิดขึ้น ซึ่งได้จากการระบุอันตราย การแสดงลักษณะของอันตราย และการประเมินการได้รับสัมผัส ผลการประเมินนี้อาจจะมีได้หลายรูปแบบ ขึ้นกับโจทย์ หรือความต้องการในการประเมินความเสี่ยงนั้นๆ เช่น ความเสี่ยงต่อบุคคล ความเสี่ยงต่อสาธารณสุข ภาระโรค

การประเมินความเสี่ยงจากการดื้อยาต้านจุลชีพอาจช่วยระบุประเด็นวิจัยที่ต้องการ เพื่อให้มีข้อมูลเชิงวิทยาศาสตร์มาใช้ในการปิดช่องว่างในการประเมินความเสี่ยงนั้น

ผลการประเมินความเสี่ยง จะนำไปสู่การกำหนดมาตรการเพื่อการบริหารความเสี่ยง และการสื่อสารความเสี่ยง ซึ่งผลการเฝ้าระวังระดับประเทศที่ออกแบบมาเพื่อติดตามเชื้อมดื้อยาต้านจุลชีพ และการใช้ยาต้านจุลชีพ จะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการประเมินประสิทธิผลของการจัดการความเสี่ยงอีกด้วย

ระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพแบบบูรณาการ ให้ข้อมูลที่จำเป็นต่อการวิเคราะห์ความเสี่ยงจากเชื้อก่อโรคดื้อยาในอาหาร ข้อมูลเหล่านี้ยังจำเป็นต่อการศึกษาระบาดวิทยา แหล่งที่มาของอาหาร และการวิจัยเชิงปฏิบัติการต่างๆ ซึ่งจะทำให้ทราบความสัมพันธ์ของแนวโน้มการดื้อยาต้านจุลชีพกับการใช้ยาต้านจุลชีพและนำไปใช้ประกอบการวางนโยบายและแผนการดำเนินงาน รวมทั้งใช้ประเมินผลของมาตรการการลดความเสี่ยงด้านสาธารณสุขที่เกิดจากการปนเปื้อนเชื้อและยีนดื้อยาต้านจุลชีพในอาหาร

บทที่ 6

ข้อเสนอแนะงานวิจัยที่ควรดำเนินการ

จากการทบทวนแนวทางต่างๆ ในระดับนานาชาติ ร่วมกับการวิเคราะห์ข้อมูลและสถานการณ์ในบริบทของประเทศไทย พบว่า ในการพัฒนาระบบเฝ้าระวังและกำกับติดตามการดื้อยาต้านจุลชีพของไทรนั้นมีความก้าวหน้ากว่าช่วงก่อนมีแผนยุทธศาสตร์ค่อนข้างมาก อย่างไรก็ตาม จากการวิเคราะห์ SWOT ยังพบข้อที่ต้องพัฒนาเพิ่มเติมทั้งในเชิงนโยบายและการดำเนินงาน (รายละเอียดการวิเคราะห์ได้แสดงไว้ในภาคผนวกของเอกสารฉบับนี้)

เมื่อพิจารณากระบวนการเฝ้าระวังในภาพรวม จะเห็นว่า ประเทศไทยน่าจะยังอยู่ในระยะที่ดำเนินการเฝ้าระวังเพื่อประเมินสถานการณ์ของประเทศ หากจะไปถึงการนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์รอบด้านทั้งในการประเมินความเสี่ยง การกำหนดมาตรการต่างๆ ที่จำเพาะ นั้น ยังคงมีความต้องการข้อมูลองค์ความรู้ทางวิทยาศาสตร์ ตลอดจนการวิจัยเชิงระบบเพิ่มเติม ในที่นี้จึงได้พยายามระบุประเด็นที่น่าจะพิจารณาดำเนินการมาเพื่อพิจารณาดังนี้

1. การดื้อยาต้านจุลชีพที่มีสาเหตุจากสัตว์สู่คน หรือคนสู่สัตว์ มีสัดส่วนมากน้อยเพียงไรเมื่อเทียบกับปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพในภาพรวมของแต่ละภาคส่วน
2. แนวทางในการแก้ปัญหาแบบต่างๆ และประสิทธิผลของแนวทางนั้นๆ
3. อันตรายที่อาจเกิดขึ้นในอนาคต จากเชื้อดื้อยาที่เกิดขึ้นใหม่
4. ความเสี่ยงจากเชื้อดื้อยาในสัตว์เลี้ยงเป็นเพื่อน
5. ความเสี่ยงจากเชื้อดื้อยาในพืช
6. การศึกษาการปนเปื้อนยาต้านจุลชีพในระบบบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาล เพื่อการประเมินความเสี่ยง
7. การศึกษาการปนเปื้อนยาต้านจุลชีพในอาหาร เพื่อการประเมินความเสี่ยง
8. การศึกษาการปนเปื้อนยาต้านจุลชีพจากโรงงานยา เพื่อการประเมินความเสี่ยง
9. การศึกษาการปนเปื้อนยาต้านจุลชีพ ในสิ่งแวดล้อม เช่น แหล่งน้ำต่างๆ แม่น้ำลำคลอง และน้ำทิ้งจากภาคการเกษตร เพื่อการประเมินความเสี่ยง
10. มาตรการควบคุมต่างๆ ที่สามารถควบคุมป้องกัน หรือชะลอการเกิดเชื้อดื้อยาอย่างได้ผล เช่น การบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มและชุมชน การทบทวนประสิทธิภาพและประสิทธิผลของมาตรการที่มีอยู่เดิม



11. ผลกระทบจากภาวะโลกร้อน ที่มีต่อเชื้อดื้อยา
12. ความเสี่ยงจากการพบเชื้อดื้อยาในสิ่งแวดล้อม ในมุมมองของความเชื่อมโยงระหว่างคน สัตว์ สิ่งแวดล้อม และผลกระทบต่อสุขภาพ
13. ความสัมพันธ์ของการเลือกพื้นที่และเวลา ที่มีผลกระทบต่อการศึกษาดื้อยาในสิ่งแวดล้อม
14. ความชุกของ *Campylobacter* spp. ในเกษตรกรผู้เลี้ยงปศุสัตว์ของไทย
15. สถานการณ์ด้าน *Campylobacter* ดื้อยาของประเทศไทย (Diarrhea / sepsis) *Campylobacter* spp.: fluoroquinolone-resistant (อยู่ใน WHO AMR priority pathogen)
16. ความชุกของ MRSA ในคนไทย ต่ำกว่าความเป็นจริงหรือไม่
17. การจัดทำบัญชีความเสี่ยงของเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพที่อาจมีผลกระทบต่อสุขภาพคนไทย
18. ความชุกของเชื้อดื้อยาสำคัญในชุมชน (ESBL *E. coli* เป็นหลัก)
19. การศึกษาสถานการณ์การใช้ยาต้านจุลชีพของประเทศไทย
20. การพัฒนาระบบบำบัดน้ำที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแบคทีเรียและยาต้านจุลชีพตกค้าง



เอกสารอ้างอิง

Aenishaenslin C, Häsler B, Ravel A, Parmley J, Stärk K, Buckeridge D. (2019) Evidence needed for antimicrobial resistance surveillance systems. Bull World Health Organ. 97(4):283-289. doi: 10.2471/BLT.18.218917. Epub 2019 Jan 28. PMID: 30940985; PMCID: PMC6438253.

Ben Y, Fu C, Hu M, Liu L, Wong MH, Zheng C. Human health risk assessment of antibiotic resistance associated with antibiotic residues in the environment: A review. Environ Res. 2019 Feb;169:483-493. doi: 10.1016/j.envres.2018.11.040. Epub 2018 Nov 26. PMID: 30530088.

CLSI. (2022). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 32th Edition, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Codex Alimentarius. (2015). Guidelines for risk analysis of foodborne antimicrobial resistance. CAC/GL 77-2011:1-28. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXG%2B772011%252FCXG_077e.pdf.

Codex Alimentarius. (2021). Code of Practice to Minimize and Contain Foodborne Antimicrobial Resistance. Code of Practice to Minimize and Contain Foodborne Antimicrobial Resistance:1-13. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXC%2B61-2005%252FCXC_061e.pdf.

Codex Alimentarius. (2021). Guidelines on integrated monitoring and surveillance of foodborne antimicrobial resistance. CXG 94-2021: 1-14. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXG%2B94-2021%252FCXG_94e.pdfEUCAST. (2022). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 12.0. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. https://www.eucast.org/clinical_breakpoints.

EUCAST. (2022). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 12.0. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. https://www.eucast.org/clinical_breakpoints.

FAO. (2019). MONITORING AND SURVEILLANCE OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN BACTERIA FROM HEALTHY FOOD ANIMALS INTENDED FOR CONSUMPTION. Regional Antimicrobial Resistance Monitoring and Surveillance Guidelines – Volume 1. Bangkok.



FAO and WHO. (2022). Foodborne antimicrobial resistance: Compendium of Codex standards. Rome. <https://www.fao.org/documents/card/en/c/cb8554en>.

Qeenan, Hasler, Rushton. (2016). A One Health approach to antimicrobial resistance surveillance: is there a business case for it? *Int J Antimicrob Agents*, 48(4), 422-427.

Tangcharoensathien V, Sattayawutthipong W, Kanjanapimai S, Kanpravidh W, Brown R, Sommanustweechai A. (2017) Antimicrobial resistance: from global agenda to national strategic plan, Thailand. *Bull World Health Organ*. 95(8):599-603. doi: 10.2471/BLT.16.179648. Epub 2017 May 11. PMID: 28804172; PMCID: PMC5537745.

Tripartite AMR Country Self-assessment Survey – TrACSS (6.0) (2022). https://cdn.who.int/media/docs/default-source/antimicrobial-resistance/year-6-tracss-questionnaire-final.pdf?sfvrsn=e70a52ed_9&download=true.

United Nations Environment Programme (2006). Strategic approach to international chemicals management. <https://wedocs.unep.org/20.500.11822/8464>.

United Nations Environment Programme (2022). Environmental Dimensions of Antimicrobial Resistance: Summary for Policymakers.

WHO. (2015). Global action plan on antimicrobial resistance. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/193736>.

WHO. (2017). Integrated surveillance of antimicrobial resistance in foodborne bacteria: application of a one health approach: guidance from the WHO Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance (AGISAR). World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/255747>.

WHO. (2019). WOA – Terrestrial Animal Health Code. 28th Edition, 73-76. https://rr-europe.woah.org/wp-content/uploads/2020/08/oie-terrestrial-code-1_2019_en.pdf.

WHO. (2021). WHO integrated global surveillance on ESBL-producing *E. coli* using a “One Health” approach: implementation and opportunities. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/340079>.

กระทรวงสาธารณสุข, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, สำนักงานคณะกรรมการสุขภาพแห่งชาติ, สำนักงานหลักประกันสุขภาพแห่งชาติ. (2560). แผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพประเทศไทย พ.ศ. 2560-2564. กรุงเทพฯ: กระทรวงสาธารณสุข.

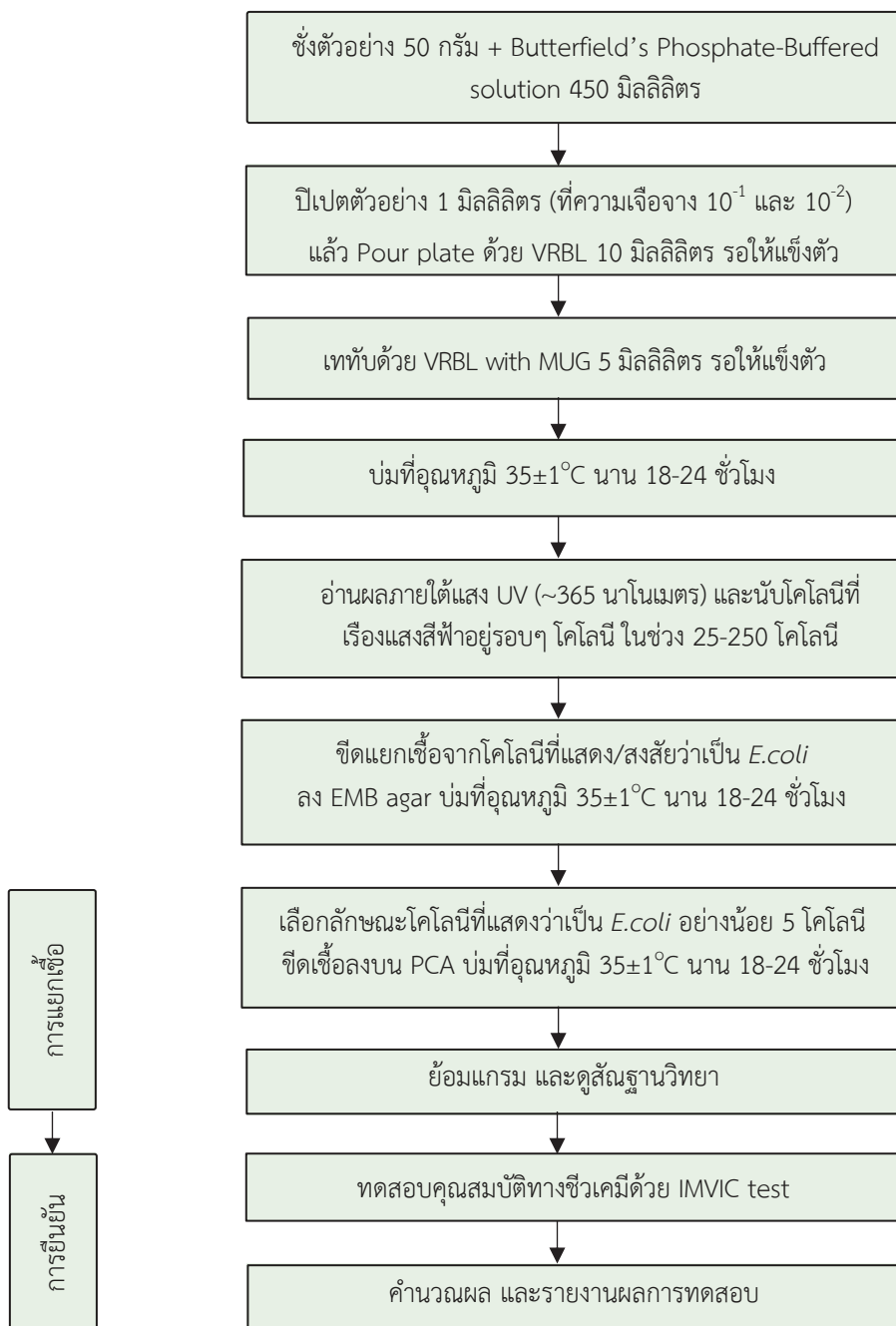
สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. (2548). หลักการทำงานในการวิเคราะห์ความเสี่ยง มกอช. 9006 – 2548. กรุงเทพฯ: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.



ภาคผนวก

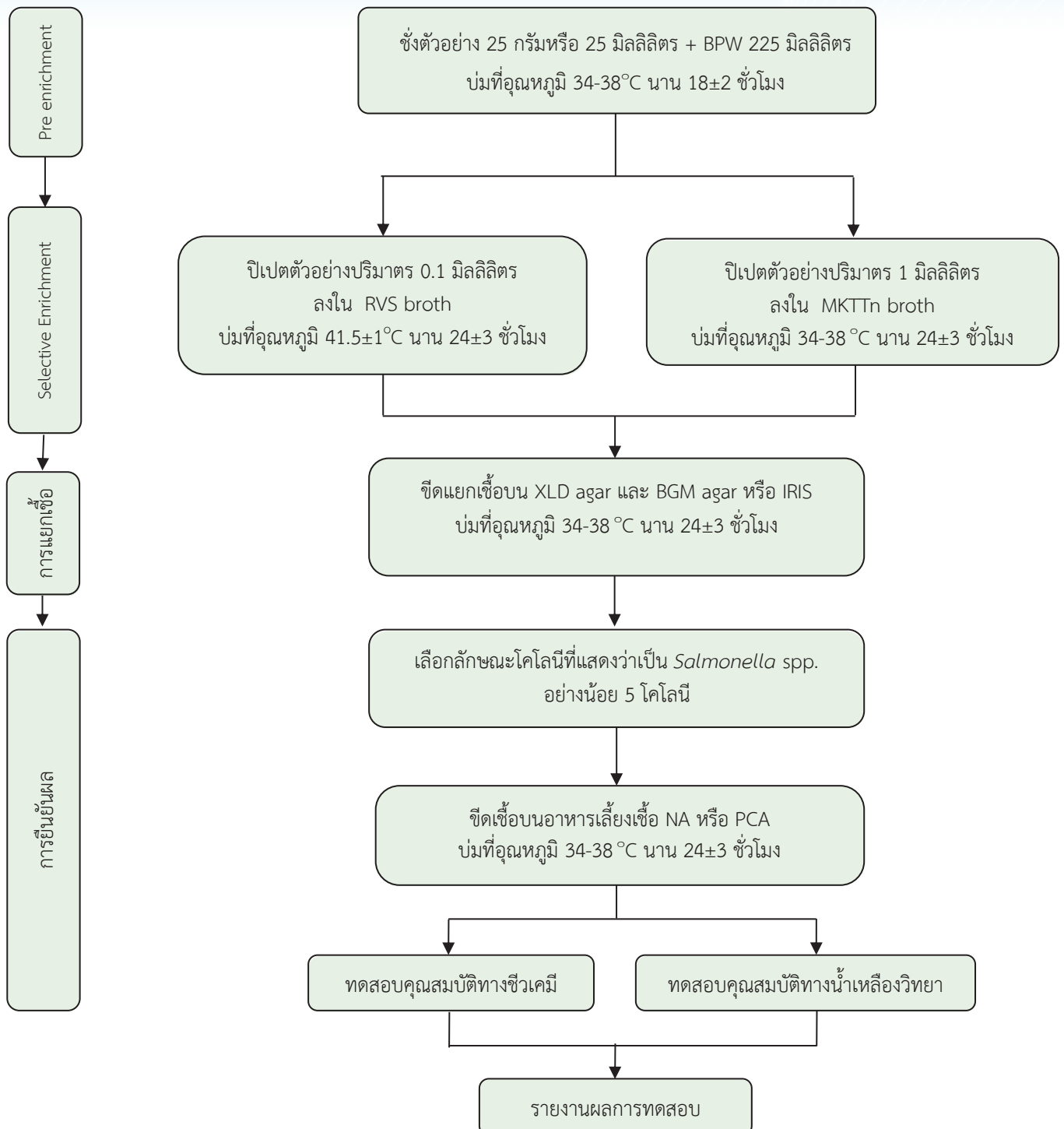
ภาคผนวกที่ 1 ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์เชื้อจากตัวอย่างอาหารที่เป็นผลิตภัณฑ์จากสัตว์

1.1 ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Escherichia coli* จากตัวอย่างอาหารที่เป็นผลิตภัณฑ์จากสัตว์



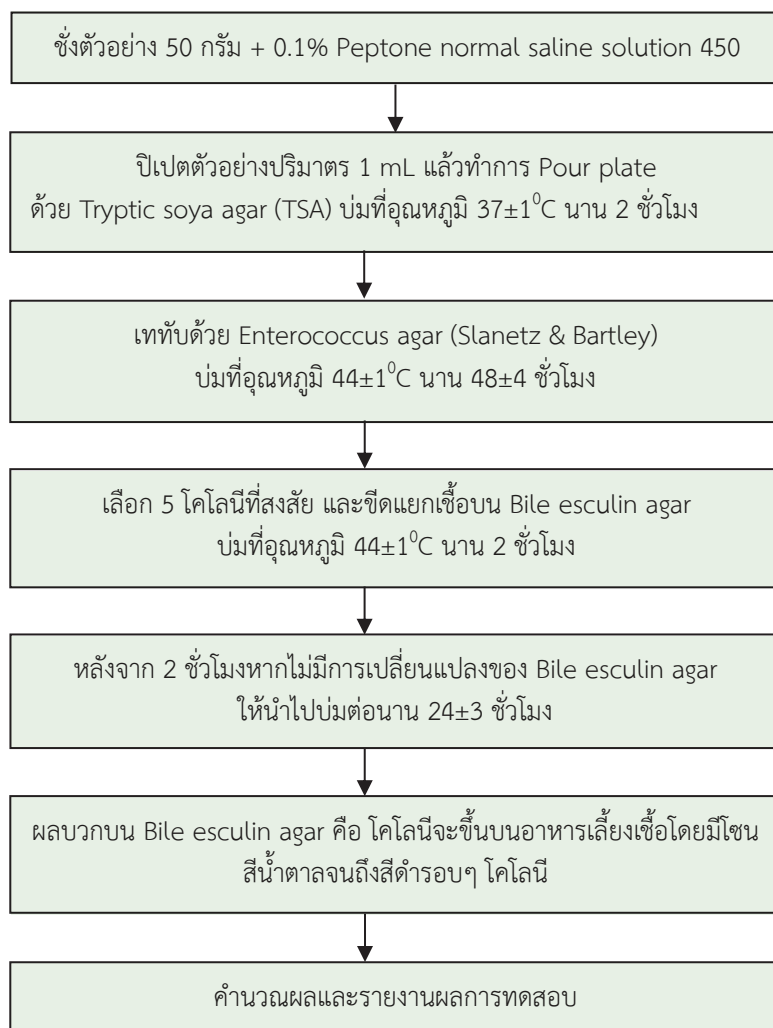


1.2 ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* spp. จากตัวอย่างอาหารที่เป็นผลิตภัณฑ์จากสัตว์





1.3 ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Enterococcus faecalis* และ *Enterococcus faecium* จากตัวอย่างอาหารที่เป็นผลิตภัณฑ์จากสัตว์



เอกสารอ้างอิง

Feng, P., S.D. Weagant, M.A. Grant, and W. Burkhardt. (2017). Bacteriological Analytical Manual. Chapter 4: Enumeration of *Escherichia coli* and Coliform Bacteria (online).

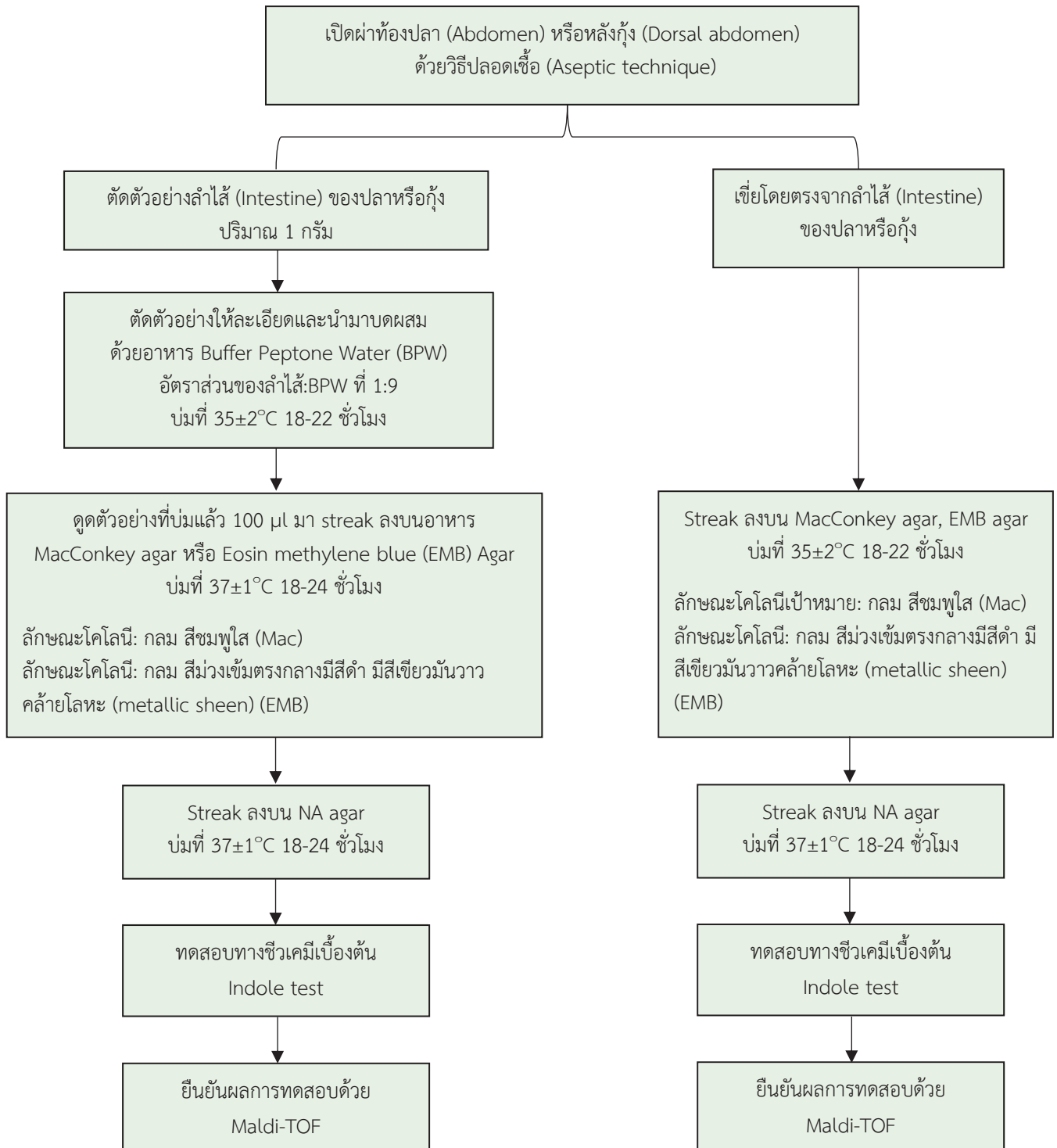
ISO 6579-1: (2017). Microbiology of food chain-Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* Part 1: Detection of *Salmonella* spp. 1st edition. Published by the international organization for standardization 2017-02.

Nordic Committee on Food Analysis. (2011) . *Enterococcus*. Determination in foods and feeds. No. 68, 5th edition.



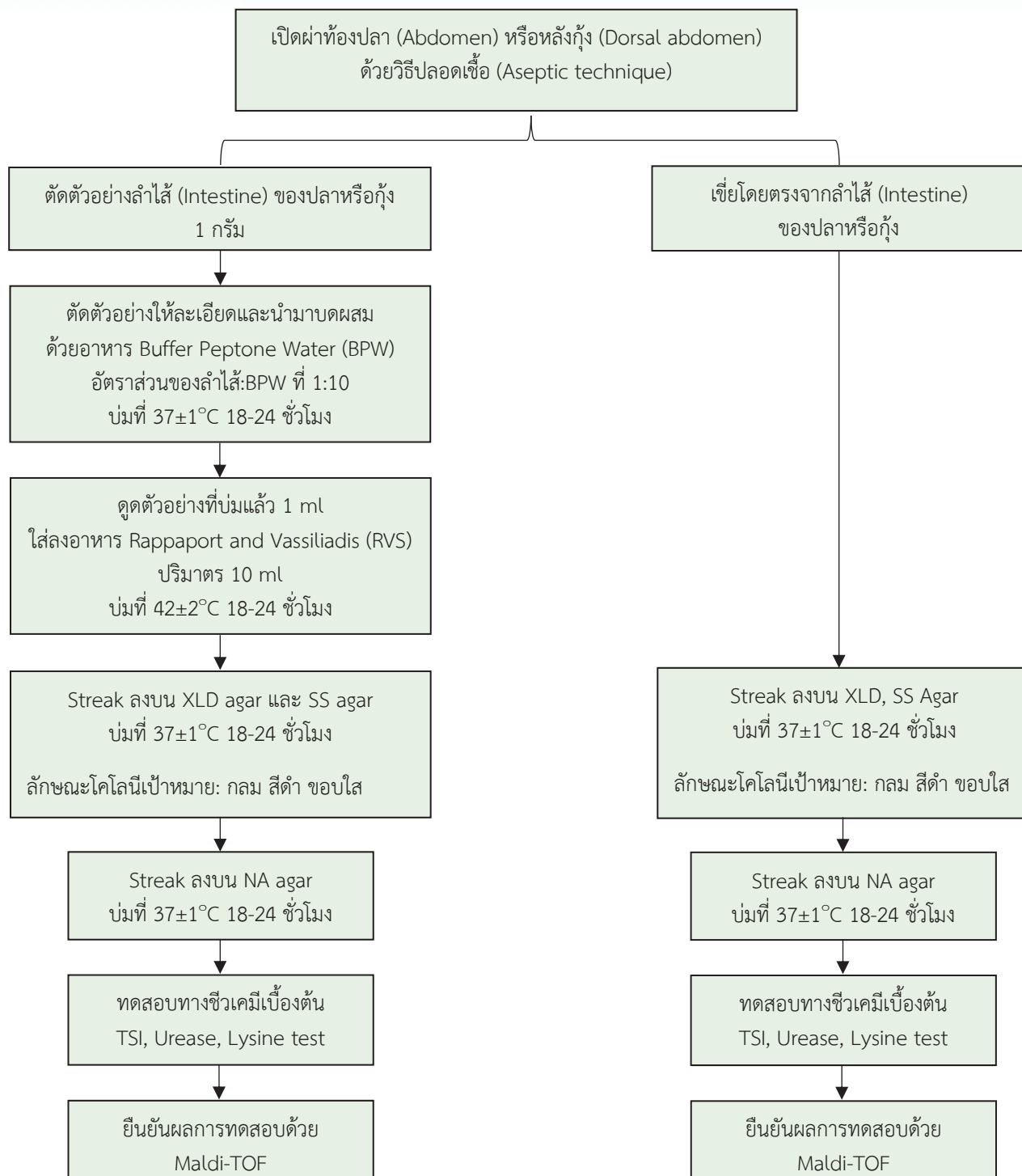
ภาคผนวกที่ 2 ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์เชื้อจากตัวอย่างสัตว์น้ำ

2.1 ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *E. coli* จากตัวอย่างสัตว์น้ำ



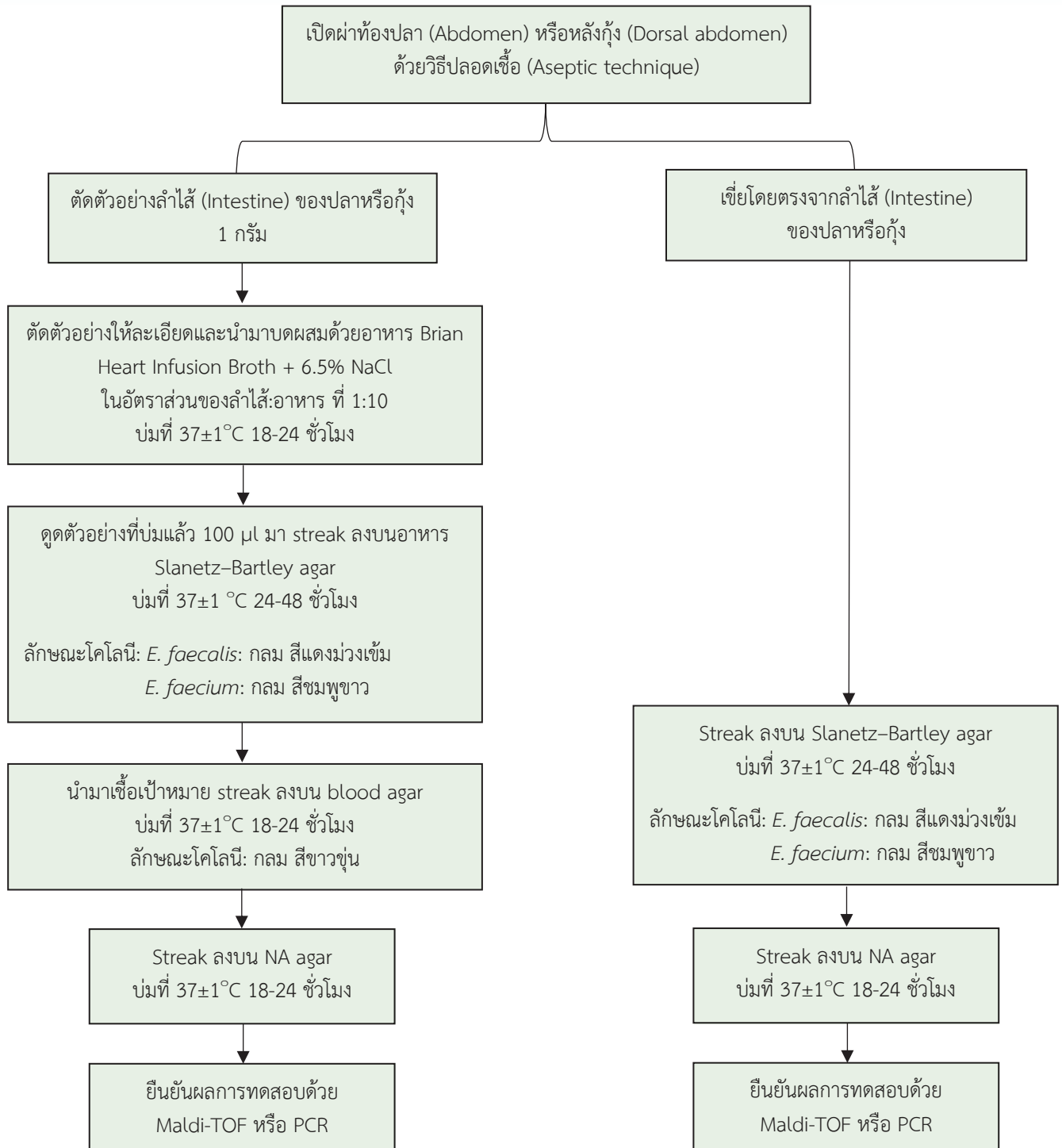


2.2 ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* spp, จากตัวอย่างสัตว์น้ำ





2.3 ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ *Enterococcus faecalis* และ *Enterococcus faecium* จากตัวอย่าง สัตว์น้ำ





เอกสารอ้างอิง

Buller, N.B. 2004. Bacteria from fish and other aquatic animals: a practical identification manual. Chapter 2.1 Bacteriological Culture Techniques: Microscopy, Culture and Identification. CABI Publishing, Oxfordshire. 394 pp.

Deng Y. 2021. FAO Virtual Training Course on Surveillance and Monitoring of Antimicrobial Resistance in Aquaculture. Procedures for bacterial isolation and identification. Presentation.

Deng Y. 2021. FAO Virtual Training Course on Surveillance and Monitoring of Antimicrobial Resistance in Aquaculture. Sample processing. Presentation.

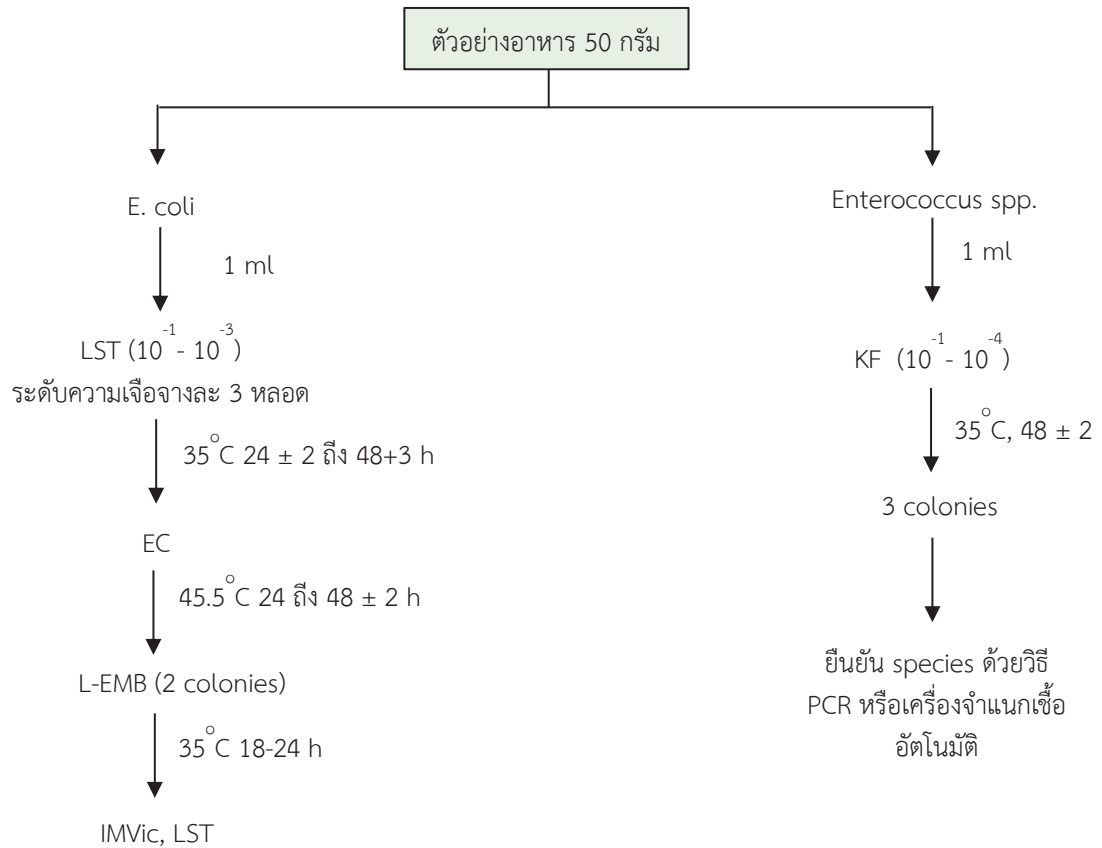
Devane ML, et al. 2020. Fecal indicator bacteria from environmental sources; strategies for identification to improve water quality monitoring. Water Res 185:116204

FAO. 2019. Monitoring and surveillance of antimicrobial resistance in bacteria from healthy food animals intended for consumption. Regional Antimicrobial Resistance Monitoring and Surveillance Guidelines – Volume 1. Bangkok.



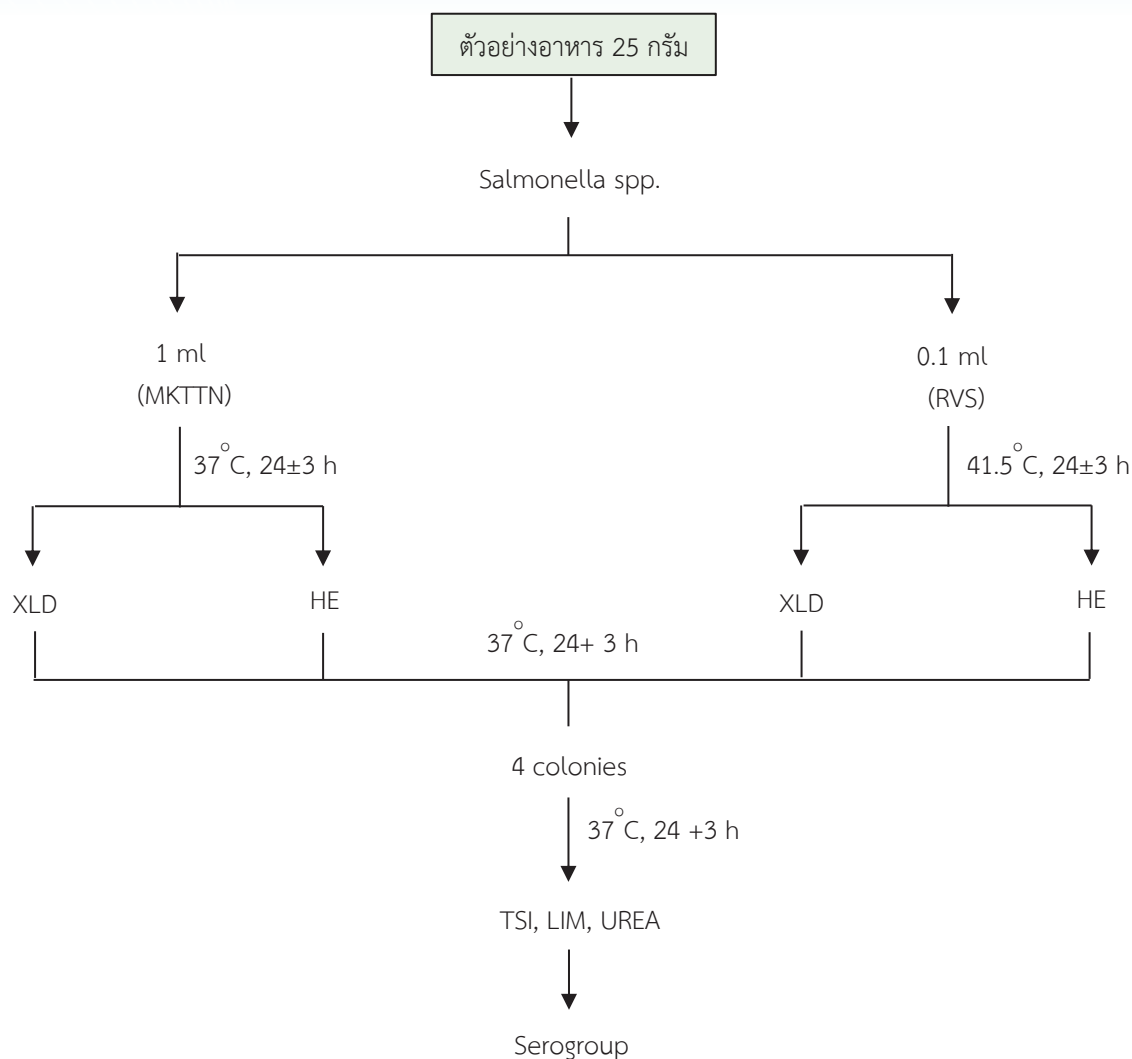
ภาคผนวกที่ 3 ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์เชื้อจากตัวอย่างอาหาร

3.1 ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *E. coli* และ *Enterococcus* spp. จากตัวอย่างอาหาร





3.2 ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* spp. จากตัวอย่างอาหาร



นำเชื้อที่แยกได้ มาทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ (หาค่า MIC) ด้วยเครื่อง BD Phoenix™ M50 Automated Microbiology System



เอกสารอ้างอิง

American Public Health Association (2015) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 5th ed., Chapter 10 Enterococci, American Public Health Association, Washington, D.C.

Feng, P., Weagant, S. D., Grant, M. A., & Burkhardt, W. (2020). Bacteriological Analytical Manual (BAM). BAM Chapter 4: enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform bacteria USA: FDA. Retrieved from <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliform-bacteria>.

International Organization for Standardization. (2020). Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* ISO 6579-1:2017/Amd.1:2020.



ภาคผนวกที่ 4 วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำจากสิ่งแวดล้อม

4.1 วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำผิวดิน

1. วิธีการเก็บตัวอย่าง

1.1 การกำหนดจุดเก็บตัวอย่างน้ำผิวดิน

เก็บน้ำบริเวณจุดกึ่งกลางและความกว้างของแหล่งน้ำ ณ ที่ระดับกึ่งกลางความลึก โดยทั่วไปจุดเก็บตัวอย่างน้ำจะประกอบด้วย 3 ส่วนใหญ่ๆ ซึ่งใช้เป็นหลักในการกำหนดจุดเก็บน้ำ ได้แก่

- 1) จุดอ้างอิง (Reference Site) ได้แก่ จุดต้นน้ำ หรือจุดที่ยังไม่ได้รับผลกระทบจากแหล่งมลพิษใดๆ ซึ่งใช้อ้างอิงสภาพธรรมชาติที่แท้จริงของแหล่งน้ำนั้นๆ
- 2) จุดตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำ (Sampling site) เป็นจุดตรวจสอบคุณภาพน้ำที่อยู่ในช่วงที่มีการใช้ประโยชน์หรือ ได้รับผลกระทบจากแหล่งมลพิษต่างๆ ของแหล่งน้ำโดยจุดตรวจสอบจะกำหนดขึ้นเพื่อใช้ตรวจแนวโน้มของสภาพปัญหาในแหล่งน้ำที่จะมีการเปลี่ยนแปลงในระยะยาว เพื่อประโยชน์ในการวางแผนจัดการคุณภาพน้ำตามทิศทางของปัญหา
- 3) จุดตรวจสอบท้ายน้ำ (Global river flux site) ได้แก่ จุดตรวจสอบบริเวณปากแม่น้ำหรือปลายสุดของแหล่งน้ำก่อนจะถูกระบายลงสู่แหล่งรองรับน้ำอื่นๆ เช่น ทะเล หรือ มหาสมุทร เป็นต้น เป็นจุดที่ใช้ตรวจสอบสถานภาพของแหล่งน้ำลำดับสุดท้ายเพื่อประเมินผลกระทบที่เกิดขึ้นหลังจากผ่านแหล่งรองรับมลสารต่างๆ ตลอดทั้งลำน้ำแล้ว ตัวอย่างการกำหนดจุดเก็บตัวอย่างน้ำของแม่น้ำ

1.2 วิธีการเก็บตัวอย่าง

ตัวอย่างน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน ซึ่งได้แก่ แม่น้ำ ลำคลอง เป็นต้น ใช้อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างน้ำในแหล่งน้ำไหล ได้แก่ อุปกรณ์เก็บตัวอย่างน้ำ (Water Sampler) โดยจะทำการเก็บบริเวณจุดกึ่งกลางและความกว้างของแหล่งน้ำ ณ ที่ระดับกึ่งกลางความลึก เว้นแต่ แบบที่เรียกกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมด และแบบที่เรียกกลุ่มฟิคอลโคลิฟอร์ม จะเก็บที่ระดับความลึก 30 เซนติเมตร

2. อุปกรณ์การเก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำผิวดิน

2.1 ขวดเก็บตัวอย่าง

- ขวดเก็บตัวอย่าง Duran ขนาด 500 มิลลิลิตร สำหรับเก็บตัวอย่างการทดสอบเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพในสิ่งแวดล้อม 3 ชนิด เชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ 3 ชนิด : (1) Extended



Spectrum Beta - Lactamase producing *E. coli* (ESBL- *E. coli*)
(2) Fluoroquinolone Resistant *Salmonella* spp. และ (3) Vancomycin
Resistant *Enterococcus* spp. (VRE)

- ขวดพลาสติก (Polyethylene: PE) ขนาด 1,000 มิลลิลิตร สำหรับเก็บ BOD SS
Settleable solid
- ขวดแก้วสีชา ขนาด 1,000 มิลลิลิตร สำหรับเก็บ FOG และขนาด 150 มิลลิลิตร สำหรับ
เก็บโคลิฟอร์มแบคทีเรีย
- ขวดพลาสติก (High density polyethylene: HDPE) 1,000 มิลลิลิตร สำหรับเก็บ
ตัวอย่างน้ำวิเคราะห์ค่า TP, NO₃-N และ NH₃-N

2.2 อุปกรณ์การเก็บตัวอย่างน้ำ

- Sample/ ถัง/กระป๋องดักตัวอย่างน้ำ กรวย
- เชือกยาวประมาณ 5-10 เมตร
- ถุงมือ/ฉลาก//ปากกาเขียนฉลาก (แบบกันน้ำ)

2.3 อุปกรณ์การรักษาสภาพตัวอย่างน้ำและส่งตัวอย่างน้ำ

- ใบส่ง/รับตัวอย่างน้ำ
- กล่องรักษาความเย็นสำหรับบรรจุขวดเก็บตัวอย่าง
- น้ำแข็งสำหรับแช่ตัวอย่าง
- ถุงดำ/เทปขาว/กรรไกร/ซองพลาสติก
- กระดาษพิมพ์ชื่อที่อยู่ของผู้รับตัวอย่าง

3. ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อการตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

- การเก็บตัวอย่างน้ำที่เป็นตัวแทนของแหล่งน้ำทั้งวัน ทำได้โดยการเก็บแบบจ้วงจากจุด
เดียวกัน แต่เวลาต่างกัน หลังจากนั้นจึงนำมาผสมรวมกัน นั่นคือ เป็นการเฉลี่ยความเข้มข้นของตัวอย่างน้ำ ณ จุด
เก็บในช่วงเวลาหนึ่งๆ ซึ่งมาตรฐานมักใช้ช่วงเวลาเก็บ 24 ชั่วโมง และถือว่าตัวอย่างแบบผสมรวมนี้เป็นตัวแทนของ
แหล่งน้ำนั้น วิธีการเก็บตัวอย่างแบบผสมรวมนี้ มักใช้เก็บตัวอย่างน้ำที่มีคุณลักษณะทางกายภาพ และทางเคมี ที่ไม่
คงที่ในแต่ละช่วงเวลา เนื่องมาจากกิจกรรมที่ปฏิบัติมีความแตกต่างกัน ได้แก่ แหล่งน้ำเสีย เช่น น้ำเสียจากโรงงาน
อุตสาหกรรม น้ำเสียจากระบบบำบัดน้ำเสีย และน้ำเสียจากอาคารบ้านเรือน เป็นต้น

- ปริมาตรของตัวอย่างน้ำแบบผสมรวมขึ้นอยู่กับจำนวนและชนิดของพารามิเตอร์ที่ต้องการ
วิเคราะห์โดยปกติควรเก็บตัวอย่างแบบผสมรวมไม่น้อยกว่า 2 ลิตร และอย่างมากไม่เกิน 4 ลิตร ความถี่ในการเก็บ
ตัวอย่างแบบจ้วง เพื่อนำมาผสมเป็นตัวอย่างผสมแบบรวม ขึ้นอยู่กับความกว้างของคุณลักษณะน้ำ หากน้ำเสียมี



คุณลักษณะคงที่หรือมีการเปลี่ยนแปลงน้อย การเก็บตัวอย่างแบบจ้วงก็มีความถี่น้อย เช่น เก็บทุก 4 ชม. หรือมากกว่า ซึ่งความถี่น้อยที่สุดคือ วันละ 1 ครั้ง นั้นหมายความว่า ตัวอย่างแบบจ้วงสามารถเป็นตัวแทนของแหล่งน้ำเสียได้ และไม่มีความจำเป็นต้องใช้ตัวอย่างแบบผสมรวม แต่หากน้ำเสียมีคุณลักษณะไม่คงที่หรือมีการเปลี่ยนแปลงสูงเนื่องจากกิจกรรมที่เกิดขึ้น การเก็บตัวอย่างแบบจ้วงต้องเก็บให้ถี่ขึ้น เช่น เก็บทุกชั่วโมง เป็นต้น และการผสมของตัวอย่างน้ำ ควรใช้ขนาดตัวอย่างตามสัดส่วนของอัตราการไหลของน้ำเสียด้วย

4. วิธีการตรวจสอบ

โดยตัวอย่างน้ำจะถูกนำมาทำการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ (Laboratory) ของกรมควบคุมมลพิษร่วมกับสำนักงานสิ่งแวดล้อมภาค ในพารามิเตอร์ที่กำหนดไว้ในมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน ดังรายละเอียดที่กล่าวมาแล้วข้างต้น โดยวิธีการตรวจสอบเป็นไปตามวิธีการมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์น้ำและน้ำเสีย Standard Methods for Examination of Water and Wastewater ซึ่ง APHA : American Public Health Association, AWWA : American Water Works Association และ WPCF : Water Pollution Control Federation ของสหรัฐอเมริกาาร่วมกันกำหนด

เอกสารอ้างอิง

กรมควบคุมมลพิษ. คู่มือการปฏิบัติงานการดำเนินการติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน, สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2561.

กรมควบคุมมลพิษ. คู่มือการติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน, สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2546.



4.2 วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำเสียจากระบบบำบัดน้ำเสียรวมของชุมชน

1. วิธีการเก็บตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างน้ำระบบบำบัดน้ำเสียรวมของชุมชนจะทำการเก็บ ดังนี้

- จุดน้ำเข้า (influent) การเก็บตัวอย่างน้ำเข้าให้เก็บตรงจุดรวมน้ำเสียสุดท้ายก่อนเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสีย ได้แก่ บ่อพักน้ำเสียหรือบ่อกระจายน้ำเสีย
- จุดน้ำทิ้ง (Effluent) การเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งให้เก็บตรงจุดระบายน้ำออกของบ่อเติมคลอรีนหรือจุดน้ำออกของบ่อสุดท้าย

2. อุปกรณ์การเก็บตัวอย่างน้ำเสียเข้าระบบบำบัดน้ำเสียรวมของชุมชน น้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำรวมของชุมชน

2.1 ขวดเก็บตัวอย่าง

- ขวดเก็บตัวอย่าง Duran ขนาด 500 มิลลิลิตร สำหรับเก็บตัวอย่างการทดสอบเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพในสิ่งแวดล้อม 3 ชนิด เชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ 3 ชนิด : (1) Extended Spectrum Beta - Lactamase producing *E. coli* (ESBL- *E. coli*) (2) Fluoroquinolone Resistant *Salmonella* spp. และ (3) Vancomycin Resistant *Enterococcus* spp. (VRE)
- ขวดพลาสติก (Polyethylene: PE) ขนาด 1,000 มิลลิลิตร สำหรับเก็บ BOD SS Settleable solid
- ขวดแก้วสีชา ขนาด 1,000 มิลลิลิตร สำหรับเก็บ FOG และขนาด 150 มิลลิลิตร สำหรับเก็บโคลิฟอร์มแบคทีเรีย
- ขวดพลาสติก (High density polyethylene: HDPE) ขนาด 1,000 มิลลิลิตร สำหรับเก็บ TKN TP

2.2 อุปกรณ์การเก็บตัวอย่างน้ำ

- อุปกรณ์เก็บตัวอย่างน้ำ (Water Sampler)/ ถัง/กระป๋องตักตัวอย่างน้ำ กรวย
- เชือกยาวประมาณ 5-10 เมตร
- ถังมือ/ฉลาก//ปากกาเขียนฉลาก (แบบกันน้ำ)

2.3 อุปกรณ์การรักษาสภาพตัวอย่างน้ำและส่งตัวอย่างน้ำ

- ใบส่ง/รับตัวอย่างน้ำ
- กล่องรักษาความเย็นสำหรับบรรจุขวดเก็บตัวอย่าง
- น้ำแข็งสำหรับแช่ตัวอย่าง



- ถังดำ/เทพขาว/กรรไกร/ช่องพลาสติก
- กระดาษพิมพ์ชื่อที่อยู่ของผู้รับตัวอย่าง

3. ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งเพื่อการตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ
 - เก็บตัวอย่างน้ำทิ้งที่ระดับความลึกประมาณครึ่งหนึ่งของบ่อที่ต้องการสุ่มตัวอย่างนั้น
 - เทตัวอย่างน้ำที่ได้จากการสุ่มเก็บ รวบรวมในถังรวมก่อนนำไปแยกบรรจุภาชนะอื่นๆ เพื่อตรวจวิเคราะห์และทดสอบต่อไป ทั้งนี้ควรบรรจุตัวอย่างน้ำลงในขวดบรรจุตัวอย่างเพื่อทดสอบทางแบคทีเรียก่อนภาชนะอื่นๆ

เอกสารอ้างอิง

กรมควบคุมมลพิษ. คู่มือเก็บตัวอย่างน้ำจากระบบบำบัดน้ำเสียรวมของชุมชน, สำนักจัดการคุณภาพน้ำ
กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2550.



ภาคผนวกที่ 5 SOP การตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp. และ *Salmonella* spp. ดื้อยาจากสิ่งแวดล้อม

1. ความมุ่งหมาย

เอกสารนี้จัดทำขึ้นเพื่อเป็นมาตรฐานการตรวจวินิจฉัยยืนยันการจำแนกเชื้อ *E. coli*, *Enterococcus* spp. และ *Salmonella* spp. ดื้อยา จากตัวอย่างน้ำ แหล่งน้ำผิวดิน น้ำเสีย น้ำทิ้ง ตะกอนจากแหล่งน้ำ ระบบบำบัดน้ำเสียรวมชุมชน ระบบบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาล ฟาร์มปศุสัตว์ บ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

2. การใช้งาน

ใช้เป็นมาตรฐานการตรวจวินิจฉัยชนิดเชื้อ *E. coli*, *Enterococcus* spp. และ *Salmonella* spp. ดื้อยา ที่แยกได้จากตัวอย่างสิ่งแวดล้อม ด้วยวิธีชีวเคมีและทดสอบความไวของเชื้อต่อยา

3. เอกสารอ้างอิง

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 32nd ed. CLSI supplement M100 (ISBN 978-1-68440-067-6). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2020.

Gekenidis M-T, Qi W, Hummerjohann J, Zbinden R, Walsh F, Drissner D (2018) Antibiotic resistant indicator bacteria in irrigation water: High prevalence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli*. PLoS ONE. 13 (11): e0207857. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207857>.

Masateru Nishiyama, Yoshitoshi Ogura, Tetsuya Hayashi and Yoshihiro Suzuki (2017) Antibiotic Resistance Profiling and Genotyping of Vancomycin-Resistant Enterococci Collected from an Urban River Basin in the Provincial City of Miyazaki, Japan. Water. 9, (79). Doi:10.3390/w9020079.

WHO Integrated Global Survey on ESBL-producing *E. coli* using a “One Health” approach, “The Tricycle Project” Protocol version 2.1-Pilot version

Nancy A. Strockbine, Cheryl A. Bopp, Patricia I. Fields, James B. Kaper, and James P. Nataro. *Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella* In : James H. Jorgensen, Michael A. Pfaller, Karen C. Carroll, editors. Manual of Clinical Microbiology Vol.1, 11th ed. Washington, DC. ASM Press ; 2015. P.685-713



Brenner DJ, Farmer III JJ. Family *Enterobacteriaceae*. In : Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT editors. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol.2 Part B, 2nd ed. USA. Springer ; 2005. P.587-607

Teixeira L.M., Carvalho M.G.S and Facklam R.R, Enterococcus. In Murray P.R. et al. Manual of Clinical Microbiology. 11th Edition. USA: Washington, 2007. P 403-421.

Garcia, L.S. and Isenberg, H.D. (2010) Clinical Microbiology Procedures Handbook. Third Edition, ASM Press, Washington DC.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. 13th ed. CLSI standard M02 (ISBN 1-56238-834-7 [Print]; ISBN 1-56238-835-5 Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2018.

4. นิยามและคำย่อ

4.1	PCA	Plate count agar
4.2	TBX	Tryptone bile x-glucuronide medium
4.3	TBX-cef	Tryptone bile x-glucuronide medium with 4 µg/mL of cefotaxime
4.4	SBA	Slanetz Bartley agar
4.5	SBA-van	Slanetz Bartley agar with 6 µg/mL of vancomycin
4.6	XLT	Xylose Lactose Tergitol™ 4 agar
4.7	XLT-cip	Xylose Lactose Tergitol™ 4 agar with 1 µg/mL of ciprofloxacin
4.8	TSA	Tryptic soy agar
4.9	PBS	Phosphate buffer saline
4.10	CFU	colony forming unit
4.11	ESBL	extended-spectrum beta-lactamase producing E. coli
4.12	VRE	vancomycin resistant Enterococci
4.13	ml	มิลลิลิตร
4.14	BA	Sheep blood agar

5. หลักการ

การตรวจเชื้อ *E. coli*, *Enterococcus* spp. และ *Salmonella* spp. ดั้อยากสิ่งแวดล้อม โดยนำตัวอย่างน้ำส่งตรวจมาตรวจด้วยวิธี direct inoculation และนำมาปั่นกรองเพื่อให้ได้ตะกอนเชื้อ นำมาผสมกับ PBS แล้วนำไปเพาะลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TBX, TBX-cef, SBA, SBA-van, XLT และ XLT-cip นับจำนวนโคโลนีที่



สงสัยและนำเชื้อที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าว มาตรวจวินิจฉัยชนิดเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธีชีวเคมี เพื่อดูปฏิกิริยาทางชีวเคมีของเชื้อต่อสารอาหารที่ใช้ ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีของ Indicator หรือดูความสามารถในการเจริญเติบโต โดยเฉพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ รวมทั้งดูความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ และทดสอบความไวของเชื้อต่อยา

6. เอกสารที่เกี่ยวข้อง

- 6.1 SOP การบริหารจัดการตัวอย่างตรวจในห้องปฏิบัติการ (SOP 13-00-051)
- 6.2 SOP การจัดเก็บและการทำลายตัวอย่างหลังการวิเคราะห์ (SOP 13-06-012)
- 6.3 SOP การย้อมสีแบคทีเรียชนิดต่างๆ (SOP13-08-027)
- 6.4 SOP การทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ (SOP 13-02-534)
- 6.5 WI การเก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์โดยวิธีการแช่แข็ง (Freezing) (WI 13-06-010)

7. ความปลอดภัย

- 7.1 ตัวอย่างที่นำมาทดสอบ คือ ตัวอย่างน้ำที่อาจปนเปื้อนเชื้อ *E. coli*, *Enterococcus* spp. และ *Salmonella* spp. เป็นเชื้ออยู่ใน Risk group 2 (ตามหนังสือเชื้อโรคและระดับความเสี่ยง กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข)
- 7.2 การป้องกันอันตราย/ข้อควรระวังเป็นพิเศษ ป้องกันการสูดดมฝอยละอองจากตัวอย่าง
- 7.3 ผู้ปฏิบัติงานต้องสวมใส่อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล ดังนี้ หน้ากากอนามัย, หมวกคลุมผม, เสื้อกาวน์ และถุงมือ ขณะปฏิบัติงาน
- 7.4 อุปกรณ์ที่ต้องใช้เพื่อความปลอดภัยสำหรับการเตรียมตัวอย่างและการทำงานกับเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ ต้องทำในตู้ชีวนิรภัย ระดับ 2
- 7.5 น้ำยาฆ่าเชื้อ (Disinfectant) ที่ใช้ 0.5 % virkon หรือ 0.2 % Bactyl
- 7.6 การจัดการกับตัวอย่าง/เชื้อ นึ่งทำลายเชื้อ
- 7.7 ผู้ปฏิบัติงานต้องปฏิบัติตามระเบียบปฏิบัติเพื่อความถูกต้องและปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ (ตามคู่มือมาตรฐานความปลอดภัยห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางการแพทย์และสาธารณสุข)

8. เครื่องมือเครื่องใช้

- 8.1 เครื่องมือและอุปกรณ์
 - 8.1.1 walk-in incubator (35±2 องศาเซลเซียส)
 - 8.1.2 หลอดปั่นปราศจากเชื้อขนาด 50 มิลลิลิตร
 - 8.1.3 แ่งแก้วสามเหลี่ยมปราศจากเชื้อ
 - 8.1.4 ปิเปตขนาด 10 มิลลิลิตร



- 8.1.5 กระบอกตวงปราศจากเชื้อขนาด 250 มิลลิลิตร
- 8.1.6 ขวดตูแรนปราศจากเชื้อขนาด 250 มิลลิลิตร
- 8.1.7 ปากคืบปราศจากเชื้อ
- 8.1.8 ขวดกรองสาร (suction flask) ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
- 8.1.9 เครื่องปั๊มสุญญากาศ
- 8.1.10 ชุดกรองของเหลวปราศจากเชื้อ
- 8.1.11 แผ่นกรองขนาด 0.45 ไมครอนชนิด polycarbonate ปราศจากเชื้อ
- 8.1.12 กรรไกรและปากคืบที่ปราศจากเชื้อ
- 8.1.13 เครื่องเขย่าหลอด
- 8.1.14 ตู้ชีวนิรภัยระดับ 2
- 8.1.15 ตู้ปลอดเชื้อ
- 8.1.16 งานเพาะเชื้อพลาสติกปราศจากเชื้อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร
- 8.1.17 ตู้เย็น 4±3 องศาเซลเซียส
- 8.1.18 เครื่องเผาอุปกรณ์
- 8.1.19 ลูบเปียเชื้อ
- 8.1.20 ปากกาเคมี
- 8.1.21 เครื่องวัดความขุ่นของเชื้อ (densitometer หรือ nephelometer)
- 8.1.22 ออโต้ปิเปตและปิเปตทิป ขนาด 1,000 ไมโครลิตร
- 8.1.23 เครื่องวัดค่าความเป็นกรดต่าง
- 8.1.24 กล้องจุลทรรศน์
- 8.1.25 สไลด์สำหรับย้อมแกรม
- 8.2 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี
 - 8.2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ PCA
 - 8.2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ TBX
 - 8.2.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ TBX-cef
 - 8.2.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ SBA
 - 8.2.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ SBA-van
 - 8.2.6 อาหารเลี้ยงเชื้อ XLT
 - 8.2.7 อาหารเลี้ยงเชื้อ XLT-cip
 - 8.2.8 อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA
 - 8.2.9 อาหารเลี้ยงเชื้อ BA
 - 8.2.10 PBS



- 8.2.11 Absolute alcohol
- 8.2.12 น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ
- 8.2.13 น้ำยาฆ่าเชื้อ Virkon และ Bactyl
- 8.3 เชื้อควบคุมคุณภาพ
 - 8.3.1 *Escherichia coli* ATCC 25922
 - 8.3.2 *Escherichia coli* DMST 64427
 - 8.3.3 *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
 - 8.3.4 *Enterococcus faecium* DMST 64417
 - 8.3.5 *Salmonella* spp. DMST 59028
 - 8.3.6 *Salmonella* spp. DMST 59964

9. วิธีการดำเนินการ

- 9.1 เมื่อตัวอย่างน้ำถูกส่งมายังห้องปฏิบัติการให้ตรวจสอบตามเกณฑ์ ดังนี้ ภาชนะบรรจุไม่แตกรั่วซึมและมีฉลากติดระบุรายละเอียด ตัวอย่างน้ำบรรจุในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็ง น้ำตัวอย่างมีปริมาตรไม่น้อยกว่า 500 มิลลิลิตร แล้วทำการตรวจวิเคราะห์ตามขั้นตอนต่อไปนี้

9.1.1 Direct inoculation method

- 9.1.1.1 คูดตัวอย่างน้ำมา spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA, TBX, TBX-cef, SBA, SBA-van, XLT และ XLT-cip ชนิดละ 2 เพลท เพลทละ 0.1 มิลลิลิตร บ่มเชื้อโดยวางคว่ำ เพลทที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ตรวจสอบโคโลนีที่พบและบันทึกผล จำนวน typical colony ลงในแบบบันทึกขั้นตอนการปฏิบัติงานตรวจเชื้อ *E. coli*, *Enterococcus* spp. และ *Salmonella* spp. จากแหล่งน้ำ โดยปฏิบัติตามข้อ 9.3

9.1.2 Concentration method

- 9.1.2.1 คูด PBS ปราศจากเชื้อใส่ลงในหลอดปั่นปราศจากเชื้อขนาด 50 มิลลิลิตร จำนวน 1 หลอดๆ ละ 5 มิลลิลิตร
- 9.1.2.2 คูดน้ำตัวอย่างปริมาตร 15 มิลลิลิตร ใส่ลงใน PBS ปริมาตร 135 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากันโดยการกลับขวดไปมา 20 ครั้ง ได้เป็น dilution 10-1
- 9.1.2.3 คูดน้ำตัวอย่างจากข้อ 9.2.2 ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ใส่ลงใน PBS ปริมาตร 135 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากันโดยการกลับขวดไปมา 20 ครั้ง ได้เป็น dilution 10-2
- 9.1.2.4 คูดน้ำตัวอย่างจากข้อ 9.2.3 ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ใส่ลงใน PBS ปริมาตร 135 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากันโดยการกลับขวดไปมา 20 ครั้ง ได้เป็น dilution 10-3



- 9.1.2.5 กรองน้ำตัวอย่าง จากข้อ 9.2.4 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผ่านแผ่นกรองขนาด pore 0.45 ไมครอนชนิด polycarbonate ในชุดเครื่องกรองปราศจากเชื้อและต่อกับเครื่องปั่นสุบสุญญากาศ
- 9.1.2.6 ใช้ปากคีบปราศจากเชื้อคีบแผ่นกรองใส่ลงในหลอดปั่นปราศจากเชื้อขนาด 50 มิลลิลิตร ที่เตรียมไว้ในข้อ 9.2.1 แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าหลอดที่ความแรงสูงสุดเพื่อให้ตะกอนหลุดออกมา โดยเขย่าด้วยเครื่อง vortex นาน 10 นาที
- 9.1.2.7 ดูดตัวอย่างในข้อ 9.2.6 มา spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA, TBX, TBX-cef, SBA, SBA-van, XLT และ XLT-cip ชนิดละ 2 เพลท เพลทละ 0.1 มิลลิลิตร บ่มเชื้อโดยวางคว่ำเพลทที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง
- 9.1.2.8 ตรวจสอบโคโลนีที่พบและบันทึกผลจำนวน typical colony ลงในแบบบันทึกขั้นตอนการปฏิบัติงานตรวจเชื้อ *E. coli* และ *Enterococcus* spp. ในตัวอย่างน้ำ โดยปฏิบัติตามข้อ 9.3
- 9.1.2.9 กรองน้ำตัวอย่าง จากข้อ 9.1.2.3, 9.1.2.2 และตัวอย่างน้ำที่ไม่เจือจาง ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผ่านแผ่นกรองขนาด pore 0.45 ไมครอนชนิด polycarbonate ในชุดเครื่องกรองปราศจากเชื้อและต่อกับเครื่องปั่นสุบสุญญากาศแล้วปฏิบัติตามข้อ 9.2.6 ถึง 9.2.8
- 9.2 เมื่อตัวอย่างตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียถูกส่งมายังห้องปฏิบัติการให้ปฏิบัติตามขั้นตอน SOP การบริหารจัดการตัวอย่างตรวจในห้องปฏิบัติการ รหัส SOP 13-00-51 ข้อ 10.1-10.9 แล้วทำการตรวจวิเคราะห์ตามขั้นตอนต่อไปนี้
- 9.2.1 ชั่งตัวอย่างตะกอน 10 กรัม ใส่ลงในหลอดปราศจากเชื้อปริมาตร 50 มิลลิลิตร
- 9.2.2 ดูด PBS ปราศจากเชื้อ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในข้อ 9.2.1 แล้วเขย่าด้วยเครื่อง vortex นาน 1 นาที ได้เป็น dilution 100
- 9.2.3 ดูดน้ำตัวอย่างจากข้อ 9.2.2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน PBS ปริมาตร 9 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex นาน 30 วินาที ได้เป็น dilution 10-1
- 9.2.4 ดูดน้ำตัวอย่าง จากข้อ 9.2.3 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน PBS ปริมาตร 9 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex นาน 30 วินาที ได้เป็น dilution 10-2
- 9.2.5 ดูดน้ำตัวอย่าง จากข้อ 9.2.4 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน PBS ปริมาตร 9 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex นาน 30 วินาที ได้เป็น dilution 10-3
- 9.2.6 ดูดตัวอย่างในข้อ 9.2.2 – 9.2.5 มา spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA, TBX, TBX-cef, SBA, SBA-van, SS และ SS-cip ชนิดละ 2 เพลท เพลทละ 0.1 มิลลิลิตร บ่มเชื้อโดยวางคว่ำเพลทที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ตรวจสอบโคโลนีที่พบและบันทึกผลจำนวน typical colony ลงในแบบบันทึกขั้นตอนการปฏิบัติงานตรวจเชื้อ *E. coli* และ *Enterococcus* spp. ในตัวอย่างน้ำ โดยปฏิบัติตามข้อ 9.3



9.3 เมื่อมีเชื้อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้นับจำนวน typical colony ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยโคโลนีที่พบ

- โคโลนีน้อยกว่า 50 โคโลนี ให้นับทั้งเพลท
- โคโลนี 51 ถึง 300 ให้นับจาก 1/2 เพลท
- โคโลนีมากกว่า 300 ให้นับจาก 1/4 เพลท

การนับจำนวนโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนี้

9.3.1 จำนวนเชื้อทั้งหมด ให้นับจำนวนเชื้อที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA

9.3.2 จำนวนเชื้อสงสัยเป็น *E. coli* ให้นับจำนวนเชื้อซึ่งมีลักษณะกลม ขอบเรียบ สีฟ้ามขี้เฒ่า ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TBX

9.3.3 จำนวนเชื้อสงสัยเป็น ESBL ให้นับจำนวนเชื้อซึ่งมีลักษณะกลม ขอบเรียบ สีฟ้ามขี้เฒ่า ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TBX-cef

9.3.4 จำนวนเชื้อสงสัยเป็น *Enterococcus* spp. ให้นับจำนวนเชื้อซึ่งมีลักษณะกลม ขอบเรียบ สีแดงเข้ม สีแดง หรือสีน้ำตาลอมแดง ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SBA

9.3.5 จำนวนเชื้อสงสัยเป็น VRE ให้นับจำนวนเชื้อซึ่งมีลักษณะกลม ขอบเรียบ สีแดงเข้ม สีแดง หรือสีน้ำตาลอมแดง ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SBA-van

9.3.6 จำนวนเชื้อสงสัยเป็น *Salmonella* spp. ให้นับจำนวนเชื้อซึ่งมีลักษณะกลม โคโลนีมีจุดสีดำตรงกลางโคโลนี ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLT

9.3.7 จำนวนเชื้อสงสัยเป็น *Salmonella* spp. ดื้อยา ให้นับจำนวนเชื้อซึ่งมีลักษณะกลม โคโลนีมีจุดสีดำตรงกลางโคโลนี ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLT-cip

9.4 เลือกโคโลนีเชื้อสงสัยเป็น *E. coli*, *Enterococcus* spp. และ *Salmonella* spp. จากอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้เลือกเชื้อสงสัยที่เจริญบน TBX-cef, SBA-van และ XLT-cip ตามลำดับ ชนิดละ 5 โคโลนี มาตรวจยืนยันเชื้อด้วยวิธีทดสอบทางชีวเคมี

9.4.1 การทดสอบชีวเคมีของเชื้อสงสัยเป็น *E. coli*

ให้ปฏิบัติตามขั้นตอน SOP การตรวจยืนยันเชื้อแบคทีเรียแกรมลบกลุ่ม *Enterobacteriaceae*, *Pasteurellaceae*, *Neisseriaceae* และ Fastidious bacteria รหัส SOP 13-02-373 ข้อ 10.1 เชื้อกลุ่ม *Enterobacteriaceae*

9.4.2 การทดสอบชีวเคมีของเชื้อสงสัยเป็น *Enterococcus* spp.

ให้ปฏิบัติตามขั้นตอน SOP การตรวจยืนยันเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก กลุ่ม Catalase-positive cocci และ Catalase-negative cocci รหัส SOP 13-00-420 ข้อ 10.5.5 กรณีสงสัยกลุ่ม *Enterococcus* spp.



9.4.3 การทดสอบชีวเคมีของเชื้อสงสัยเป็น *Salmonella* spp.

ให้ปฏิบัติตามขั้นตอน SOP การตรวจยืนยันเชื้อแบคทีเรียแกรมลบกลุ่ม *Enterobacteriaceae*, *Pasteurellaceae*, *Neisseriaceae* และ Fastidious bacteria รหัส SOP 13-02-373 ข้อ 10.1 เชื้อกลุ่ม *Enterobacteriaceae*

9.5 เมื่อเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบยืนยันเป็น *E. coli*, *Enterococcus* spp. และ *Salmonella* spp. นำเชื้อแบคทีเรียไปทดสอบความไวของเชื้อต่อยา โดยปฏิบัติตาม SOP การทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ รหัส SOP 13-02-534

9.6 การเก็บเชื้อ โดยการเพาะเชื้อที่ทราบผล Genus และ species แล้ว ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ BA จำนวน 1 plate บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ส่งเก็บที่ -70 องศาเซลเซียส ในระบบการเก็บเชื้อ DMST Culture Collection ตาม WI การเก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์โดยวิธีการแช่แข็ง (Freezing) (WI 13-06-010)

10. การคำนวณ

การคำนวณ viable cell counts ของเชื้อแบคทีเรีย

ตัวอย่างการนับจำนวนโคโลนี

จำนวนโคโลนีที่สงสัย	การนับจำนวนโคโลนี	จำนวนโคโลนีที่สงสัย	
		เพลทที่ 1	เพลทที่ 2
≤ 50	นับจากทั้งเพลท	25	27
51-300	นับจาก 1/2 เพลท	$140 \times 2 = 280$	$138 \times 2 = 276$
>300	นับจาก 1/4 เพลท	$350 \times 4 = 1400$	$342 \times 4 = 1368$

เมื่อนับจำนวนโคโลนีแล้วนำมาคำนวณ ดังนี้

10.1 ตัวอย่างที่เพาะลงอาหารเลี้ยงเชื้อโดยตรง

$$\text{จำนวนเชื้อ (CFU/100 mL)} = \frac{[(\text{จำนวนเชื้อจากเพลทที่ 1} + \text{เพลทที่ 2})/2]}{1} \times 10 \times 100$$

10.2 ตัวอย่างที่กรอง

$$\text{จำนวนเชื้อ (CFU/100 mL)} = \frac{[(\text{จำนวนเชื้อจากเพลทที่ 1} + \text{เพลทที่ 2})/2]}{1} \times 10 \times 100 \times \text{dilution factor}$$

ปริมาตรน้ำที่กรอง (มิลลิลิตร)



11. การควบคุมคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อ

11.1 ตรวจสอบความปราศจากเชื้อ (sterility) โดยนำเพลทอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เพื่อดูว่าอาหารเลี้ยงเชื้อมีการปนเปื้อนหรือไม่

11.2 ตรวจสอบประสิทธิภาพการเจริญของเชื้อ (growth support)

11.2.1 เพาะเชื้อ *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* DMST 64427, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecium* DMST 64417, *Salmonella* spp. DMST 59028 และ *Salmonella* spp. DMST 59964 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ non-selective media เช่น TSA, sheep blood agar เป็นต้น บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

11.2.2 เตรียมเชื้อ ข้อ 11.2.1 ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อให้ได้ความขุ่นของเชื้อเท่ากับ 0.5 McFarland

11.2.3 นำมาเจือจางในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 1:100 แล้วดูเชื้อ 0.01 มิลลิลิตรลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TBX, TBX-cef, SBA, SBA-van, XLT และ XLT-cip

11.2.4 streak ให้ได้โคโลนีเดี่ยว แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

ตารางที่ 1 ผลการตรวจสอบลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

Organism	TBX	TBX-cef	SBA	SBA-van	XLT	XLT-cip
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Good growth, blue/green colonies	No growth	-	-	Partial inhibition (yellow colonies if growth)	No growth
<i>E. coli</i> DMST 64427	Good growth, blue/green colonies	Good growth, blue/green colonies	-	-	-	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	-	-	Deep red, red, maroon, pink colonies	No growth	-	-
<i>E. faecium</i> DMST 64417	-	-	Deep red, red, maroon, pink colonies	Deep red, red, maroon, pink colonies	-	-
<i>Salmonella</i> spp. DMST 59028	-	-	-	-	Good growth, colorless colonies with black center	No growth
<i>Salmonella</i> spp. DMST 59964	-	-	-	-	Good growth, colorless colonies with black center	Good growth, colorless colonies with black center

11.3 ตรวจสอบวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารเลี้ยงเชื้อให้ได้ 7.00 – 7.40



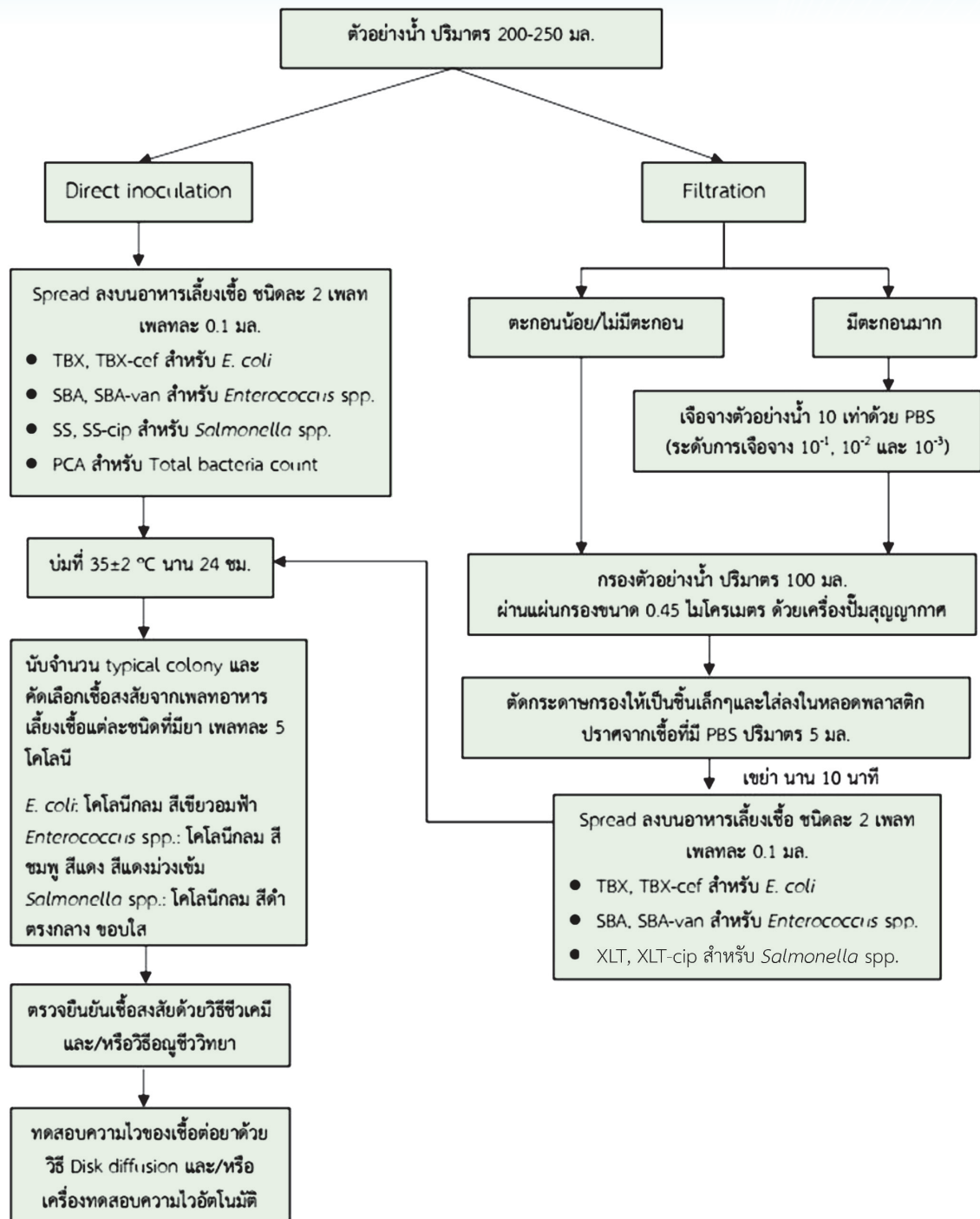
12. รายละเอียดอื่นๆ

12.1 ขั้นตอนการแยกเชื้อ *E. coli*, *Enterococcus* spp. และ *Salmonella* spp. ดื้อยาจากแหล่งน้ำ

12.2 ขั้นตอนการแยกเชื้อ *E. coli*, *Enterococcus* spp. และ *Salmonella* spp. ดื้อยาจากตะกอน

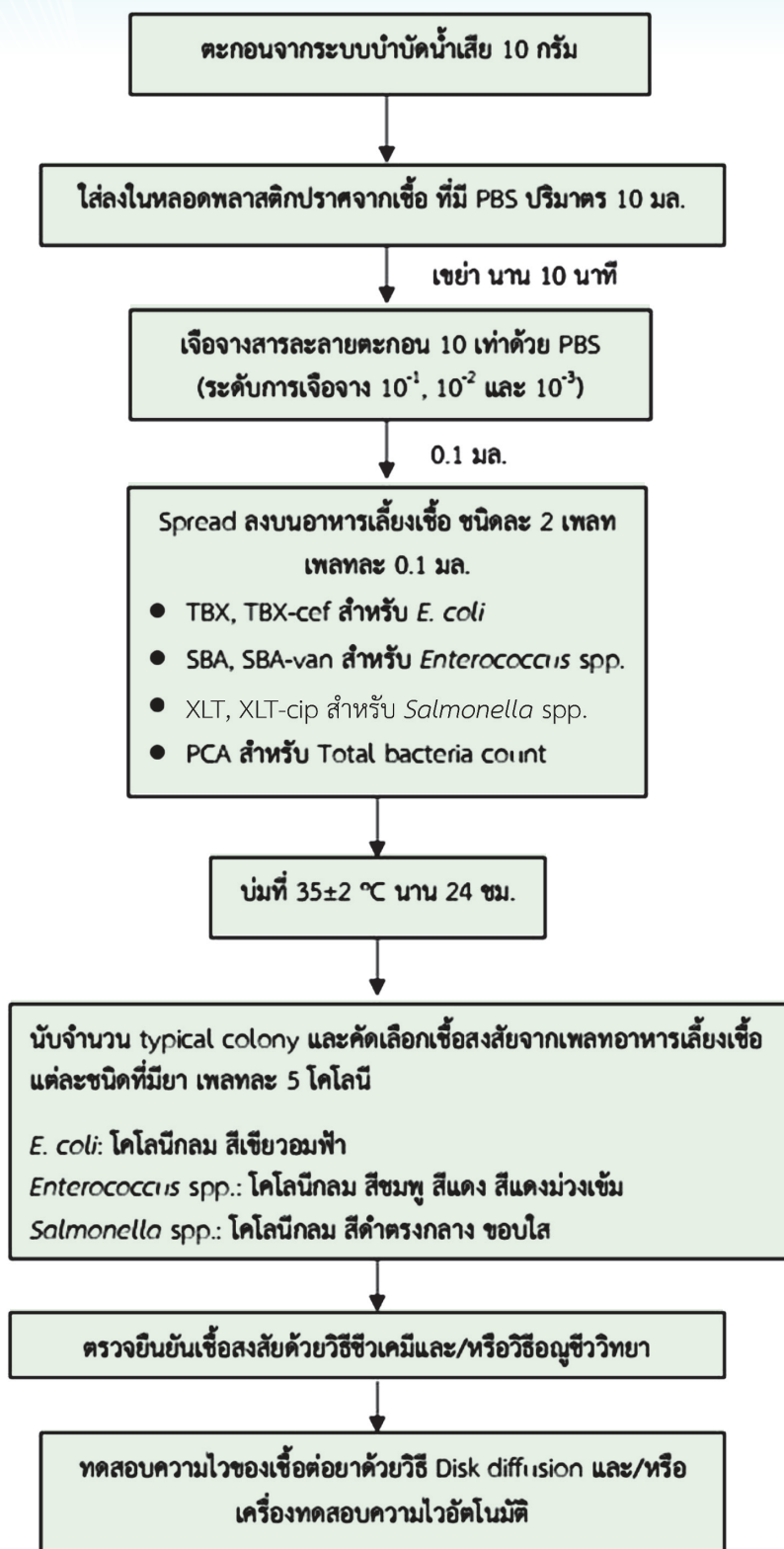


ขั้นตอนการแยกเชื้อ *E. coli*, *Enterococcus* spp. และ *Salmonella* spp. ดื้อยาจากแหล่งน้ำ





ขั้นตอนการแยกเชื้อ *E. coli*, *Enterococcus* spp. และ *Salmonella* spp. ด้อยจากตะกอนระบบบำบัดน้ำเสีย





ภาคผนวก

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ PCA

- 1) ผสม PCA 23.5 กรัมกับน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร
- 2) นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วนำมาอุ่นในอ่างน้ำ 50 องศาเซลเซียส
- 3) เทอาหารเลี้ยงเชื้อในตู้ปลอดเชื้อ ลงในเพลทขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร เพลทละ 20 มิลลิลิตร
- 4) ตั้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง แล้วสุ่มไปทดสอบคุณภาพ 5 เพลทต่อการเตรียมอาหาร 1 ลิตร

1.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ TBX

- 1) ผสม TBX 36.6 กรัมกับน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร
- 2) นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วนำมาอุ่นในอ่างน้ำ 50 องศาเซลเซียส
- 3) เทอาหารเลี้ยงเชื้อในตู้ปลอดเชื้อ ลงในเพลทขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร เพลทละ 20 มิลลิลิตร
- 4) ตั้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง แล้วสุ่มไปทดสอบคุณภาพ 5 เพลทต่อการเตรียมอาหาร 1 ลิตร

1.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ TBX-cef

- 1) ผสม TBX 36.6 กรัมกับน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร
- 2) นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วนำมาอุ่นในอ่างน้ำ 50 องศาเซลเซียส
- 3) เติมนยา cefotaxime ที่มีความเข้มข้น 5 mg/mL ปริมาตร 800 ไมโครลิตรลงในอาหาร TBX เขย่าให้เข้ากัน
- 4) เทอาหารเลี้ยงเชื้อในตู้ปลอดเชื้อ ลงในเพลทขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร เพลทละ 20 มิลลิลิตร
- 5) ตั้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง แล้วสุ่มไปทดสอบคุณภาพ 5 เพลทต่อการเตรียมอาหาร 1 ลิตร

1.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ SBA

- 1) ผสม SBA 42 กรัมกับน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร
- 2) อุ่นให้ร้อนจนอาหารละลายเข้ากันเป็นเนื้อเดียว แล้วนำมาอุ่นในอ่างน้ำ 50 องศาเซลเซียส
- 3) เทอาหารเลี้ยงเชื้อในตู้ปลอดเชื้อ ลงในเพลทขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร เพลทละ 20 มิลลิลิตร
- 4) ตั้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง แล้วสุ่มไปทดสอบคุณภาพ 5 เพลทต่อการเตรียมอาหาร 1 ลิตร



1.1.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ SBA-van

- 1) ผสม SBA 42 กรัมกับน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร
- 2) อุ่นให้ร้อนจนอาหารละลายเข้ากันเป็นเนื้อเดียว แล้วนำมาอุ่นในอ่างน้ำ 50 องศาเซลเซียส
- 3) เติมยา vancomycin ที่มีความเข้มข้น 5 mg/mL ปริมาตร 1,200 ไมโครลิตร ลงในอาหาร SBA เขย่าให้เข้ากัน
- 4) เทอาหารเลี้ยงเชื้อในตู้ปลอดเชื้อลงในเพลทขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร เพลทละ 20 มิลลิลิตร
- 5) ตั้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง แล้วสุ่มไปทดสอบคุณภาพ 5 เพลทต่อการเตรียมอาหาร 1 ลิตร

1.1.6 อาหารเลี้ยงเชื้อ XLT

- 1) ผสม XLT 59 กรัมกับน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร
- 2) อุ่นให้ร้อนจนอาหารละลายเข้ากันเป็นเนื้อเดียว แล้วนำมาอุ่นในอ่างน้ำ 50 องศาเซลเซียส
- 3) เทอาหารเลี้ยงเชื้อในตู้ปลอดเชื้อ ลงในเพลทขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร เพลทละ 20 มิลลิลิตร
- 4) ตั้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง แล้วสุ่มไปทดสอบคุณภาพ 5 เพลทต่อการเตรียมอาหาร 1 ลิตร

1.1.7 อาหารเลี้ยงเชื้อ XLT-cip

- 1) ผสม XLT 59 กรัมกับน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร
- 2) อุ่นให้ร้อนจนอาหารละลายเข้ากันเป็นเนื้อเดียว แล้วนำมาอุ่นในอ่างน้ำ 50 องศาเซลเซียส
- 3) เติมยา ciprofloxacin ที่มีความเข้มข้น 5 mg/mL ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในอาหาร SS เขย่าให้เข้ากัน
- 4) เทอาหารเลี้ยงเชื้อในตู้ปลอดเชื้อ ลงในเพลทขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร เพลทละ 20 มิลลิลิตร
- 5) ตั้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง แล้วสุ่มไปทดสอบคุณภาพ 5 เพลทต่อการเตรียมอาหาร 1 ลิตร

2. การเตรียมยา

2.1 ยา cefotaxime เข้มข้น 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

- 1) ชั่งยา 0.1 g (100 mg) ใส่ลงในหลอดพลาสติกปลอดเชื้อขนาด 50 มิลลิลิตร
- 2) เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (Molecular grade, DNA/RNA free water) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร
- 3) เขย่าให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง vortex
- 4) นำไปทำให้ปราศจากเชื้อ โดยการกรองผ่านแผ่นกรอง ขนาด pore 0.2 ไมโครเมตร
- 5) แบ่งสารละลายในข้อ 3 เก็บในหลอด 1.5 มิลลิลิตร ปราศจากเชื้อหลอดละ 1,000 ไมโครลิตร
- 6) เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ได้นาน 2 เดือน



2.2 ยา vancomycin เข้มข้น 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

- 1) ชั่งยา 0.1 g (100 mg) ใส่ลงในหลอดพลาสติกปลอดเชื้อขนาด 50 มิลลิลิตร
- 2) เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (Molecular grade, DNA/RNA free water) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร
- 3) เขย่าให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง vortex
- 4) นำไปทำให้ปราศจากเชื้อ โดยการกรองผ่านแผ่นกรอง ขนาด pore 0.2 ไมโครเมตร
- 5) แบ่งสารละลายในข้อ 3 เก็บในหลอด 1.5 มิลลิลิตร ปราศจากเชื้อหลอดละ 1,000 ไมโครลิตร
- 6) เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ได้นาน 2 เดือน

2.3 ยา ciprofloxacin เข้มข้น 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

- 1) ชั่งยา 0.1 g (100 mg) ใส่ลงในหลอดพลาสติกปลอดเชื้อขนาด 50 มิลลิลิตร
- 2) เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (Molecular grade, DNA/RNA free water) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร
- 3) เขย่าให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง vortex
- 4) นำไปทำให้ปราศจากเชื้อ โดยการกรองผ่านแผ่นกรอง ขนาด pore 0.2 ไมโครเมตร
- 5) แบ่งสารละลายในข้อ 3 เก็บในหลอด 1.5 มิลลิลิตร ปราศจากเชื้อหลอดละ 1,000 ไมโครลิตร
- 6) เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ได้นาน 2 เดือน

3. การเตรียม Phosphate buffer saline (PBS)

3.1 10X stock solution

- 1) Solution A 0.1 M Na_2HPO_4 (sodium phosphate, dibasic)
ละลาย $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 26.8 กรัม หรือ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 35.85 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร
- 2) Solution B 0.1 M NaH_2PO_4 (sodium phosphate, monobasic)
ละลาย NaH_2PO_4 13.9 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร
- 3) Solution C 8.5% NaCl (sodium chloride)
ละลาย NaCl 85.0 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร หนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที
เก็บในตู้เย็น

3.2 Working PBS pH 7.2

ผสม 10X stock solution A ปริมาตร 72 มิลลิลิตร 10X stock solution B ปริมาตร 28 มิลลิลิตร และ 10X stock solution C 8.5% NaCl ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อให้ครบ 1 ลิตร



4. การจำแนกชนิดเชื้อกลุ่ม *E. coli* ด้วยวิธีชีวเคมี

Characteristic	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Citrobacter koseri</i> (C. diversus)	<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Enterobacter (Pantoea) agglomerans</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter sakazakii</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> , inactive	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia hermannii</i>	<i>Hafnia alvei</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>ozaenae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>rhinoscleromatis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ornithine positive
Indole production	33	99	99	0	20	0	11	98	80	98	99	0	0	0	0	99	100
Voges-Proskauer	0	0	0	98	70	100	100	0	0	0	0	85	0	98	0	95	70
Citrate (Simmons)	78	99	1	95	50	100	99	1	1	17	1	10	30	98	0	95	100
Hydrogen sulfide (TSI)	78	0	100	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Urea hydrolysis	44	75	0	2	20	65	1	1	1	0	0	4	10	95	0	90	100
Lysine decarboxylase	0	0	100	98	0	0	0	90	40	95	6	100	40	98	0	99	100
Arginine dihydrolase	67	80	0	0	0	97	99	17	3	5	0	6	6	0	0	0	0
Ornithine decarboxylase	0	99	100	98	0	96	91	65	20	100	100	98	3	0	0	0	100
Motility	89	95	98	97	85	95	96	95	5	93	99	85	0	0	0	0	0
Malonate utilization	11	95	0	95	65	75	18	0	0	35	0	50	3	93	95	98	100
Esculin hydrolysis	0	1	0	98	60	30	100	35	5	46	40	7	80	99	30	100	100
Oxidase, Kovacs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D-Glucose, acid	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
D-Glucose, gas	85	98	100	100	20	100	98	95	5	95	97	98	50	97	0	97	100

Values are percentages of isolates with positive test results within 1 or 2 days of incubation at 35 to 37°C. Reactions of isolates that become positive after 2 days are not considered.



5. การจำแนกชนิดเชื้อกลุ่ม *Enterococcus* species ด้วยวิธีชีวเคมี

Species	<i>E. faecium</i>	<i>E. casseliflavus</i>	<i>E. gallinarum</i>	<i>E. mundtii</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. haemoperoxidus</i>	<i>Lactococcus</i> spp.
Catalase	-	-	-	-	-	-	-
PYR	+	+	+	+	+	+	+
Esculin	+	+	+	+	+	+	+
6.5% NaCl	+	+	+	+	+	+	V
Bile esculin	+	+	+	+	+	+	+
Arginine	+	+ ^c	+ ^c	+	+ ^c	+ ^d	+
Mannitol	+ ^c	+	+	+	+ ^c	+ ^d	+
Arabinose	+	+	+	+	-	-	-
Sorbitol	V	V	-	V	+	-	-
Raffinose	V	+	+	+	-	-	-
Sucrose	+ ^c	+	+	+	+ ^c	+	V
0.04% tellurite	-	- ^c	-	-	+	-	-
Motility	-	+ ^c	+ ^c	-	-	-	-
Pigment	-	+ ^c	-	+	-	-	-

+, >90% of the strains are positive; -, >90% of the strains are negative; v, variable (11 to 89% of the strains are positive),

^b Phenotypic characteristics based on data from type strains., ^c Occasional exceptions occur (<3% of strains show aberrant reactions), ^d Late positive (3 days of incubation or longer), ^e Weak reaction.



6. การจำแนกชนิดเชื้อกลุ่ม *Salmonella* species ด้วยวิธีชีวเคมี

Test	Results		Salmonella reaction ^a
	positive	negative	
Glucose (TSI)	yellow butt	red butt	+
Lysine decarboxylase (LIA)	purple butt	yellow butt	+
Hydrogen sulfide (TSI)	blackening	no blackening	+
Urease	purple-red color	no color change	-
Lysine decarboxylase broth	purple color	yellow color	+
Phenol red ducitol broth	yellow color and/or gas	no gas; no color change	+ ^b
Phenol red lactose broth	yellow color and/or gas	no gas; no color change	+ ^c
Phenol red sucrose broth	yellow color and/or gas	no gas; no color change	-
Malonate broth	blue color	no color change	-
Indole test	violet color at surface	yellow color at surface	-
Voges-Proskauer test	pink-to-red color	no color change	-
Simmons citrate	growth; blue color	no growth; no color change	V
Methyl red test	diffuse red color	diffuse yellow color	+

^a +, 90% or more positive in 1 or 2 days; -, 90% or more negative in 1 or 2 days; v, variable, ^b Majority of *S. Arizona* cultures are negative, ^c Majority of *S. Arizonae* cultures are negative.

7. การเก็บรักษาตัวอย่างและการนำส่งยังห้องปฏิบัติการ

ปริมาตรของตัวอย่างน้ำไม่น้อยกว่า 500 มิลลิลิตรและตัวอย่างตะกอนไม่น้อยกว่า 100 กรัม การเก็บรักษาขวดบรรจุตัวอย่างน้ำและขวด/ภาชนะบรรจุตัวอย่างตะกอนในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็ง และไม่ควรส่งช้ามากกว่า 3 วัน ติดฉลากระบุชื่อสถานที่ของแหล่งน้ำ ประเภทของแหล่งน้ำที่เก็บ ผู้ดำเนินการเก็บ วันที่เก็บตัวอย่าง



ภาคผนวกที่ 6 การตรวจหายีนดื้อยาต้านจุลชีพ

วิธีที่ใช้เป็นวิธี conventional PCR โดยการตรวจยีนเป็นกลุ่มจะรวม primers ของยีนหลายชนิด วิธีตรวจจะเป็นแบบ Multiplex PCR เพื่อให้ผลการตรวจมีความถูกต้องจำเป็นต้องมีเชื้อที่มียีนดื้อยาในกลุ่มเดียวกันเป็นเชื้อควบคุมผลบวก และวิธีสกัด DNA จำเป็นต้องใช้ DNA extraction kit ที่มีความน่าเชื่อถือ เนื่องจากการสกัด DNA แบบ heat lysis แม้จะมีต้นทุนต่ำและใช้เวลาสั้นกว่า แต่ DNA ที่สกัดได้จะมีความบริสุทธิ์น้อยกว่า เป็นผลให้เกิดผลลบลงได้

6.1 การตรวจยีนดื้อยากำหนดการสร้างเอนไซม์ ESBL *bla*CTX-M

เชื้อควบคุมผลบวก:

Gene	Strain
<i>bla</i> CTX-M	<i>K. pneumoniae</i> DMST 58047

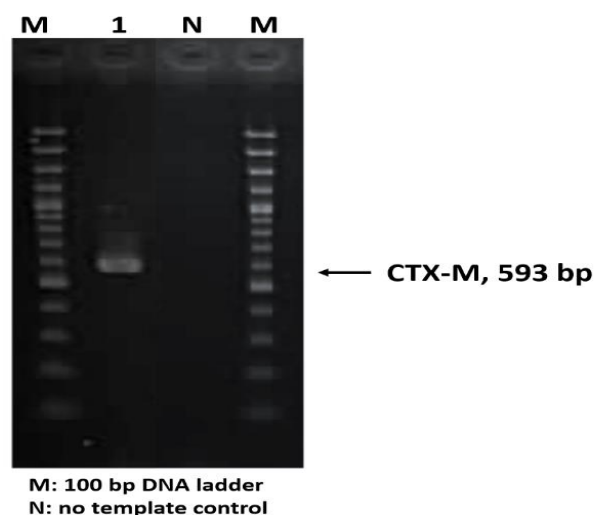
PCR components:

Reagent	Final conc.	Vol./1Rx (μl)
dd water	-	4.7
2X red taq	1X	7.5
20 μM CTX-M-U1	0.53 μM	0.4
20 μM CTX-M-U2	0.53 μM	0.4
DNA template	-	2
Total volume	-	15

PCR conditions:

Cycles	Temperature (°C)	Time
1	95	5 min
30	95	30 sec
	60	30 sec
	72	2 min
1	72	5 min
-	25	hold

Gel electrophoresis: 2% agarose gel in 0.5X TBE
Running condition: Mupid 100 Volts, 30 minutes





6.2 การตรวจยีนดื้อยาในกลุ่ม carbapenems ได้แก่ *blaIMP*, *blaVIM*, *blaOXA48-like*, *blaNDM*, *blaKPC* ด้วยวิธี Multiplex PCR

เชื้อควบคุมผลบวก:

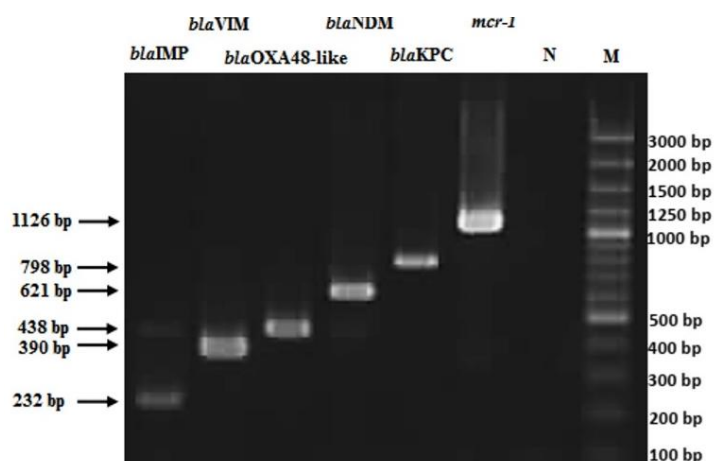
Gene	Strain	Gene	Strain
<i>blaIMP</i>	<i>K. pneumoniae</i> DMST 39903	<i>blaKPC</i>	<i>K. pneumoniae</i> DMST 41335
<i>blaVIM</i>	<i>P. aeruginosa</i> DMST 41883	<i>blaNDM</i>	<i>K. pneumoniae</i> DMST 39567
<i>blaOXA 48-like</i>	<i>K. pneumoniae</i> DMST39334		

components:

Reagent	Final conc.	Vol./1Rx (μl)
dd water	-	1.5
2X JumpStart Red Taq	1X	7.5
20 μM IMP-F	0.53 μM	0.4
20 μM IMP - R	0.53 μM	0.4
20 μM VIM - F	0.53 μM	0.4
20 μM VIM - R	0.53 μM	0.4
20 μM OXA - F	0.53 μM	0.4
20 μM OXA - R	0.53 μM	0.4
20 μM NDM - F	0.53 μM	0.4
20 μM NDM - R	0.53 μM	0.4
20 μM KPC - F	0.53 μM	0.4
20 μM KPC - R	0.53 μM	0.4
DNA template	-	2
Total volume	-	15

PCR conditions:

Cycles	Temperature (°C)	Time
1	94	3 min
35	94	30 sec
	56	35 sec
	72	45 sec
1	72	5 min
-	25	hold



Gel electrophoresis: 2% agarose gel in 0.5X TBE

Running condition: Mupid 100 Volts, 30 minutes

N: no template control, M: 100 bp DNA ladder



6.3 การตรวจยีนดื้อยา colistin ได้แก่ *mcr-1* to *mcr-10* ด้วยวิธี Multiplex PCR

เชื้อควบคุมผลบวก:

Gene	Strain	Gene	Strain
<i>mcr-1</i>	<i>E. coli</i> NCTC 13846	<i>mcr-6</i>	<i>E. coli</i> DMST 61939
<i>mcr-2</i>	<i>E. coli</i> DMST 61936	<i>mcr-7</i>	<i>E. coli</i> DMST 61940
<i>mcr-3</i>	<i>E. coli</i> DMST 61937	<i>mcr-8</i>	<i>E. coli</i> DMST 61941
<i>mcr-4</i>	<i>E. coli</i> DMST 61942	<i>mcr-9</i>	<i>E. coli</i> DMST 64184
<i>mcr-5</i>	<i>E. coli</i> DMST 61938	<i>mcr-10</i>	<i>E. coli</i> DMST 70400

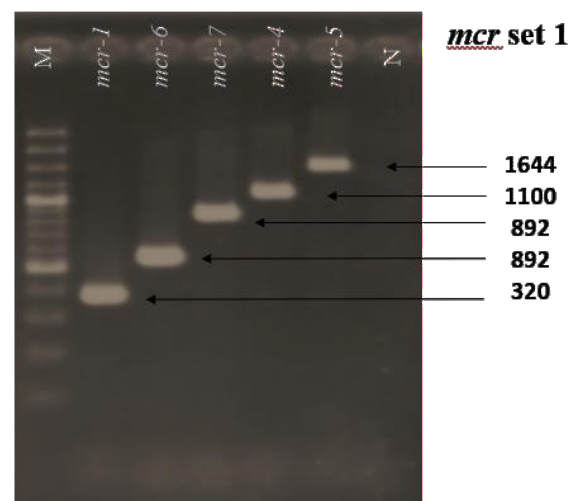
mcr set 1 (*mcr-1*, *mcr-4*, *mcr-5*, *mcr-6* and *mcr-7*)

PCR components:

Reagent	Final conc.	Vol./1Rx (μl)
dd water	-	1
2X red taq	1X	7.5
30 μM <i>mcr1</i> -F	0.53 μM	0.25
30 μM <i>mcr1</i> -R	0.53 μM	0.25
30 μM <i>mcr4</i> -F	0.53 μM	0.25
30 μM <i>mcr4</i> -R	0.53 μM	0.25
30 μM <i>mcr5</i> -F	0.53 μM	0.25
30 μM <i>mcr5</i> -R	0.53 μM	0.25
30 μM <i>mcr6</i> -F	0.53 μM	0.25
30 μM <i>mcr6</i> -R	0.53 μM	0.25
30 μM <i>mcr7</i> -F	0.5 μM	0.25
30 μM <i>mcr7</i> -R	0.5 μM	0.25
DNA template	-	2
Total volume	-	15

PCR conditions:

Cycles	Temperature (°C)	Time
1	95	3 min
30	95	30 sec
	62	1 min 30 sec
1	72	5 min
-	25	hold



M: 100 bp marker, N: no template control

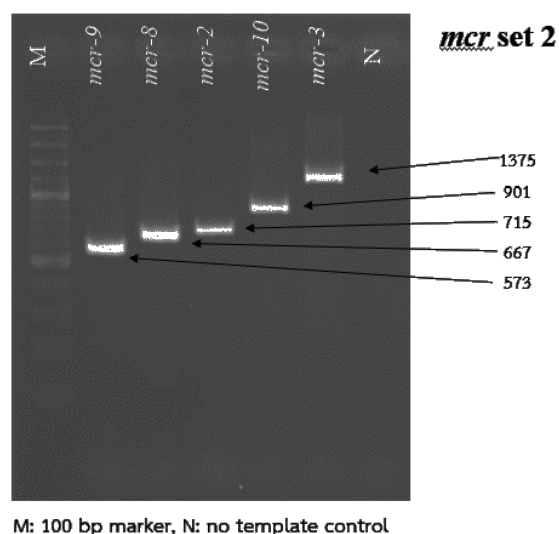
mcr set 2 (*mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-8*, *mcr-9* and *mcr-10*)

PCR components:

Reagent	Final conc.	Vol./1Rx (μl)
dd water	-	1
2X red taq	1X	7.5
30 μM mcr2-F	0.53 μM	0.25
30 μM mcr2-R	0.53 μM	0.25
30 μM mcr3-F	0.53 μM	0.25
30 μM mcr3-R	0.53 μM	0.25
30 μM mcr8-F	0.53 μM	0.25
30 μM mcr8-R	0.53 μM	0.25
30 μM mcr9-F	0.53 μM	0.25
30 μM mcr9-R	0.53 μM	0.25
30 μM mcr10-F	0.53 μM	0.25
30 μM mcr10-R	0.53 μM	0.25
DNA template	-	2
Total volume	-	15

PCR conditions:

Cycles	Temperature (°C)	Time
1	95	3 min
30	95	30 sec
	62	1 min 30 sec
1	72	5 min
-	25	hold



Gel electrophoresis: 2% agarose gel in 0.5X TBE

Running condition: Mupid 100 Volts, 30 minutes



6.4 การตรวจยีนดื้อยา vancomycin ได้แก่ *vanA*, *vanB*, *vanC1*, *vanC2/C3* ด้วยวิธี Multiplex PCR

ชื่อควบคุมผลบวก:

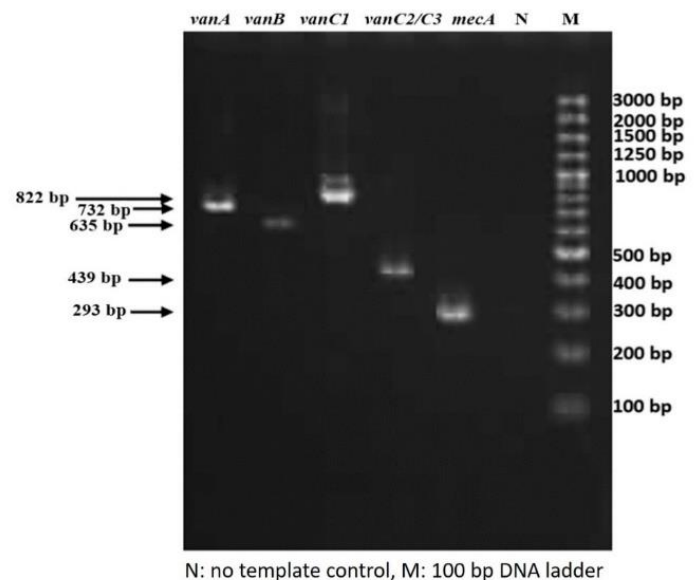
Gene	Strain	Gene	Strain
<i>vanA</i>	<i>E. faecalis</i> DMST 8308	<i>vanC1</i>	<i>E. gallinarum</i> DMST 6979
<i>vanB</i>	<i>E. faecalis</i> DMST 10785	<i>vanC2/C3</i>	<i>E. gallinarum</i> DMST 11914

PCR components:

Reagent	Final conc.	Vol./1Rx (μl)
dd water	-	1
2X JumpStart Red Taq	1X	7.5
10 μM <i>vanA</i> – F	0.3 μM	0.45
10 μM <i>vanA</i> – R	0.3 μM	0.45
10 μM <i>vanB</i> – F	0.3 μM	0.45
10 μM <i>vanB</i> – R	0.3 μM	0.45
10 μM <i>vanC1</i> – F	0.3 μM	0.45
10 μM <i>vanC1</i> – R	0.3 μM	0.45
10 μM <i>vanC2/C3</i> – F	0.3 μM	0.45
10 μM <i>vanC2/C3</i> – R	0.3 μM	0.45
DNA template	-	2
Total volume	-	15

PCR conditions:

Cycles	Temperature (°C)	Time
1	95	3 min
35	95	35 sec
	55	35 sec
	72	1 min
1	72	7 min
-	25	hold



Gel electrophoresis: 2% agarose gel in 0.5X TBE

Running condition: Mupid 100 Volts, 30 minutes



คณะผู้จัดทำ

ที่ปรึกษา

นายแพทย์สุริยะ วงศ์คงคาเทพ	ที่ปรึกษากระทรวงสาธารณสุข
นายแพทย์ศุภกิจ ศิริลักษณ์	อธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
นายแพทย์โอภาส การย์กวินพงษ์	อธิบดีกรมควบคุมโรค
นายสัตวแพทย์สรวิศ ธานีโต	อธิบดีกรมปศุสัตว์

คณะผู้ดำเนินการ

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์	สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
ภญ.นภารรณ เจริญใจ	ภญ.ดร.นิธิมา สุ่มประดิษฐ์
ดร.วันทนา ปวีณกิตติพร	ดร.สายันต์ รวดเร็ว
นางทองสุข ปายะนันท์	กรมประมง
นางลัดดา แก้วกล้าปัญญาเจริญ	ดร.ฐิติพร หลาวประเสริฐ
นางสาวดุขฎิ พลภัทรพิเศษกุล	สพ.ญ.ปริยานันท์ ศรีวรรณยศ
นางสาวปัทมา แดงชาติ	สพ.ญ.สิริวิมล ทำการดี
นายสมภพ วัฒนมณี	กรมควบคุมมลพิษ
นายเอกวัฒน์ อุณหเลขกะ	นายไชโย จุ้ยศิริ
นางสาวรัชฎาพร สุวรรณรัตน์	นายสายชล แสงให้สุข
ดร.วัชรภรณ์ คำจุมพล	นางสาวกิ่งดาว อินทร์กเดช
นางสาวนพรัตน์ ศรีมาก	นายยืนยง นุกุลกิจ
นางสาวศรีประภา ภัสพรพงษ์กุล	
กรมปศุสัตว์	สำนักงานพัฒนานโยบายสุขภาพระหว่างประเทศ
สพ.ญ.สุภาพร วงศ์ศรีไชย	ที่ปรึกษา
สพ.ญ.ธรรมรัฐ สุจิต	นพ.วิโรจน์ ตั้งเจริญเสถียร
นางสาวจรรยาลักษณ์ มาเอียด	นักวิจัย
นายธารินทร์ ศรีวิโรจน์	ดร.สุนิชา ขานวาทิก
นางกลอยใจ พลเสนา	ดร.ศุภภัทร ศิริวรรณ
นางสาววันวิสาข์ สัตย์สมนึก	นางสาววันวิสาข์ แก้วขันแข็ง
นายตลวัฐส์ สีปู้	
มกอช.	มูลนิธิเครือข่ายฝึกอบรมระบาดวิทยาภาคสนาม
กรมควบคุมโรค	นพ.ภาสกร อัครเสวี
นพ.ฐิติพงษ์ ยิ่งยง	ดร.นพ.จรุง เมืองชนะ
กรมอนามัย	นพ.ครรชิต ลิ้มปกาญจนรัตน์
นายประโชติ กราบกราน	ดร.คมชลัช ทวีเสนีย์พิชญ์
นางสาวสัจมาน ตรันเจริญ	นพ.ศุภมิตร ชุณหสัทธิวัฒน์
นางสาวอรัญญา ดวงบุ	

