

การทดสอบความไวของเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ต่อยาต้านจุลชีพ

คณะผู้จัดทำ นพ. เดวิด ดันซ์ เปรมจิตรอมรชัย กัมพล วงศ์สุวรรณ วรณพร วุฒิเอกนันต์ และ นพ. ดิเรก ลิ้มธรสสกุล

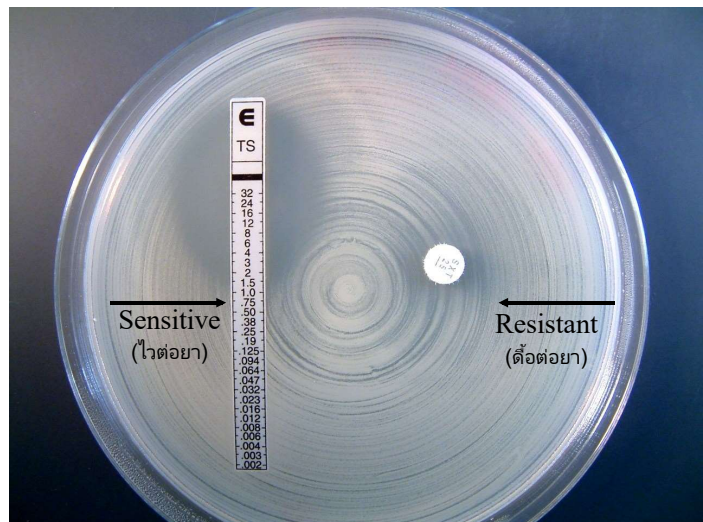
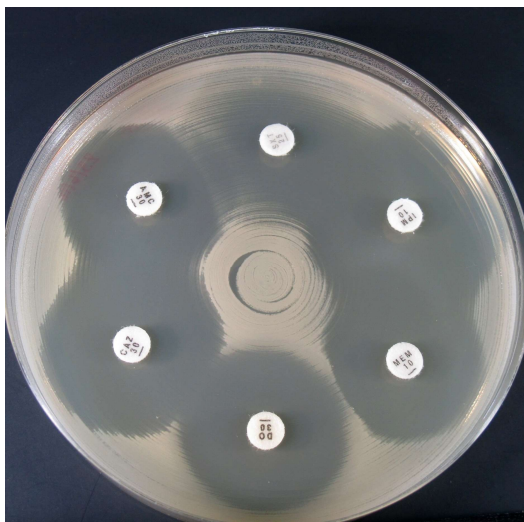
วิธีการทดสอบ (อ้างอิงตามมาตรฐานของ CLSI)

1. ให้ทำการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ ภายใต้ตู้ปลอดเชื้อ
2. เตรียมสารละลายของเชื้อในน้ำเกลือ จากโคลนของเชื้อ *B. pseudomallei* ที่มีอายุ 18 ถึง 24 ชั่วโมง จากอาหารเลี้ยงเชื้อที่เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ดี (อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม ต้องไม่มีสีหรือมีการเติมยาหรือมีการเติมสารยับยั้งใดๆ) โดยปรับความขุ่นของเชื้อให้เท่ากับ McFarland standard เบอร์ 0.5 (ความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 1×10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร)
3. ทำการเกลี่ยเชื้อโดยใช้ไม้ปั่นสำลีที่ปราศจากเชื้อจุ่มลงในสารละลายของเชื้อที่ปรับความขุ่นแล้ว บิดพอหมาดๆ ก่อนทำการเกลี่ยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ชนิด Mueller Hinton agar แบบสามระนาบไขว้กันหรือเกลี่ยเชื้อโดยใช้เครื่อง rotary platter
4. นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton agar ผึ่งไว้ในตู้ปลอดเชื้อเป็นเวลา 5 นาที ก่อนที่จะวางยาต้านจุลชีพ สำหรับเชื้อ *B. pseudomallei* ลงไป ซึ่งยาต้านจุลชีพที่ใช้ มีจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ยา CAZ MEM IPM AMC DO และ SXT
5. บ่มจาน Mueller Hinton agar ในตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ถึง 24 ชั่วโมง
6. เนื่องจากขอบเขตโซนยับยั้งของยาหรือเส้นผ่านศูนย์กลางมาตรฐานสำหรับเชื้อ *B. pseudomallei* ยังไม่ได้มีการกำหนดหรือบัญญัติไว้ในมาตรฐานของ CLSI ดังนั้นขอบเขตโซนยับยั้งหรือเส้นผ่านศูนย์กลางที่วัดได้จะแปลผลโดยอ้างอิงตามเชื้อ กลุ่ม *Burkholderia cepacia* เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* หรือเชื้อในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* (ตามตารางข้างล่าง)

ตารางที่ 1. การแปลผลเส้นผ่านศูนย์กลางหรือขอบเขตโซนการยับยั้งของยาต้านจุลชีพ 6 ชนิดต่อเชื้อ *B. pseudomallei*

Antimicrobial agent	Code	Disk Content (µg)	Zone Diameter Breakpoints (mm)		
			<i>Burkholderia pseudomallei</i>		
			R	I	S
Amoxicillin-clavulanic acid	AMC	20/10	≤13	14-17	≥18
Ceftazidime	CAZ	30	≤14	15-17	≥18
Doxycycline	DO	30	≤12	13-15	≥16
Imipenem	IPM	10	≤13	14-17	≥18
Meropenem	MEM	10	≤12	13-15	≥16
Trimethoprim-sulfamethoxazole	SXT	1.25/23.75	≤10	11-15	≥16

ข้อควรระวัง เนื่องจากการวัดโซนเส้นผ่านศูนย์กลางของยา Trimethoprim/sulfamethoxazole สำหรับเชื้อ *B. pseudomallei* ด้วยวิธี disk diffusion จะอ่านผลได้ยากเพราะไม่เห็นขอบโซนที่ชัดเจน จึงมีแนวโน้มที่จะได้ผลของเชื้อที่ดื้อยามากกว่าความเป็นจริง ดังนั้นหากอ่านผลแล้วพบว่าเป็นเชื้อดื้อยาหรือเป็นเชื้อที่กำกวมที่จะดื้อยา ควรยืนยันผลอีกครั้งด้วยการใช้วิธี E-test เพราะจะมีความถูกต้องมากกว่าวิธี disk diffusion



หมายเหตุ วิธีการการประกันคุณภาพของการทดสอบ โดยที่มีการทดสอบกับเชื้อที่เป็นสายพันธุ์ควบคุมคุณภาพ ตามที่ทาง CLSI แนะนำไว้ นั่น คือเป็นสิ่งที่สำคัญ เพราะจะทำให้ได้มาซึ่งผลลัพธ์ที่น่าเชื่อถือ

เปรมจิตรอมรชัย (ผู้แปลและเรียบเรียง)