แบคทีเรียดื้อยา : เชื้อสแตฟฟิโลคอกคัส ออเรียสที่ดื้อยาเมธิซิลลิน และ เชื้อเอนเทอโรแบคเทอราเลสที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย

Antibiotic Resistant Bacteria: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and Extended spectrum β-lactamase producing *Enterobacterales*

รองศาสตราจารย์ ดร.สุมาลี คอนโด

สาขาอณูพันธุศาสตร์และอณูชีววิทยาทางการแพทย์
สถานวิทยาศาสตร์พรีคลินิก คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

หนังสือเล่มนี้เป็นงานเขียนที่ผู้นิพนธ์ตั้งใจนำประสบการณ์การวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเชื้อแบคทีเรียดื้อยาและการจำแนกเชื้อด้วยเทคนิคระดับโมเลกุล ซึ่งเป็นข้อมูลงานวิจัยที่จะเป็นประโยชน์กับผู้สนใจที่เกี่ยวข้องทางคลินิกและทางห้องปฏิบัติการ โดยเฉพาะบุคลากรทางการแพทย์ที่เกี่ยวข้องกับโรคติดเชื้อที่มีสาเหตุจากการติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยา รวมถึงนักศึกษาแพทย์ พยาบาล เภสัชศาสตร์ เทคนิคการแพทย์ และสาธารณสุขศาสตร์ นอกจากนี้ยังเป็นแนวทางในการศึกษาต่อยอดงานวิจัยในอนาคตต่อไป

ผู้นิพนธ์ได้ใช้ช่วงเวลาในแต่ละวันอย่างคุ้มค่าเพื่อเขียนหนังสือเล่มนี้จนสำเร็จตามที่ได้ตั้งใจไว้ และยังมีผู้ที่อยู่เบื้องหลังของความสำเร็จนี้ด้วย ผู้นิพนธ์จึงใคร่ขอขอบคุณทุกท่านที่มีส่วนช่วยเหลือให้หนังสือเล่มนี้มีความสมบูรณ์ที่สุด

ขอกราบคุณพ่อเอ็งอู๋ และคุณแม่เฮี๊ยะ บุพการีผู้ให้กำเนิด เป็นผู้มีพระคุณสูงสุด ท่านทั้งสองได้ให้ความรักอย่างไม่จำกัด อบรมสั่งสอนให้เป็นคนอดทนไม่ย่อท้อต่ออุปสรรค มีความซื่อสัตย์ กตัญญูรู้คุณ แม้ว่าจะเป็นเพียงสิ่งเล็กน้อยเมื่อมีโอกาสให้ตอบแทน และอื่นๆอีกมากมาย จากคำสอนของท่านทั้งสองทำให้ลูกทุกคนเติบโตมาอย่างมีความสุข มีหน้าที่การงานและครอบครัวที่อบอุ่น รักกัน ช่วยเหลือเกื้อกูลกันเสมอ ผู้นิพนธ์เขียนหนังสือเล่มนี้สำเร็จได้จากพลังความรัก ความอบอุ่น และความปรารถนาดีที่ท่านทั้งสองและน้องทุกคนมีให้กันและกันเสมอ

ขอบคุณครอบครัวของผู้นิพนธ์ Toshiaki, ริสา, ริน และ ชอว์ ที่ได้ให้ความรัก ความอบอุ่น รอยยิ้ม และเสียงหัวเราะ หนังสือเล่มนี้มีความสมบูรณ์มากที่สุดจากที่ทุกคนช่วยกันออกแบบภาพปกภาพในเนื้อหา และมีส่วนร่วมให้ข้อเสนอแนะ เป็นความภูมิใจของผู้นิพนธ์อย่างยิ่ง

ขอขอบคุณ ศาตราจารย์ นพ. ประสิทธิ์ ผลิตผลการพิมพ์ ผู้มีพระคุณ เป็นผู้จุดประกายการทำงานวิจัย ท่านให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือในด้านวิชาการอย่างต่อเนื่อง ทำให้ผู้นิพนธ์มีความสุขในการทำงานทุกวัน

ขอขอบคุณ ดร. พิมลวรรณ โภคาพันธ์ และคุณวรวิช พรศิริเจริญพันธ์ สำหรับข้อมูลทางเทคนิค และมิตรภาพซึ่งเป็นสิ่งที่ช่วยเติมพลังบวกให้ผู้นิพนธ์เสมอ

ขอขอบคุณ นางสาวลลิตา ณ ราชสีมา นักศึกษาปริญญาเอกภายใต้การกำกับดูแลวิทยานิพนธ์ของผู้นิพนธ์ ได้สละเวลามาช่วยจัดทำให้หนังสือเล่มนี้จนเสร็จเรียบร้อย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่เกี่ยวข้องในการดำเนินการที่อาจไม่ได้กล่าวนามได้ทั้งหมด เป็นบุคคลที่สำคัญยิ่งที่ทำให้การนิพนธ์เป็นไปอย่างราบรื่น

ขอขอบคุณหน่วยงานต่อไปนี้คือ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, คณะแพทยศาสตร์, สำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) สำหรับทุนส่งเสริมการทำวิจัย โดยหนังสือเล่มนี้มีความสมบูรณ์มากขึ้นจากการเรียบเรียงด้วยประสบการณ์ของงานวิจัย และผลงานวิจัยของผู้นิพนธ์และทีมวิจัย

ขอขอบคุณคณะแพทยศาสตร์สำหรับทุนสนับสนุนการขียนหนังสือตำรา เพื่อส่งเสริมให้ผู้นิพนธ์ได้เรียบเรียงและเผยแพร่องค์ความรู้ที่สำคัญ เพื่อเป็นประโยชน์ต่อบุคลากรทางการแพทย์ นักศึกษาในสายสุขศาสตร์ นักวิทยาศาสตร์ และผู้สนใจ

คำนิยม

เชื้อแบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพกำลังเป็นปัญหาทางการแพทย์ และการสาธารณสุขที่มีความสำคัญขึ้นทุกปี รองศาสตราจารย์ ดร. สุมาลี คอนโด เป็นผู้ที่มีความสนใจเกี่ยวกับเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่ก่อปัญหาในโรงพยาบาลโดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อ Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ซึ่งเป็นเชื้อแกรมบวกและเชื้อแกรมลบในออร์เดอร์ *Enterobacterales* ที่ดื้อยากลุ่มเบต้าแลคแตมชนิดฤทธิ์ขยาย (Extended spectrum β-lactamase producing *Enterobacterales*, ESBL-PE) อาจารย์ได้ทำวิจัยและดูแลนักศึกษาที่ทำวิทยานิพนธ์เกี่ยวกับเชื้อแบคทีเรียดื้อยาดังกล่าวมาเป็นเวลานาน มีผลงานที่เป็นประโยชน์ต่อการดูแลผู้ป่วยในโรงพยาบาล และเป็นข้อมูลทางสาธารณสุขที่สำคัญยิ่ง

Staphylococcus aureus เป็นเชื้อที่มีศักยภาพในการก่อโรคสูงมาก เป็นสาเหตุสำคัญของฝีหนองตามผิวหนัง และในอวัยวะต่างๆได้แทบทุกอวัยวะสามารถก่อโรคได้ทั้งจากสารพิษที่เชื้อสร้างขึ้นและจากการเจริญเติบโตของตัวเชื้อเอง เป็นอันตรายถึงชีวิตบ่อยๆในโรงพยาบาล เชื้อนี้ยังเป็นสาเหตุของการติดเชื้อในอวัยวะหลายๆแห่ง ตั้งแต่แผลผ่าตัดไปจนถึงการติดเชื้อในกระแสเลือด ปัญหาที่สำคัญคือเชื้อ *S. aureus* ที่พบในโรงพยาบาลมักดื้อยากลุ่มเบต้าแลคแตม เรียกว่า MRSA และยาอื่นๆอีกหลายขนาน ยาที่สามารถรักษาการติดเชื้อ MRSA ได้ดีได้แก่ ยาแวนโคมายซิน (vancomycin) แต่มีราคาแพงมาก ยิ่งไปกว่านั้นในระยะหลังนี้ระดับของความเข้มข้นของยาแวนโคมายซินที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ MRSA มีค่าที่สูงขึ้นตามลำดับจนน่ากังวลว่าการรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจาก MRSA นี้อาจได้ผลลดลงและล้มเหลวในที่สุด หากเชื้อ MRSA ดื้อยาแวนโคมายซินแล้วแทบจะไม่มียาคุณภาพสูงเหลือให้ใช้รักษาอีก สถานการณ์การดื้อยาแวนโคมายซินของ MRSA จึงเป็นสถานการณ์ร้ายแรงที่น่าเป็นห่วง

ผู้ป่วยที่ติดเชื้อ ESBL-PE มีอัตราการเจ็บป่วยและอัตราการเสียชีวิตสูง เพราะเชื้อมักดื้อยาหลายขนาน ทำให้ต้องใช้ยาราคาแพงในการรักษา เชื้อ ESBL-PE มีความหลากหลาย รวมถึงเชื้อหลายสกุล (genus) และสปีชีส์หลายชนิด เชื้อที่ดื้อยานี้หลายชนิดสามารถโคโลไนซ์อยู่ในลำไส้ของคนปกติและในผู้ป่วย ทำให้เกิด ความเสี่ยงในการติดเชื้อตามมา เมื่อผู้ป่วยมีโรคอื่นๆและเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล เช่น ติดเชื้อที่แผลผ่าตัด ทางเดินปัสสาวะ ปอด และกระแสเลือด เป็นต้น ยีนดื้อยาปฏิชีวนะที่สำคัญของเชื้อ ESBL-PE หลายชนิดอยู่บนพลาสมิด ซึ่งเป็นหน่วยพันธุกรรมที่สามารถเคลื่อนย้ายไปมาระหว่างเชื้อแบคทีเรีย สกุล สปีชีส์ และสายพันธุ์ที่แตกต่างกันได้ การดื้อยาเหล่านี้จึงได้แพร่ระบาดอย่างกว้างขวางและรวดเร็ว

รองศาสตราจารย์ ดร. สุมาลี คอนโด ให้ความสนใจกับปัญหาสำคัญนี้มาตลอด ได้ทำการศึกษาวิจัยกับเชื้อในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์ ในประเทศไทย และรวบรวมเนื้อหามาประกอบในหนังสือเล่มนี้ หนังสือเล่มนี้จึงมีประโยชน์อย่างยิ่งที่ทำให้ผู้เกี่ยวข้องในวงการแพทย์ นักวิทยาศาสตร์ และผู้สนใจ สามารถศึกษาความสำคัญของปัญหา ลักษณะทางพันธุกรรมที่ใช้ในการจำแนกสายพันธุ์ เพื่อการตรวจหาสาเหตุและที่มาของการแพร่ระบาด และแนวทางการวินิจฉัยเพื่อวางแผนการรักษาผู้ป่วยโรคติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียดื้อยา หนังสือเล่มนี้จึงเป็นแหล่งความรู้ที่สำคัญเกี่ยวกับเชื้อแบคทีเรียดื้อยาของวงการวิชาการไทยต่อไป

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ประสิทธิ์ ผลิตผลการพิมพ์)

คำนำ

หนังสือเรื่อง “แบคทีเรียดื้อยา: เชื้อสแตฟฟิโลคอกคัส ออเรียสที่ดื้อยาเมธิซิลลิน และเชื้อเอนเทอโรแบคเทอราเลสที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย (Antibiotic Resistant Bacteria: Methicillinresistant *Staphylococcus aureus* and Extended spectrum β-lactamase producing *Enterobacterales*) เป็นงานเขียนที่ผู้นิพนธ์ได้ตั้งใจเรียบเรียงขึ้นโดยมีเนื้อหาที่เกี่ยวกับเชื้อแบคทีเรียดื้อยาและการจำแนกเชื้อด้วยเทคนิคระดับโมเลกุล พร้อมด้วยข้อมูลจากงานวิจัยที่ศึกษาโดยผู้นิพนธ์และทีมวิจัยเพื่อเพิ่มพูนความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับเชื้อแบคทีเรียดื้อยาโดยเฉพาะเชื้อ *S. aureus* ที่ดื้อต่อยาเมธิซิลลิน (MRSA) และเชื้อดื้อยากลุ่ม *Enterobacterales* ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย *Enterobacterales* (Extended spectrum β-lactamase producing *Enterobacterales*, ESBL-PE) รวมถึงการใช้เครื่องมือการทดสอบด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยาเพื่อจำแนกและวิเคราะห์สายพันธุ์ของเชื้อ MRSA และ ESBL-PE ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการประยุกต์ใช้ในทำงานของกลุ่มบุคลากรทางการแพทย์ ได้แก่ แพทย์ พยาบาล เภสัชกร นักเทคนิคการแพทย์ นักศึกษาในกลุ่มสุขศาสตร์ และนักวิทยาศาสตร์

ผู้นิพนธ์ได้สอดแทรกประสบการณ์จากงานวิจัยที่ได้ทำมาอย่างต่อเนื่อง โดยผลงานวิจัยของผู้นิพนธ์และคณะได้รับการตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติที่อยู่ในฐานข้อมูลที่ได้รับการยอมรับในระดับสากล และได้เผยแพร่ผลงานในรูปแบบการนำเสนอในการประชุมระดับนานาชาติ นอกจากนี้ข้อมูลที่สืบค้นจากงานวิจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องและทันสมัยได้ร้อยเรียงให้ผู้อ่านเข้าใจ และเป็นแนวทางให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้เทคนิคที่เหมาะสมในการศึกษาลักษณะของสายพันธุ์ และการจำแนกสายพันธุ์ของแบคทีเรียก่อโรคติดเชื้อ

ผู้นิพนธ์หวังเป็นอย่างยิ่งว่าหนังสือเล่มนี้จะเป็นหนังสืออีกเล่มที่เป็นคุณประโยชน์ทางการศึกษาและการพัฒนาวิจัยที่เกี่ยวข้อง ใช้ประกอบการเรียนเพื่อผู้อ่านได้เพิ่มพูนความรู้และทำความเข้าใจในเรื่องการดื้อยาต้านจุลชีพของแบคทีเรียที่ลึกซึ้งมากขึ้น เรียนรู้เทคนิคทางอณูชีววิทยาที่มีการพัฒนาไปอย่างรวดเร็วเพื่อประโยชน์ในการวินิจฉัยและการรักษาที่มีประสิทธิภาพ เสริมความรู้ความเข้าใจทางห้องปฏิบัติการและงานวิจัยระดับโมเลกุลจากข้อมูลการศึกษาและการวิเคราะห์ผลการศึกษาที่แสดงให้เห็นถึงปัญหาการดื้อยาหลายขนานของเชื้อ MRSA และ ESBL-PE เช่น เชื้อ MRSA ที่มีค่าความไวของยาแวนโคมายซินที่สูงขึ้น ซึ่งมีบทบาทสำคัญทำให้การรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อสายพันธุ์นี้ไม่ได้ผล และเชื้อ ESBL-PE ที่โคโลไนซ์ในผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงในการติดเชื้อในโรงพยาบาลและอาจได้รับเชื้อดื้อยาที่โคโลไนซ์ระหว่างการทำหัตถการทางการแพทย์ นอกจากนี้ยาต้านจุลชีพที่ใช้สำหรับการรักษาโรคติดเชื้อมีการพัฒนาการผลิตน้อยลง ส่งผลกระทบต่อการรักษาทั่วโลก การร่วมมือกันในการจับตาเฝ้าระวัง ป้องกัน และควบคุมเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพอย่างเข้มงวด เพื่อไม่ให้มีการแพร่ระบาดมากขึ้น และช่วยลดอัตราการเจ็บป่วยและอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วย

หนังสือที่นิพนธ์นี้ได้จัดทำด้วยความตั้งใจเพื่อให้เป็นหนังสือที่มีคุณภาพและมีประโยชน์ต่อผู้อ่าน ผู้นิพนธ์หวังเป็นอย่างยิ่งว่าหนังสือเล่มนี้จะสามารถถ่ายทอดความรู้และประสบการณ์จากงานวิจัยเกี่ยวกับเชื้อแบคทีเรียดื้อยาให้กับผู้อ่าน เพิ่มพูนความรู้ความเข้าใจ และสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในงานที่เกี่ยวข้องต่อไป

สุมาลี คอนโด

รองศาสตราจารย์ ดร. สุมาลี คอนโด

ประวัติผู้นิพนธ์

รองศาสตราจารย์ ดร. สุมาลี คอนโด

- จบการศึกษาระดับปริญญาตรีเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น พ.ศ. ๒๕๒๗
- รับราชการตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ พ.ศ. ๒๕๒๘- ๒๕๔๖
- จบการศึกษาระดับอนุปริญญาสาขาจุลชีววิทยาทางการแพทย์ (Diploma in Medical Microbiology) จาก Institute for Medical Research ประเทศมาเลเซีย พ.ศ. ๒๕๓๐ โดยได้รับทุนการศึกษาจาก Southeast Asian Ministers of Education Organization (SEAMEO-TROPMED Thailand)
- จบการศึกษาระดับปริญญาโทสาขาจุลชีววิทยาทางการแพทย์ (M.Sc. in Medical Microbiology) จาก University Kebangsaan Malaysia ประเทศมาเลเซีย พ.ศ. ๒๕๓๔ โดยได้รับทุนการศึกษาจาก SEAMEO-TROPMED ในหัวข้อวิทยานิพนธ์เรื่อง “Properties of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Malaysia and Thailand”
- จบการศึกษาระดับปริญญาเอกสาขาวิทยาศาสตร์ (Ph.D. in Science; Molecular Genetic of Bacteria) จากมหาวิทยาลัยซิดนีย์ ประเทศออสเตรเลีย พ.ศ. ๒๕๔๐ โดยได้รับทุนการศึกษาจาก Australian Agency for International Development (AUSAID; Australian Government Scholarship) ในหัวข้อวิทยานิพนธ์เรื่อง "Molecular analysis of staphylococcal antimicrobial resistance plasmids"
- ผ่านการฝึกอบรมเทคนิค Recombinant DNA ใน พ.ศ. ๒๕๓๓ จัดโดย Department of Genetic and Cellular Biology, Faculty of Sciences, University of Malaya ณ ประเทศมาเลเซีย
- ผ่านการฝึกอบรมเรื่อง Rickettsial antigen preparation, Indirect immunoperoxidase test, Direct fluorescence antigen technique และ Indirect fluorescence antibody technique จาก Institute for Medical Research ประเทศมาเลเซีย พ.ศ. ๒๕๓๔
- ผ่านการฝึกอบรมเรื่อง Management and Counselling of AIDS patients workshop ณ ประเทศมาเลเซีย พ.ศ. ๒๕๓๔

- เข้าร่วมโครงการแลกเปลี่ยนด้านงานวิจัย (Research Exchange Program) ณ มหาวิทยาลัยเกียวโต ประเทศญี่ปุ่น พ.ศ. ๒๕๔๑ โดยได้รับทุนความร่วมมือด้านการวิจัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

- เข้าร่วมโครงการแลกเปลี่ยนด้านงานวิจัย (Research exchange program) ณ มหาวิทยาลัยโตเกียว ประเทศญี่ปุ่น พ.ศ. ๒๕๔๒ โดยได้รับทุนความร่วมมือด้านการวิจัย NRCT-JSPS

- เคยดำรงตำแหน่งต่าง ๆ ทั้งภายในและภายนอกมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
    - อาจารย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ พ.ศ. ๒๕๔๖
    - ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ พ.ศ. ๒๕๔๘
    - รองศาสตราจารย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ พ.ศ. ๒๕๖๒
    - หัวหน้าสาขาอณูพันธุศาสตร์และอณูชีววิทยาการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ พ.ศ. ๒๕๕๒-๒๕๖๖
    - หัวหน้าห้องปฏิบัติการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ พ.ศ. ๒๕๔๙-๒๕๕๒
    - คณะกรรมการโรงเรียนแพทย์สร้างเสริมสุขภาพ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
    - คณะกรรมการสอบวัดคุณสมบัติ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
    - อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์กำกับดูแลงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ของนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
    - อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์กำกับดูแลงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ของนักศึกษาหลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
    - ที่ปรึกษาโครงการบัณฑิตอาสา มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
    - ที่ปรึกษาโครงการวิจัยภายในมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ และมหาวิทยาลัยมหิดล
    - อาจารย์ที่ปรึกษาหอพัก มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
- ปัจจุบันดำรงตำแหน่งต่าง ๆ ทั้งภายในและภายนอกมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
    - หัวหน้าสาขาอณูพันธุศาสตร์และอณูชีววิทยาการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
    - อาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
    - อาจารย์ประจำหลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

- อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์กำกับดูแลงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ของนักศึกษาหลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
- อาจารย์ที่ปรึกษาชุมนุมสมดุลแห่งชีวิต มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
- คณะกรรมการบริหารของสถานวิทยาศาสตร์พรีคลินิก คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
- คณะกรรมการวิจัยของสถานวิทยาศาสตร์พรีคลินิก คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
- คณะกรรมการประกันคุณภาพของสถานวิทยาศาสตร์พรีคลินิก คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
- คณะกรรมการดำเนินการสอบไล่ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
- คณะกรรมการพิจารณาโครงการและส่งเสริมการวิจัย โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระ-เกียรติ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
- อนุกรรมการและผู้ช่วยเลขานุการคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน สาขาแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
- Collaborator ของศูนย์จีโนมจุลินทรีย์ ศาสตราจารย์เกียรติคุณนายแพทย์พรชัย มาตังค-สมบัติ (Pornchai Matangkasombut Center for Microbial Genomics, CENMIC) มหาวิทยาลัยมหิดล
- ผู้ทรงคุณวุฒิภายในและภายนอกมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
  - ประเมินโครงการวิจัยหน่วยงานภายนอกเพื่อรับทุนสนับสนุนงานวิจัย
    - โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
    - คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม
  - ตรวจสอบคุณภาพบทความนิพนธ์ต้นฉบับเพื่อตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ
    - Antimicrobial resistance & Infection control, Springernature; SNAPP
    - Journal of Southeast Asian Medical Research Asian Medical Journal and Alternative Medicine
  - ผู้ทรงคุณวุฒิประเมินโครงการวิจัยเพื่อขอประเมินจริยธรรมการวิจัยจากหน่วยงานภายนอก Central Research Ethics Committee (CREC)

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ....1
คำนิยม....3
คำนำ....5
ประวัติผู้นิพนธ์....7
สารบัญตาราง....12
สารบัญภาพ....13
บทที่ 1 เชื้อแบคทีเรียดื้อยา: ปัญหาและแนวทางแก้ไข....14
1.1 เชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่รักษาได้ยากและเป็นปัญหาสาธารณสุข....17
1.2 โรคติดเชื้อในโรงพยาบาลที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียดื้อยา....19
1.3 ปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อและการแพร่ระบาดของเชื้อดื้อยา....23
1.4 การเฝ้าระวังป้องกันการดื้อยาและการแพร่ระบาดของเชื้อแบคทีเรีย....28
บทสรุป....35
เอกสารอ้างอิง....37
บทที่ 2 Extended-spectrum β-lactamase-producing *Enterobacterales*....46
2.1 เชื้อดื้อยากลุ่ม *Enterobacterales* ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย....46
2.2 ยีนดื้อยา Extended-spectrum β-lactamase....53
2.3 การถ่ายทอดยีนดื้อยา Extended-spectrum β-lactamase....74
บทสรุป....85
เอกสารอ้างอิง....87
บทที่ 3 เชื้อดื้อยา *Staphylococcus aureus*....91
3.1 เชื้อดื้อยา *Staphylococcus aureus*....92
3.2 ยีนดื้อยา....98
3.3 การถ่ายทอดยีนดื้อยาและยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของสายพันธุ์....104
3.4 ปัจจัยเสี่ยงการติดเชื้อดื้อยา *S. aureus*....109
บทสรุป....112
เอกสารอ้างอิง....113
บทที่ 4 กลไกการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*....121

4.1 กลไกการดื้อยาต้านจุลชีพ 123
4.2 กลไกการดื้อยาแวนโคมายซินและการถ่ายทอดยีนดื้อยา 126
บทสรุป 130
เอกสารอ้างอิง 131
บทที่ 5 เทคนิคทางอณูชีววิทยาในการศึกษาลักษณะทางจีโนไทป์ 133
5.1 การศึกษาลักษณะทางจีโนไทป์ 133
5.2 การวิเคราะห์ลำดับเบสทั่วจีโนม 140
5.3 การศึกษาการกลายพันธุ์ของเชื้อดื้อยา 149
บทสรุป 157
เอกสารอ้างอิง 158
ดัชนี 161

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 เชื้อแบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพที่สำคัญ 3 ลำดับ 17
ตารางที่ 2.1 Sequence types (ST) ของ ESBL-producing *Enterobacterales* และสายพันธุ์ดื้อยาที่แยกจากผู้ป่วยก่อนและหลังผ่าตัดช่องท้อง 61
ตารางที่ 2.2 ยีนดื้อยาที่พบในเชื้อแบคทีเรียที่แยกจาก rectal swab แยกจากผู้ป่วยก่อนและหลังผ่าตัดช่องท้อง 64
ตารางที่ 2.3 เชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ ESBL-PE และเชื้อแบคทีเรียดื้อยาหลายชนิด จากตัวอย่างอุจจาระ (rectal swab) และสิ่งส่งตรวจอื่นๆ ในผู้ป่วยที่เป็นพาหะเชื้อ ESBL-PE 80
ตารางที่ 3.1 ลักษณะทางคลินิกและทางจุลชีววิทยาของผู้ป่วยติดเชื้อ MRSA และผลการรักษา 95
ตารางที่ 3. 2 เผ่าพันธุ์ (Lineages) ของเชื้อ MRSA ก่อโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลที่พบได้ทั่วไป 99
ตารางที่ 3.3 ยีนดื้อยาที่อยู่บน Mobile Genetic Elements (MGE) และกลไกการดื้อยาต้านจุลชีพ 106
ตารางที่ 4 กลไกการต้านเชื้อจุลชีพ 125
ตารางที่ 5.1 Multilocus sequence types (STs) และ SCC*mec* type ที่พบบ่อยในสายพันธุ์ HA-MRSA และ CA-MRSA ในแต่ละประเทศ 136
ตารางที่ 5.2 ข้อดีและข้อจำกัดของแต่ละวิธีทดสอบในการศึกษาเชื้อ *S. aureus* 138
ตารางที่ 5.3 ยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อ *S. aureus* ที่อยู่บน Mobile genetic elements 142
ตารางที่ 5.4 จำนวน Sequence Nucleotide Variant (SNV) ที่แตกต่างระหว่างแต่ละคู่สายพันธุ์ 155

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1.1 ยาต้านจุลชีพใหม่ที่ผลิตเพื่อใช้รักษาในช่วงเวลาต่างๆ และการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ รวมถึงเชื้อดื้อยาที่พบครั้งแรก 16
ภาพที่ 1.2 การแพร่ระบาดของเชื้อสายพันธุ์ดื้อยา 25
ภาพที่ 2 แสดงแนวโน้มการติดเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ ช่วงปี พ.ศ. 2551-2556 51
ภาพที่ 3 กลไกการถ่ายทอดยีน *sasX* จากเชื้อ MSSA ไปยังเชื้อ MRSA 105
ภาพที่ 4 กลไกการดื้อยาแวนโคมายซินของเชื้อ *S. aureus* 128
ภาพที่ 5 Phylogenetic tree ของเชื้อ MRSA 7 สายพันธุ์ 156

บทที่ 1

เชื้อแบคทีเรียดื้อยา: ปัญหาและแนวทางแก้ไข

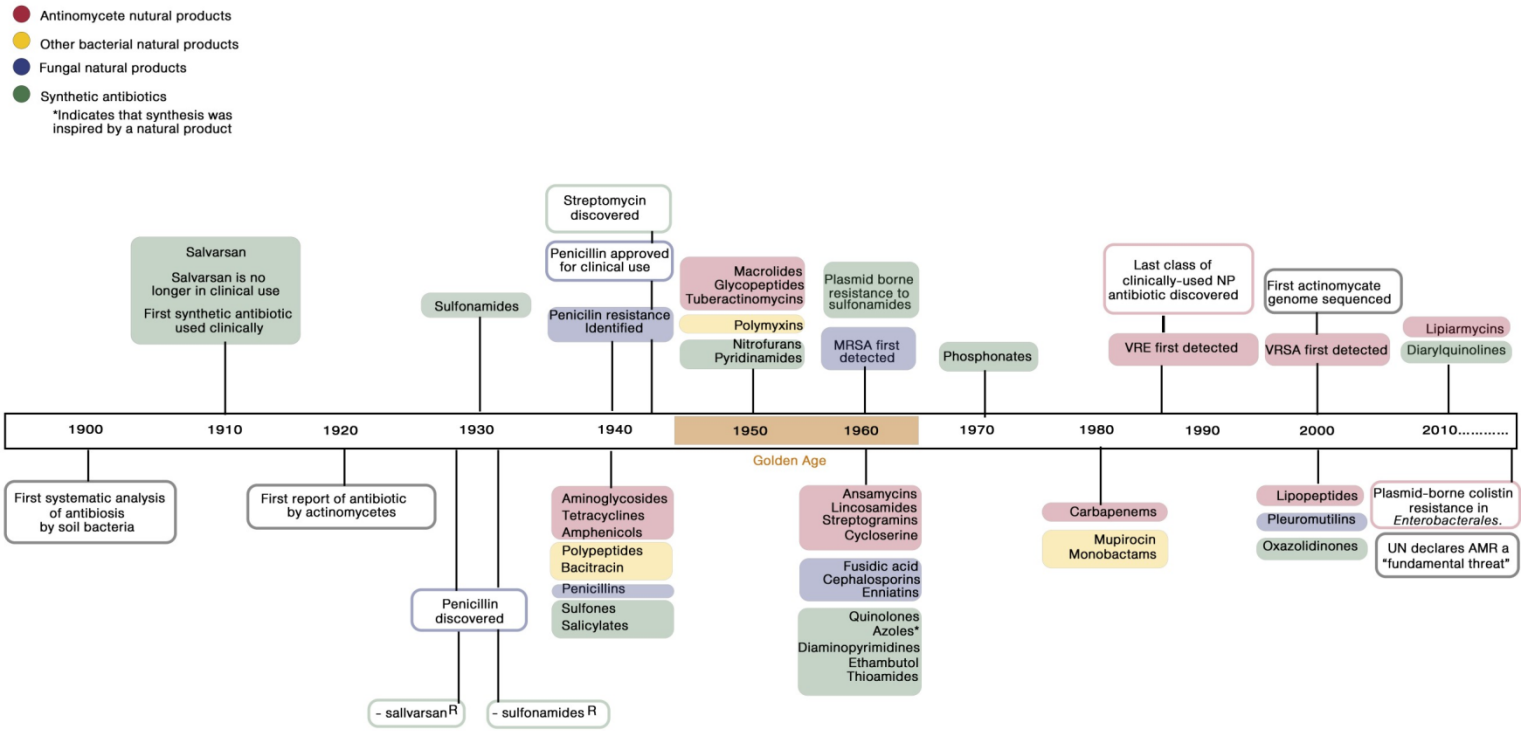
การดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียเป็นภัยคุกคามด้านสาธารณสุขทั่วโลก มีความรุนแรงและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง มีผู้ป่วยเสียชีวิตจำนวนมากจากการติดเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาต้านจุลชีพ ยาต้านจุลชีพที่เคยใช้รักษาได้ผลแต่ปัจจุบันยาเหล่านี้กลับไม่มีประสิทธิภาพในการรักษาเช่นเดิม ทั้งนี้เนื่องจากการพัฒนาการผลิตยาต้านจุลชีพใหม่เพื่อยับยั้งเชื้อก่อโรคดื้อยาไม่สามารถผลิตได้ทันกับการปรับตัวของเชื้อจุลชีพที่สามารถรอดจากการทำลายของยาต้านจุลชีพที่ผลิตขึ้นได้ ซึ่งเป็นสถานการณ์การดื้อยาต้านจุลชีพทั่วโลกที่ต้องเผชิญและแก้ปัญหาจากผลของการดื้อยาต้านจุลชีพที่ทำให้เกิดความเจ็บป่วยจากการติดเชื้อแบคทีเรียและรักษาไม่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่งผลต่ออัตราความเจ็บป่วยและอัตราการเสียชีวิตจากการติดเชื้อดื้อยาที่มีมากขึ้น โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีการมีหัตถการทางการแพทย์เพื่อการรักษา เช่น การผ่าตัดช่องท้อง ระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินปัสสาวะ การเปลี่ยนและปลูกถ่ายอวัยวะหรือการรักษาด้วยวิธีเคมีบำบัด เป็นต้น

ตัวอย่างจากรายงานการพบเชื้อ *Clostridium difficile* ที่ปกติไม่เคยดื้อยาต้านจุลชีพ กลับเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตด้วยอาการท้องเสีย และเกี่ยวข้องกับการใช้ยาต้านจุลชีพ ทั้งนี้พบว่ามีการติดเชื้อ *Clostridium difficile* นี้มากกว่า 3 ล้านคน และเสียชีวิตถึง 48,000คน เชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาต้านจุลชีพชนิดต่างๆได้ทำให้มีผลกระทบต่อการดูแลผู้ป่วยในโรงพยาบาล รวมถึงการปศุสัตว์และเกษตรกรรมที่มีการใช้ยาต้านจุลชีพในสัตว์และพืช จึงนับได้ว่าการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียเป็นหนึ่งในปัญหาที่สำคัญที่สุดในโลก ซึ่งได้มีข้อมูลจากทั่วโลกแสดงให้เห็นว่าในแต่ละปีมีผู้เสียชีวิตจากการติดเชื้อดื้อยาประมาณ 700,000 คน หากไม่มีมาตรการการแก้ไขอย่างเร่งด่วนคาดว่าในช่วงปี พ.ศ. 2593 จะมีปัญหาของการเสียชีวิตจากเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาต้านจุลชีพถึง 10 ล้านคนต่อปี และส่งผลต่อเศรษฐกิจถึง 3.5 พันล้านล้านบาท (คณะทำงานประสานการขับเคลื่อนแผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพประเทศไทย 2560-2564) สำหรับประเทศไทยพบรายงานว่ามีการติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาประมาณปีละ 88,000 คน และเสียชีวิตจากการติดเชื้อปีละ 38,000 คน มีการสูญเสียทางเศรษฐกิจ 4.2 หมื่นล้านบาท (ภาณุมาศ และคณะ, 2555)

จากการพัฒนายาต้านจุลชีพใหม่ที่ผลิตเพื่อใช้รักษาในช่วงเวลาต่างๆ และการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ ได้แสดงในภาพที่ 1 (Hutchings et al., 2019) ได้แสดงให้เห็นวิวัฒนาการของการดื้อยาต้านจุลชีพได้ที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและต่อเนื่อง ทำให้ไม่สามารถผลิตยาต้านจุลชีพใหม่ๆได้ทันการใช้รักษา อย่างไรก็ตามความหวังในการพัฒนายาต้านจุลชีพรุ่นใหม่จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพยังคงต้องมีการศึกษาและพัฒนาต่อไปในอนาคต

เริ่มมีการใช้ยาต้านจุลชีพ ชนิดแรกคือ ยา salvarsan ซึ่งเป็นยาต้านจุลชีพจากการสังเคราะห์สำหรับรักษาโรคซิฟิลิส ต่อมาในปี ค.ศ. 1928 ได้ค้นพบยา penicillin ได้เริ่มใช้เพื่อการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียตั้งแต่ช่วงศตวรรษ 1950 และ 1960 จากนั้นเมื่อพบว่าเชื้อ *S. aureus* ดื้อยาเพนิซิลลินทำให้การรักษาผู้ป่วยติดเชื้อได้ยากขึ้น และมีการเพิ่มขึ้นของโรคติดเชื้อจากการแพร่ระบาดรวมถึงความรุนแรงของโรคติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อดื้อยา จนกระทั่งในปี ค.ศ. 1962 ได้มีการผลิตยาfluoroquinolone ซึ่งเป็นยาต้านจุลชีพชนิดที่ใช้รักษาแบบวงกว้าง (Broad-spectrum antibiotics) ใช้รักษาผู้ป่วยที่สงสัยว่ามีการติดเชื้อแบคทีเรีย แต่ยังไม่ทราบชนิดของแบคทีเรียหรือเมื่อสงสัยว่าผู้ป่วยมีการติดเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด และต่อมาได้มีการผลิตยาต้านจุลชีพชนิดที่ใช้รักษาแบบวงแคบ (Narrow-spectrum antibiotics) ซึ่งเป็นยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์เฉพาะเจาะจงกับเชื้อที่ก่อโรคที่ทราบว่าเกิดจากเชื้อแบคทีเรียชนิดใด และมีการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพที่ใช้รักษาแบบวงแคบเพื่อการรักษาที่มีประสิทธิภาพ (Samantha, 2022) ในไม่ช้าได้เกิดอุบัติการณ์การดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคติดเชื้อในผู้ป่วยจำนวนมาก และได้มีการพัฒนายาต้านจุลชีพใหม่เพื่อใช้ในการรักษาเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นยาต้านจุลชีพที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา รวมถึงยาต้านจุลชีพชนิดสังเคราะห์ ดังนี้คือ

1. ยาต้านจุลชีพที่ผลิตจากเชื้อ *Actinomycetes* spp. เช่น ยาในกลุ่ม carbapenems (meropenem), aminoglycosides (Kanamycin A), tetracyclines (tetracycline), amphenicols (chloramphenicol), macrolides (erythromycin), glycopeptides (vancomycin), และ lipopeptides (daptomycin) (Hutchings et al., 2019)
2. ยาต้านจุลชีพที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น เช่น bacitracin (bacitracin), polymyxins (colistin), mupirocin, monobactams (aztreonam) และ ยาต้านจุลชีพที่ผลิตจากเชื้อรา เช่น penicillins (amoxicillin), fusidic acid, cephalosporins (cefacetrile)
3. ยาต้านจุลชีพชนิดสังเคราะห์ เช่น arsphenamines (salvarsan), sulfonamides (mafenide), pyridinamides (isoniazid), (fluoro)quinolones (ciprofloxacin), diaminopyrimidines (trimethoprim), oxazolidinones (linezolid)



ภาพที่ 1.1 ยาต้านจุลชีพใหม่ที่ผลิตเพื่อใช้รักษาในช่วงเวลาต่างๆ และการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ รวมถึงเชื้อดื้อยาที่พบครั้งแรก ได้แก่ เชื้อ methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), vancomycin-resistant Enterococci (VRE), vancomycin-resistant *S. aureus* (VRSA) และ เชื้อดื้อยา colistin ที่ควบคุมโดยพลาสมิด ในเชื้อกลุ่ม *Enterobacterales* (ดัดแปลงจาก Hutchings et al., 2019)

1.1 เชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่รักษาได้ยากและเป็นปัญหาสาธารณสุข

เชื้อแบคทีเรียดื้อยาชนิดแกรมลบที่สำคัญทำให้เกิดโรคติดเชื้อและผู้ป่วยเสียชีวิตจากการติดเชื้อในโรงพยาบาลที่รายงานในประเทศไทยได้แก่ *Acinetobacter* spp. และ*Pseudomonas* spp. เชื้อแบคทีเรียที่เป็นปัญหาสำคัญในชุมชน ได้แก่ *E. coli*, *Klebsiella* spp. และ *Neisseria gonorrhoeae*

สำหรับเชื้อแบคทีเรียที่เป็นปัญหาในปศุสัตว์และในอาหาร ได้แก่ *E. coli*, *Campylobacter* spp. และ *Salmonella* spp. เชื้อแบคทีเรียดื้อยาเหล่านี้ก่อให้เกิดปัญหาอย่างยิ่งในการใช้ยาต้านเชื้อแบคทีเรียเพื่อรักษาโรคติดเชื้อในคนและในสัตว์ และยังเกิดการระบาดของเชื้อดื้อยาเหล่านี้ทั้งในโรงพยาบาล ชุมชน ปศุสัตว์ อาหาร และสิ่งแวดล้อม จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีมาตรการการเฝ้าระวัง ป้องกัน และควบคุมอย่างเข้มงวดและมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังต้องมีการสื่อสารเครือข่ายที่ช่วยกันสร้างความเข้าใจ และชี้ให้เห็นปัญหาการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดขึ้นให้กับผู้ที่เกี่ยวข้อง เพื่อให้บรรลุเป้าหมายในแก้ไขสถานการณ์และลดการระบาดการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทั่วโลก

องค์การอนามัยโลกได้ประกาศรายชื่อเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่รักษาได้ยาก และเป็นปัญหาสาธารณสุขที่จำเป็นต้องได้รับการเฝ้าระวัง และพัฒนายาต้านจุลชีพใหม่อย่างเร่งด่วน โดยจำแนกตามระดับความจำเป็นออกเป็น 3 ลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เชื้อแบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพที่สำคัญ 3 ลำดับ (World Health Organization, 2017)

ลำดับที่ 1: ขั้นวิกฤติ

	เชื้อแบคทีเรีย	**ดื้อยาต้านจุลชีพ**
1.	*Acinetobacter baumannii*	carbapenem
2.	*Pseudomonas aeruginosa*	carbapenem
3.	*Enterobacterales*	carbapenem
4.	Extended-spectrum β-lactamase-producing (ESBL) *Enterobacterales*	Extended-spectrum β-lactam

ตารางที่ 1 (ต่อ) เชื้อแบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพที่สำคัญ 3 ลำดับ (World Health Organization, 2017)

ลำดับที่ 2: ขั้นสูง

	เชื้อแบคทีเรีย	**ดื้อยาต้านจุลชีพ**
1.	*Enterococcus faecium*	vancomycin
2.	*Staphylococcus aureus*	methicillin
		vancomycin
		vancomycin ในระดับ intermediate
3.	*Helicobacter pylori*	clarithromycin
4.	*Campylobacter* spp.	fluoroquinolone
5.	*Salmonellae*	fluoroquinolone
6.	*Neisseria gonorrhoeae*	cephalosporin
		fluoroquinolone

ลำดับที่ 3: ขั้นปานกลาง

	เชื้อแบคทีเรีย	**ดื้อยาต้านจุลชีพ**
1.	*Streptococcus pneumoniae*	penicillin
2.	*Haemophilus influenzae*	ampicillin
3.	*Shigella* spp.	fluoroquinolone

1.2 โรคติดเชื้อในโรงพยาบาลที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียดื้อยา

การใช้ยาต้านจุลชีพเพื่อการรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่ต้องใช้ยาต้านจุลชีพกลุ่มที่ 2 และ 3 (Generation 2 และ 3) พบว่ามีผลกระทบต่อผู้ป่วยจากการที่มีผลข้างเคียงที่รุนแรงได้ เช่น ส่งผลต่อการทำงานของอวัยวะต่างๆ และต้องอยู่รักษาในโรงพยาบาลนานกว่าปกติ ซึ่งเป็นสาเหตุของความเสี่ยงต่อการติดเชื้อในโรงพยาบาลจากเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นๆที่ดื้อยาหลายขนาน อีกทั้งยังมีโรคที่ไม่สามารถทำการรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาได้ดี เช่น ผู้ป่วยที่ปลูกถ่ายอวัยวะ โรคมะเร็ง และโรคเรื้อรัง เช่น เบาหวาน ภูมิแพ้ และโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ (Centers for Disease Control and Prevention, 2019)

การที่มีผู้ป่วยติดเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาต้านจุลชีพยังส่งผลกระทบด้านเศรษฐกิจจากค่าใช้จ่ายในการรักษาผู้ป่วยที่สูงขึ้นเป็นจำนวนมาก ตัวอย่างเช่น Center for Disease Control and Prevention (CDC) ได้ทำการประเมินค่าใช้จ่ายที่เกิดจากการดื้อยาต้านจุลชีพในสหรัฐอเมริกา และแสดงให้เห็นว่าได้มีการสูญเสียทางเศรษฐกิจในแต่ละปีเป็นจำนวนถึง 55 พันล้านเหรียญจากอุบัติการณ์การดื้อยาต้านจุลชีพ (Dadgostar, 2019) มีผู้ที่เสียชีวิตจากโรคติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียดื้อยาอย่างน้อยปีละ 23,000 คน (Centers for Disease Control and Prevention, 2013) ส่วนในประเทศไทยมีรายงานว่ามีการสูญเสียทางเศรษฐกิจมากถึงปีละ 46,000 ล้านบาท และอัตราการเสียชีวิต 28.3 ต่อประชากร 1 แสนคนซึ่งมากกว่าสหรัฐอเมริกาและยุโรปประมาณ 6 เท่า (สำนักข่าว Hfocus, 2020)

การติดเชื้อในโรงพยาบาลเกิดขึ้นเมื่อผู้ป่วยเข้ารักษาในโรงพยาบาลหลังจาก 48 ชั่วโมงขึ้นไป และอาจจะเกิดขึ้นได้หลังจากที่ผู้ป่วยออกจากโรงพยาบาลไปแล้ว (Cassini et al., 2019; Revelas, 2012) โดยความรุนแรงของการติดเชื้อและอุบัติการณ์การเกิดความรุนแรงสัมพันธ์โดยตรงกับสภาพของภูมิต้านทานในผู้ป่วยโดยตรง เช่น ผู้ป่วยที่อยู่ในห้องดูแลผู้ป่วยโดนไฟไหม้น้ำร้อนลวก ห้องดูแลผู้ป่วยอาการหนัก ห้องที่มีการปลูกถ่ายอวัยวะ และห้องดูแลผู้ป่วยเด็กทารก รายงานที่พบว่ามีการติดเชื้อในโรงพยาบาลบ่อยๆโดยมีอุบัติการณ์ของการติดเชื้อแบคทีเรียที่ตำแหน่งการผ่าตัดร้อยละ 2-5 ในกระแสเลือดจากการมีสายสวนร้อยละ 2-25 ในปัสสาวะจากการใส่สายสวนร้อยละ 12 และในปอด (Pneumonia) ร้อยละ 9-27 (Khan et al., 2017)

สืบเนื่องจากผลกระทบของการระบาดของเชื้อแบคทีเรียดื้อยา Center for Disease Control and Prevention (CDC) ได้มีการประกาศในรายงานล่าสุดเมื่อปี ค.ศ. 2019 ว่า “บัดนี้ทั่วโลกได้เข้าสู่ช่วงเวลาที่เชื้อแบคทีเรียได้พัฒนาสายพันธุ์ดื้อยาต้านจุลชีพที่จะทำให้ไม่มียาต้านจุลชีพใช้เพื่อรักษาการติดเชื้อของแบคทีเรียดื้อยาอีกต่อไปในไม่ช้านี้ จากที่พบว่าการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียได้เริ่มต้นมาตั้งแต่ปี 1968 และมีการดื้อยาต้านจุลชีพใหม่ที่ผลิตออกมาใช้เรื่อยมา ปัจจุบันพบว่าการรักษาและป้องกันการติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียดื้อยาล้มเหลว และเกิดการระบาดของเชื้อดื้อยาทั่วโลก หากยังไม่มีมาตรการการจัดการที่จริงจังก็

จะทำให้มีโรคติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยา ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อการเสียชีวิตจากการติดเชื้อนี้โดยคาดการณ์ว่าจะมีถึง 10 ล้านคนในปี ค.ศ. 2050” (Centers for Disease Control and Prevention, 2019)

การพัฒนายาต้านจุลชีพชนิดใหม่ๆเพื่อใช้ในการรักษาทางคลินิก หากแต่มีเชื้อแบคทีเรียบางสายพันธุ์ที่ดื้อยาจากกลไกของโครงสร้างของผนังเซลล์ที่มีการเปลี่ยนแปลงการจับเป้าหมายบนผนังเซลล์ของยาต้านจุลชีพหรือการเกิด efflux pumps ของยาต้านจุลชีพในสปีชีส์เดียวกัน ทำให้เชื้อแบคทีเรียดื้อยาได้ ยังมีเชื้อแบคทีเรียที่เคยไวต่อยาต้านจุลชีพ แต่กลายเป็นดื้อยาต้านจุลชีพด้วยกลไกการเปลี่ยนแปลงของยีนที่เกี่ยวข้องกับเซลล์เป้าหมาย (intracellular targets) (*pbp2x*) ของเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ส่งผลให้ความไวของเชื้อแบคทีเรียนี้ต่อยากลุ่มเบต้าแลคแตมลดลง (Musser et al., 2020) และอีกกลไกการดื้อยาที่เกิดจากยีนที่เกี่ยวข้องกับ core metabolism (Lopatkin et al., 2021) หรือได้รับยีนดื้อยาต้านจุลชีพใหม่โดยการถ่ายทอดยีนในแนวราบ (horizontal gene transfer) ทั้งนี้การถ่ายทอดยีนดื้อยาในแนวราบนี้สามารถเกิดขึ้นได้ทั้งในสายพันธุ์ชนิดเดียวกันหรือข้ามสายพันธุ์ ซึ่งเป็นสาเหตุของการแพร่ระบาดของเชื้อแบคทีเรียดื้อยา (Eichenberger et al., 2019; Sun et al., 2019; von Wintersdorff et al., 2016) อย่างไรก็ตามยังมีสาเหตุอื่นๆที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาต้านจุลชีพ ได้แก่ การใช้ยาต้านจุลชีพอย่างไม่เหมาะสมในการเลี้ยงสัตว์ การใช้ชนิดและขนาดของยาต้านจุลชีพที่ไม่เหมาะสมเกินความจำเป็นในการดูแลรักษาผู้ป่วย การจัดการน้ำเสียที่ไม่เหมาะสม และสุขอนามัยที่ไม่ถูกต้องในประเทศที่มีประชากรมีรายได้ต่ำและปานกลาง จึงเป็นสาเหตุสำคัญทำให้มีการแพร่ระบาดของเชื้อแบคทีเรียดื้อยาทั่วโลก

สิ่งที่ยังคงเป็นที่น่ากังวลมากที่สุดในปัจจุบันคือ การแพร่กระจายของกลุ่มเชื้อแบคทีเรียดื้อยาซึ่งสามารถแพร่ระบาดได้รวดเร็วเนื่องจากมียีนดื้อยาที่อยู่บนพลาสมิดซึ่งมีคุณสมบัติเป็น mobile element ที่สามารถเคลื่อนย้ายระหว่างสายพันธุ์ได้ เช่น ยีนที่สามารถสร้างเอนไซม์ carbapenemases (KPC, NDM, VIM, OXA-48, และOXA-51) พบได้ในเชื้อ *Enterobacterales* (Chaalal et al., 2021; Lerner et al., 2015; Poirel et al., 2014) และยีนดื้อยา colistin (*mcr*) ที่พบในกลุ่มเชื้อ *Enterobacterales*, *P. aeruginosa* และ *A. baumannii* (Hishinuma et al., 2020; Wang et al., 2018) เชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacterales* ยังมียีนดื้อยาต้านจุลชีพที่สร้างเอนไซม์ ESBL เช่น TEM, SHV, CTX-M และ OXA เป็นต้น

จากการศึกษาความชุกของเชื้อดื้อยา ESBL-producing *Enterobacterales* ของผู้นิพนธ์และคณะพบว่าเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่แยกจากสิ่งส่งตรวจ rectal swab ของผู้ป่วยที่เก็บก่อนและหลังการผ่าตัดช่องท้องจำนวน 31 ราย จากจำนวนผู้ป่วยทั้งหมด 104 ราย คิดเป็นร้อยละ 34.6 และตรวจหายีน ดื้อยาที่สามารถสร้างเอนไซม์ TEM, SHV, CTX-M, OXA-2 และ OXA-10 จากเชื้อแบคทีเรีย ชนิดที่สร้างเอนไซม์ชนิดฤทธิ์ขยายจากตัวอย่างที่ทดสอบ (Kondo, Apisarnthanarak, et al., 2022) และพบว่าเชื้อ

K. pneumoniae มียีนดื้อยา colistin จากการวิเคราะห์ลำดับเบสทั่วจีโนมของสายพันธุ์นี้พบยีน *mcr-1-1* และ *mcr-10.1* (Kondo et. al., 2023)

นอกจากนี้ยังมีรายงานของยีนดื้อยา vancomycin (*vanA*) ที่พบใน Enterococci (de Niederhäusern et al., 2011) และ รายงานของยีนดื้อยา methicillin (*mecA*) ที่พบใน *S. aureus* จากข้อมูลงานวิจัยของผู้นิพนธ์และงานวิจัยอื่นๆที่เกี่ยวข้อง (Kondo, Phokhaphan, et al., 2022; Phokhaphan et al., 2017; Snitser et al., 2020) เชื้อแบคทีเรียดื้อยาเหล่านี้มีความสำคัญในการติดเชื้อในโรงพยาบาลที่สามารถแพร่ระบาดได้อย่างรวดเร็ว รวมถึงสามารถถ่ายทอดสู่ชุมชน ปศุสัตว์ และสิ่งแวดล้อม ที่มีผลกระทบต่อการรักษาและค่าใช้จ่ายที่เกิดขึ้นโดยไม่จำเป็น ดังนั้นการตระหนักถึงการเฝ้าระวังอย่างใกล้ชิดและต่อเนื่องเพื่อลดการติดต่อและถ่ายทอดเชื้อแบคทีเรียจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง

งานวิจัยที่ผู้นิพนธ์และคณะได้ศึกษาวิจัยในตัวอย่างผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ พบเชื้อ Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) ในช่วงปี 2012-2015 และนำมาศึกษาในระดับโมเลกุลวิเคราะห์ลำดับเบสทั่วจีโนมของสายพันธุ์ เพื่อศึกษาความชุกและลักษณะของจีโนไทป์และฟีโนไทป์ของสายพันธุ์ที่คัดเลือกจำนวน 7 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์เชื้อ MRSA ที่มีค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุด (Minimum inhibitory concentration, MIC) ของยา vancomycin ที่สามารถยับยั้งเชื้อนี้ได้มีค่าสูงขึ้น (vancomycin MIC creep) ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการรักษาด้วย vancomycin ที่ล้มเหลว รวมถึงเชื้อ MRSA ที่มี subpopulation ของสายพันธุ์ที่ดื้อยา vancomycin ในระดับปานกลาง (heterogeneous Vancomycin Intermediate *S. aureus*, hVISA) ด้วย

จากผลการวิเคราะห์เบื้องต้นในสายพันธุ์เชื้อ MRSA ที่แยกจากตัวอย่างผู้ป่วยในช่วงเวลาของปี ค.ศ. 2019-2022 พบเชื้อ MRSA บางสายพันธุ์ไม่สามารถแยกชนิด Sequence Type จากข้อมูลลำดับเบสทั่วจีโนม และไม่พบสายพันธุ์ที่มีค่าความไวต่อยา vancomycin ที่สูงขึ้น (MIC creep) และสายพันธุ์ hVISA ซึ่งแตกต่างจากช่วงที่ทำการศึกษาในปี ค.ศ. 2012-2015 ที่ได้พบเชื้อสายพันธุ์ MRSA ที่มีค่าความไวต่อยา vancomycin ที่สูงขึ้น และสายพันธุ์ hVISA (Kondo, Phokhaphan, et al., 2022)

นอกจากนี้จากการเก็บตัวอย่างเชื้อ MRSA ทั้งสองช่วงเวลาของการศึกษาพบว่าจำนวนเชื้อ MRSA ที่แยกได้ตัวอย่างผู้ป่วยในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติลดลงอย่างมาก จึงเป็นข้อบ่งชี้ให้เห็นถึงประสิทธิภาพการวางแผนมาตรการการเฝ้าระวัง การป้องกัน การควบคุมการติดเชื้อ และการแพร่ระบาดของเชื้อ MRSA รวมถึงความร่วมมือของแพทย์และบุคลากรที่เกี่ยวข้องของโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระ-เกียรติที่ปฏิบัติตามแนวทางที่กำหนดไว้อย่างเต็มที่และอย่างมีประสิทธิภาพ (Kondo, Phokhaphan, et al., 2022)

การดื้อยาต้านจุลชีพเป็นปัญหาที่สำคัญจำเป็นต้องมีวิธีติดตามที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งรวมถึงการวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่ก่อโรค การแยกชนิดของสายพันธุ์ได้อย่างถูกต้องและรวดเร็วทันเวลา เพื่อให้แพทย์สามารถวางแผนการรักษาการติดเชื้อได้ตามเป้าหมาย และยังต้องเตรียมความพร้อมของการใช้ยาต้านจุลชีพใหม่ที่สามารถรักษาการติดเชื้อจากสายพันธุ์ที่ดื้อยาต้านจุลชีพหลายขนาน มีการกำหนดกลยุทธ์หลากหลายในการกำจัดเชื้อดื้อยาที่มีกลไกการดื้อยาที่แตกต่างกัน ส่งเสริมการพัฒนาวัคซีน ลดการใช้ยาต้านจุลชีพเพื่อป้องกันการพัฒนาเปลี่ยนแปลงสายพันธุ์กลายเป็นสายพันธุ์ดื้อยา นอกจากนี้การเพิ่มคู่มือการใช้น้ำยาฆ่าเชื้อและการบำบัดน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียเพื่อช่วยกำจัดเชื้อก่อโรคที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมของโรงพยาบาล รวมถึงการที่ผู้ป่วยและบุคลากรที่ดูแลสุขภาพมีสุขอนามัยที่ดีที่ช่วยลดโอกาสการระบาดของเชื้อดื้อยาหลายขนานที่อาจหลุดรอดสู่สิ่งแวดล้อมที่ทำให้มีการติดเชื้อทั้งในโรงพยาบาลและชุมชน

การแก้ปัญหาการถ่ายทอดการดื้อยามีความเกี่ยวข้องกับเทคโนโลยีในการวินิจฉัยที่ต้องทันสมัย และมีผู้ที่ต้องมีส่วนร่วมกันหลายฝ่ายทั้งแพทย์ พยาบาล นักเทคนิคการแพทย์ เภสัชกร และเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง รวมถึงหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในส่วนของการให้ความรู้และความเข้าใจเกี่ยวกับการถ่ายทอดการดื้อยา และส่งเสริมการพัฒนาการผลิตยาต้านจุลชีพใหม่เพื่อทดแทนยาต้านจุลชีพที่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ จัดทำโปรแกรมที่เกี่ยวข้องในการทำให้มีความตระหนักรู้ถึงการใช้ยาต้านจุลชีพให้เหมาะสมถูกต้องอย่างเข้มงวดให้กับประชาชนในประเทศต่างๆทั่วโลก เพื่อลดการดื้อยาต้านจุลชีพหลายขนานได้อย่างมีประสิทธิภาพและช่วยลดการติดเชื้อในโรงพยาบาลในผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูง (Avershina et al., 2021)

1.3 ปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อและการแพร่ระบาดของเชื้อดื้อยา

สาเหตุการเกิดโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลที่เป็นปัญหาทั่วโลก ส่วนใหญ่แล้วเป็นการติดเชื้อที่เป็นสายพันธุ์ดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิด และเชื้อยังคงสามารถคงอยู่ได้ในโรงพยาบาลเป็นเวลานานหลายปี ความเสี่ยงในการได้รับเชื้อแบคทีเรียดื้อยาของผู้ป่วยที่ได้เพิ่มขึ้น หากเข้าอยู่เพื่อการรักษาในห้องพักผู้ป่วยก่อนหน้าที่ได้รับเชื้อดื้อยามาแล้ว (Chng et al., 2020; Matta et al., 2018; Mitchell et al., 2015) ในรายงานได้กล่าวถึงประเด็นของการแพร่ระบาดของเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพที่มีสาเหตุจากน้ำยาฆ่าเชื้อในโรงพยาบาลที่ยังไม่ได้มีการอภิปรายและทบทวนถึงประเด็นนี้เป็นระยะเวลานานตั้งแต่ 25 ปีที่ผ่านมา การเปลี่ยนแปลงทั่วโลกในการให้มีแนวทางการป้องกันการติดเชื้อและควบคุมในทางปฏิบัติด้วยการใช้การล้างมือด้วยแอลกอฮอล์ โดยการกำหนดขององค์การอนามัยโลกในปี 2005 โดยมีประเทศที่เข้าร่วมแนวปฏิบัตินี้มากกว่า 180 ประเทศ (Peters et al., 2018; Pittet et al., 2005) รายงานของ WHO และ UNICEF ได้ชี้ให้เห็นว่ายังพบปัญหาที่เกี่ยวกับการดูแลในส่วนของการล้างมือที่ยังไม่เพียงพอ นอกจากนี้แม้ในประเทศที่พัฒนาแล้วยังไม่มีการจัดการของเสียที่เหมาะสม (World Health Organization, 2020) ผลจากน้ำเสียที่ปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียดื้อยาในระดับสูงที่มีความสามารถในการถ่ายทอดยีนดื้อยาด้วยสารพันธุกรรมที่เคลื่อนย้ายได้ ทำให้การแพร่ระบาดเกิดขึ้นในสิ่งแวดล้อมอย่างรวดเร็ว (Wang et al., 2018) อีกทั้งยังเกิดขึ้นได้อีกหลังจากการได้รับการรักษา (Buelow et al., 2020) ในการศึกษาน้ำทิ้งจากเครื่องบำบัดน้ำเสียของโรงพยาบาลพบได้ถึงร้อยละ 70 ของเชื้อแบคทีเรียที่มียีน NDM-1, *mcr-1*, *vanA*, และ *mecA* ซึ่งมากกว่าเมื่อเทียบกับที่พบของเสียที่มาจากในชุมชน และในการผลิตอาหาร (Alexander et al., 2020)

นอกจากนี้ปัจจัยเสี่ยงที่เกิดจากการใช้ยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์ในวงกว้างจากการวินิจฉัยที่ยังไม่สามารถระบุชนิดของยาที่มีค่าความไวต่อเชื้อแบคทีเรียในการยับยั้งและฆ่าเชื้อได้ จึงทำให้มีการใช้ยาที่ไม่เหมาะสมในการรักษาและส่งผลให้เชื้อดื้อยาในเวลาต่อมา มีข้อมูลที่เสดงให้เห็นว่าการใช้ยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์ในวงกว้างมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการดื้อยา โดยประเทศที่มีการใช้ยาต้านจุลชีพจำนวนมากกว่าแสดงผลของอัตราการดื้อยาที่ต้านจุลชีพที่สูงกว่า (Gonzales et al., 2013; Goossens et al., 2005)

ปัจจัยเสี่ยงอื่นๆของการติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะที่เกิดขึ้นได้บ่อยเกิดจากการใช้ท่อสายสวนปัสสาวะที่มีการสะสมของ Fibrinogen บนสายสวน โดยการสอดใส่สายสวน (catheter) จากภายนอกผ่านท่อปัสสาวะเข้าสู่กระเพาะปัสสาวะ (catheterization) เชื้อแบคทีเรียก่อโรคปนเปื้อนอยู่ที่สายสวนมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนทำให้เกิดเป็นไบโอฟิล์มที่สามารถป้องกันตัวเชื้อแบคทีเรียไม่ให้ถูกทำลายโดยยาต้านจุลชีพ หากการติดเชื้อไม่ได้รับการรักษา ผู้ป่วยอาจมีภาวะกรวยไตอักเสบ (pyelonephritis) และการติดเชื้อในกระแสเลือด (Mancuso et al., 2023)

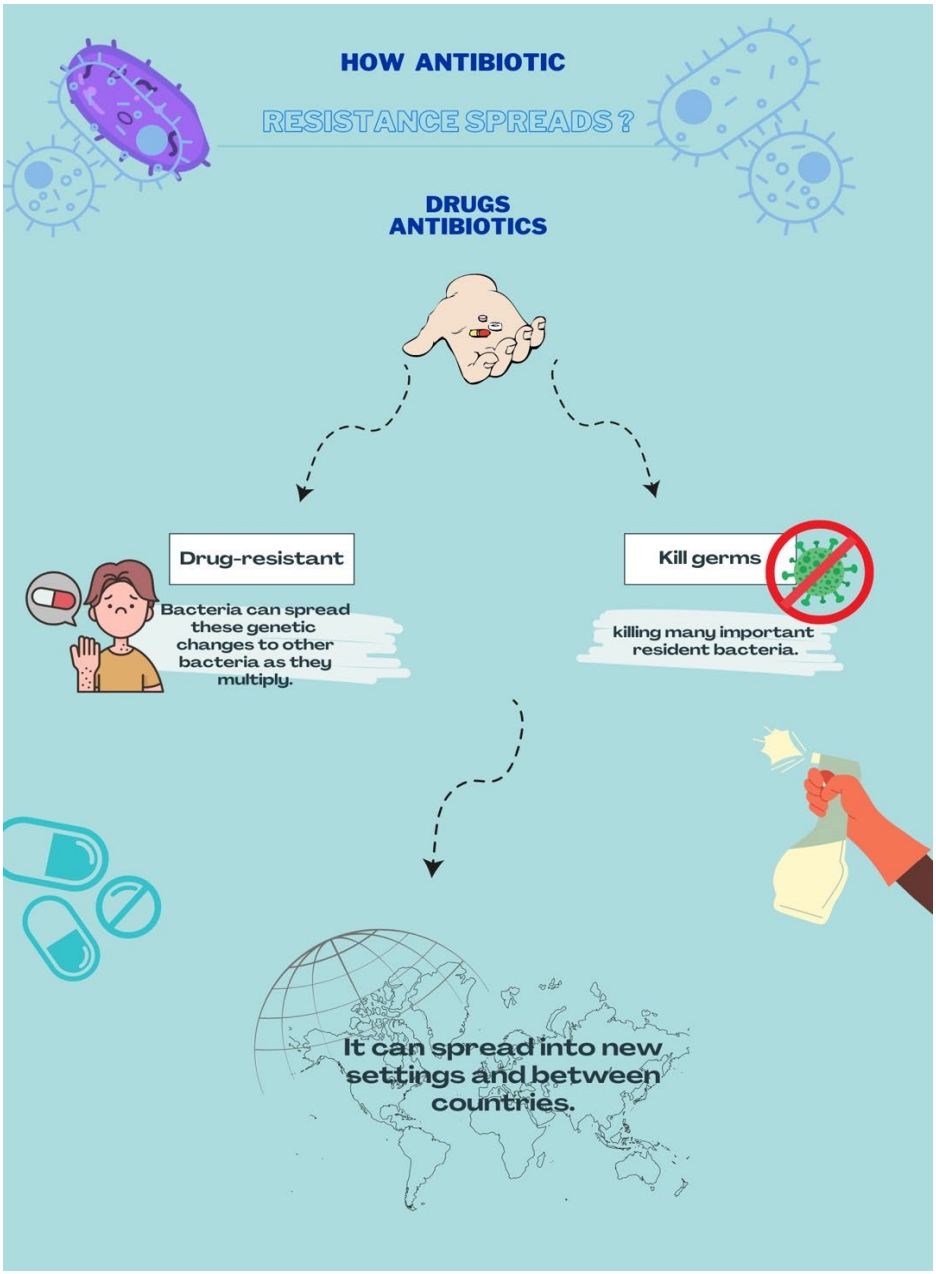
ในการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะที่ไม่มีอาการอาจส่งเสริมการปรับตัวของเชื้อแบคทีเรียและพัฒนาตัวเชื้อจนกลายเป็นเชื้อดื้อยาได้ ควรพิจารณาการรักษาให้ยาต้านจุลชีพใน

กลุ่มผู้ป่วยบางกลุ่ม เช่น ผู้ป่วยที่มีการตั้งครรภ์ ผู้ป่วยที่มีภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ (neutropenic patients) และผู้ป่วยที่มีหัตถการของการผ่าตัดระบบทางเดินปัสสาวะ ในทางตรงกันข้ามผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะที่มีอาการมักให้การรักษาด้วยยาต้านจุลชีพซึ่งสามารถเปลี่ยนแปลงเชื้อประจำถิ่นที่อยู่ในลำไส้และช่องคลอด ทำให้เพิ่มความเสี่ยงการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิด (Luu et al., 2022) รายงานเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพในกลุ่ม *E. coli* และ *Klebsiella* spp. พบสูงสุดในกลุ่มประเทศเอเชียถึงร้อยละ 60 (Livermore, 2012)

ความเสี่ยงที่เกิดจากการใช้ยาต้านจุลชีพมากเกินไปและไม่เหมาะสม นอกจากการเพิ่มขึ้นของการดื้อยาต้านจุลชีพแล้ว ยังส่งผลการมีภาวะโรคที่มีความรุนเรงมากขึ้น ระยะเวลาของโรคที่ต้องรักษายาวนานขึ้น เพิ่มความเสี่ยงต่อภาวะแทรกซ้อนและอัตราการเสียชีวิต ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการรักษามากขึ้น ความเสี่ยงของอาการข้างเคียงและอาจถึงขั้นเป็นภัยคุกคามต่อชีวิต ต้องมาพบแพทย์บ่อยขึ้นจากการติดเชื้อ และมีข้อจำกัดของการรักษาจากภาวะการติดเชื้อที่มีมากขึ้น (Llor et al., 2014)

จากรายงานว่าในประเทศยุโรปที่มีการเพิ่มขึ้นของการดื้อยาต้านจุลชีพจำนวนมาก องค์การอนามัยโลกจึงได้เสนอให้พิจารณาหลีกเลี่ยงยาต้านจุลชีพบางชนิดที่มีการใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อ คือยากลุ่ม Third generation cephalosporins, fluoroquinolones และ aminoglycosides เนื่องจากเป็นยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์ในวงกว้าง โดยให้ใช้ยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์ในวงแคบที่ยังคงมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้การใช้ยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์ในวงกว้างยังเพิ่มความเสี่ยงของการติดเชื้อดื้อยา *Clostridium difficile* และ เชื้อ MRSA ในระบบทางเดินปัสสาวะด้วย (Public Health England, 2012; World Health Organization, 2009)

การรักษาโรคติดเชื้อด้วยยาต้านจุลชีพจำนวนมากและไม่เหมาะสมเป็นหนึ่งในปัจจัยสำคัญที่สามารถส่งผลให้เชื้อจุลชีพมีการปรับตัวในการดื้อยาต้านจุลชีพที่ใช้รักษาในเวลาต่อมา ทั้งนี้เชื้อจุลชีพที่มีอยู่ในร่างกายของคนมีบทบาทหลากหลาย รวมถึงบทบาทการป้องกันต่อสู้กับเชื้อก่อโรคที่เข้ามาสู่ร่างกาย และมีส่วนในการพัฒนาระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายมนุษย์เพื่อตอบสนองต่อการติดเชื้อจุลชีพ โดยที่เชื้อจุลชีพที่มีอยู่ร่างกายสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนในการป้องกันไม่ให้เชื้อก่อโรคสามารถเจริญเติบโตได้ อย่างไรก็ตามจากการที่ผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพอย่างไม่เหมาะสม จึงส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นมีการเปลี่ยนแปลงโดยมีการลดลงทั้งจำนวนและความหลากหลายของสายพันธุ์ ทำให้มีการเจริญเติบโตของกลุ่มเชื้อที่ก่อโรคโดยมีการเพิ่มจำนวนและเพิ่มศักยภาพในการก่อโรคในผู้ป่วยได้ (ภาพที่ 1.2)



ภาพที่ 1.2 การแพร่ระบาดของเชื้อสายพันธุ์ดื้อยา

https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/How-AR-Spreads.pdf

(ดัดแปลงจาก Centers for Disease Control and Prevention, 2022)

เชื้อ *Helicobacter pylori* เป็นตัวอย่างที่แสดงให้เห็นได้ชัดเจนว่าเมื่อมีการใช้ยาต้านจุลชีพเพื่อกำจัดเชื้อนี้ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่มีอยู่ประจำในช่องคอและช่องท้อง จึงส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียก่อโรคนี้โคโลไนซ์ในร่างกายและสามารถก่อโรคได้ นอกจากนี้ยังทำให้มีอุบัติการณ์ของเชื้อแบคทีเรียดื้อยาซึ่งเป็นสิ่งที่ต้องหาทางป้องกันการแพร่ระบาดและลดการดื้อยาของสายพันธุ์ มิฉะนั้นแล้วจะเกิดปัญหาต่อการรักษาโรคติดเชื้อในอนาคตจากสถานการณ์ที่ยาต้านจุลชีพมีจำกัดเพื่อการรักษา ซึ่งได้มีรายงานเสนอแนะให้มีการกำหนดนโยบายและมาตรการให้มีการจ่ายยาต้านจุลชีพที่เหมาะสมเพื่อควบคุมการดื้อยาต้านจุลชีพ (Gulliford et al., 2014; Malik et al., 2018) ทั้งนี้การเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรียร่วมกับแบบแผนความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ และการควบคุมมาตรการการใช้ยา มาตรการการจัดการห้องผ่าตัดอย่างเคร่งครัด จึงเป็นสิ่งที่สำคัญในการลดปัจจัยความเสี่ยงของการติดเชื้อดื้อยา

เชื้อแบคทีเรียที่ไวต่อยาชนิดหนึ่งที่ได้รับถ่ายทอดการดื้อยาต้านจุลชีพ สามารถเกิดขึ้นได้จากการคัดเลือกภายใต้แรงกดดันที่มีการใช้ยาแต่ละชนิด (selective pressure) การดื้อยาที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมเป็นวิวัฒนาการการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียในแนวตั้ง (vertical evolution) ส่วนการดื้อยาที่เกิดจากการได้รับเชื้อที่มียีนดื้อยาเป็นวิวัฒนาการการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียในแนวนอน (horizontal evolution) สาเหตุของการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วเนื่องมาจากการที่เชื้อแบคทีเรียดื้อยามียีนดื้อยาที่พบอยู่บน พลาสมิดหรือสารพันธุกรรมที่ดื้อยาซึ่งสามารถเคลื่อนย้ายได้ง่ายและรวดเร็ว โดยสามารถเพิ่มปริมาณได้อย่างอิสระและถ่ายทอดยีนได้ระหว่างเซลล์แบคทีเรียและระหว่างสปีชีส์ แม้ว่าจะมียาต้านจุลชีพใหม่ที่พัฒนาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาการดื้อยาเหล่านี้ ยังพบการดื้อยาต้านจุลชีพได้บ่อยหลังจากที่มีการใช้ยาในระยะเวลาหนึ่ง นอกจากนี้การถ่ายทอดการดื้อยาสามารถเกิดขึ้นได้ระหว่างสัตว์และคนจากการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ทั้งนี้เชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่คนได้รับถ่ายทอดจากสิ่งแวดล้อมยังสามารถโคโลไนซ์ในคนได้ (Zainab et al., 2020) และยังมีเชื้อแบคทีเรียที่มียีนดื้อยา Colistin (*mcr*) และ carbapenem (NDM and VIM) เช่นเชื้อ *Salmonella* spp. ที่แยกได้จากการปนเปื้อนในอาหารสัตว์ทำให้ติดเชื้อแบคทีเรียในคนได้ (Mthembu et al., 2021)

การเฝ้าระวังควบคุมป้องกันโรคและลดการแพร่ระบาดของเชื้อดื้อยาที่เกิดขึ้นทั่วโลกให้มีประสิทธิภาพและประสบความสำเร็จได้นั้น เริ่มต้นจากการใช้แนวคิด“สุขภาพหนึ่งเดียว” แบบองค์รวมของเครือข่ายความร่วมมือของทุกภาคส่วน ทั้งในส่วนของสุขภาพคน สัตว์ สัตว์ป่า และสิ่งแวดล้อม ทั้งนี้ทางกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุขได้ตระหนักถึงปัญหาที่เกิดขึ้นในประเทศไทย จึงได้มีการผลักดันให้เกิดการประสานความร่วมมือและแลกเปลี่ยนความรู้ เพื่อให้เกิดการต่อยอดความร่วมมือและให้ทำงานร่วมกันแบบสุขภาพหนึ่งเดียว การดำเนินการต้องได้รับความสนใจจากภาคส่วนที่เกี่ยวข้อง และมีข้อมูลการดื้อยาในพื้นที่และประเมินความรุนแรงของปัญหาจากการติดตามและผลการรักษา อีกทั้งข้อมูลที่ใช้ในการประเมินการดำเนินงานและการปรับเปลี่ยนเพื่อแก้ปัญหาการต้านยาต้านจุลชีพของแบคทีเรีย

ประเทศไทยได้มีแผนกลยุทธ์นโยบายระดับชาติของการดื้อยาต้านจุลชีพ ปี พ.ศ. 2560-2564 "National Strategic Plan on Antimicrobial Resistance" (NSP-AMR) โดยตั้งเป้าหมายในการลดความเจ็บป่วยของการติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาร้อยละ 50 ด้วยการลดการใช้ยาต้านจุลชีพร้อยละ 20 ในคน และร้อยละ 30 ในสัตว์ การศึกษาที่รายงานเป็นผลของรูปแบบการใช้ยาต้านจุลชีพ โดยศึกษาการโคโลไนซ์ของเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพชนิดฤทธิ์ขยายในช่องทางเดินอาหารจากการประเมินความชุกของเชื้อในประเทศไทย ซึ่งมีเป้าหมายลดการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียในคนมากกว่า 20 ปี (2530-2550) สำหรับแต่ละแนวคิด “สุขภาพหนึ่งเดียว” ซึ่งรวมถึงอัตราการถ่ายทอดระหว่างคน สัตว์และสิ่งแวดล้อม และประเมินผล การดำเนินการตามแผนนโยบายระดับชาติของการดื้อยาต้านจุลชีพ ผลการศึกษาโดยใช้โมเดลในการคาดการณ์พบว่าการใช้ยาต้านจุลชีพเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการลดโคโลไนซ์ของแบคทีเรียดื้อยาในคน โดยส่งผลทำให้ลดถ่ายทอดการดื้อยาต้านจุลชีพจากเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่โคโลไนซ์ นอกจากนี้การลดการใช้ยาต้านจุลชีพโดยใช้เท่าที่จำเป็น ไม่ใช้อย่างพร่ำเพรื่อ การใช้ยาต้านจุลชีพอย่างเหมาะสม จะช่วยให้สามารถควบคุมการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Booton et al., 2021) โดยกลยุทธ์ที่สำคัญเพื่อลดการเกิดการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียได้เสนอไว้ดังนี้คือ

1) การเฝ้าระวังการใช้ยาต้านจุลชีพให้มีการใช้อย่างเหมาะสมและเท่าที่จำเป็น เพื่อให้มียารักษาที่มีประสิทธิภาพและเพียงพอสำหรับการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อแบคทีเรียก่อโรค
2) การสั่งจ่ายยาต้านจุลชีพที่มีประสิทธิภาพต้องให้ในเวลาที่เหมาะสม และใช้ยาต้านจุลชีพที่มีความจำเพาะกับเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุให้ทันเวลาเพื่อประสิทธิภาพของยาต้านจุลชีพ
3) ยาต้านจุลชีพใหม่ที่ต้องพัฒนาและได้รับการรับรองเพื่อใช้ในการรักษาจำนวน 10 ชนิด เพื่อรองรับการดื้อยาต้านจุลชีพที่จะเกิดขึ้นหลังจากการใช้ในเวลาต่อมา
4) พัฒนาการตรวจหายีนของแบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพที่ก่อโรคด้วยเทคนิคอณูชีววิทยาเพื่อการวินิจฉัยที่ถูกต้องและรวดเร็ว เพื่อประโยชน์ในการปรับปรุงการศึกษาเฝ้าระวังและการประเมินการควบคุมการติดเชื้อ ซึ่งจะส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของการดื้อยาต้านจุลชีพ เนื่องจากมีอุบัติการณ์การดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิดเพิ่มขึ้นอย่างมาก
5) จัดสรรงบประมาณกองทุนสนับสนุนเพื่อนวัตกรรมต้านการดื้อยาของแบคทีเรีย

1.4 การเฝ้าระวังป้องกันการดื้อยาและการแพร่ระบาดของเชื้อแบคทีเรีย

เชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลได้มีการเปลี่ยนแปลงความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และมีการดื้อยาหลายชนิดมากขึ้น การดื้อยาต้านจุลชีพดังกล่าวนับว่าเป็นภัยคุกคามต่อการสาธารณสุขทั่วโลก สาเหตุที่ทำให้เชื้อมีการพัฒนาความสามารถในการต้านยาต้านจุลชีพได้อย่างรวดเร็วหลังจากที่มีการค้นพบยาต้านจุลชีพและได้มีการใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในระบบโรงพยาบาลและชุมชน การใช้ยาต้านจุลชีพที่มีประสิทธิภาพ ปลอดภัย และราคาที่เหมาะสม ทำให้สามารถช่วยให้ผู้ป่วยมีชีวิตรอดจากการที่ได้รับการติดเชื้อ หากแต่การใช้ปฏิชีวนะที่มากเกินไป และใช้อย่างไม่เหมาะสม ทั้งในคน สัตว์ และ กลุ่มอื่น เช่น ยาฆ่าแมลง และในช่วงปี 2543-2553 มีปรากฏการณ์การดื้อยาเพิ่มขึ้นอย่างน่าตกใจทั่วโลกที่เกิดจากผลของการใช้ยาที่ไม่มีการควบคุมการสั่งยา หรือมีการใช้ยาต้านจุลชีพจากการซื้อยาจากร้านขายยามากเกินไป (Nathwani, 2019) ในปี พ.ศ. 2555 องค์การอนามัยโลกได้มีรายงานว่าการดื้อยาต้านจุลชีพได้กลายเป็นภัยคุกคามเนื่องจากขาดแคลนยาต้านจุลชีพใหม่ และเกิดปัญหาการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อก่อโรคที่ดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิด

ดังที่ได้กล่าวมาข้างต้นว่าการใช้ยาต้านจุลชีพที่ไม่เหมาะสม หรือใช้ในปริมาณที่ไม่ถูกต้องเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ทำให้การดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียเพิ่มขึ้น รวมถึงปัจจัยอื่นๆที่ทำให้มีการดื้อยาต้านจุลชีพได้แก่ การวินิจฉัยที่ยังไม่รวดเร็ว การป้องกันและการควบคุมการติดเชื้อแบคทีเรียที่ไม่เพียงพอ การใช้ยาต้านจุลชีพที่ไม่เหมาะสมและมากเกินไปในสัตว์ การปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียดื้อยาในสิ่งแวดล้อม และการถ่ายทอดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาจากการใช้เครื่องมือดูแลผู้ป่วย ดังนั้นโปรแกรมการควบคุมกำกับดูแลการใช้ยาอย่างเหมาะสม (Antimicrobial stewardship programmes, ASP) จึงเป็นกลยุทธ์ในการที่จะพิชิตการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย โดยเกี่ยวข้องกับการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างระมัดระวัง เป็นแนวปฏิบัติที่สำคัญปรับการใช้ยาต้านจุลชีพให้เหมาะสมในการรักษา โดยคำนึงถึงขนาดยา ระยะเวลาการให้ยา และวิธีการให้ยา จะช่วยให้ผู้ป่วยปลอดภัยจากการติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยา การควบคุมด้วยโปรแกรมการกำกับดูแลการใช้ยาเพื่อเพิ่มอัตราผลลัพธ์ของการรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียในผู้ป่วย ลดอัตราการติดเชื้อแบคทีเรียในผู้ป่วยที่มีหัตถการทางการแพทย์ เช่น การผ่าตัด ลดอัตราการเจ็บป่วยและการเสียชีวิต โดยเฉพาะการป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียตำแหน่งที่มีหัตถการทางการแพทย์ที่จำเป็นต้องใช้โปรแกรมนี้ ควบคู่ไปกับมาตรการการป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรีย มีรายงานการศึกษาได้แสดงให้เห็นว่า APS ช่วยลดการใช้ยาต้านจุลชีพ ค่ารักษาพยาบาล อัตราการดื้อยา และระยะเวลาการอยู่ในโรงพยาบาล โดยไม่มีการเพิ่มอัตราการเจ็บป่วยและการเสียชีวิต ลดการโคโล-ไนซ์หรือการติดเชื้อแบคทีเรียที่มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวก และแกรมลบที่ดื้อยาหลายชนิด (Multidrug-resistance, Extremely drug-resistance) เช่น *A. baumannii* (Apisarnthanarak et al., 2014; Yeo et al., 2012)*, K. pneumoniae* และ *P. aeruginosa* (Apisarnthanarak et al., 2014; Arda et al., 2007; Cook et al., 2015; Meyer et al., 2010; Yeo et al., 2012) การใช้ APS และมาตรการการควบคุมการติดเชื้อแบคทีเรียทำให้ลดการโคโลไนซ์หรือการติดเชื้อ *Clostridium difficile* ในช่วงการระบาดได้

โดยการควบคุมการใช้ยาต้านจุลชีพในผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูง ได้แก่ cephalosporins, co-amoxiclav, quinolones และ clindamycin (Lawes et al., 2017) การวิเคราะห์อภิมาน (Meta-analysis) ได้แสดงให้เห็นว่าได้บรรลุตามเป้าหมายจากการใช้ APS อย่างเป็นระบบในเอเชีย และ ASP ที่มีการกำกับการใช้ยาอย่างมีนัยสำคัญ สามารถลดการใช้ยาต้านจุลชีพ ค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาล ระยะเวลาการรักษา อัตราการเกิดโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลและอัตราการเสียชีวิต (Lee et al., 2018)

องค์การอนามัยโลกได้จัดทำแผนการปฏิบัติการเกี่ยวกับการดื้อยาต้านจุลชีพให้ประเทศต่างๆ ทั่วโลก โดยให้มีวัตถุประสงค์หลักในการพัฒนาแผนการปฏิบัติการระดับชาติ (WHO Team: Antimicrobial Resistance Division, 2019) คือ

1) สร้างความตระหนักรู้และความเข้าใจของการดื้อยาต้านจุลชีพโดยการสื่อสาร การศึกษา และ การอบรมที่มีประสิทธิภาพ
2) สร้างความเข้มแข็งขององค์ความรู้และหลักฐานเชิงประจักษ์จากข้อมูลการเฝ้าระวัง และการศึกษาวิจัย
3) ลดอุบัติการณ์การติดเชื้อโดยการวัดประเมินจากการมีสุขลักษณะอนามัย และการป้องกันการติดเชื้อที่มีประสิทธิภาพ
4) ปรับการใช้ยาต้านจุลชีพในการรักษาให้เหมาะสมในคนและสัตว์
5) พัฒนาด้านเศรษฐกิจเพื่อการลงทุนที่ยั่งยืนเพื่อรองรับความต้องการของทุกประเทศและเพิ่มการลงทุนในการผลิตยาต้านจุลชีพใหม่ เครื่องมือการวินิจฉัย วัคซีน และการศึกษาเพื่อการวิจัยอื่นๆ (Intervention)

จากปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพที่พบว่ามีการแพร่กระจายทั้งในคน สัตว์และสิ่งแวดล้อมทั่วโลกที่ส่งผลให้ผู้ที่ติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและต้องเสียชีวิตจำนวนมากรวมถึงในประเทศไทย ทำให้มีผลกระทบอย่างมากต่อด้านเศรษฐกิจจากการที่ต้องใช้ยาต้านจุลชีพที่มีราคาแพง และค่าใช้จ่ายในช่วงเวลาที่นอนรักษาในโรงพยาบาลนานขึ้น ซึ่งทำให้ผู้ป่วยมีความเสี่ยงในการติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาหลายชนิดได้ จึงได้มีการดำเนินงานในการแก้ปัญหาเชื้อแบคทีเรียดื้อยาในแผนปฏิบัติงานแห่งชาติด้านการดื้อยาต้านจุลชีพในระยะที่ 1 พ.ศ. 2560-2565 และในระยะที่ 2 พ.ศ. 2566-2570 เพื่อแก้ปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพ

การดำเนินงานการควบคุมการดื้อยาต้านจุลชีพในระยะที่ 1 (พ.ศ. 2560-2565) ได้มีการปรับเปลี่ยนการ.ใช้ยาต้านจุลชีพที่ใช้ในคนและพัฒนาระบบการเฝ้าระวังการต้านจุลชีพทั้งในคนและสัตว์ (Thailand Surveillance of Antimicrobial Consumption: Thailand-SAC) สำหรับการป้องกันและควบคุมการติดเชื้อในสถานพยาบาลและควบคุมกำกับดูแลการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างเหมาะสม โดยมีการจัดการแบบบูรณาการ (Integrated AMR management in hospital: IAM) ในโรงพยาบาลในภาครัฐและเอกชน การป้องกันและควบคุมเชื้อดื้อยา รวมถึงการกำกับดูแลการใช้ยาต้านจุลชีพในภาคการเกษตรและสัตว์เลี้ยง โดยมีกฎหมาย

ควบคุมการผลิตอาหารสัตว์ที่มีส่วนผสมของยาต้านจุลชีพ และลดการใช้ยาต้านจุลชีพในฟาร์มปศุสัตว์ทั้งภาครัฐและภาคเอกชน นอกจากนี้การส่งเสริมให้ประชาชนได้รับความรู้เรื่องเชื้อแบคทีเรียดื้อยาและการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างเหมาะสม ตระหนักถึงผลลัพท์ที่เชื้อแบคทีเรียดื้อต่อยาต้านจุลชีพมากขึ้นจากการใช้ยาอย่างพร่ำเพรื่อ ผลการดำเนินงานพบว่ามีความก้าวหน้าที่มีการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างเหมาะสมเพิ่มขึ้น จึงได้มีแผนขยายการมีส่วนร่วมทุกภาคส่วนในระยะที่ 2 (พ.ศ. 2566-2570) การเจ็บป่วยจากเชื้อแบคทีเรียดื้อยาลดลง และระบบการจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพ (World Health Organization., 2019; คณะทำงานประสานการขับเคลื่อนแผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพประเทศไทย 2560-2564)

จากอัตราการดื้อยาต้านจุลชีพมีมากขึ้นทั่วโลก และการพัฒนายาต้านจุลชีพชนิดใหม่ยังมีจำนวนน้อย ทำให้ยาต้านจุลชีพที่ใช้รักษาในปัจจุบันมีจำกัด จึงมีความจำเป็นต้องควบคุมกำกับดูแลการใช้ยาต้านจุลชีพในการรักษาที่ถูกต้องและเหมาะสม โดยองค์การอนามัยโลกได้มีความร่วมมือกับผู้เชี่ยวชาญจัดทำโปรแกรม การควบคุมกำกับดูแลการใช้ยาอย่างเหมาะสมในการรักษาผู้ป่วยให้ได้ผลดีและมีประสิทธิภาพโดยมีเป้าหมายเพื่อปรับการใช้ยาต้านจุลชีพ ส่งเสริมให้เปลี่ยนแปลงพฤติกรรมตามหลักปฏิบัติขั้นตอนการจัดเตรียมที่ถูกต้อง และการจ่ายยาที่เหมาะสมสำหรับผู้ป่วย นอกจากนี้ยังเป็นการช่วยลดอุบัติการณ์และการแพร่กระจายของการดื้อยาต้านจุลชีพทำให้การติดเชื้อที่เกิดจากการดูแลคนไข้ลดลง เพิ่มอายุการใช้ยาต้านจุลชีพที่มีอยู่ให้นานขึ้น ลดผลกระทบทางเศรษฐกิจของการดื้อยาต้านจุลชีพ ลดค่าใช้จ่ายที่ไม่จำเป็นในการรักษา พยาบาล และสร้างหลักการปฏิบัติที่ดีของบุคลากรวิชาชีพในการใช้ยาอย่างเหมาะสม

การทำโปรแกรมการควบคุมกำกับดูแลการใช้ยาอย่างเหมาะสมระดับชาติในแต่ละประเทศมีความแตกต่างกันเนื่องจากปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางการแพทย์และนโยบายที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงยึดหลักการและแนวปฏิบัติที่องค์การอนามัยโลกในการจัดทำโปรแกรมการควบคุมกำกับดูแลการใช้ยาอย่างเหมาะสม ทั้งนี้การจัดการระบบสุขภาพแบบบูรณาการ นอกเหนือจากโปรแกรมการควบคุมกำกับดูแลการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างเหมาะสมแล้ว ยังต้องมีการควบคุมและป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรีย ยารักษา และความปลอดภัยของผู้ป่วย ดังนั้นเมื่อมีการเฝ้าระวังการใช้ยา มีรายชื่อยาที่จำแนกให้ใช้เมื่อจำเป็น และมีการใช้โปรแกรมการควบคุมกำกับดูแลการใช้ยาอย่างเหมาะสม จึงช่วยควบคุมการดื้อยาต้านจุลชีพของแบคทีเรียได้

ส่วนสำคัญในโปรแกรมการควบคุมกำกับดูแลการใช้ยาอย่างเหมาะสม คือมีการดำเนินการโดยมีปณิธานของผู้นำหน่วยงาน (Leadership commitment) ความรับผิดชอบของทีมงาน (Accountability and responsibilities) การลงมือปฏิบัติการการควบคุมกำกับดูแลการใช้ยาอย่างเหมาะสม (AMS action) การให้ความรู้และฝึกฝนให้กับบุคลากรที่เกี่ยวข้อง (Education and Training) การติดตามควบคุมและการเฝ้าระวัง (Monitoring and surveillance) และการรายงานผลการดำเนินงานและการเสนอแนะจากผลการดำเนินงานเพื่อพัฒนาและปรับปรุง (Pulcini et al., 2019; World Health Organization, 2020) ทั้งนี้หน่วยงานสามารถเริ่มดำเนินการโปรแกรมการควบคุมกำกับดูแลการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างเหมาะสมได้ เลยโดยไม่ต้องมี

โครงสร้างและนโยบายที่เป็นทางการ เริ่มต้นด้วยการให้ความรู้กับบุคลากรสายสุขภาพที่มีหน้าที่ที่เกี่ยวข้องในส่วนของการสั่งยาให้ผู้ป่วย ข้อมูลเกี่ยวกับการให้ยาของผู้ป่วยเพื่อการรักษาสามารถจัดทำแบบบันทึกและแผนภูมิข้อมูลทางการแพทย์ตามมาตรฐาน รวมถึงการปรับปรุงข้อมูลให้ทันสมัย เพื่อให้มั่นใจว่าข้อมูลเกี่ยวกับการรักษาของผู้ป่วยเพื่อการรักษาได้บันทึกอย่างครบถ้วนรวมอยู่ในแบบบันทึกเดียวกัน โดยการทบทวนเพื่อตรวจสอบข้อมูลที่เกี่ยวกับการรักษามีดังนี้คือ

1) ผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพโดยมีข้อบ่งชี้
2) การได้รับการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์กว้างครอบคลุมเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ
3) ปริมาณยาต้านจุลชีพ
4) ยาต้านจุลชีพเพื่อป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียที่ให้ผู้ป่วยที่มีการผ่าตัดโดยมีการสั่งให้ยาต้านจุลชีพก่อนการผ่าตัดมากกว่า 24 ชั่วโมง และให้จำนวนที่เหมาะสม คือ 1 ครั้ง (dose)
5) จัดทำแนวปฏิบัติที่ใช้สำหรับการให้ยาต้านจุลชีพเพื่อป้องกันหรือลดความเสี่ยงของการติดเชื้อแบคทีเรียที่ให้ผู้ป่วยที่มีการผ่าตัด การรักษาในทางคลินิกที่พบบ่อยๆ เช่น Community acquired pneumonia การติดเชื้อแบคทีเรียระบบทางเดินปัสสาวะ การติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังและเนื้อเยื่ออ่อน (skin and soft tissue infection; SSTIs) รวมถึง การติดเชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการดูแลสุขภาพผู้ป่วย (Health-care-associated infections) เช่น ปอดบวม การติดเชื้อแบคทีเรียระบบทางเดินปัสสาวะ และการติดเชื้อแบคทีเรียจากการใช้สายสวน

กลยุทธ์ในการดำเนินการจัดทำโปรแกรมการควบคุมกำกับดูแลการใช้ยาอย่างเหมาะสมในโรงพยาบาลทั่วโลกสามารถใช้วิธีหรือเทคนิคที่แตกต่างกันได้ โดยมีหลักการเพื่อสนับสนุนให้มีการดำเนินการโปรแกรมหรือแนวปฏิบัติทางคลินิกและทำอย่างต่อเนื่อง ให้มีผู้นำทีมและผู้เชี่ยวชาญในการบริหารจัดการการติดเชื้อแบคทีเรีย อีกทั้งยังต้องให้มีการบริหารจัดการเกี่ยวกับยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการรักษา รวมถึงยาต้านจุลชีพที่จำเป็นใช้ในการรักษา โดยมีการตั้งคณะกรรมการกำกับการใช้ยาต้านจุลชีพและการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพโดยมีกลุ่มผู้ปฏิบัติการของห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาพื้นฐานรายงานผลของรูปแบบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพชนิดต่างๆที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย (Antibiogram) เพื่อเฝ้าระวังการดื้อยาแบคทีเรียอย่างสม่ำเสมอ และเพื่อส่งสัญญาณให้ทันกับสถานการณ์ก่อนที่จะมีการแพร่ระบาดต่อไปได้อย่างรวดเร็วด้วยมาตรการการควบคุมและป้องกันการระบาดในโรงพยาบาลและการแพร่กระจายเชื้อแบคทีเรียดื้อยาสู่ชุมชนและสิ่งแวดล้อมอย่างมีประสิทธิภาพ

ประเทศไทยได้มีแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวโดยจัดทำแนวทางในการพัฒนาระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพที่ส่งผลกระทบโดยตรงในด้านสาธารณสุขที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาต้านจุลชีพในคน สัตว์เลี้ยงที่เป็น

อาหาร และสิ่งแวดล้อม ไม่รวมถึงการเฝ้าระวังในสัตว์เลี้ยงในบ้าน สัตว์ป่า และการใช้ยาต้านจุลชีพ โดยเป็นแนวทางที่เหมาะสมกับประเทศไทย (National Antimicrobial Resistant Surveillance Center Thailand, 2022) โดยมีวัตถุประสงค์ของระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวคือ

1) ทราบสถานการณ์การดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อสำคัญที่เป็นปัญหาสาธารณสุข ห่วงโซ่อาหาร และสิ่งแวดล้อมของประเทศ
2) ประเมินอัตราการป่วย และอัตราการตายจากการติดเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ
3) ติดตามและประเมินผลของมาตรการที่ดำเนินการโดยวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการใช้ยาต้านจุลชีพกับการดื้อยาต้านจุลชีพ
4) ใช้ประโยชน์เชิงนโยบายในการบังคับใช้กฎหมายหรือมาตรการควบคุม
5) เชื่อมโยงกับระบบเฝ้าระวังที่ดำเนินการเพื่อการจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพตามภารกิจของหน่วยงานโดยมีเป้าหมายการใช้ประโยชน์เฉพาะในการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพในคน การเฝ้าระวังและตรวจติดตามเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพในปศุสัตว์ ทำให้ทราบถึงสถานการณ์แนวโน้มและแหล่งการเกิดเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ ค้นหากลไกการดื้อยาต้านจุลชีพที่เกิดขึ้นใหม่และวิเคราะห์ความเสี่ยงต่อสุขภาพสัตว์และคน จากนั้นนำมากำหนดนโยบายทางด้านสุขภาพสัตว์และคนด้านการจัดการเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพจากข้อมูลที่ดำเนินการ

การเฝ้าระวังทางสาธารณสุขมี 4 ส่วน คือ (1) การจัดเก็บ (2) การวิเคราะห์และแปลผลข้อมูลทางสาธารณสุขอย่างมีระบบและต่อเนื่อง (3) การนำข้อมูลที่วิเคราะห์เผยแพร่และใช้ในการวางแผน จัดทำมาตรการป้องกันและควบคุมปัญหาสาธารณสุข (4) การประเมินผลมาตรการอย่างรวดเร็ว โดยมีประโยชน์ข้อมูลการเฝ้าระวังดังนี้

1) การตรวจจับได้ทันทีเมื่อเกิดเหตุการณ์ของโรคระบาด ปัญหาสุขภาพที่เกิดขึ้นใหม่ การเปลี่ยนแปลงวิธีปฏิบัติด้านสุขภาพ การเปลี่ยนแปลงการดื้อยาปฏิชีวนะ การเปลี่ยนแปลงการกระจายของประชากรที่มีความเสี่ยงต่อโรค
2) การรายงานข้อมูลตามรอบเวลาเพื่อการประเมินขนาดของปัญหาสุขภาพรวมถึงค่าใช้จ่าย การประเมินกิจกรรมการควบคุม การหาปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรค ติดตามปัจจัยเสี่ยง เป็นข้อมูลเพื่อสนับสนุนการวางแผน ติดตามการเปลี่ยนแปลงแนวปฏิบัติด้านสุขภาพ การจัดทำรายงาน การแพร่กระจายของโรคและการบาดเจ็บ การกำหนดลำดับความสำคัญของการวิจัย
3) จัดเก็บข้อมูล เพื่ออธิบายความเป็นมาและธรรมชาติของโรค การอำนวยความสะดวกในการวิจัยทางระบาดวิทยาและการวิจัยทางห้องปฏิบัติการ การตรวจสอบความถูกต้องของการใช้ข้อมูลเบื้องต้น การกำหนดลำดับความสำคัญของการวิจัย การจัดทำรายงานการแพร่กระจายของโรคและการบาดเจ็บ

ทั้งนี้การออกแบบระบบการเฝ้าระวังต้องคำนึงถึงประโยชน์จากระบบการเฝ้าระวังให้สอดคล้องกับตามวัตถุประสงค์ ข้อมูลมีความน่าเชื่อถือ สมบูรณ์และแม่นยำ มีการรายงานรวดเร็วทันเหตุการณ์ ปรับเปลี่ยนระบบได้ทันต่อการเปลี่ยนแปลงได้รวดเร็ว ดำเนินการระบบการเฝ้าระวังได้ง่าย ราบรื่นไม่ติดขัด ระบบการเฝ้าระวังตรวจจับผู้ป่วยที่ต้องการได้ดี จำนวนผู้ป่วยที่รายงานตรงตามนิยามโรค ได้ตัวแทนของประชากรที่ต้องการเฝ้าระวังที่ดี ผู้ใช้ระบบเต็มใจที่จะมีส่วนร่วมในการเฝ้าระวังและรายงานข้อมูลของตน

การพัฒนาระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพบนแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวต้องอาศัยข้อมูลเชื้อดื้อยาที่มีอยู่ในประเทศและความเสี่ยงจากเชื้อดื้อยาที่มีการประเมินและปรับปรุงอย่างต่อเนื่อง กรณีที่ยังมีข้อมูลไม่เพียงพอในระยะเรกจึงมีการจัดกลุ่มกิจกรรมการพัฒนาระบบเฝ้าระวังเป็น 3 ระยะ คือ

ระยะที่ 1 การเตรียมการ โดยกำหนดวัตถุประสงค์ของระบบเฝ้าระวังและเหตุผลหลักในการรวบรวมข้อมูล แผนการติดตามและการเฝ้าระวัง กำหนดความถี่การรายงาน วิธีการสื่อสารแลกเปลี่ยนหรือเผยแพร่ข้อมูล การใช้ประโยชน์ข้อมูลเพื่อการประเมินในอนาคต กำหนดการรักษาความลับและการจัดการข้อมูล มีการจัดลำดับความสำคัญของเชื้อ ยีน หรือชนิดของตัวอย่างที่จะเฝ้าระวังโดยได้จากข้อมูลระบาดวิทยา ข้อมูลผลกระทบต่อสุขภาพ ทั้งนี้ก่อนเริ่มดำเนินการต้องระบุชนิดของแบคทีเรียที่มีความสำคัญ ชนิดของยาต้านจุลชีพที่จะเฝ้าระวัง แผนการเก็บตัวอย่าง วิธีวิเคราะห์ วิธีการรายงาน การปรับเทียบมาตรฐานการวิเคราะห์วิธีวิเคราะห์ และมีศักยภาพในการดำเนินงาน

ระยะที่ 2 การเริ่มดำเนินการ โดยมีการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพ การเฝ้าระวังการใช้ยาต้านจุลชีพ การบูรณาการการวิเคราะห์ผลและรายงาน ทั้งนี้เมื่อดำเนินการไประยะหนึ่งและได้ข้อมูลเพียงพออาจปรับระบบเฝ้าระวังให้ตรงกับสถานการณ์ได้ เมื่อได้ข้อมูลสามารถปรับระบบเฝ้าระวังให้สอดคล้องกับสถานการณ์ โดยข้อมูลที่ได้เสดงถึงสิ่งที่พบจากการเฝ้าระวัง ระบาดวิทยาของเชื้อจุลชีพดื้อยา บัญชีความเสี่ยงและผลการประเมินความเสี่ยง

ระยะที่ 3 ดำเนินการประเมิน ทบทวน ปรับปรุง หรือขยายอย่างสม่ำเสมอ และมีกรอบการดำเนินงานและ/หรือแผนการดำเนินงานเพื่อการประเมินผล

เชื้อแบคทีเรียที่สำคัญซึ่งเป็นปัญหาของประเทศไทยจำนวน 9 สายพันธุ์ ที่ได้ถูกคัดเลือกเพื่อการเฝ้าระวัง จากระบบเฝ้าระวังที่ใช้ข้อมูลเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพทุกชนิดจากงานประจำ สำหรับทำการเฝ้าระวังแบบ Case finding ได้แก่

1) เชื้อ *Acinetobacter baummannii* ดื้อยา Carbapenem, Colistin
2) เชื้อ *P. aeruginosa* ดื้อยา Carbapenem, Colistin
3) เชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ดื้อยา Carbapenem, Colistin, 3rd Generation Cephalosporins (ESBL)

4) เชื้อ *Escherichia coli* ดื้อยา Carbapenem, Colistin, Fluoroquinolone, 3rd Generation Cephalosporins (ESBL)
5) เชื้อ *Enterococcus* ดื้อยา Vancomycin
6) เชื้อ *S. aureus* ดื้อยา Methicillin, Vancomycin
7) เชื้อ *Streptococcus pneumoniae* ดื้อยา Penicillin, Ceftriaxone หรือ Cefotaxime
8) เชื้อ *Salmonella* spp. 3rd Generation Cephalosporins (ESBL)
9) เชื้อ *Neisseria gonorrhoeae* ดื้อยา Cefotaxime

นอกจากนี้ประเทศไทยมีการส่งออกสินค้าทั้งภาคปศุสัตว์และภาคการเกษตร จึงมีระบบดำเนินการเฝ้าระวังการปนเปื้อนและการดื้อยาต้านจุลชีพใน *E. coli, Salmonella* spp., *E. faecalis*, *E. faecium* และ *Campylobacter* spp. ซึ่งได้ครอบคลุมเชื้อเหล่านี้ในข้อมูลภาคการสาธารณสุขแล้ว มีเพียง *Campylobacter* spp. ที่มีข้อมูลไม่มากนักเนื่องจากมีข้อจำกัดของจำนวนการส่งตรวจหาเชื้อ และข้อจำกัดในการเพาะเชื้อ *Campylobacter* spp. ที่มีความต้องการปริมาณอ๊อกซิเจนในปริมาณน้อย

สำหรับการเฝ้าระวังร่วมกันทุกภาคส่วนรวมถึงคน ปศุสัตว์ สัตว์น้ำ อาหาร สิ่งแวดล้อมในฟาร์ม และสิ่งแวดล้อมนอกฟาร์ม โดยใช้แนวคิดการเฝ้าระวังแบบ Tricycle ขององค์การอนามัยโลก โดยได้คัดเลือกเชื้อ ESBL-producing *E. coli* เป็นแบคทีเรียชนิดเดียวที่ใช้เป็นตัวชี้วัด ด้วยเหตุผลที่มีความชุกและความหลากหลายของ ESBL-producing *E. coli* ในคนทั่วโลกที่เกี่ยวข้องกับการใช้ยาต้านจุลชีพทั้งในห่วงโซ่อาหาร และการพบ ESBL-producing *E. coli* ในสิ่งแวดล้อม เมื่อมีมาตรการการลดการรับหรือสัมผัสยาต้านจุลชีพในสัตว์หรือคน พบว่า ESBL-producing *E. coli* ลดลง เชื้อนี้จัดอยู่ในกลุ่มที่มีความสำคัญขั้นวิกฤติจึงเป็นตัวแทนที่ดีของการแสดงถึงขนาดและแนวโน้มของปัญหา ESBL-*E. coli*

การดื้อยาต้านจุลชีพและผลการติดเชื้อแสดงให้เห็นอัตราการป่วยหนัก อัตราการเสียชีวิต รวมถึงค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาล และกลุ่มเชื้อที่ดื้อต่อยาเบต้าแลคแตมเกือบทุกชนิด ส่งผลทำให้ต้องหันไปใช้กลุ่มยาต้านจุลชีพทางเลือกสุดท้ายคือ carbapenems หรือ colistin ซึ่งนับว่าเป็นจุดเปลี่ยนของวิวัฒนาการของเชื้อดื้อยาที่มีมากขึ้น โดยผลการดำเนินการเฝ้าระวังแบบ Tricycle เป็นข้อมูลเชิงลึก มีประโยชน์ในการระบุบทบาทของทั้งสุขภาพคน ห่วงโซ่อาหาร และสิ่งแวดล้อมที่ทำให้มีการกลายพันธุ์และการแพร่กระจายของเชื้อ ทั้งนี้จากข้อมูลสถานการณ์การดื้อยาต้านจุลชีพของประเทศไทยได้แสดงให้เห็นว่า ESBL-producing *E. coli* ก่อให้เกิดการเจ็บป่วยในระดับรุนแรง เมื่อได้ข้อมูลการเฝ้าระวังแบบ Tricycle จึงนำไปวางแผนการควบคุมที่มีประสิทธิภาพ ดังนั้นจึงควรนำไปใช้ดำเนินการตามแนวทางขององค์การอนามัยโลกในประเทศไทย

บทสรุป

เชื้อแบคทีเรียดื้อยาแกรมลบและแกรมบวกที่สำคัญและเป็นปัญหาสาธารณสุข โดยเชื้อแบคทีเรียดื้อยาได้ถูกจัดเป็น 3 ลำดับโดยองค์การอนามัยโลก เชื้อแบคทีเรียที่ผู้นิพนธ์สนใจศึกษาคือเชื้อแบคทีเรีย ESBL-PE และ MRSA ซึ่งอยู่ในลำดับที่ 1 ขั้นวิกฤติ ต้องมีการเฝ้าระวังอย่างเข้มงวด เนื่องจากเป็นเชื้อสายพันธุ์ที่ทำให้มีการติดเชื้อในโรงพยาบาลซึ่งเป็นปัญหาด้านสาธารณสุขทั่วโลก และมีการแพร่ระบาดจากการถ่ายทอดเชื้อจากผู้ที่มีเชื้อแบคทีเรียโดยเฉพาะเชื้อที่ดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิดจากการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่โคโลไนซ์ในบุคลากรทางการแพทย์ที่เกี่ยวข้องกับผู้ป่วยหรือเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่โคโลไนซ์ในตัวผู้ป่วยเอง นอกจากนี้ผู้ป่วยอาจได้รับเชื้อจากอุปกรณ์ที่สอดใส่ในร่างกายผู้ป่วยเพื่อการรักษาที่มีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ในผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูงต่อการติดเชื้อมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคติดเชื้อและทำให้มีการเพิ่มอัตราการความเจ็บป่วยที่รุนแรงรวมถึงอัตราการเสียชีวิตจากโรคติดเชื้อ

ผลกระทบของการดื้อยาต้านจุลชีพมีผลกระทบต่อการรักษาผู้ป่วยที่มีโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (noncommunicable diseases, NCDs) อีกทั้งยังเป็นภัยคุกคามของการดื้อยาต้านจุลชีพที่มีต่อความปลอดภัยและประสิทธิภาพการทำหัตถการทางการแพทย์ เช่น การผ่าตัด การรักษาโรคมะเร็ง และการปลูกถ่ายอวัยวะ รวมถึงผู้ป่วยที่มีภูมิต้านทานต่ำจากการได้รับยาเคมีบำบัดหรือผู้ติดเชื้อเอชไอวี ความเจ็บป่วยของผู้ป่วยเหล่านี้เป็นปัจจัยที่สำคัญที่มีความเกี่ยวข้องกับการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียไม่ได้ผลเมื่อมีการติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพ

ปัจจัยที่สำคัญที่ทำให้การดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียเพิ่มขึ้นมาจากการใช้ยาต้านจุลชีพที่ไม่เหมาะสมหรือใช้ในปริมาณที่ไม่ถูกต้อง นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆเช่น การวินิจฉัยที่ล่าช้าทำให้แพทย์ทำการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพที่เป็นแบบวงกว้างแทนการใช้ยาต้านจุลชีพวงแคบที่ยังมีประสิทธิภาพ การป้องกันและการควบคุมการติดเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพไม่เพียงพอทำให้มีการแพร่ระบาดของเชื้อดื้อยา และมีการถ่ายทอดยีนดื้อยาจากสายพันธุ์ที่ดื้อยาไปยังสายพันธุ์อื่นๆทั้งที่อยู่ในจีนัสหรือสปีชีส์เดียวกันและต่างกันที่ไม่ดื้อยา การใช้ยาต้านจุลชีพที่ไม่เหมาะสมและมากเกินไปในสัตว์ การปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียดื้อยาในสิ่งแวดล้อมและเครื่องมือหรืออุปการณ์สอดใส่เพื่อการรักษาผู้ป่วยทำให้เกิดการถ่ายทอดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาและเกิดโรคติดเชื้อในผู้ป่วย

ดังนั้นแนวทางในการพัฒนาระบบเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพจากแนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวที่จัดทำในประเทศไทยจะช่วยลดผลกระทบในด้านสาธารณสุขที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาต้านจุลชีพในคน สัตว์เลี้ยงที่เป็นอาหาร และสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้การใช้ยาต้านจุลชีพที่ถูกต้องและเหมาะสมเพื่อการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียอย่างมีประสิทธิภาพ และเพื่อลดการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียจากการไม่ใช้ยาต้านจุลชีพอย่างพร่ำเพรื่อ รวมถึงมาตรการการป้องกันการติดเชื้อและถ่ายทอดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาไปสู่ผู้ป่วยและสิ่งแวดล้อมทั้งในโรงพยาบาลและชุมชน แพทย์ผู้รักษาและบุคลากรทางการแพทย์ที่เกี่ยวข้องทุกฝ่าย จึงควรร่วมกันดำเนินการตามมาตรการ

และแนวปฏิบัติที่สำคัญในการเฝ้าระวัง ป้องกัน และควบคุมโรคติดเชื้อที่เกิดจากแบคทีเรียเพื่อลดการดื้อของยาต้านจุลชีพและการแพร่ระบาดของเชื้อแบคทีเรียดื้อยา

เอกสารอ้างอิง

Alexander, J., Hembach, N., & Schwartz, T. (2020). Evaluation of antibiotic resistance dissemination by wastewater treatment plant effluents with different catchment areas in Germany. *Sci Rep, 10*(1), 8952. https://doi.org/10.1038/s41598-020-65635-4

Apisarnthanarak, A., Pinitchai, U., Warachan, B., Warren, D., Khawcharoenporn, T., & Hayden, M. (2014). Effectiveness of infection prevention measures featuring advanced source control and environmental cleaning to limit transmission of extremely-drug resistant *Acinetobacter baumannii* in a Thai intensive care unit: An analysis before and after extensive flooding. *Am J Infect Control, 42*, 116–121. https://doi.org/10.1016/j.ajic.2013.09.025

Arda, B., Sipahi, O. R., Yamazhan, T., Tasbakan, M., Pullukcu, H., Tunger, A., Buke, C., & Ulusoy, S. (2007) Short-term effect of antibiotic control policy on the usage patterns and cost of antimicrobials, mortality, nosocomial infection rates and antibacterial resistance. *J Infect, 55*(1), 41-48. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jinf.2007.02.014

Avershina, E., Shapovalova, V., & Shipulin, G. (2021). Fighting antibiotic resistance in hospital-acquired infections: current state and emerging technologies in disease prevention, diagnostics and therapy [Review]. *Front Microbiol, 12*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.707330

Booton, R. D., Meeyai, A., Alhusein, N., Buller, H., Feil, E., Lambert, H., Mongkolsuk, S., Pitchforth, E., Reyher, K. K., Sakcamduang, W., Satayavivad, J., Singer, A. C., Sringernyuang, L., Thamlikitkul, V., Vass, L., Avison, M. B., & Turner, K. M. E. (2021). One Health drivers of antibacterial resistance: Quantifying the relative impacts of human, animal and environmental use and transmission. *One Health, 12*, 100220 https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2021.100220

Buelow, E., Rico, A., Gaschet, M., Lourenço, J., Kennedy, S. P., Wiest, L., Ploy, M.-C., & Dagot, C. (2020). Hospital discharges in urban sanitation systems: Long-term monitoring of

wastewater resistome and microbiota in relationship to their eco-exposome. *Water Res, 7*, 100045.https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.wroa.2020.100045

Cassini, A., Högberg, L. D., Plachouras, D., Quattrocchi, A., Hoxha, A., Simonsen, G. S., Colomb-Cotinat, M., Kretzschmar, M. E., Devleesschauwer, B., Cecchini, M., Ouakrim, D. A., Oliveira, T. C., Struelens, M. J., Suetens, C., & Monnet, D. L. (2019). Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European economic area in 2015: a population-level modelling analysis. *Lancet Infect Dis, 19*(1), 56-66. https://doi.org/10.1016/s1473-3099(18)30605-4

Centers for Disease Control and Prevention. (2013). Antibiotic resistance threats in the United States. Retrieved 19 July 2023 from https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/ar-threats-2013-508.pdf.

Centers for Disease Control and Prevention. (2019). *Antibiotic Resistance Threats in the United States,* 2019. Retrieved 19 June 2023 from https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html

Centers for Disease Control and Prevention. (2022). *Antimicrobial Resistance*. Retrieved 19 March 2023 from https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/How-AR-Spreads.pdf

Chaalal, N., Touati, A., Bakour, S., Aissa, M. A., Sotto, A., Lavigne, J. P., & Pantel, A. (2021). Spread of OXA-48 and NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* ST48 and ST101 in chicken meat in Western Algeria. *Microb Drug Resist, 27*(4), 492-500. https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0419

Chng, K. R., Li, C., Bertrand, D., Ng, A. H. Q., Kwah, J. S., Low, H. M., Tong, C., Natrajan, M., Zhang, M. H., Xu, L., Ko, K. K. K., Ho, E. X. P., Av-Shalom, T. V., Teo, J. W. P., Khor, C. C., Chen, S. L., Mason, C. E., Ng, O. T., Marimuthu, K., Ang, B., & Nagarajan, N. (2020). Cartography of opportunistic pathogens and antibiotic resistance genes in a tertiary hospital environment. *Nat Med, 26*(6), 941-951. https://doi.org/10.1038/s41591-020-0894-4

Cook, P. P., & Gooch, M. (2015). Long-term effects of an antimicrobial stewardship programme at a tertiary-care teaching hospital. *Int J Antimicrob Agents, 45*(3), 262-267. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.11.006

Dadgostar, P. (2019). Antimicrobial Resistance: Implications and Costs. *Infect Drug Resist, 12*, 3903-3910. https://doi.org/10.2147/idr.S234610

De Niederhäusern, S., Bondi, M., Messi, P., Iseppi, R., Sabia, C., Manicardi, G., & Anacarso, I. (2011,). Vancomycin-resistance transferability from VanA *enterococci* to *Staphylococcus aureus*. *Curr Microbiol, 62*(5), 1363-1367. https://doi.org/10.1007/s00284-011-9868-6

Eichenberger, E. M., & Thaden, J. T. (2019). Epidemiology and mechanisms of resistance of extensively drug resistant gram-negative bacteria. *Antibiotics (Basel), 8*(2). https://doi.org/10.3390/antibiotics8020037

Gonzales, R., Anderer, T., McCulloch, C. E., Maselli, J. H., Bloom, F. J., Jr., Graf, T. R., Stahl, M., Yefko, M., Molecavage, J., & Metlay, J. P. (2013). A cluster randomized trial of decision support strategies for reducing antibiotic use in acute bronchitis. *JAMA Intern Med, 173*(4), 267-273. https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2013.1589

Goossens, H., Ferech, M., Vander Stichele, R., & Elseviers, M. (2005). Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. *Lancet, 365*(9459), 579-587. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(05)17907-0

Gulliford, M. C., Dregan, A., Moore, M. V., Ashworth, M., Staa, T. V., McCann, G., Charlton, J., Yardley, L., Little, P., & McDermott, L. (2014). Continued high rates of antibiotic prescribing to adults with respiratory tract infection: survey of 568 UK general practices. *BMJ Open, 4*(10), e006245. https://doi.org/10.1136/bmjopen-2014-006245

Hishinuma, T., Uchida, H., Tohya, M., Shimojima, M., Tada, T., & Kirikae, T. (2020). Emergence and spread of VIM-type metallo-β-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in Japan. *J Glob Antimicrob Resist, 23*, 265-268. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.09.010

Hutchings, M. I., Truman, A. W., & Wilkinson, B. (2019). Antibiotics: past, present and future. *Curr Opin Microbiol,* 51, 72-80. https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008

Khan, H., Baig, F., & Mehboob, R. (2017). Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance. *Asian Pac J of Trop. Biomed, 7*, 478-482.

Kondo, S., Apisarnthanarak, A., Trakulsomboon, S., Bootkotr, W., Mingmalairak, C., Mahawongkajit, P., Juntong, J., Limpavitayaporn, P., Sriussadaporn, E., & Tongyoo, A. (2022). Prevalence of extended-spectrum β-lactamase-producing *Enterobacterales* and distribution of bla_{ESBL} genes from patients who underwent abdominal surgery. *Sci Technol Asia*, 104-116.

Kondo, S., Phokhaphan, P., Tongsima, S., Ngamphiw, C., Phornsiricharoenphant, W., Ruangchai, W., Disratthakit, A., Tingpej, P., Mahasirimongkol, S., Lulitanond, A., Apisarnthanarak, A., & Palittapongarnpim, P. (2022). Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* genotype ST764-SCC*mec* type II in Thailand. *Sci Rep, 12*(1), 2085. https://doi.org/10.1038/s41598-022-05898-1

Kondo, S. (2023, 20-21 March 2023). Screening for extended-spectrum β-Lactamase (ESBL) – producing *Enterobacterales* and molecular detection of ESBL genes among patients who underwent abdominal surgery. International Conference on Infectious Diseases "Discovering the New Strategies in Research, Treatment and Elimination in Infectious Diseases", Hotel Isola Sacra Rome Airport , Rome, Italy.

Lawes, T., Lopez-Lozano, J. M., Nebot, C. A., Macartney, G., Subbarao-Sharma, R., Wares, K. D., Sinclair, C., & Gould, I. M. (2017). Effect of a national 4C antibiotic stewardship intervention on the clinical and molecular epidemiology of *Clostridium difficile* infections in a region of Scotland: a non-linear time-series analysis. *Lancet Infect Dis, 17*(2), 194-206. https://doi.org/10.1016/s1473-3099(16)30397-8

Lee, C. F., Cowling, B. J., Feng, S., Aso, H., Wu, P., Fukuda, K., & Seto, W. H. (2018). Impact of antibiotic stewardship programmes in Asia: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother, 73*(4), 844-851. https://doi.org/10.1093/jac/dkx492

Lerner, A., Adler, A., Abu-Hanna, J., Cohen Percia, S., Kazma Matalon, M., & Carmeli, Y. (2015). Spread of KPC-producing carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: the importance of super-spreaders and rectal KPC concentration. *Clin Microbiol Infect, 21*(5), 470.e471-477. https://doi.org/10.1016/j.cmi.2014.12.015

Livermore, D. M. (2012). Current epidemiology and growing resistance of gram-negative pathogens. *Korean J Intern Med, 27*(2), 128-142. https://doi.org/10.3904/kjim.2012.27.2.128

Llor, C., & Bjerrum, L. (2014). Antimicrobial resistance: risk associated with antibiotic overuse and initiatives to reduce the problem. *Ther Adv Drug Saf, 5*(6), 229-241. https://doi.org/10.1177/2042098614554919

Luu, T., & Albarillo, F. S. (2022). Asymptomatic bacteriuria: prevalence, diagnosis, management, and current antimicrobial stewardship implementations. *Am J Med, 135*(8), e236-e244. https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2022.03.015

Malik, U., Armstrong, D., Ashworth, M., Dregan, A., L'Esperance, V., McDonnell, L., Molokhia, M., & White, P. (2018). Association between prior antibiotic therapy and subsequent risk of community-acquired infections: a systematic review. *J Antimicrob Chemother, 73*(2), 287-296. https://doi.org/10.1093/jac/dkx374

Mancuso, G., Midiri, A., Gerace, E., Marra, M., Zummo, S., & Biondo, C. (2023). Urinary tract infections: The current scenario and future prospects. *Pathogens, 12*(4), 623. https://www.mdpi.com/2076-0817/12/4/623

Matta, R., Hallit, S., Hallit, R., Bawab, W., Rogues, A. M., & Salameh, P. (2018). Epidemiology and microbiological profile comparison between community and hospital acquired infections: A multicenter retrospective study in Lebanon. *J Infect Public Health, 11*(3), 405-411. https://doi.org/10.1016/j.jiph.2017.09.005

Meyer, E., Schwab, F., Pollitt, A., Bettolo, W., Schroeren-Boersch, B., & Trautmann, M. (2010). Impact of a change in antibiotic prophylaxis on total antibiotic use in a surgical intensive care unit. *Infection, 38*(1), 19-24. https://doi.org/10.1007/s15010-009-9115-2

Mitchell, B. G., Dancer, S. J., Anderson, M., & Dehn, E. (2015). Risk of organism acquisition from prior room occupants: a systematic review and meta-analysis. *J Hosp Infect, 91*(3), 211-217. https://doi.org/10.1016/j.jhin.2015.08.005

Mthembu, T. P., Zishiri, O. T., & El Zowalaty, M. E. (2021). Genomic characterization of antimicrobial resistance in food chain and livestock-associated *Salmonella* species. *Animals (Basel), 11*(3). https://doi.org/10.3390/ani11030872

Musser, J. M., Beres, S. B., Zhu, L., Olsen, R. J., Vuopio, J., Hyyryläinen, H. L., Gröndahl-Yli-Hannuksela, K., Kristinsson, K. G., Darenberg, J., Henriques-Normark, B., Hoffmann, S., Caugant, D. A., Smith, A. J., Lindsay, D. S. J., Boragine, D. M., & Palzkill, T. (2020). Reduced *in vitro* susceptibility of *Streptococcus pyogenes* to β-Lactam antibiotics associated with mutations in the *pbp2x* gene is geographically wide spread. *J Clin Microbiol, 58*(4). https://doi.org/10.1128/jcm.01993-19

Nathwani, D. (2019). Antimicrobial stewardship-a practical guide to implementation in hospitals 2019 edition (2019/04/08 ed.). *bioMérieux S.A. RCS Lyon* 673 620 399. https://doi.org/10.1093/jacamr/dlz005

National Antimicrobial Resistant Surveillance Center Thailand. (2022). Thailand's integrated antimicrobial resistance surveillance with one health approach guideline (2022) Retrieved 10 July 2023 from http://narst.dmsc.moph.go.th/

Peters, A., Otter, J., Moldovan, A., Parneix, P., Voss, A., & Pittet, D. (2018). Keeping hospitals clean and safe without breaking the bank; summary of the Healthcare Cleaning Forum 2018. *Antimicrob Resist Infect Control, 7*(1), 132. https://doi.org/10.1186/s13756-018-0420-3

Phokhaphan, P., Kondo, S., Apisarnthanarak, A., & Tingpej, P. (2017). Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and factors associated with clinical outcomes in MRSA-infected patients, Doctoral thesis, Thammasat University.

Pittet, D., & Donaldson, L. (2005). Clean Care is Safer Care: a worldwide priority. *Lancet, 366*(9493), 1246-1247. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(05)67506-x

Poirel, L., Yilmaz, M., Istanbullu, A., Arslan, F., Mert, A., Bernabeu, S., & Nordmann, P. (2014). Spread of NDM-1-producing *Enterobacteriaceae* in a neonatal intensive care unit in Istanbul, Turkey. *Antimicrob Agents Chemother, 58*(5), 2929-2933. https://doi.org/10.1128/aac.02047-13

Public Health England. (2012). Management of infection guidance for primary care for consultation and local adaptation. Retrieved 10 July 2023 from http://www.hpa.org.uk/Topics/InfectiousDiseases/InfectionsAZ/PrimaryCareGuidance/

Pulcini, C., Binda, F., Lamkang, A. S., Trett, A., Charani, E., Goff, D. A., Harbarth, S., Hinrichsen, S. L., Levy-Hara, G., Mendelson, M., Nathwani, D., Gunturu, R., Singh, S., Srinivasan, A., Thamlikitkul, V., Thursky, K., Vlieghe, E., Wertheim, H., Zeng, M., Gandra, S., & Laxminarayan, R. (2019). Developing core elements and checklist items for global hospital antimicrobial stewardship programmes: a consensus approach. *Clin Microbiol Infect, 25*(1), 20-25. https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.03.033

Revelas, A. (2012). Healthcare - Associated Infections: A public health problem. *Niger Med J, 53*(2), 59-64. https://doi.org/10.4103/0300-1652.103543

Samantha, S. (2022). *The Antibiotic Development Timeline*. Retrieved 15 July 2023 from https://onehealthtrust.org/publications/infographics/the-antibiotic-development-timeline

Snitser, O., Russ, D., Stone, L. K., Wang, K. K., Sharir, H., Kozer, N., Cohen, G., Barr, H. M., & Kishony, R. (2020). Ubiquitous selection for *mecA* in community-associated MRSA across diverse chemical environments. *Nat Commun, 11*(1), 6038. https://doi.org/10.1038/s41467-020-19825-3

Sun, D., Jeannot, K., Xiao, Y., & Knapp, C. W. (2019). Editorial: horizontal gene transfer mediated bacterial antibiotic resistance [editorial]. *Front Microbiol., 10*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01933

Von Wintersdorff, C. J. H., Penders, J., van Niekerk, J. M., Mills, N. D., Majumder, S., van Alphen, L. B., Savelkoul, P. H. M., & Wolffs, P. F. G. (2016). Dissemination of

antimicrobial resistance in microbial ecosystems through horizontal gene transfer [Review]. *Front Microbiol, 7*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00173

Wang, R., van Dorp, L., Shaw, L. P., Bradley, P., Wang, Q., Wang, X., Jin, L., Zhang, Q., Liu, Y., Rieux, A., Dorai-Schneiders, T., Weinert, L. A., Iqbal, Z., Didelot, X., Wang, H., & Balloux, F. (2018). The global distribution and spread of the mobilized colistin resistance gene *mcr-1*. *Nat. Commun., 9*(1), 1179. https://doi.org/10.1038/s41467-018-03205-z

World Health Organization. (2009). *Critically Important Antimicrobials for Human Medicine [2nd Revision]*. Retrieved 10 July 2023 from http://www.who.int/foodsafety/foodbornedisease/CIA2ndrev2009.pdf

World Health Organization. (2017). *Antimicrobial resistance*. Retrieved 22 May 2023 from https://www.who.int/en/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which -new-antibiotics-are-urgently-needed

World Health Organization. (2020). *Antimicrobial resistance*. Retrieved 16 July 2023 from https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance

Yeo, C. L., Chan, D. S., Earnest, A., Wu, T. S., Yeoh, S. F., Lim, R., Jureen, R., Fisher, D., & Hsu, L. Y. (2012). Prospective audit and feedback on antibiotic prescription in an adult hematology-oncology unit in Singapore. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 31*(4), 583-590. https://doi.org/10.1007/s10096-011-1351-6

Zainab, S. M., Junaid, M., Xu, N., & Malik, R. N. (2020). Antibiotics and antibiotic resistant genes (ARGs) in groundwater: A global review on dissemination, sources, interactions, environmental and human health risks. *Water Res, 187*, 116455. https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116455

ภาณุมาศ, ภูมาศ., วิษณุ ธรรมลิขิตกุล, ภูษิต ประคองสาย, ตวงรัตน์ โพธะ, อาทร ริ้วไพบูลย์, & สุพล ลิมวัฒนานนท์. (2555). ผลกระทบด้านสุขภาพและเศรษฐศาสตร์จากการติดเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพในประเทศไทย : การศึกษาเบื้องต้น. สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข. Retrieved 7 July 2023 from https://kb.hsri.or.th/dspace/handle/11228/3699? locale-attribute=th

สำนักข่าว Hfocus. (2020). เจาะลึกระบบสุขภาพ "อัตราตายจาก ‘เชื้อดื้อยา’ ของไทย สูงกว่า ‘สหรัฐ-ยุโรป’ ถึง 6 เท่า". Retrieved 9 July 2023 from https://www.hfocus.org/content/2020/01/18388

บทที่ 2

Extended-spectrum β-lactamase-producing *Enterobacterales*

เชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญที่เป็นภัยคุกคามทั่วโลกและเป็นสาเหตุการติดเชื้อในโรงพยาบาลคือ กลุ่มเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ดื้อยาที่ส่งผลให้เกิดการเจ็บป่วย และการเสียชีวิตที่มีจำนวนมากขึ้นของผู้ป่วยติดเชื้อที่ได้รับจากโรงพยาบาล (Hospital Acquired Infection, HAI) เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียมีการดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิด และยาต้านจุลชีพที่ใช้รักษาได้อย่างมีประสิทธิภาพที่ยังมีอยู่เพียงไม่กี่ชนิด เช่น carbapenems และcolistin (Ma et al., 2020; Santajit et al., 2016) การป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาและการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อจึงจำเป็นต้องมีมาตรการจัดการอย่างเร่งด่วน โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่จัดอยู่ในกลุ่มเชื้อแบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพที่สำคัญขั้นวิกฤติ ซึ่งรวมถึงเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Extended-spectrum β-lactamase-producing (ESBL) *Enterobacterales* ที่ดื้อยาต้านจุลชีพกลุ่มเบต้าแลคแตมชนิดฤทธิ์ขยาย (Extended-spectrum β-lactam) ดังที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 ของบทที่ 1

2.1 เชื้อดื้อยากลุ่ม *Enterobacterales* ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย

เชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล เกิดจากเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแกรมลบได้เก่ เชื้อ *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* และกลุ่มเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *S. aureus, methicillin-resistant S. aureus* (MRSA), Enterococci เป็นต้น (Kondo et al., 2022; Phokhaphan et al., 2017; Tantracheewathorn et al., 2007; Thompat et al., 2011) เชื้อแบคทีเรียเหล่านี้มักเป็นเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาต้านจุลชีพเนื่องจากเป็นผู้ป่วยที่เคยได้รับการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพเพื่อทำลายเชื้อแบคทีเรียมาก่อน โดยมีการใช้ยาต้านจุลชีพเป็นจำนวนมากการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างไม่เหมาะสมเป็นปัจจัยที่ทำให้อัตราการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียมากขึ้น ดังนั้นการควบคุมการใช้สารต้านจุลชีพเท่าที่จำเป็นอย่างเหมาะสมทั้งในคนและสัตว์จึงช่วยลดการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาต้านจุลชีพ การป้องกันการดื้อยาต้านจุลชีพและการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรียดื้อยาจึงมีความสำคัญในการลดอุบัติการณ์การติดเชื้อดื้อยา ซึ่งมีผลกระทบอย่างมากต่อแนวทางการรักษาพยาบาลผู้ป่วยโรคติดเชื้อ รวมถึงจำนวนค่าใช้จ่ายที่ใช้ในการรักษาพยาบาล นอกจากนี้การสืบค้นข้อมูลสาเหตุการติดเชื้อแบคทีเรีย ชนิดของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค และปัจจัยความเสี่ยงของการติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพยังเป็นข้อมูลที่สำคัญและจำเป็นต่อโรงพยาบาล เพื่อเป็นประโยชน์ในการพัฒนากลยุทธ์ในการวางแผนการเฝ้าระวังและป้องกันการติดเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ รวมถึงการควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรียในโรงพยาบาลและสู่ชุมชน

ตั้งแต่ในช่วงต้นของคริสต์ทศวรรษ 1980 พบเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย (Extended-spectrum β-lactamases, ESBLs) ที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อในโรงพยาบาล (Hospital-associated infection, HAI) และในชุมชน (Community-acquired infection, CAI) และได้ระบาดไปทั่วโลก สำหรับการติดเชื้อในโรงพยาบาล (Nosocomial infection หรือ Healthcare-associated infections, HAI) เป็นการติดเชื้อในขั้นตอนระหว่างที่ผู้ป่วยรับการรักษาในโรงพยาบาล และไม่ได้พบเชื้อก่อนเข้าโรงพยาบาล มีรายงานพบการติดเชื้อในโรงพยาบาลเป็นจำนวนมากและมีความรุนแรงมากขึ้นทั่วโลก เป็นสาเหตุของการเจ็บป่วย การเสียชีวิต และสูญเสียค่าใช้จ่ายในการรักษาผู้ป่วยติดเชื้ออย่างมีนัยสำคัญ (Morris et al., 2011; Sievert et al., 2013; Sikora et al., 2023; Wakasugi et al., 2012) โดยเฉพาะการติดเชื้อในโรงพยาบาลจากเชื้อก่อโรคที่ได้พัฒนาการดื้อยาต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิด และมีรายงานอุบัติการณ์การติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาในโรงพยาบาลที่เกิดขึ้นทั่วโลก ข้อมูลรายงานอุบัติการณ์การติดเชื้อในโรงพยาบาลของผู้ป่วยในประเทศสหรัฐอเมริกามีประมาณ 2 ล้านคนต่อปี มีผู้เสียชีวิตจากโรคติดเชื้อที่ได้รับจากโรงพยาบาลเกือบถึงจำนวน 90,000 คนต่อปี Centers for Disease Control and Prevention (CDC) ได้ประเมินค่าใช้จ่ายในแต่ละปีในระบบการดูแลสุขภาพของประเทศสหรัฐอเมริกาอยู่ระหว่าง 28.4 – 45 พันล้านดอลล่าร์ ("Public health focus: surveillance, prevention, and control of nosocomial infections," 1992) โดยค่าใช้จ่ายการรักษาโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่เกิดจากการติดเชื้อในกระแสเลือดจากการใส่สายสวน (Central line-associated bloodstream infection, CLABSI) มากที่สุด รองลงมาคือการติดเชื้อที่ก่อให้เกิดปอดอักเสบที่เกี่ยวข้องกับเครื่องช่วยหายใจ (ventilator-associated. pneumonia, VAP), การติดเชื้อที่ตำแหน่งการผ่าตัด (surgical site infections, SSI), การติด เชื้อ *Clostridioides difficile* Infection, CDI), การติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะจากการคาสายสวนปัสสาวะ (Catheter. Association Urinary Tract Infection, CAUTI) รวมค่าใช้จ่ายทั้งหมดที่เกิดจากการติดเชื้อดังกล่าวข้างต้น เป็นจำนวน 9.8 พันล้านดอลล่าร์ในการดูแลรักษาผู้ป่วยโรคติดเชื้อที่เข้าพักรักษาในโรงพยาบาล และพบว่าค่าใช้จ่ายที่ใช้จำนวนมากที่สุดมาจาก SSI รองลงมาคือ VAP, CLABSI, CDI และ CAUTI ตามลำดับ (Stone, 2009; Zimlichman et al., 2013) สำหรับในประเทศไทยมีข้อมูลเบื้องต้นแสดงผลการประเมินความสูญเสียทางเศรษฐกิจจากมูลค่ายาต้านจุลชีพที่ใช้รักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อดื้อยาประมาณ 2,539 – 6,084 ล้านบาท ความสูญเสียทางเศรษฐกิจจากเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพปีละ 40,000 ล้านบาท ในปี พ.ศ. 2553 พบผู้ป่วยเสียชีวิตจากโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล 34,383 ราย (ภาณุมาศ และคณะ, 2555) จากการที่เชื้อแบคทีเรียดื้อต่อยาต้านจุลชีพเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วส่งผลต่อการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อและเป็นปัญหาสำคัญทางการแพทย์และสาธารณสุข จึงได้มีการจัดทำโครงการป้องกันและควบคุมเพื่อพัฒนาระบบการเฝ้าระวังและวิธีการป้องกันการติดเชื้อ เพื่อลดปัญหาของการติดเชื้อในโรงพยาบาลทั่วโลก (Allegranzi et al., 2011; Magill et al., 2018; Sievert et al., 2013; Storr et al., 2017; Suetens et al., 2018)

นอกจากนี้การติดเชื้อในโรงพยาบาลจากเชื้อแบคทีเรียก่อโรคกลุ่มแกรมลบที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตา-เมสชนิดฤทธิ์ขยาย อาจได้รับจากเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นหรือเชื้อแบคทีเรียที่พบในร่างกายของผู้ป่วยเอง (colonization) และปนเปื้อนในระหว่างการทำหัตถการในการผ่าตัด โดยอาจได้รับเชื้อแบคทีเรียมาจากผู้ป่วยอื่นๆในโรงพยาบาล จากบุคลากรทางการแพทย์และจากสิ่งแวดล้อม ซึ่งอาจเกิดขึ้นในช่วงเวลาของการได้รับการรักษาในโรงพยาบาลที่ใช้เวลานานโดยใช้เครื่องมือหรือจากการสัมผัส และอาจเกิดขึ้นได้หลังจากออกจากโรงพยาบาลไปแล้ว โดยส่วนใหญ่การติดเชื้อแบคทีเรียเกิดขึ้นเมื่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้แพร่กระจายในขั้นตอนหัตถการรุกล้ำร่างกาย (invasive procedure) เช่น การผ่าตัด การใช้เครื่องมือทางการแพทย์ที่สอดใส่เพื่อการดูแลรักษา และการใส่อุปกรณ์ทดแทนที่ขาดหายไป (Kazmierczak et al., 2020; Kondo et al., 2022; Sikora et al., 2023; Weiner-Lastinger et al., 2020)

ข้อมูลการรายงานถึงสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายที่เป็นตัวอย่างแสดงให้เห็นถึงความสามารถของแบคทีเรียแกรมลบที่ได้พัฒนาสายพันธุ์ในการต้านยาจุลชีพใหม่ๆ ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญทั่วโลก แม้ว่าจะมีการผลิตยาต้านยาจุลชีพใหม่เพื่อใช้เป็นทางเลือกในการรักษาการติดเชื้อดื้อยาก็ตาม แต่ยังคงพบว่ามีการดื้อยาต้านจุลชีพใหม่ได้อีก เนื่องจากยังไม่แก้ไขที่ต้นเหตุซึ่งมาจากการใช้ยาต้านยาจุลชีพอย่างพร่ำเพรื่อ ดังที่ได้กล่าวมาข้างต้นชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของการวางแผนและนโยบายการสั่งยาต้านยาจุลชีพในการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อแบคทีเรียเท่าที่จำเป็น และให้การรักษาด้วยยาต้านจุลชีพอย่างเหมาะสม เพิ่มมาตรการการป้องกันและควบคุมการติดเชื้อแบคทีเรียในโรงพยาบาลและจากชุมชน ให้มีประสิทธิภาพ รวมถึงการกำหนดกลยุทธ์ในการลดการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียด้วยการลด selective pressure จากการปรับเปลี่ยนการใช้ยาต้านจุลชีพที่เหมาะสม รวมถึงขนาดยาและวิธีการให้ยาต้านจุลชีพอย่างมีระบบ (Antibiotic rotation) ทั้งนี้ควรให้มีมาตรการการป้องกันและการแพร่ระบาดของเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่เพิ่มขึ้นเหล่านี้อย่างมีประสิทธิภาพด้วย (Paterson, 2001)

เชื้อแบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพในกลุ่ม *Enterobacterales* ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายที่เป็นปัญหาทางการแพทย์และด้านสาธารณสุขอย่างกว้างขวางทำให้สูญเสียค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลจำนวนมาก ดังเช่นในประเทศสหรัฐอเมริกาพบว่ามีการติดเชื้อกลุ่มนี้ในโรงพยาบาลมีจำนวนถึง 140,000 รายต่อปี และการติดเชื้อในกระแสเลือดจำนวน 26,000 ราย พบเสียชีวิต 1,700 ราย โดยพบว่าเป็นเชื้อ *E. coli* และ *K. pnuemoniae* ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลตาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย มีจำนวนร้อยละ 23 และ 14 ตามลำดับ (Centers for Disease Control and Prevention, 2013) ในรายงานการติดเชื้อ ดื้อยาในประเทศสหรัฐอเมริกาเมื่อปี ค.ศ. 2019 พบการติดเชื้อที่เกิดจาก ESBL-producing *Enterobacterales* เพิ่มขึ้นร้อยละ 50 เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ดังกล่าวเป็นเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาเพนิซิลลินทุกตัว ดื้อต่อยาต้านจุล-ชีพกลุ่ม cephalosporins รวมทั้งที่เป็นรุ่นที่ 3 และ 4 และดื้อต่อยา aztreonam นอกจากนี้ยังมีเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ดื้อยาต้านจุลชีพข้ามกลุ่มระหว่าง trimethoprim/ sulfamethoxazole และ กลุ่มยา

quinolones ซึ่งมีผลต่อแนวทางการรักษาอย่างมีนัยสำคัญ รายงานการติดเชื้อกลุ่มนี้พบได้ในระบบทางเดินปัสสาวะและตำแหน่งของการผ่าตัด (Trung et al., 2015)

การรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่รุนแรงเนื่องมาจากการติดเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายด้วยการใช้ยาต้านจุลชีพกลุ่ม carbapenems เป็นยาหลักนั้น มีกลไกของการยับยั้งหรือฆ่าเชื้อโดยตัวยาต้านจุลชีพเมื่อผ่านเข้าสู่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแล้วจะจับกับ penicillin-binding protein จากนั้นไปออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ ยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในวงกว้าง (broad spectrum) มักใช้กับเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เบต้าแลคตาเมส รวมถึงเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพกลุ่มเบต้าแลคแตมชนิดฤทธิ์ขยายและแบคทีเรียที่ดื้อยาต้านจุลชีพหลายขนาน คือยากลุ่ม carbapenems

ปัจจุบันยาต้านจุลชีพกลุ่ม carbapenems ได้มีการพัฒนาเพื่อใช้รักษาการติดเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว ได้แก่ imipenem/cilastatin, meropenem, doripenem และ ertapenem ทั้งนี้ได้มีการใช้ยา imipenem/ cilastatin เพื่อรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากแบคทีเรียในระบบทางเดินปัสสาวะและทางเดินหายใจ โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยา cephalosporin การใช้ยา meropenem และ doripenem ในการรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียโดยยาออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าแกรมบวก ส่วน ertapenem สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Enterobacterales* และเป็นยาในกลุ่มยาต้านจุลชีพที่ใช้เป็นหลัก (first line drug) ที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียในช่องท้องที่เกิดจากการได้รับเชื้อแบคทีเรียจากนอกโรงพยาบาล โดยการสั่งใช้ยาต้านจุลชีพแบบคาดการณ์ล่วงหน้า (empiric therapy) (Papp-Wallace et al., 2011; Solomkin et al., 2010) ดังนั้นยา doripenem, imipenem และ meropenem จึงเป็นยาต้านจุลชีพที่แนะนำให้ใช้สำหรับการติดเชื้อแบคทีเรียในช่องท้องที่มีความเสี่ยงสูงทั้งที่ได้รับจากในและนอกโรงพยาบาล (Solomkin et al., 2010)

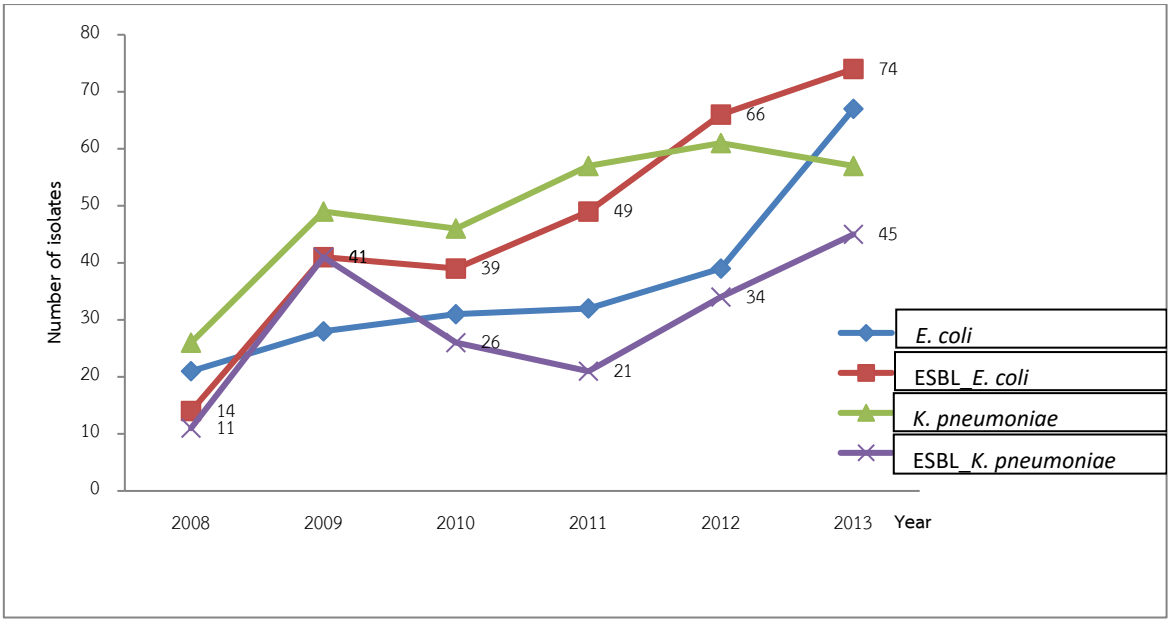
ทั้งนี้การปรับเปลี่ยนนโยบายการใช้ยาต้านจุลชีพที่เหมาะสมจึงมีบทบาทในการควบคุมการดื้อยา (Lucet et al., 1999; Rice et al., 1996)การจำกัดการใช้ยา ceftazidime เพียงชนิดเดียว ไม่เพียงพอในการควบคุมการติดเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายอย่างต่อเนื่อง (Rahal et al., 1998; Rice et al., 1996; Szabó et al., 1999) การที่เชื้อแบคทีเรียมีการดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิดอาจส่งผลในการลดประสิทธิภาพของยาต้านจุลชีพกลุ่ม β-lactam ร่วมกับ β-lactamases inhibitor (Baraniak et al., 2002; Bradford, 2001; Shannon et al., 1990) ปัจจัยดังกล่าวเหล่านี้จึงมีผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญต่อความเสี่ยงของการติดเชื้อแบคทีเรียและประสิทธิภาพของการรักษาผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระหว่างที่เข้าพักรักษาในโรงพยาบาล

การใช้ยาต้านจุลชีพกลุ่ม Carbapenems ในการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อแบคทีเรียดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิดที่เพิ่มมากขึ้น เป็นสาเหตุที่ทำให้มีเพิ่มการดื้อยาต้านจุลชีพกลุ่ม Carbapenems ดังที่มีรายงาน

การพบเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายจำนวนหนึ่งที่สามารถผลิตเอนไซม์ carbapenemase ในการย่อยสลาย carbapenems (Tzouvelekis et al., 2012) การดื้อยากลุ่ม carbapenems นี้ทำให้เกิดเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขอย่างรุนแรงเนื่องจากเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาต้านจุลชีพชนิดนี้ได้แพร่ระบาดอย่างรวดเร็วจนทำให้มีผลต่อประสิทธิภาพของการรักษาของการติดเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacterales* ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย ทั้งที่เกิดขึ้นในชุมชนและในโรงพยาบาล

ผู้นิพนธ์และทีมวิจัยได้ทำการรวบรวมข้อมูลย้อนหลังของผู้ป่วยติดเชื้อในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ ในปี พ.ศ. 2551-2556 พบว่าการติดเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในช่วงระยะเวลา 6 ปีดังกล่าว ดังแสดงในภาพที่ 2 ซึ่งเชื้อสายพันธุ์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมส ชนิดฤทธิ์ขยายมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัด เมื่อนำจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่พบในปีล่าสุดเทียบกับปีแรกแสดงให้เห็นว่าเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายเพิ่มจำนวนมากขึ้นถึง 4-5 เท่า นอกจากนี้เมื่อพิจารณาอัตราความชุก ในปี พ.ศ. 2554-2556 ได้ทำการเปรียบเทียบสัดส่วนของสายพันธุ์ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายที่พบเทียบกับสายพันธุ์ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ทั่วไป พบว่ามีสายพันธุ์ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายเฉลี่ยร้อยละ 59±5 แต่พบสายพันธุ์ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ทั่วไปที่ไม่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายเฉลี่ยร้อยละ 36±9

ข้อมูลจากศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ (National Resistance Surveillance, Thailand: NARST) แสดงความชุกของเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายจากโรงพยาบาล 51 แห่งในประเทศไทยพบว่ามีเชื้อ *E. coli* ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายในช่วงปี พ.ศ. 2543 – 2564 พบการดื้อยา cefotaxime (ร้อยละ 20.4-50.0) และ ceftazidime (ร้อยละ 13.4-41.2) ของเชื้อ ESBL-*E.coli* โดยพบเชื้อ ESBL-*E.coli* ดื้อยา cefotaxime สูงสุดได้ถึงร้อยละ 50 ในปี พ.ศ. 2560 และ ร้อยละ 41.2 ในปี พ.ศ. 2557 ทั้งนี้ข้อมูลปีล่าสุด พ.ศ. 2564 พบเชื้อ ESBL-*E.coli* ดื้อยา cefotaxime และ ceftazidime ร้อยละ 46.8 และ ร้อยละ 38.2 ตามลำดับ สำหรับเชื้อ ESBL-*K. pneumoniae* ที่ดื้อยา cefotaxime ในช่วงปี พ.ศ. 2543 – 2564 มีร้อยละ 25.3-50.4 และ ceftazidime มีร้อยละ 24.4-42.3 พบเชื้อ ESBL-*K. pneumoniae* ดื้อยา cefotaxime และ ceftazidime สูงสุดร้อยละ 50.4 ในปี พ.ศ. 2563 และ ร้อยละ 43 ในปี พ.ศ. 2560 ข้อมูลปีล่าสุด พ.ศ. 2564 พบเชื้อ ESBL-*K. pneumoniae* ดื้อยา cefotaxime และ ceftazidime พบร้อยละ 48 และร้อยละ 42.3 ตามลำดับ



ภาพที่ 2 แสดงแนวโน้มการติดเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ ช่วงปี พ.ศ. 2551-2556

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ได้ให้ข้อแนะนำสำหรับการตรวจหาเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายในเชื้อ *K. pneumoniae*, *K. oxytoca, E. coli* และ *Proteus mirabilis* โดยใช้หลักการทั่วไปของวิธีการตรวจหาเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย คือการทดสอบความสามารถในการขยายฤทธิ์ของยาต้านจุลชีพกลุ่ม cephalosporins ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายที่เพิ่มขึ้นโดยการใช้กรด clavulanic ในการทดสอบทางห้องปฏิบัติการเพื่อคัดกรองการผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย

วิธีการทดสอบเพื่อการตรวจยืนยันลักษณะทางฟีโนไทป์ของการผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆ เริ่มด้วยการเตรียมแผ่นยาที่ใช้ทดสอบคือ cefpodoxime, ceftazidime, aztreonam, cefotaxime และ ceftriaxone ทั้งนี้ CLSI แนะนำให้ใช้แผ่นยา cefotaxime (30 µg) เปรียบเทียบกับ cefotaxime (30 µg)/clavulanate (10 µg) และ ceftazidime (30 µg) เปรียบเทียบกับ ceftazidime (30 µg) /clavulanate (10 µg) การใช้แผ่นยาทดสอบที่มีทั้ง cefotaxime และ ceftazidime ช่วยเพิ่มโอกาสการพบเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย

การทดสอบยืนยันการผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายของเชื้อแบคทีเรีย โดยการนำเชื้อแบคทีเรียในอาหารเหลวที่ต้องการทดสอบบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง จากนั้นปรับปริมาณเชื้อแบคทีเรียโดยปรับความขุ่นของอาหารเหลวที่มีเชื้อแบคทีเรียให้ได้เท่ากับ 0.5 McFarland ซึ่งเท่ากับปริมาณเชื้อแบคทีเรียประมาณ 1-2 x 10^8 cfu/ml แล้วจึงนำเชื้อมาป้ายบนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้ไม้พันสำลีที่จุ่มลงในอาหารเหลวที่มีเชื้อแบคทีเรีย และบิดไม้พันสำลีที่มีเชื้อแบคทีเรียเพื่อให้ส่วนเกิน

ของเชื้อแบคทีเรียทิ้งไป เมื่อได้เชื้อแบคทีเรียที่อยู่บนไม้พันสำลีที่เปียกพอหมาดๆ จึงป้ายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นทิ้งไว้สักครู่ก่อนวางแผ่นยาทดสอบ โดยแผ่นยาทดสอบดังกล่าวข้างต้นจะถูกวางบนอาหารชื่อ Mueller-Hinton agar ซึ่งเป็นอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียให้เจริญเติบโต นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่วางแผ่นยาเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง จากนั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อมาดูผลการทดสอบจากขนาดของ Inhibition zone ของแผ่นยา cephalosporin ที่มี clavulanic acid เทียบกับขนาดของ inhibition zone ของแผ่นยา cephalosporin ที่ไม่มี clavulanic acid โดยแผ่นยา cephalosporin ที่มี clavulanic acid มีขนาดของ inhibition zone มากกว่าหรือเท่ากับ 5 มิลลิเมตร เมื่อเทียบกับ inhibition zone ของแผ่นยา cephalosporin ที่ไม่มี clavulanic acid การแปลผลจากขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางดังกล่าวนี้เป็นการยืนยันว่ามีการผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายของเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบ (Giske et al., 2012)

การวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ถูกต้องและแม่นยำ โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่ทำให้เกิดการติดเชื้อในผู้ป่วย ซึ่งมีความจำเป็นอย่างยิ่งต่อประสิทธิภาพการรักษาผู้ป่วยโรคติดเชื้อ การเพาะเชื้อแบคทีเรียเพื่อการวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียเป็นวิธีมาตรฐาน มีปัจจัยที่ผู้ป่วยติดเชื้อที่ได้รับยาต้านเชื้อทำให้ไม่สามารถเพาะเชื้อจากสิ่งส่งตรวจได้ และยังมีปัจจัยจากการรายงานและการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพที่ใช้เวลา 3-5 วัน ซึ่งแพทย์ต้องให้การรักษาไม่อาจรอผลได้ ทำให้กระทบต่อการให้ยาต้านจุลชีพที่เหมาะสมในการรักษา ส่งผลให้เกิดความเสี่ยงต่อผู้ป่วยโดยเฉพาะกรณีที่เป็น SSI ที่มักจะพิจารณาให้ยาต้านจุลชีพชนิดที่เป็น broad spectrum ซึ่งพบว่ามีเพิ่มการเจ็บป่วยและการเสียชีวิตได้ กล่าวคือก่อนการผ่าตัดมีการใช้ยาต้านจุลชีพเพื่อป้องกันการติดเชื้อในผู้ป่วย (Prophylaxis) ชนิด broad spectrum ที่ไม่เหมาะสม ทำให้ไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อได้แต่กลับทำให้เชื้อแบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพหลายขนานเพิ่มขึ้น ส่งผลต่อการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อที่ล้มเหลวและอาจถึงแก่ชีวิตในที่สุด ดังนั้นการตรวจคัดกรองเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคและการดื้อยาต้านจุลชีพให้ได้ผลรวดเร็วจึงมีความสำคัญเพื่อเป็นแนวทางการรักษามีประสิทธิภาพมากขึ้น เช่น เมื่อได้รับการคัดกรองว่ามีเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายที่เก็บจากทวารหนักในผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูง รวมถึงผู้ป่วยที่มีโรคเรื้อรังหรือมีภูมิต้านทานต่ำ ผู้ป่วยควรจะได้รับยาต้านจุลชีพที่ใช้เป็นยาป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมเพื่อลดการถ่ายทอดเชื้อสู่ร่างกายผู้ป่วยในระหว่างได้รับการผ่าตัด และหัตถการอื่นๆที่จะนำไปสู่การติดเชื้อในร่างกายผู้ป่วยได้ (Mukagendaneza et al., 2019)

2.2 ยีนดื้อยา Extended-spectrum β-lactamase

การตอบสนองของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดจากการใช้ยาต้านจุลชีพกลุ่มเบต้าแลคแตมที่ไม่เหมาะสม ส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสได้แพร่ระบาดทั่วโลก เนื่องจากสามารถถ่ายทอดยีนที่เกี่ยวข้องซึ่งอยู่บนพลาสมิดไปได้อย่างรวดเร็ว กล่าวคือหลังจากที่มีการใช้ยากลุ่ม cephalosporins รุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ได้มีเชื้อแบคทีเรียที่พบว่ามียีนที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดวงกว้าง (Broad-spectrum enzyme) เป็นสายพันธุ์ที่วิวัฒนาการมาจากการเกิด point mutation ของยีนเบต้าแลคตาเมส คือ TEM-1 และ SHV-1 ต่อมาได้มีการใช้ยาต้านจุลชีพเบต้าแลคแตมชนิดฤทธิ์ขยาย (expanded-spectrum β-lactam) ที่สามารถทำลายเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสเหล่านี้ได้ โดยเฉพาะยาต้านจุลชีพในกลุ่ม oxyimino-cephalosporins เช่น ceftazidime และ cefotaxime ที่ได้มีการใช้กันอย่างแพร่หลาย และได้ทำให้เกิดมีเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดใหม่ๆเกิดขึ้น (Gniadkowski, 2001) คือสายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายชนิด CTX-M ที่ได้แพร่กระจายและพบในกลุ่มเชื้อ *Salmonella* spp. และ *E. coli* (Paterson, 2000; Saladin et al., 2002)จนกลายเป็นการระบาดที่เกิดขึ้นทั่วโลก อย่างไรก็ตามได้มีการใช้ β-lactamase inhibitors เช่น clavulanate, sulbactam, tazobactam, avibactam, relebactam และ vaborbactam สามารถยับยั้งเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายที่ออกฤทธิ์ต้านต่อยาเบต้าแลคแตมกลุ่ม penicillins, cephalosporins รุ่นที่ 1, 2 และ 3 และ aztreonam (ยกเว้น cephamycins หรือ carbapenems) (Castanheira et al., 2021; Paterson et al., 2005) จากการที่เชื้อที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสยังพบว่ามีฤทธิ์ต้านยาต้านจุลชีพกลุ่มอื่นๆร่วมด้วยอีกหลายชนิด จึงส่งผลให้มีข้อจำกัดของตัวเลือกที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาเหล่านี้

การแบ่งชนิดเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายที่ผลิตโดยเชื้อแบคทีเรียเพื่อต้านต่อยาต้านจุลชีพเบต้าแลคแตม เช่น penicillin, cephalosporin, cephamycin และ carbapenem และถูกยับยั้งได้ด้วย clavulanate โดยมียีนที่ควบคุมการผลิตเอนไซม์ที่มีความหลากหลายในธรรมชาติ ซึ่งใช้ในการแยกชนิดของสายพันธุ์ที่มีความหลากหลาย ตัวอย่างยีนที่ควบคุมการผลิตเอนไซม์ที่มีความใกล้ชิดของสายพันธุ์ คือ TEM และ SHV มีความแตกต่างของกรดอะมิโนเพียงเล็กน้อย สำหรับ CTX-M เป็นยีนที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายที่มีความหลากหลายของสายพันธุ์อย่างมาก และมีบางสายพันธุ์มีลักษณะที่เป็นเอกลักษณ์จำเพาะ ชนิดของเอนไซม์ได้มีการจัดแบ่งออกเป็น 4 คลาส (class) คือ Class A, B, C และ D (Eichenberger et al., 2019)

ยีนดื้อยาต้านจุลชีพเบต้าแลคแตมที่อยู่ใน Class A สามารถผลิตเอนไซม์ penicillinases ที่ออกฤทธิ์ต้านต่อยาต้านจุลชีพในกลุ่ม penicillins, cephalosporins รุ่นที่ 3 (Third generation) และยาต้านจุลชีพกลุ่มเบต้าแลคแตม โดยยาต้านจุลชีพมีตำแหน่งเฉพาะที่เอนไซม์ที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียสามารถจับได้ที่ตำแหน่งกรดอะมิโน serine (active-site serine) ตัวอย่างเอนไซม์ที่ผลิตโดยยีนชนิดต่างๆ ได้แก่ PSE

(Pseudomonas aeruginosa specific enzyme), TEM (Temoniera), SHV (Sulfhydral reagent variable), CTX-M (Active against cefotaxime, CTX), VEB (Vietnamese extended-spectrum β lactamase), PER (Pseudomonas aeruginosa RNL-1), GES (Guiana extended spectrum), KPC (Klebsiella pneumoniae carbapenemase), SME (Serratia marcescens enzyme), IMI/NMC-A (not metalloenzyme carbapenemase)

ใน Class B เชื้อแบคทีเรียผลิต Metallo-β-lactamases ที่ต้านต่อยาต้านจุลชีพเบต้าแลคแตมทุกชนิด ยกเว้น monobactams โดยมี active site agent คือ Zinc ตัวอย่างยีนที่ผลิตเอนไซม์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ IMP (ออกฤทธิ์ต้านยา imipenem), VIM (Verona integrin-encoded metallo-β–lactamase), NDM (New Delhi metallo-β-lactamase), SPM (Sao Paulo metallo β–lactamase), GIM (German imipenemase)

สำหรับ Class C และ D มี active site ที่ตำแหน่งของกรดอะมิโน serine เหมือนกับ class A ผลิตเอนไซม์ cephalosporinases และ oxacillinases (OXA) ตามลำดับ ยีนที่เกี่ยวข้องใน class C คือ AmpC ทำลาย cephamycin และ cephalosporins รุ่นที่ 3 (Third generation) ส่วน class D คือ เอนไซม์ Oxacillinases ที่ผลิตใน class D ทำลายยาต้านจุลชีพเบต้าแลคแตมทั้งหมด รวมถึง oxacillin, cephalosporins, cephems, และ/หรือ monobactams แม้ว่าจะมีความหลากหลายของเอนไซม์ใน class D ค่อนข้างสูง ในทั้ง 3 classes ของ serine β-lactamases นี้มีความเหมือนกันของโครงสร้าง (homologous) ซึ่งจัดได้ว่ามีความใกล้ชิดของสายพันธุ์ที่มาจากเผ่าพันธุ์เดียวกัน

เอนไซม์ carbapenemases ที่พบในกลุ่ม *Enterobacterales* ที่สำคัญในทางคลินิกมากที่สุดอยู่ใน class A (KPC-like enzyme) class B (NDM-, VIM- and IMP-like enzymes), หรือ class D (OXA-48-like enzymes) type β-lactamases (Bonnin et al., 2020)

TEM-type ESBLS เป็น variants ของยีนที่ควบคุมการผลิตเอนไซม์ เบต้าแลคตาเมสโดยพลาสมิด ในช่วงแรกของคริสต์ทศวรรษ 1960 ได้มีรายงานการพบ TEM-1 ครั้งแรก จากเชื้อ *Escherichia coli* ซึ่งเป็น narrow spectrum β –lactamase ที่แยกจากตัวอย่างเลือดของคนไข้ชาวกรีก จึงได้ตั้งชื่อของยีนที่พบนี้ว่า Temoneira ต่อมาได้มีสายพันธุ์ใหม่ครั้งแรกคือ TEM-2 ซึ่งมีเพียงกรดอะมิโน 1 ตัว (Gln39Lys) ที่แทนที่ในยีน TEM-1 ของสายพันธุ์เดิมที่พบก่อนหน้านี้ โดยไม่ได้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ substrate ที่สร้างขึ้น อย่างไรก็ตาม TEM-2 ได้จัดเป็นต้นกำเนิด (Progenitor) ของความหลากหลายของยีน TEM-type ESBLS โดยมีรายงานครั้งแรกของ TEM-type variant คือ TEM-3 ในปี ค.ศ. 1989 ในเวลาต่อมาจนถึงปัจจุบันได้มีการรวบรวม TEM variants ได้ถึง 243 ชนิดที่แตกต่างกัน แต่ไม่ได้เป็นเบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายทุกสายพันธุ์ (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pathogens/ refgene/#TEM) โดยการศึกษาลำดับเบส

ทั่วจีโนมได้แสดงว่าหากพบ functional group 2b จัดเป็นยีนที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดวงกว้าง หากมี functional group 2be จัดเป็นยีนที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย หรือ หากพบ functional group 2br จัดเป็นยีนที่ดื้อยากลุ่ม β –lactamase-inhibitor ความชุกของ TEM variant มีความแตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ ตัวอย่างเช่น TEM-3 และ TEM-10 พบบ่อยในประเทศฝรั่งเศส และประเทศสหรัฐอเมริกา ตามลำดับ ในขณะที่ TEM-26 พบได้ทั่วโลก (Castanheira et al., 2021) ปัจจุบันพบ TEM-type ESBLS ลดลง ในขณะที่ CTX-M-type ESBLS พบว่ามีความชุกมากที่สุดทั่วโลก

SHV-type β-lactamases (sulfhydryl reagent variable) พบในเชื้อ *K. pneumoniae* โดยยีนที่ควบคุมการผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสอยู่ในโครโมโซม ครั้งแรกที่มีการแยกเชื้อแบคทีเรียที่มี SHV-type ESBL ได้จากเชื้อ *Klebsiella ozaenae* ที่ประเทศเยอรมันในปี ค.ศ. 1985 พบว่าเป็นชนิด SHV-2 ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนเพียง 1 ตัว (Gly238Ser) Variants ของ SHV-type ESBL ที่พบมากที่สุดทั่วโลกคือ SHV-5 และ SHV-12 โดยพบในกลุ่ม *Enterobacterales* โดยเฉพาะ *K. pneumoniae* และในกลุ่มแบคทีเรียอื่นที่พบได้แก่ *P. aeruginosa* ปัจจุบันมี 228 variants โดยไม่ใช่เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายทุกสายพันธุ์ (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pathogens/isolates#/ refgene/SHV)

Inhibitor-resistant β-lactamases เป็น derivatives ของเอนไซม์ TEM และ SHV ที่มีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนที่ทำให้เกิดการต้านต่อการยับยั้งโดย β-lactamases inhibitors คือยาต้านจุลชีพ clavulanate และ sulbactam แต่เชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่ยังมีความไวต่อยา tazobactam และ avibactam inhibitor-resistant β-lactamases โดยเป็น derivatives ของ TEM-1 อย่างไรก็ตามเนื่องจากห้องปฏิบัติการทั่วไปไม่มีการทดสอบหา Inhibitor-resistant β-lactamases ที่ใช้แยกชนิดของสายพันธุ์ที่มีเอนไซม์นี้ จึงทำให้รายงานความชุกของเชื้อแบคทีเรียที่ผลิต Inhibitor-resistant β-lactamases ประเมินได้ต่ำกว่าความเป็นจริง

CTX-M-type β-lactamases มีรายงานว่าอุบัติการณ์ในช่วงปลายคริสต์ทศวรรษ 1980 ในหลายพื้นที่ และมีการตั้งชื่อที่แตกต่างกันไป เช่น CTX-M (ประเทศเยอรมัน), FEC-1 และ Toho-1 (ประเทศญี่ปุ่น), MEN-1 (ประเทศฝรั่งเศส) ต่อมาได้มีการระบาดของเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ชนิด CTX-M ทั่วโลก และเป็นชนิดที่พบมากที่สุดแทนที่ β-lactamases ชนิด TEM และ SHV ที่เคยพบได้บ่อย เชื้อแบคทีเรียที่พบสายพันธุ์ CTX-M variant ได้แก่ กลุ่มเชื้อ *Enterobacterales*, *P. aeruginosa* และ *Acinetobacter* spp. สามารถพบเชื้อแบคทีเรียที่มียีน CTX-M ทั้งในสภาพแวดล้อม (setting) ในโรงพยาบาลและชุมชน สัตว์เลี้ยง สิ่งแวดล้อม ผลิตภัณฑ์อาหาร และปศุสัตว์

เอนไซม์ CTX-M จัดแบ่งเป็น 5 กลุ่ม คือ CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 และ CTX-M-25 โดยพิจารณาจากลำดับเบสที่มีความเหมือนกัน ในกลุ่ม CTX-M-1 ที่พบได้บ่อยตามลำดับ

ดังนี้คือ CTX-M-15, CTX-M-3 และ CTX-M-1 ในกลุ่ม CTX-M-9 ที่พบบ่อยที่สุด คือ CTX-M-9 และ CTX-M-14 แต่ที่พบบ่อยมากกว่าในช่วงเวลาล่าสุดคือ CTX-M-27 (Flament-Simon et al., 2020; Ghosh et al., 2017; Matsumura et al., 2016) สำหรับ CTX-M-2, CTX-M-8 และ CTX-M-25 นับเป็น variants ที่พบบ่อยที่สุดในสายพันธุ์แบคทีเรียที่มียีนในกลุ่ม CTX-M-2, CTX-M-8 และ CTX-M-25 ตามลำดับ

สายพันธุ์ CTX-M variant ที่มีเอนไซม์ชื่อ cefotaximase สามารถทำลายยาต้านจุลชีพ cefotaxime และ ceftriaxone ต่อมาพบว่า variants ของ CTX-M-1 และ CTX-M-9 คือ CTX-M-15 และ CTX-M-27 ตามลำดับ สายพันธุ์ที่มี variants ดังกล่าวได้เพิ่มคุณสมบัติการทำลายยาต้านจุลชีพชนิด ceftazidime ได้ด้วย แม้ว่าการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ชนิดนี้ได้ผล แต่เมื่อเชื้อแบคทีเรียสามารถผลิตเอนไซม์ชนิดต่างๆเหล่านี้ ร่วมกับการดื้อยาต้านจุลชีพอื่นๆ และการกลายพันธุ์จากการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน จึงส่งผลทำให้เป็นปัญหาที่มีข้อจำกัดการใช้ยาต้านจุลชีพชนิด Meropenem และยาต้านจุลชีพใหม่ๆได้

ESBL phenotype OXA-type β-lactamases จัดอยู่ใน class D (Ambler) และจัดเป็นเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายในกลุ่ม functional group 2d (Bush et al., 1995) สามารถทำลายยาต้านจุล-ชีพชนิด oxacillin เอนไซม์ชนิดนี้มีความหลากหลาย (OXA-type variants) สามารถทำลายยาต้านจุลชีพกลุ่ม cephalosporins, cephems, และ/หรือ monobactams มีรายงานพบว่ามีเอนไซม์ oxacillinase 27 ชนิดที่มีฟีโนไทป์เป็นเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายที่สามารถทำลาย cephalosporins รุ่นที่ 3 และ/หรือ รุ่นที่ 4 รวมถึง Penicillins และ Cephalosporins รุ่นแรก เอนไซม์ OXA-type β-lactamases ชนิดฤทธิ์ขยาย ส่วนใหญ่มาจากยีนชนิด OXA-10 หรือ PSE-2 และ OXA-2 มี oxacillinases ที่ควบคุมการผลิตด้วยยีน OXA-1 และ OXA-30 ซึ่งภายหลังพบว่าเป็นยีนเดียวกัน ไม่ได้จัดอยู่ในชนิดฤทธิ์ขยายแต่สามารถทำลายยาต้านจุลชีพชนิด cefepime ได้ นอกจากนี้ OXA-48 derivatives คือ OXA-163 และ OXA-405 แต่พบว่าสายพันธุ์ที่มีและไม่มีเอนไซม์ที่ผลิตจากยีน OXA (OXA-48-like enzyme) สามารถต้านยาต้านจุลชีพเบต้าแลคแตมชนิดฤทธิ์ขยายด้วยเอนไซม์ OXA-48-like ที่มีคุณสมบัติของ carbapenemase activity (Dortet et al., 2015; Poirel et al., 2011)

เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายอื่นๆ ได้แก่ GES (Guiana extended-spectrum β-lactamase) family, PER-1 β-lactamase (Pseudomonas extended resistant), VEB-1 (Vietnamese extended-spectrum β-lactamase), BEL (Belgium extended β-lactamase), TLA (Tlahuica), SFO (*Serratia fonticola*) และ OXY (*Klebsiella oxytoca*)

เอนไซม์ GES ออกฤทธิ์ขยายต่อยาในกลุ่ม Carbapenems ยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ GES-1 พบบ่อยที่สุดในกลุ่มนี้ และพบในกลุ่มเชื้อ *Enterobacterales* เช่น *Proteus mirabilis* แต่พบได้บ่อยใน *P. aeruginosa* และ *A. baumannii*

PER-1 β-lactamase พบในเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *P. aeruginosa, A. baumannii*, *Aeromonas* spp. และหลายๆ สปีชีส์ของกลุ่มเชื้อ *Enterobacterales* ทำให้เชื้อแบคทีเรียต้านต่อยาต้านจุลชีพกลุ่ม cephalosporins และ clavulanate โดยสามารถทำลายยาต้านจุลชีพกลุ่ม Penicillins ได้ดี และ cephalosporins ได้แก่ cefalotin, cefoperazone, cefuroxime, ceftriaxone และ ceftazidime ทั้งนี้ เอนไซม์ PER-1 β-lactamase ไม่สามารถทำลาย oxacillin, cephamycins หรือ imipenem ต่อมาได้มี variant คือเอนไซม์ PER-2 β-lactamase ที่พบใน *P. aeruginosa* ในรายงานจากประเทศอาร์เจนตินาแสดงลำดับเบสที่เหมือนเอนไซม์ PER-1 β-lactamase ถึงร้อยละ 86.4 (Bauernfeind et al., 1996)

VEB-1 พบครั้งแรกจาก *E. coli* ในผู้ป่วยทารกชาวเวียดนาม มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาต้านจุลชีพ ceftazidime และ aztreonam ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) ในระดับความเข้มข้นที่สูง ในขณะที่มีค่า MIC เพิ่มขึ้นในระดับปานกลางต่อยา cefotaxime การรักษาจึงไม่ได้ผลจากการใช้ยาต้านจุลชีพดังกล่าว

VEB-1 และ VEB variants พบได้ในแบคทีเรียก่อโรคชนิดแกรมลบหลากหลายสายพันธุ์ รวมถึงกลุ่มเชื้อ *Enterobacterales*, *Vibrio* spp., *Achromobacter xylosoxidans*, *P. aeruginosa* และ *A. baumannii* โดยเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้เกี่ยวข้องในทางคลินิก (Jain et al., 2016; Li et al., 2016; Naas et al., 2008) ยีนเบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายอีกหลายชนิดที่พบในโครโมโซมของกลุ่มเชื้อ *Enterobacterales* และกลุ่มเชื้อ non-fermentative ที่พบได้บ่อยและเป็นสาเหตุของการดื้อยาในเชื้อแบคทีเรีย คือ OXY β-lactamases ที่แยกได้จากเชื้อแบคทีเรีย *Klebsiella oxytoca* (Castanheira et al., 2013; Fevre et al., 2005) นอกจากนี้ยังมีรายงานการพบ BEL, TLA และ SFO แต่ไม่มากนัก โดย BEL และ TLA สามารถทำลายยาต้านจุลชีพ ceftazidime และ aztreonam ได้ดีกว่า cefotaxime ส่วน SFO สามารถต้านต่อยา cefotaxime ได้ (Castanheira et al., 2021)

ยีนที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสที่มีฤทธิ์ขยายดังที่ได้กล่าวข้างต้น เป็นปัจจัยที่สำคัญมากที่เกี่ยวข้องในการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ได้ผลตามเป้าหมาย เนื่องจากการที่เอนไซม์ต่างๆ สามารถทำลายยาต้านจุลชีพดังกล่าวที่ใช้ในการรักษา ทั้งนี้ผลงานวิจัยของผู้ประพันธ์ที่เกี่ยวข้องกับเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมสที่มีฤทธิ์ขยาย โดยมีคำถามที่มาจากการเล็งเห็นถึงปัญหาของการติดเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ที่มีฤทธิ์ขยายซึ่งพบได้ในอุจจาระผู้ป่วย ผู้ป่วยมีโอกาสติดเชื้อจากการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียดื้อยานี้ในระหว่างการทำหัตถการผ่าตัดช่องท้องผู้ป่วย และจะส่งผลให้ผู้ป่วยได้รับเชื้อแบคทีเรียดื้อยานี้ได้ รวมถึงอาจทำให้ผู้ป่วยติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยานี้ในอวัยวะส่วนอื่นๆได้ จึงได้ทำการศึกษาตรวจคัดกรองเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายในอุจจาระผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดช่องท้องในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ ในช่วงเวลาตั้งแต่เดือนตุลาคม 2561 ถึงเดือนเมษายน 2562 โดยเก็บจากตัวอย่างอุจจาระด้วยการทำ rectal swab ของผู้ป่วยในช่วงเวลาก่อนและ 1-3 วันหลังผ่าตัดช่องท้อง ได้นำตัวอย่าง rectal swab ของผู้ป่วยทำการเพาะเชื้อตามวิธีมาตรฐานเพื่อแยกเชื้อแบคทีเรียโดยใช้การทดสอบทางชีวเคมี

(Biochemical test) จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียที่แยกชนิดได้แล้วมาทำการทดสอบยืนยันการผลิตเบต้าแลคตา-เมสชนิดฤทธิ์ขยายโดยวิธี double disk synergy test ด้วยการใช้ยาต้านจุลชีพชนิด clavulanic acid และยาต้านจุลชีพกลุ่ม extended spectrum-cephalosporins (ceftazidime และ cefotaxime) ในการทดสอบ และทำการทดสอบหายีนดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ที่มีฤทธิ์ขยายโดยวิธี multiplex PCR จากนั้นได้ทำการวิเคราะห์จีโนมของเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่ผลิตเอนไซม์ที่มีฤทธิ์ขยาย ได้แก่ *E. coli*, *K. pneumoniae* และ *Enterobacter roggenkampii* รวมถึงเชื้อแบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพที่แสดงผลลบของการตรวจ double disk synergy test ด้วย ได้แก่ เชื้อ *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*

การศึกษาลักษณะสายพันธุ์ตามลักษณะของจีโนไทป์ได้แสดงไว้ในตารางที่ 2.1 และผลการวิเคราะห์ยีนดื้อยาจากข้อมูลลำดับเบสทั่วจีโนมได้แสดงลักษณะจีโนไทป์ของยีนดื้อยาชนิดต่างๆ ของเชื้อกลุ่มเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายดังเสดงในตารางที่ 2.2 (Kondo, 2023) ผลการวิเคราะห์จีโนไทป์ของยีนดื้อยาทำให้ทราบว่าเชื้อที่ดื้อยามีความสามารถในการการแพร่ระบาดได้จากการที่มีสารพันธุกรรมที่สามารถถ่ายทอดยีนต่างๆระหว่างสายพันธุ์ และการวิเคราะห์หา Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) สามารถบอกถึงความใกล้ชิดของสายพันธุ์โดยการสร้าง Phylogenetic treeซึ่งแสดงให้เห็นวิวัฒนาการของสายพันธุ์และนำไปสู่แหล่งที่มาของสายพันธุ์ที่มีการระบาด ซึ่งช่วยให้บุคลากรทางการแพทย์รวมถึงแพทย์ พยาบาล และเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องวางแผนการดูแลและจัดการเพื่อเฝ้าระวังและป้องกันการติดเชื้อดื้อยาที่สามารถเกิดขึ้นได้ในระหว่างการทำหัตถการผ่าตัด รวมถึงควบคุมการแพร่กระจายของยีนดื้อยาที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายในผู้ป่วยพาหะที่มีความเสี่ยงสูงในการได้รับเชื้อแบคทีเรียดื้อยานี้ในระหว่างที่ผู้ป่วยได้รับการรักษาในโรงพยาบาลเป็นเวลานาน

นอกจากนี้ข้อมูลความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพชนิดต่างๆ (Antimicrobial susceptibility testing) ที่ทดสอบด้วยวิธี Disk diffusion methods ได้แก่ β-lactams: penicillins (ampicillin, amoxycillin, piperacillin), beta-lactamase inhibitor (tazobactam), carbapenems (ertapenem, meropenem, doripenem, imipenem และ cilastatin); cephalosporins (cefdinir, cefazolin, ceftriaxone), quinolones (levofloxacin) รวมถึงข้อมูลการรักษาและระยะเวลาการนอนโรงพยาบาลของผู้ป่วยจากฐานข้อมูลห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติเพื่อวิเคราะห์หาปัจจัยความเสี่ยงการติดเชื้อดื้อยา ที่เป็นประโยชน์ต่อการวางแผนป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อดื้อยาที่ผลิตเอนไซม์ที่มีฤทธิ์ขยายนี้

จากข้อมูลผลงานวิจัยของผู้ประพันธ์ (Kondo, 2023) ได้แสดงลักษณะจีโนไทป์ของ Sequence types (ST) ในสายพันธุ์ ESBL-producing *Enterobacterales* ที่แยกจากผู้ป่วยก่อนและหลังการผ่าตัดช่องท้อง โดยแสดงให้เห็นว่าเชื้อ ESBL-producing *K. pneumoniae* ส่วนใหญ่พบว่าเป็น ST14 และ ST15 ส่วนสายพันธุ์

ที่พบในเชื้อ ESBL-producing *E. coli* จำนวน 46 สายพันธุ์มีความหลากหลายของสายพันธุ์คือ สายพันธุ์ที่เป็น ST 654/- (7 สายพันธุ์), ST131/506 (5 สายพันธุ์), ST1193/53 (4 สายพันธุ์), ST405/477 (3 สายพันธุ์), และ ST1324/-, ST537/470, ST38/535, ST871/-, ST648/- (แต่ละชนิดพบ 2 สายพันธุ์) และ ST อื่นๆ พบเพียงใน 1 สายพันธุ์ ทั้งนี้มีจำนวนถึง 7 สายพันธุ์ที่ไม่สามารถแยกจีโนไทป์ ST ได้ ดังแสดงในตารางที่ 2.1 จากรายงานอื่นที่ศึกษาสายพันธุ์ ESBL-producing *E. coli* จากโรงพยาบาลตติยภูมิในประเทศไทยในช่วงปี ค.ศ. 2014-2015 พบสายพันธุ์เป็น ST38 มากที่สุด รองลงมาเป็น ST405, ST410, และ ST131 ตามลำดับ (Bubpamala et al., 2018) เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของผู้นิพนธ์และทีมวิจัยในช่วงเดือนกรกฎาคม ปี ค.ศ. 2018 ถึงเดือนมีนาคม ปี ค.ศ. 2019 พบสายพันธุ์ที่เป็นชนิด ST38, ST405 และ ST131 เหมือนกับที่พบในการศึกษาในปี ค.ศ. 2014-2015 ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่ห่างกันประมาณ 5 ปี เป็นข้อบ่งชี้ว่าสายพันธุ์ชนิด ST38, ST405 และ ST131 น่าจะเป็นสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการคงอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้ดีและสามารถแพร่ระบาดได้อย่างต่อเนื่องในประเทศไทย และยังพบว่า ST131 เป็นสายพันธุ์แพร่ระบาดทั่วโลก ก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะและติดเชื้อในกระแสเลือด (Kanamori et al., 2017; Kudinha et al., 2013)

เอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายที่พบมากที่สุดในสายพันธุ์ที่แยกจากผู้ป่วยในการศึกษานี้ คือ CTX-M และ TEM ซึ่งพบเหมือนกับที่มีรายงานทั่วโลก โดยพบในเชื้อ *E. coli* ในขณะที่ SHV พบในเฉพาะ *K. pneumoniae* จากรายงานพบว่า variants ที่พบได้บ่อยทั่วโลกในเชื้อกลุ่ม *Enterobacterales* คือ SHV5 และ SHV12 (Castanheira et al., 2021)

จากการวิเคราะห์ลำดับเบสทั่วจีโนมของเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายพบว่า Variant ที่ผลิต CTX-M, TEM, SHV และ OXA ที่พบมากที่สุดคือ CTX-M-15, TEM-1, SHV-28 และ OXA-1 ตามลำดับ พบยีนที่น่าสนใจอีกคือยีนที่ผลิตเอนไซม์ต้านยาต้านจุลชีพ pAmpC β-lactamase คือ CMY-2 ซึ่งมีการรายงานทั่วโลกและอุบัติการณ์ใหม่ที่พบยีน *mcr* ที่ต้านยา colistin นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ส่วนใหญ่พบว่ามียีนดื้อยาหลายชนิด ดังแสดงในตารางที่ 2.2

จากผลการศึกษานี้มีข้อมูลที่แสดงให้เห็นว่าอุบัติการณ์ของเชื้อแบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิดที่โคโลไนซ์ในผู้ป่วย ซึ่งจัดเป็นพาหะของเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายในผู้ป่วยพาหะที่เป็นปัจจัยเสี่ยงของการถ่ายทอดเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาในผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงของการติดเชื้อในระหว่างการทำหัตถการการผ่าตัด และอาจแพร่กระจายเชื้อแบคทีเรียดื้อยานี้ไปยังสิ่งแวดล้อมในโรงพยาบาลและถ่ายทอดไปยังผู้ป่วยคนอื่นให้ได้รับเชื้อแบคทีเรียดื้อยาเหล่านี้ ส่งผลให้มีการติดเชื้อในโรงพยาบาลเพิ่มขึ้นได้ ยังมีรายงานการคัดกรองหา ESBL-PE พบการติดเชื้อที่ตำแหน่งการผ่าตัดในผู้ป่วยที่เป็นพาหะของ ESBL-PE และแสดงถึงการติดเชื้อ ESBL-PE ที่ตำแหน่งการผ่าตัดในผู้ป่วยที่เป็นพาหะของ ESBL-PE มากกว่ากลุ่มที่ไม่เป็นพาหะ และมีความเสี่ยงสูงของการติดเชื้อที่ตำแหน่งการผ่าตัดที่เป็นแผลลึกในผู้ป่วยที่เป็นพาหะของ ESBL-PE (Dubinsky-Pertzov et al., 2019)

นอกจากนี้มีรายงานก่อนหน้านี้แสดงผลของผู้ป่วยที่มีเชื้อ ESBL-PE โคโลไนซ์และเข้าอยู่ในหอผู้ป่วยขั้นวิกฤต (Intensive care unit) ทั้งหมดจำนวน 4 ราย พบว่า 3 ราย (ร้อยละ75) มีการติดเชื้อ ESBL-PE บ่งชี้ให้เห็นว่าการโคโลไนซ์ของเชื้อ ESBL-PE มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับการติดเชื้อ ESBL-PE ในผู้ป่วย ทั้งนี้การติดเชื้อเกิดขึ้นได้ทั้งในระบบทางเดินปัสสาวะ ในช่องท้อง ระบบทางเดินหายใจ และในกระแสเลือด (Emmanuel Martinez et al., 2019) ส่วนใหญ่พบว่ามีการติดเชื้อ ESBL-PE ในระบบทางเดินปัสสาวะ ที่เป็นผู้ป่วยสูงอายุและมีการใช้สายสวนปัสสาวะ ซึ่งอาจเป็นข้อบ่งชี้ในการใช้เป็นแนวทางพิจารณาให้การรักษาการติดเชื้อด้วยยา carbapenem (empiric carbapenem therapy) ที่เป็นประโยชน์ในการป้องกันการติดเชื้อในผู้ป่วยที่เป็นพาหะของเชื้อ ESBL-PE (Vock et al., 2020)

การศึกษานี้จึงเป็นข้อมูลสำคัญที่สะท้อนให้บุคลากรทางการแพทย์ รวมถึงแพทย์ พยาบาล เภสัชกร นักเทคนิคการแพทย์ และบุคลากรที่เกี่ยวข้องตระหนักถึงปัญหาโรคติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่มีโอกาสแพร่ระบาดและจะส่งผลต่อการรักษา ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการเฝ้าระวังอย่างเข้มงวด จัดทำแนวทางและกำหนดมาตการการควบคุมและป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาเพื่อป้องกันและลดการระบาดของเชื้อดื้อยาดังกล่าวทั้งในโรงพยาบาลและชุมชนต่อไป ทั้งนี้องค์การอนามัยโลกพัฒนาแผนการปฏิบัติการที่เป็นมาตรฐาน เพื่อเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพให้ประเทศต่างๆทั่วโลก รวมถึงหลักในการพัฒนาแผนการปฏิบัติการระดับชาติ (World Health Organization, 2021)

ตารางที่ 2.1 Sequence types (ST) ของ ESBL-producing *Enterobacterales* และ สายพันธุ์ดื้อยาที่แยกจากผู้ป่วยก่อนและหลังผ่าตัดช่องท้อง (Kondo, 2023)

ลำดับผู้ป่วย	หอผู้ป่วย	รหัส	สายพันธุ์	ก่อน (0)/ หลัง (1) การผ่าตัด	Species (Kraken2)	ST
3	1	SK3	EPE	0	*E. coli*	46/398
		SK76	EPE	1	*E. coli*	1324/-
		SK77	EPE	1	*E. coli*	1324/-
4	1*	SK4	EPE	0	*E. coli*	7506/730
		SK6	EPE	1	*E. coli*	131/506
5	1	SK8	EP^R	0	*E. coli*	537/470
		SK11	EPE	0	*E. coli*	654/-
		SK90	EP^R	1	*E. coli*	537/470
9	2*	SK20	EPE	0	*E. coli*	38/535
		SK23	EPE	1	*E. coli*	38/535
13	1	SK80	EPE	0	*E. coli*	131/43
		SK81	EPE	1	*E. coli*	131/43
14	1	SK82	EPE	0	*E. coli*	Unknown
		SK83	EPE	1	*E. coli*	457/-
16	2*	SK85	EKP	1	*K. pneumoniae*	Unknown
		SK87	EP^R	0	*E. coli*	Unknown
17	1*	SK88	EPE	0	*E. coli*	131/43
		SK89	EPE	1	*E. coli*	131/43
18	1	SK91	EPE	0	*E. coli*	405/477
		SK92	EPE	1	*E. coli*	405/477

ตารางที่ 2.1 (ต่อ) Sequence types (ST) ของ ESBL-producing *Enterobacterales* และ สายพันธุ์ดื้อยาที่แยกจากผู้ป่วยก่อนและหลังผ่าตัดช่องท้อง (Kondo, 2023)

ลำดับผู้ป่วย	หอผู้ป่วย	รหัส	สายพันธุ์	ก่อน (0)/ หลัง (1) การผ่าตัด	Species (Kraken2)	ST
20	1	SK96	EPE	0	*E. coli*	2/3171
		SK100	EPE	1	*E. coli*	405/44
		SK95	EKP	0	*K. pneumoniae*	15
		SK97	EKP	0	*K. pneumoniae*	15
		SK98	KP^R	1	*K. pneumoniae*	15
		SK99	KP^R	1	*K. pneumoniae*	15
22	1	SK101	EPE	0	*E. coli*	871/-
		SK102	EPE	1	*E. coli*	871/-
23	3*	SK103	EPE	0	*E. coli*	4014/88
		SK104	EKP	1	*K. pneumoniae*	37
24	3	SK105	EPE	0	*E. coli*	648/-
		SK106	EER	1	*E. roggenkampii*	Unknown
27	3*	SK109	EPE	0	*E. coli*	1485/-
		SK110	EPE	0	*E. coli*	1193/53
		SK111	EPE	1	*E. coli*	1193/53
		SK112	EPE	1	*E. coli*	1193/53
29	1	SK114	EPE	1	*E. coli*	773/-
		SK128	ER^R	0	*E. roggenkampii*	Unknown

ตารางที่ 2.1 (ต่อ) Sequence types (ST) ของ ESBL-producing *Enterobacterales* และ สายพันธุ์ดื้อยาที่แยกจากผู้ป่วยก่อนและหลังผ่าตัดช่องท้อง (Kondo, 2023)

ลำดับผู้ป่วย	หอผู้ป่วย	รหัส	สายพันธุ์	ก่อน (0)/ หลัง (1) การผ่าตัด	Species (Kraken2)	ST
30	1*	SK116	KP^R	1	*K. pneumoniae*	14
		SK125	KP^R	1	*K. pneumoniae*	14
		SK126	EKP	1	*K. pneumoniae*	14
		SK127	KP^R	1	*K. pneumoniae*	14
35	4	SK129	EP^R	1	*E. coli*	648/-
		SK130	EPE	1	*E. coli*	1193/53
		SK131	ECL^R	0	*E. cloacae*	Unknown
		SK132	ECL^R	1	*E. cloacae*	Unknown

1 = หอผู้ป่วยศัลยกรรมทั่วไป; 1* = หอผู้ป่วยศัลยกรรมพิเศษ 1; 2 = หอผู้ป่วยศัลยกรรมพิเศษ 2; 3, 3*, 4 = หอผู้ป่วยพิเศษ; EPE = ESBL-producing *E. coli*, EP^R = resistant *E. coli*, EKP = ESBL-producing *K. pneumoniae*, KP^R = resistant *K. pneumoniae*, ECL^R = resistant *E. cloacae*, EER = ESBL-producing *Enterobacter roggenkampii*.

ตารางที่ 2.2 ยีนดื้อยาที่พบในเชื้อแบคทีเรียที่แยกจาก rectal swab แยกจากผู้ป่วยก่อนและหลังผ่าตัดช่องท้อง (Kondo, 2023)

ลำดับผู้ป่วย	หอผู้ป่วย	รหัส	สายพันธุ์	ก่อน (0)/ หลัง (1) การผ่าตัด	ยีน *bla**	ยีนดื้อยาชนิดอื่นๆ**
3	1	SK3	EPE	0	TEM-1B, CTX-M-14, EC-15, EC-8	*aadA2, tet(A), aph(6)-Id, aph(3")-Id, lnu(F),qnrS1, floR, sul3, dfrA14*
		SK76	EPE	1	CTX-M-14, TEM-1B, EC-18,	*ant(3")-Ia*, *sul3*, *aadA2,aadA1, lnu(F), floR, tet(A), aac(3)-lid*
		SK77	EPE	1	CTX-M-14, TEM-1B, EC-18	*aadA1, aac(3)-lid, aadA2, lnu(F), floR, tet(A)*
4	1*	SK4	EPE	0	CMY-2, EC-18	*tet(A), aph(6)-Id, aph(3")-Ib, aadA2, sul2, oqxA, oqxB, floR, lnu(F), erm(42), bleO*
		SK6	EPE	1	TEM-1B, CTX-M-27, EC-5	*mph(A), sul1, sul2, dfrA17*

ตารางที่ 2.2 (ต่อ) ยีนดื้อยาที่พบในเชื้อแบคทีเรียที่แยกจาก rectal swab แยกจากผู้ป่วยก่อนและหลังผ่าตัดช่องท้อง (Kondo, 2023)

ลำดับผู้ป่วย	หอผู้ป่วย	รหัส	สายพันธุ์	ก่อน (0)/ หลัง (1) การผ่าตัด	ยีน *bla**	ยีนดื้อยาชนิดอื่นๆ**
5	1	SK8	EP^R	0	CMY-2, EC-5	*tet(A), aph(6)-Id, aph(3")-Ib, aac(3)-lid*
		SK11	EPE	0	CTX-M-14, EC-18	*mph(A), qnrS1,aadA2, cmlA1, aadA1, aac(3)-lid, sul3, dfrA12*
		SK90	EP^R	1	CMY-2, EC-5	None
9	2*	SK20	EPE	0	CTX-M-15, EC-8	*qnrS1, tet(A)*
		SK23	EPE	1	CTX-M-15, EC-8	*qnrS1, tet(A)*

ตารางที่ 2.2 (ต่อ) ยีนดื้อยาที่พบในเชื้อแบคทีเรียที่แยกจาก rectal swab แยกจากผู้ป่วยก่อนและหลังผ่าตัดช่องท้อง (Kondo, 2023)

ลำดับผู้ป่วย	หอผู้ป่วย	รหัส	สายพันธุ์	ก่อน (0)/ หลัง (1) การผ่าตัด	ยีน *bla**	ยีนดื้อยาชนิดอื่นๆ**
13	1	SK80	EPE	0	CTX-M-15, EC-5, OXA-1	*tet(A), aac(3)-lie, aac(6')-Ib-D181Y*
		SK81	EPE	1	CTX-M-15, EC-5, OXA-1	*tet(A), aac(3)-lie, aac(6')-Ib-D181Y*
16	2*	SK85	EKP	1	SHV-110	*oqxA6, oqxB31, fosA_gen*
		SK87	EP^R	0	TEM-1, CTX-M-15, OXA-1, EC-18	*erm(B), mph(A), aac(3)-lie, aac(6')-Ib-D181Y*

ตารางที่ 2.2 (ต่อ) ยีนดื้อยาที่พบในเชื้อแบคทีเรียที่แยกจาก rectal swab แยกจากผู้ป่วยก่อนและหลังผ่าตัดช่องท้อง (Kondo, 2023)

ลำดับผู้ป่วย	หอผู้ป่วย	รหัส	สายพันธุ์	ก่อน (0)/ หลัง (1) การผ่าตัด	ยีน *bla**	ยีนดื้อยาชนิดอื่นๆ**
17	1*	SK88	EPE	0	CTX-M-14, TEM-1B, EC-5	*aac(3)-Iid, qnrS1, aadA5, sul1, sul2, aph(3'')-Ib, aph(6)-Id, tet(A), erm(B), mph(A), dfrA17*
		SK89	EPE	1	CTX-M-14, TEM-1B, EC-5	*aac(3)-Iid, qnrS1, aadA5, sul1, sul2, aph(3'')-Ib, aph(6)-Id, tet(A), erm(B), mph(A), dfrA17*
18	1	SK91	EPE	0	CTX-M-15, EC-8, OXA-1	*dfrA17, tet(B), sul1, aadA5, mph(A), aac(6')-Ib-D181Y*

ตารางที่ 2.2 (ต่อ) ยีนดื้อยาที่พบในเชื้อแบคทีเรียที่แยกจาก rectal swab แยกจากผู้ป่วยก่อนและหลังผ่าตัดช่องท้อง (Kondo, 2023)

ลำดับผู้ป่วย	หอผู้ป่วย	รหัส	สายพันธุ์	ก่อน (0)/ หลัง (1) การผ่าตัด	ยีน *bla**	ยีนดื้อยาชนิดอื่นๆ**
20	1	SK96	EPE	0	CTX-M-15, EC	*floR*
		SK100	EPE	1	CTX-M-55, EC-8	*aac(3)-Iid, catA2,aadA5, sul1, sul2, mph(A), qnrS1, aph(3'')-Ib, aph(6)-Id, tet(A), erm(B), dfrA17*
		SK95	EKP	0	SHV-106, DHA-1, OXA-1, SHV-28	*oqxA6, oqxB20, fosA6, sul1, qnrB4, catB3, aac(6')-Ib-cr5, tet(A), aac(3)-Iid, catA2*
		SK97	EKP	0	SHV-106, DHA-1, OXA-1	*oqxA6, oqxB20, fosA6, sul1, qnrB4, catB3, aac(6')-Ib-cr5, tet(A), aac(3)-Iid, catA2, mcr-1.1*

ตารางที่ 2.2 (ต่อ) ยีนดื้อยาที่พบในเชื้อแบคทีเรียที่แยกจาก rectal swab แยกจากผู้ป่วยก่อนและหลังผ่าตัดช่องท้อง (Kondo, 2023)

ลำดับผู้ป่วย	หอผู้ป่วย	รหัส	สายพันธุ์	ก่อน (0)/ หลัง (1) การผ่าตัด	ยีน *bla**	ยีนดื้อยาชนิดอื่นๆ**
20		SK98	KP^R	1	SHV -106, SHV-28, DHA-1, OXA-1	*oqxA6, oqxB20, fosA6, sul1, qnrB4, catB3, aac(6')-Ib-cr5, tet(A), aac(3)-Iid, catA2*
		SK99	KP^R	1	SHV-106	*oqxA6, oqxB20, fosA6*
22	1	SK101	EPE	0	TEM-1B, CTX-M-55, EC-15	*qnrS1, sul2, sul3, aac(3)-Iid, aadA25, aph(3')-Ia, aph(3")-Ib, mef(B), floR, dfrA12*
		SK102	EPE	1	TEM-1B, CTX-M-55, TEM-1A, EC-15	*qnrS1, sul2, sul3, aac(3)-Iid, aadA25, aph(3')-Ia, aph(3")-Ib, mef(B), floR, dfrA12*

ตารางที่ 2.2 (ต่อ) ยีนดื้อยาที่พบในเชื้อแบคทีเรียที่แยกจาก rectal swab แยกจากผู้ป่วยก่อนและหลังผ่าตัดช่องท้อง (Kondo, 2023)

ลำดับผู้ป่วย	หอผู้ป่วย	รหัส	สายพันธุ์	ก่อน (0)/ หลัง (1) การผ่าตัด	ยีน *bla**	ยีนดื้อยาชนิดอื่นๆ**
23	3*	SK103	EPE	0	TEM-1B, CTX-M-55, EC-18	*tet(X), floR*
		SK104	KP	1	SHV-187	*oqxA6, oqxB22, fosA6*
24	3	SK105	PE	0	TEM-1B, CTX-M-3, CMY-2, EC-19	*tet(A), floR, dfrA17*
		SK106	ER	1	TEM-1B, CTX-M-3, CTX-M-55, MIR-9, MIR-1	*oqxB20, oqxA10, fosA*

ตารางที่ 2.2 (ต่อ) ยีนดื้อยาที่พบในเชื้อแบคทีเรียที่แยกจาก rectal swab แยกจากผู้ป่วยก่อนและหลังผ่าตัดช่องท้อง (Kondo, 2023)

ลำดับผู้ป่วย	หอผู้ป่วย	รหัส	สายพันธุ์	ก่อน (0)/ หลัง (1) การผ่าตัด	ยีน *bla**	ยีนดื้อยาชนิดอื่นๆ**
27	3*	SK109	EPE	0	TEM-1B, CTX-M-55, EC-19	*qnrS13, sul2, aph(3")-Ib, aph(6)-Id*
		SK110	EPE	0	CTX-M-27, EC-5	*tet(A), mph(A), sul1, sul2, aadA5, aph(6)-Id, aph(3")-Ib, dfrA17*
		SK111	EPE	1	CTX-M-27, EC-5	*tet(A), mph(A), sul1, sul2, aadA5, aph(6)-Id, aph(3")-Ib, dfrA17*
		SK112	EPE	1	CTX-M-27, EC-5	*tet(A), mph(A), sul1, sul2, aadA5, aph(6)-Id, aph(3")-Ib, dfrA17*
29	1	SK114	EPE	1	TEM-1B, CTX-M-14, EC-15	*tet(A), tet(B), tet(X), aph(3")-Ib, sul2, lnu(F), aadA2, aac(3)-Iid, floR, catA1, dfrA17*

ตารางที่ 2.2 (ต่อ) ยีนดื้อยาที่พบในเชื้อแบคทีเรียที่แยกจาก rectal swab แยกจากผู้ป่วยก่อนและหลังผ่าตัดช่องท้อง (Kondo, 2023)

ลำดับผู้ป่วย	หอผู้ป่วย	รหัส	สายพันธุ์	ก่อน (0)/ หลัง (1) การผ่าตัด	ยีน *bla**	ยีนดื้อยาชนิดอื่นๆ**
30	1*	SK116	KP^R	1	SHV -11, SHV -28, SHV-13	*oqxA6, oqxB20, erm (c) ,fosA6*
		SK125	KP^R	1	SHV-11, SHV-28, *blaZ*	*oqxA6, oqxB20, erm (c) ,fosA6*
		SK126	EKP	1	SHV-11, SHV-28, SHV-13	*oqxA6, oqxB20, erm (c) ,fosA6*
		SK127	KP^R	1	SHV-28, SHV-100, SHV-106	*oqxA6, oqxB20 ,fosA6*
35	4	SK129	EP^R	1	CTX-M-27, CMY-2, EC-19	*sul1, sul2, aph(3")-Ib, aph(6)-Id, aadA5, tet(A), tet(B), floR*
		SK130	EPE	1	TEM-1B	*mph(A), sul1, sul2, aadA5, aac(3)-Iid, dfrA17, aph(3")-Ib, aph(6)-Id, tet(A)*
		SK131	ECL^R	0	CMH-4	*oqxA10, oqxB9, mcr-10.1*
		SK132	ECL^R	1	CMH-4	*oqxA10, oqxB9, mcr-10.1*

*CTX-M, CMY-2, MIR-1, MIR-2 ควบคุมการดื้อยา Amoxicillin, Amoxicillin+Clavulanic acid, Ampicillin, Ampicillin+Clavulanic acid, Cefotaxime, Cefoxitin, Ceftazidime, Piperacillin, Piperacillin+Tazobactam, Ticarcillin, Ticarcillin+Clavulanic_acid; SHV ควบคุมการดื้อยา cephalosporins เช่น cephalothin หรือ cefazolin, monobactam และ carbapenems; TEM-1B ควบคุมการดื้อยา Amoxicillin, Ampicillin, Cephalothin, Piperacillin, Ticarcillin; EC, OXA-1 และ DHA-1 ควบคุมการดื้อยา Cephalosporin

** *aadA1*, *aadA2*, *aadA5*, *aadA25, ant(3'')-Ia*, *aph(3')-Ia*, *aph(3'')-Ib*, *aph(6)-Id* ควบคุมการดื้อยา Streptomycin; *aac(3)-IId* ควบคุมการดื้อยา Gentamicin, Tobramycin; *aac(6')-Ib-D181Y* ควบคุมการดื้อยา Amikacin, Kanamycin, Tobramycin; *aac(6')-Ib-cr5* ควบคุมการดื้อยา Amikacin, Kanamycin, Quinolone, Tobramycin; *aac(3)-Iid* และ *aac(3)-Iie* ควบคุมการดื้อยา Gentamicin; *bleO* ควบคุมการดื้อยา Bleomycin; *cmlA1*, *catA2, catB3* ควบคุมการดื้อยา Chloramphenicol; Florfenicol; *dfrA17*, *dfrA12* ควบคุมการดื้อยา Trimethoprim; *erm(B)*, *emr (42)* ควบคุมการดื้อยา Erythromycin, Lincomycin, Clindamycin, Quinupristin, Pristinamycin_IA, Virginiamycin_S; *fosA*, *fos6* ควบคุมการดื้อยา Fosfomycin; *lnu(F)* ควบคุมการดื้อยา Lincomycin; *floR*, *sul1*, *sul2*, *sul3* ควบคุมการดื้อยา Sulfamethoxazole; *mph(A)* ควบคุมการดื้อยา Erythromycin, Azithromycin, Spiramycin,Telithromycin; *mef(B)* ควบคุมการดื้อยา Erythromycin, Azithromycin; *mcr-10.1* ควบคุมการดื้อยา colistin; *qnrS13* และ *qnrB4* ควบคุมการดื้อยา Quinolone; *oqxA10, oqxA6, oqxB20, oqxB22*, *oqxB9* ควบคุมการดื้อยา Phenicol, Quinolone; *qnrS1* ควบคุมการดื้อยา Ciprofloxacin; *tet(A)* ควบคุมการดื้อยา Doxycycline, Tetracycline; *tet(B)* ควบคุมการดื้อยา Doxycycline,Tetracycline, Minocycline; *tet(X)* ควบคุมการดื้อยา Doxycycline, Tetracycline, Minocycline, Tigecycline

2.3 การถ่ายทอดยีนดื้อยา Extended-spectrum β-lactamase

เชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Enterobacterales* ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายที่มีรายงานครั้งแรกเป็นเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้มีการติดเชื้อในโรงพยาบาล และเป็นสาเหตุสำคัญทำให้เกิดโรคติดเชื้อทางเดินปัสสาวะที่ได้รับจากชุมชน ที่เพิ่มขึ้นทั่วโลก มีรายงานสนับสนุนว่าเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacterales* ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายมีการแพร่ระบาดได้ในโรงพยาบาลมากกว่าในชุมชน ทั้งนี้มีการรายงานของแหล่งของการแพร่กระจายการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียที่มาจากชุมชน ได้แก่ อาหารที่มีการปนเปื้อน เชื้อแบคทีเรียโคโลไนซ์ในสิ่งแวดล้อม และตัวอย่างน้ำที่มาจากแม่น้ำและทะเลสาบ การถ่ายทอดยีนดื้อยาของเชื้อ *Enterobacterales* ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายมีการควบคุมโดยพลาสมิด (self-transmissible plasmid) ซึ่งสามารถแลกเปลี่ยนระหว่าง species เดียวกันและต่างกัน (Horizontal transfer) ของพลาสมิดในกลุ่ม *Enterobacterales* ได้

การศึกษาการถ่ายทอดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาจำเป็นต้องมีข้อมูลลักษณะของสายพันธุ์ โดยมีวิธีของการศึกษาลักษณะของสายพันธุ์แบคทีเรีย เช่น Pulsed-field gel electrophoresis หรือ Multilocus sequence typing (MLST) ซึ่งนับว่าเป็นเทคนิคมาตรฐานระดับโมเลกุลที่ใช้ในการแยกชนิดของสายพันธุ์ อย่างไรก็ตามทั้งสองวิธียังไม่สามารถแยกสายพันธุ์ที่มีความใกล้ชิดของสายพันธุ์ได้ดีเท่าที่ควร โดยวิธีการทดสอบแยกชนิดของสายพันธุ์ดังกล่าวข้างต้นไม่สามารถแสดงให้เห็นถึงพลาสมิดซึ่งเป็นสารพันธุกรรมของแบคทีเรียที่สามารถเคลื่อนที่ได้ (mobile genetic elements, MGE) และมีบทบาทสำคัญในการถ่ายทอดยีนดื้อยาของแบคทีเรียที่ทำให้มีการแพร่กระจายอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะพลาสมิดที่มีบทบาทสำคัญ นอกจากนี้มีรายงานพบว่า phage-plasmid มียีนดื้อยาหลายชนิด รวมถึงยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์วงกว้าง ยากลุ่ม carbapenems, aminoglycosides, fluoroquinolones และ colistin โดยที่ phage-plasmid ที่มียีนดื้อยาเหล่านี้ เมื่อเข้าสู่เซลล์แบคทีเรียที่ไวต่อยาต้านจุลชีพ แล้วทำให้เชื้อแบคทีเรียดื้อยาโดยเกิดการแพร่กระจายของยีนดื้อยาจากการถ่ายทอดยีนดื้อยาจากเซลล์หนึ่งไปยังอีกเซลล์หนึ่งได้โดยวิธี conjugation (Pfeifer et al., 2022)

มีรายงานที่แสดงให้เห็นว่ายีนที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายพบว่ายีนดื้อยาเหล่านี้มียีนที่อยู่บนทั้งโครโมโซมและพลาสมิด โดยพบพลาสมิดของยีนที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายคือ CTX-M-14, CTX-M-15, CTX-M-27, CTX-M-55, TEM-29 และ SHV-7 (Mahmud et al., 2022) ได้มีการรายงานที่แสดงให้เห็นว่า IncFII plasmids มีความสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการแพร่กระจายของยีนดื้อยาที่เกิดขึ้นทั่วโลก ได้แก่ ยีน $bla_{\text{NDM-1}}$ และ $bla_{\text{CTX-M-15}}$ (Chen et al., 2014) พลาสมิดที่มียีนดื้อยาที่พบใน *E. coli* สามารถถ่ายทอดยีนดื้อยาหลายชนิดและที่สำคัญพบว่ายีน bla_{TEM} และ $bla_{\text{CTX-M}}$ มีประสิทธิภาพของอัตราการถ่ายทอดยีนทั้งสองชนิดได้ถึงร้อยละ 100 (Li et al., 2019)

สายพันธุ์ ESBL-producing *E. coli* ST131 ที่ดื้อยาหลายชนิดเป็นเชื้อที่มีความสี่ยงสูงในการก่อโรคนอกระบบทางเดินอาหารและลำไส้ ที่มีการแพร่ระบาดทั่วโลก (Banerjee et al., 2014; Mathers et al., 2015; Pitout et al., 2017; Rogers et al., 2011) และติดเชื้อได้จากการแพร่ระบาดจากคนสู่คน และจากอาหารที่ปนเปื้อนของเชื้อ นอกจากนี้เชื้อดื้อยานี้ยังพบว่าอาจโคโลไนซ์ในคนที่มีสุขภาพดีและสัตว์ เป็นเชื้อก่อโรคที่ทำให้เกิดโรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ และติดเชื้อในกระแสเลือด ทั้งนี้เชื้อ *E. coli* ที่มีจีโนไทป์ ST131 ปัจจุบันเป็นสายพันธุ์ที่ทำให้มีการแพร่ระบาดของยีนดื้อยาหลายชนิด (Mathers et al., 2015) โดยเฉพาะยีน $bla_{\text{CTX-M}}$ (Doi et al., 2017)

มีรายงานกล่าวถึงพลาสมิดชนิดต่างๆที่มีความเกี่ยวข้องกับยีนที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย ได้แก่ยีน $bla_{\text{CTX-M-15}}$ มีความเกี่ยวข้องมากที่สุดกับพลาสมิด IncFII ส่วนพลาสมิด IncN, Incl1, IncL/M เกี่ยวข้องกับยีน $bla_{\text{CTX-M}}$ และพลาสมิด IncK เกี่ยวข้องกับยีน $bla_{\text{CTX-M-14}}$ (Canton et al., 2012) และจากงานวิจัยของผู้นิพนธ์และทีมวิจัยที่ได้ศึกษาเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacterales* ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลค-ตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายโดยการศึกษาลำดับเบสทั่วจีโนม ข้อมูลจากการวิเคราะห์ลำดับเบสทั่วจีโนมแสดงผลให้เห็นว่ามียีนดื้อยาที่อยู่บนพลาสมิด เช่น IncFII_1, IncFIA_1, IncFIC(FII)_1, IncN, Incl1_1_alpha, IncL/M_1, IncX1_1, IncFII(pRSB107)_1_pRSB107, IncFIB(AP001918), IncFIB(K)_1_Kpn3 เป็นต้น และชี้ให้เห็นว่ายีนดื้อยาที่พบในสายพันธุ์ที่แยกได้จาก rectal swab ในผู้ป่วยในการศึกษานี้มีศักยภาพในการถ่ายทอดยีนดื้อยาจากเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacterales* ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายที่โคโลไนซ์ไปยังเชื้อแบคทีเรียอื่นๆ และมีโอกาสที่ผู้ป่วยอาจได้รับเชื้อดื้อยาที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายนี้ในระหว่างหัตถการผ่าตัด ทำให้ผู้ป่วยเกิดโรคติดเชื้อดื้อยานี้ได้ โดยเฉพาะตำแหน่งที่มีการผ่าตัดและอาจทำให้ ติดเชื้อในกระแสเลือดได้ (Unpublishhed data)

การศึกษาลำดับเบสทั่วจีโนมของแบคทีเรียจึงเป็นเทคนิคทางอณูชีววิทยาที่มีศักยภาพในการแยกชนิดของสายพันธุ์ลักษณะของสายพันทางจีโนไทป์ ยีนต่างๆ รวมถึงยีนดื้อยาและยีนที่ควบคุมความรุนแรงของสายพันธุ์ และข้อมูลอื่นๆที่ช่วยในการหาความสัมพันธ์ของลักษณะสายพันธุ์กับความล้มเหลวในการรักษา เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการเฝ้าระวัง ควบคุมและป้องกันการแพร่ระบาดการติดเชื้อโรคทั้งในโรงพยาบาลและในชุมชน จากผลการวิเคราะห์ของรายงานก่อนหน้านี้ได้แสดงถึงความสัมพันธ์ของสายพันธุ์กับข้อมูลการเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลและตำแหน่งของชุมชนที่มีการแพร่ระบาด (Eyre et al., 2013)

การวิเคราะห์จากข้อมูลลำดับเบสทั่วจีโนมเพื่อหา single-nucleotide polymorphisms (SNPs) ซึ่งสามารถแยกชนิดสายพันธุ์จากความแตกต่างของโครโมโซมและสารพันธุกรรมของแบคทีเรียที่สามารถเคลื่อนที่ได้ รวมถึงการสืบสวนลักษณะของสายพันธุ์ที่มียีนดื้อยาและพลาสมิดที่สัมพันธ์กับการแพร่ระบาดของเชื้อดื้อยาที่ก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล ใช้ข้อมูลในการสืบหาที่มาของแหล่งที่มาของการแพร่ระบาดศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสายพันธุ์ โดยพิจารณาจากผลการวิเคราะห์ไฟโลเจเนติก (Phylogenetic analyses) และ

ยังสามารถนำไปสู่การค้นหากลไกการถ่ายทอดยีนดื้อยาโดยสารพันธุกรรมและกลไกการก่อโรคของเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่ส่งผลถึงความสำเร็จของการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *Enterobacterales* ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2.4 ปัจจัยเสี่ยงการติดเชื้อและการแพร่ระบาดของเชื้อ ESBL- *Enterobacterales*

ปัจจัยเสี่ยงการติดเชื้อ ESBL- producing *Enterobacterales* (ESBL-PE) มีความสัมพันธ์กับอายุ การเจ็บป่วยจากโรคอื่นๆร่วมด้วย การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะซ้ำ การเข้ารักษาในหอผู้ป่วยวิกฤติ ประวัติการใช้ยาต้านจุลชีพ และมีการโคโลไนซ์ของเชื้อ จากรายงานการศึกษาปัจจัยเสี่ยงที่มีนัยสำคัญต่อการติดเชื้อ ESBL-producing *E. coli* ในกระแสเลือด ได้แก่ การมาตามนัดการรักษาแบบผู้ป่วยนอกที่โรงพยาบาลที่ทำให้ผู้ป่วยมีโอกาสสัมผัสเชื้อในโรงพยาบาล การใช้สายสวนปัสสาวะที่มีการปนเปื้อนของเชื้อและผู้ป่วยมีประวัติการใช้ยา oxyimino-β-lactams หรือ fluoroquinolones นอกจากนี้ผู้ป่วยที่มีประวัติการพักรักษาตัวในโรงพยาบาลนานมีความเกี่ยวข้องกับการพบเชื้อ ESBL-*E. coli* ในกระแสเลือดจากการติดเชื้อในโรงพยาบาล (Nosocomial bacteraemia) (Nimitvilai, 2018; Rodríguez-Baño et al., 2008)

ผู้นิพนธ์ได้ร่วมในการศึกษาปัจจัยความเสี่ยงสำหรับเชื้อ extended-spectrum beta-lactamase–producing *Enterobacterales* (ESBL-PE) ในผู้ป่วยผ่าตัดช่องท้องที่เป็นพาหะในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ – เมษายน 2019 (Apisarnthanarak et al., 2020) จากรายงานก่อนหน้าแสดงผลการศึกษาในแต่ละปี พบว่ามีผู้ป่วยผ่าตัดช่องท้องประมาณ 200 ราย พบว่ามีการติดเชื้อที่ตำแหน่งการผ่าตัดร้อยละ 14 ซึ่งพบร้อยละ 80 ติดเชื้อที่ตำแหน่งการผ่าตัดที่มีแผลตื้น และร้อยละ 20 ตำแหน่งการผ่าตัดที่มีแผลลึกหรือตำแหน่งการผ่าตัดที่อวัยวะหรือช่องโพรงของร่างกาย (organ-space site surgery infection)

รายงานการพบเชื้อแบคทีเรีย ESBL-PE ที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อที่ตำแหน่งการผ่าตัดประมาณร้อยละ15.6 ของผู้ป่วยเหล่านี้ ทำการคัดกรองผู้ป่วยทั้งหมดที่เข้ารับการผ่าตัดช่องท้องเพื่อตรวจหาโคโลไนซ์ของเชื้อ ESBL-PE โดยเพาะเชื้อจาก rectal swab ก่อนการผ่าตัด 1 วัน เก็บข้อมูลประชากรและข้อมูลทางคลินิก โรคที่พบประจำตัว โรคที่พบประจำตัวที่มีมากกว่า 3 โรค การนอนรักษาในโรงพยาบาลภายใน 3 เดือนก่อนการผ่าตัด ประเภทของการทำหัตถการการผ่าตัด ประวัติและชนิดของยาต้านจุลชีพที่ได้รับภายใน 3 เดือนก่อนการผ่าตัด มีประวัติโคโลไนซ์ของเชื้อ ESBL-PE มากกว่า 3 เดือนก่อนการผ่าตัด รวมถึงการประเมินความเสี่ยงตาม American Society of Anesthesiology (ASA) risk class ในการศึกษานี้พบผู้ป่วยที่มีเชื้อ ESBL-PE โคโลไนซ์เป็นพาหะร้อยละ 35.8 จากการพบความชุกของเชื้อ ESBL-PE โคโลไนซ์ที่สูงนี้อาจสะท้อนให้เห็นว่าผู้ป่วยที่มีเชื้อ ESBL-PE เป็นพาหะเป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อดื้อยาในชุมชน (Community associated setting) และในสถานดูแลสุขภาพ (Healthcare-associated setting) และการใช้ยาต้านจุลชีพที่ไม่เหมาะสมเป็นอีกปัจจัยที่ทำให้เชื้อแบคทีเรียเหล่านี้เกิดการกลายพันธุ์ทำให้ดื้อยาต้านจุลชีพได้มากขึ้น จากข้อมูลการศึกษานี้พบว่าการให้ยา carbapenem ไม่พบว่ามีความสัมพันธ์ในการป้องกันการติดเชื้อเพื่อลดลงของการติดเชื้อที่ตำแหน่งผ่าตัด จากการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่าปัจจัยเสี่ยงอิสระของการติดเชื้อ

ที่ตำแหน่งผ่าตัดคือการโคโลไนซ์ของเชื้อในทางเดินอาหารที่เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่เป็นกลุ่ม ESBL-EP และแผลผ่าตัดที่เป็นแบบสกปรก

การศึกษานี้มีข้อจำกัดที่ทำการศึกษาที่โรงพยาบาลเพียงแห่งเดียวที่มีการระบาดเฉพาะถิ่น และข้อจำกัดของจำนวนตัวอย่าง และการใช้ rectal swab ในการเพาะเชื้อที่โคโลไนซ์ มีความไวของการตรวจพบเชื้อน้อยกว่าร้อยละ 80 ผลการประเมินความชุกของผู้ป่วยที่มีเชื้อ ESBL-PE โคโลไนซ์เป็นพาหะอาจจะต่ำกว่าจริง อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นถึงความเสี่ยงต่อการติดเชื้อในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดช่องท้องที่อาจสัมพันธ์กับผู้ป่วยเป็นพาหะของเชื้อ ESBL-PE ในอุจจาระ จึงอาจพิจารณาเลือกคัดกรองเพื่อหาเชื้อ ESBL-PE และเสนอแนะให้มีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อประเมินการเลือกคัดกรองผู้ป่วยที่มีเชื้อ ESBL-PE โคโลไนซ์ร่วมกับการใช้ยาต้านจุลชีพป้องกันการติดเชื้อที่เหมาะสมในแต่ละรายที่มีความเสี่ยงของการผ่าตัดช่องท้องและการศึกษาเพื่อประเมินความคุ้มค่าในพื้นที่ที่มีความชุกของ ESBL-PE

ผู้นิพนธ์ได้ทำการศึกษาวิจัยคัดกรองตรวจหาเชื้อ ESBL-producing *Enterobacterales* ที่โคโลไนซ์ในอุจจาระของผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดช่องท้อง ณ โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระ-เกียรติ จากการคัดกรองทำให้ได้ข้อมูลของความชุกของเชื้อ *E.coli* (ร้อยละ 77.41) และ *K. pnuemoniae* (ร้อยละ 12.9) ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย โดยพบจากผู้ป่วยจำนวน 31 รายจากจำนวนผู้ป่วยทั้งหมดที่เก็บสิ่งส่งตรวจ 104 ราย การศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นว่าโอกาสการติดเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิดที่แยกจากตัวอย่างผู้ป่วยพาหะของเชื้อแบคทีเรียทั้งที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายและเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาต้านจุลชีพอื่นๆ มาจากปัจจัยการรักษาในโรงพยาบาลเป็นเวลานาน มักพบในผู้ป่วยที่เป็นโรคเรื้อรัง ดังแสดงในตารางที่ 2.3

เชื้อที่ดื้อยาต้านจุลชีพที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายพบได้ในโรงพยาบาล ต่อมาได้มีการแพร่ระบาดอย่างรวดเร็วในสถานดูแลผู้ป่วยและในชุมชน ในเวลาต่อมาพบว่าเชื้อ ESBL-*Enterobacterales* มีการระบาดมากที่สุดในหอผู้ป่วยวิกฤติ (ICU) หรือในผู้ป่วยที่มีภูมิต้านทานต่ำ ซึ่งผู้ป่วยอื่นๆ สามารถได้รับผลกระทบที่จะได้รับเชื้อจากการระบาดได้ นอกจากนี้มีรายงานพบว่าการระบาดของเชื้อ *E. coli* ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายในทารกที่ได้รับจากนมแม่ (Nakamura et al., 2016) และยังพบเชื้อแบคทีเรียนี้ตัวอย่างที่มาจากสิ่งแวดล้อม อาหาร และปศุสัตว์

การระบาดของการติดเชื้อที่ดื้อยาต้านจุลชีพที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย ซึ่งเป็นผลมาจากการใช้ยาต้านจุลชีพกลุ่มเบต้าแลคแตมชนิดฤทธิ์ขยายจำนวนมาก มีการถ่ายทอดเชื้อดื้อยาที่อาจเกิดขึ้นระหว่างผู้ป่วยกับบุคลากรทางการแพทย์ที่ให้การดูแลรักษา หรือเกี่ยวข้องกับบุคลากรทางการแพทย์ที่เป็นพาหะถ่ายทอดเชื้อดื้อยา และอัตราการถ่ายทอดผันแปรตามชนิดของสายพันธุ์ที่มีปัจจัยความรุนแรงที่แตกต่างกัน มีการศึกษาพบว่าจากผู้ป่วยที่เป็นพาหะเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายมีอัตราการถ่ายทอดได้มากกว่าถึงสองเท่าในผู้ป่วยที่เป็นพาหะเชื้อ *E. coli* ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมส

ชนิดฤทธิ์ขยาย (Hilty et al., 2012) แหล่งที่พบเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม ESBL- *Enterobacterales* ส่วนใหญ่เป็นกลุ่มผู้ป่วยโรคทางเดินปัสสาวะและมักเป็นการติดเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่โคโลไนซ์ในผู้ป่วยอยู่แล้ว

จากอุบัติการณ์การแพร่กระจายของเชื้อ ESBL- *Enterobacterales* ที่เกิดขึ้นทั้งในชุมชนและในโรงพยาบาล จากการใช้เครื่องมือทางการแพทย์ที่เพิ่มขึ้นนั้น มีรายงานที่สนับสนุนให้เห็นว่าปัจจัยความเสี่ยงที่ทำให้เกิดอุบัติการณ์การแพร่กระจายนี้ คือการที่มีสายพันธุ์ที่มีลักษณะจีโนไทป์ที่มีความสามารถในการโคโลไนซ์ได้ในระยะเวลานาน (Zahar et al., 2010) หลังจากที่ผู้ป่วยออกจากโรงพยาบาลอาจพิ่มการถ่ายทอดเชื้อได้มากขึ้นทำให้เป็นปัญหาทั่วโลกและยังเป็นปัญหาในแง่การรักษาเนื่องจากเป็นเชื้อแบคทีเรียดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิด

ตารางที่ 2.3 เชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ ESBL-PE และเชื้อแบคทีเรียดื้อยาหลายชนิด จากตัวอย่างอุจจาระ (rectal swab) และสิ่งส่งตรวจอื่นๆในผู้ป่วยที่เป็นพาหะเชื้อ ESBL-PE (Kondo et al., 2022)

Patient No.	Age	Date of isolation	Rectal swab culture		Date of isolation	Specimen*	Isolated bacteria	Length of stay (outcome)	Diagnosis
			Before surgery	After surgery					
4	36	14/12/2018	SK4 EPEC	SK6 EPEC	1/1/2018 26/7/2019	PCD PCD (fluid) PTBD (fluid) Blood	KP MDR -EPEC & MDR-EC, KP, X. *maltophilia*, *Aeromonas* spp. EPEC, MDR-EC, EC, KP MDR-EC, MDR-KP, EC	21 (Survive)	Cholangitis, Obstruction of bile duct
12	31	5/2/2019	SK56 EPEC	Not found	5/2/2019 - 17/2/2019	Urine Abdominal fluid	MDR-EC MDR-EC	60 (death)	Acute renal failure of uncertain Neoplasm or

ตารางที่ 2.3 (ต่อ) เชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ ESBL-PE และเชื้อแบคทีเรียดื้อยาหลายชนิด จากตัวอย่างอุจจาระ (rectal swab) และสิ่งส่งตรวจอื่นๆในผู้ป่วยที่เป็นพาหะเชื้อ ESBL-PE (Kondo et al., 2022)

Patient No.	Age	Date of isolation	Rectal swab culture		Date of isolation	Specimen*	Isolated bacteria	Length of stay (outcome)	Diagnosis
			Before surgery	After surgery					
12									unknown behavior peritoneum
14	49	13/2/2019	SK82 EPEC	Not found	27/2/2019 - 12/3/2019	Urine	MDR-EC CRE-KP	81 (death)	Malignant neoplasm of esophagus, unspecified
16	71	1/3/2019	SK87 MDR_KP	SK85 EPECCC	12/3/2019	Bile Urine	MDR-*P. aeruginosa* KP	52 (transferred to other hospital)	Cholangitis, Intrahepatic bile duct carcinoma

ตารางที่ 2.3 (ต่อ) เชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ ESBL-PE และเชื้อแบคทีเรียดื้อยาหลายชนิด จากตัวอย่างอุจจาระ (rectal swab) และสิ่งส่งตรวจอื่นๆในผู้ป่วยที่เป็นพาหะเชื้อ ESBL-PE (Kondo et al., 2022)

Patient No.	Age	Date of isolation	Rectal swab culture		Date of isolation	Specimen *	Isolated bacteria	Length of stay (outcome)	Diagnosis
			Before surgery	After surgery					
17	61	7/3/2019	SK88 EPEC	Not found	14/2/2019 – 19/6/2019	Bile PTBD (fluid) Sputum	MDR-EC MDR-EC, CRE-ECL MDR-EC	232 (death)	Secondary malignant neoplasm of retroperitoneum and peritoneum Acute cholecystitis
19	71	8/3/2019	SK93 EPEC	Not found	18/9/2019 6/10/2020	Urine Blood	*E. coli* MDR-*Acinetobacter indicus*, *Serratia marcescens*	42 (survive)	Calculus of bile duct without cholangitis or cholecystitis, Urinary tract infection, site not specified

ตารางที่ 2.3 (ต่อ) เชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ ESBL-PE และเชื้อแบคทีเรียดื้อยาหลายชนิด จากตัวอย่างอุจจาระ (rectal swab) และสิ่งส่งตรวจอื่นๆในผู้ป่วยที่เป็นพาหะเชื้อ ESBL-PE (Kondo et al., 2022)

Patient No.	Age	Date of isolation	Rectal swab culture		Date of isolation	Specimen*	Isolated bacteria	Length of stay (outcome)	Diagnosis
			Before surgery	After surgery					
23	76	18/3/2019	SK103 EPEC	SK104 EPEC	22/7/2019	Urine	MDR-KP	33 (Survive)	Obstruction of bile duct, Malignant neoplasm of head of pancreas Acute renal failure, unspecified

ตารางที่ 2.3 (ต่อ) เชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ ESBL-PE และเชื้อแบคทีเรียดื้อยาหลายชนิด จากตัวอย่างอุจจาระ (rectal swab) และสิ่งส่งตรวจอื่นๆในผู้ป่วยที่เป็นพาหะเชื้อ ESBL-PE (Kondo et al., 2022)

Patient No.	Age	Date of isolation	Rectal swab culture		Date of isolation	Specimen*	Isolated bacteria	Length of stay (outcome)	Diagnosis
			Before surgery	After surgery					
25	73	12/7/2018	SK107 EPEC	Not found	9/10/2019	Bile	MDR-EC	15 (Death)	Malignant neoplasm of gallbladder, Malignant neoplasm of rectum

Note: * PCD, percutaneous catheter drainage; PTBD, transhepatic biliary drainage; KP, *Klebsiella pneumoniae*; EC, *Escherichia coli*; ECL, *Enterobacter cloacae*; MDR-EPEC, Multidrug Resistant Extended β-lactamase-producing *E. coli*; CRE, Carbapenem-Resistant *Enterobacterales*

บทสรุป

เชื้อแบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพในกลุ่ม *Enterobacterales* ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย (ESBL-PE) เป็นสาเหตุสำคัญของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลและในชุมชน และมีแนวโน้มการแพร่ระบาดอย่างต่อเนื่อง ทำให้เกิดปัญหาทางด้านสาธารณสุขทั่วโลก และยังเพิ่มโอกาสและความเสี่ยงของการติดเชื้อซึ่งส่งผลต่อการเจ็บป่วยที่รุนแรงขึ้นและเสียชีวิตจากการติดเชื้อในผู้ป่วย โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูง เช่น ผู้ป่วยที่มีภูมิต้านทานต่ำ มีโรคประจำตัวเรื้อรัง และต้องได้รับการทำหัตถการทางการแพทย์ นอกจากเชื้อกลุ่ม *Enterobacterales* ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายแล้ว ยังพบในเชื้อ *Pseudomonas* spp., *Acinitobacter* spp., *A. baumannii*, *Aeromonas* spp., *Vibrio* spp., *Achromobacter xylosoxidans*

ยีนดื้อยาที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายมีรายงานทั่วโลก มีความหลากหลายของสายพันธุ์ที่สามารถทำลายยาต้านจุลชีพและส่งผลให้การรักษาไม่ได้ผลตามเป้าหมาย พบสายพันธุ์ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายชนิด CTX-M ระบาดทั่วโลก รวมถึงประเทศไทยที่พบชนิดนี้มากที่สุด นอกจากนี้ยังมีสายพันธุ์ที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายชนิด TEM, SHV ที่มีความใกล้ชิดของสายพันธุ์กับชนิด CTX-M ซึ่งจัดอยู่ใน class A สำหรับ class B มียีนที่ผลิตเอนไซม์ Metallo-β-lactamases เช่น IMP, VIM, NDM, SPM และ GIM ทำลายยาเบต้าแลคแตมได้ยกเว้น monobactam

ส่วน Class C คือ AmpC ซึ่งทำลาย cephamycin และ cephalosporins รุ่นที่ 3 และ Class D คือ ยีน OXA ที่ทำลายยาเบต้าแลคแตมได้ทั้งหมด นอกจากนี้ยังมียีนดื้อยาที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายอื่นๆ รวมถึง GES, PER-1, VEB-1, BEL, TLA, SFO และ OXY การเฝ้าระวังการถ่ายทอดยีนดื้อยาและการแพร่ระบาดของเชื้อดื้อยาที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายจึงเป็นสิ่งสำคัญในวางแผนการใช้ยาต้านจุลชีพที่เหมาะสมเพื่อการรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อดื้อยาที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย

ปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องกับผู้ป่วยติดเชื้อ ESBL-PE ที่มาจากการเป็นพาหะที่มีเชื้อแบคทีเรียดื้อยา ESBL-PE โคโลไนซ์ก่อนการผ่าตัด เป็นข้อมูลสำคัญที่บ่งชี้ในการพิจารณาเลือกคัดกรองผู้ป่วยพาหะที่มีความเสี่ยงในการติดเชื้อแบคทีเรียระหว่างการทำหัตถการเพื่อตรวจหาเชื้อ ESBL-PEก่อนการผ่าตัดหรือหัตถการอื่นๆที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ โดยข้อมูลของเชื้อแบคทีเรียดื้อยา ESBL-PE และความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพที่คัดกรองมีประโยชน์ในการให้ยาต้านจุลชีพเพื่อป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยา ESBL-PE จากผู้ป่วยพาหะ (Antibiotic prophylaxis) โดยแพทย์สามารถเลือกใช้ยาต้านจุลชีพที่เหมาะสมที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยา ESBL-PE ได้

การคัดกรองเพื่อตรวจหาเชื้อแบคทีเรียดื้อยานี้ยังมีข้อโต้แย้งในข้อจำกัดของการตรวจในห้องปฏิบัติการที่ต้องมีผู้ปฏิบัติงานที่มีไม่เพียงพอและค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูงหากต้องทำการคัดกรองผู้ป่วยทุกราย มีรายงานที่แสดงแนวทางการป้องกันการติดเชื้อที่ตำแหน่งของการผ่าตัดก่อนการผ่าตัดด้วยการให้ยาต้านจุลชีพที่เหมาะสมโดยมีข้อพิจารณาก่อนการให้ยาต้านจุลชีพ (Crader et al., 2023) และรายงานที่สนับสนุนการให้ยาป้องกันก่อนการผ่าตัดเปลี่ยนข้อเข่าเพื่อลดโอกาสการติดเชื้อโดยเฉพาะเชื้อที่ดื้อยา โดยพิจารณาเรื่องค่าใช้จ่ายร่วมด้วย (AlBuhairan et al., 2008) ยังมีหลักฐานที่แสดงให้เห็นว่าการได้รับยาป้องกันก่อนการปลูกถ่ายตับช่วยลดโอกาสการติดเชื้อดื้อยาที่ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิดฤทธิ์ขยายที่โคโลไนซ์ในผู้ป่วยที่เป็นพาหะของเชื้อ (Logre et al., 2021)

จากการศึกษาของผู้นิพนธ์และทีมวิจัยได้เสนอแนวปฏิบัติที่ศัลยแพทย์มีแนวโน้มการใช้ยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์กว้าง (broad spectrum antibiotic) โดยเพิ่มระยะเวลามากกว่า 2 วันในการให้ยาต้านจุลชีพหลังการผ่าตัด จะมีประสิทธิภาพในการป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียที่ตำแหน่งผ่าตัด และช่วยลดความเสี่ยงการติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาในระหว่างการทำหัตถการผ่าตัดช่องท้อง โดยเฉพาะผู้ป่วยพาหะที่มีความเสี่ยงสูงต่อการติดเชื้อดื้อยา เช่น ผู้ป่วยที่มีโรคเรื้อรัง หรือมีภูมิต้านทานต่ำ เป็นต้น อย่างไรก็ตามมีการศึกษาที่ได้เสนอให้ใช้ยาต้านจุลชีพชนิด ertapenem ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ ESBL-PE โดยเฉพาะในการป้องกันการติดเชื้อจากผู้ป่วยที่เป็นพาหะของเชื้อ โดยแสดงผลการลดการติดเชื้อที่ตำแหน่งการผ่าตัดของผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดลำไส้ใหญ่และทวารหนัก (Nutman et al., 2020) ทั้งนี้งานวิจัยที่ผู้นิพนธ์และทีมวิจัยศึกษาพบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่มีการติดเชื้อที่บริเวณผิวของตำแหน่งการผ่าตัด (superficial SSIs) และไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างการใช้ยา carbapenem ในการป้องกันการติดเชื้อกับการลดการติดเชื้อที่ตำแหน่งผ่าตัด (Apisarnthanarak et al., 2019)

เอกสารอ้างอิง

AlBuhairan, B., Hind, D., & Hutchinson, A. (2008). Antibiotic prophylaxis for wound infections in total joint arthroplasty: a systematic review. *J Bone Joint Surg Br, 90*(7), 915-919. https://doi.org/10.1302/0301-620x.90b7.20498

Apisarnthanarak, A., Kondo, S., Mingmalairak, C., Mahawongkajit, P., Juntong, J., Limpavitayaporn, P., Sriussadaporn, E., Tongyoo, A., & Mundy, L. M. (2019). Outcomes of extended-spectrum beta-lactamases producing *Enterobacteriaceae* colonization among patients abdominal surgery patients. *Infect Control Hosp Epidemiol, 40*(11), 1290-1293.

Apisarnthanarak, A., Kondo, S., Apisarnthanarak, P., & Mundy, L. M. (2020). Risk factors for extended-spectrum beta-lactamase–producing *Enterobacteriaceae* enteric carriage among abdominal surgery patients. *Infect Control Hosp Epidemiol, 41*(9), 1098-1100.

Banerjee, R., & Johnson, J. R. (2014). A new clone sweeps clean: the enigmatic emergence of *Escherichia coli* sequence type 131. *Antimicrob Agents Chemother, 58*(9), 4997-5004. https://doi.org/10.1128/aac.02824-14

Canton, R., Gonzalez-Alba, J. M., & Galán, J. C. (2012). CTX-M enzymes: origin and diffusion [Review]. *Front Microbiol, 3*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00110

Chen, X., He, L., Li, Y., Zeng, Z., Deng, Y., Liu, Y., & Liu, J. H. (2014). Complete sequence of a F2:A-:B- plasmid pHN3A11 carrying *rmtB* and *qepA,* and its dissemination in China. *Vet Microbiol, 174*(1-2), 267-271. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.08.023

Crader, M., & Varacallo, M. (2023). *Preoperative Antibiotic Prophylaxis*. Treasure Island (FL): StatPearls Retrieved 16 July 2023 from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK442032/

Doi, Y., Iovleva, A., & Bonomo, R. A. (2017). The ecology of extended-spectrum β-lactamases (ESBLs) in the developed world. *J Travel Med, 24*(suppl_1), S44-s51. https://doi.org/10.1093/jtm/taw102

Eyre, D. W., Cule, M. L., Wilson, D. J., Griffiths, D., Vaughan, A., O'Connor, L., Ip, C. L. C., Golubchik, T., Batty, E. M., Finney, J. M., Wyllie, D. H., Didelot, X., Piazza, P., Bowden, R., Dingle, K. E., Harding, R. M., Crook, D. W., Wilcox, M. H., Peto, T. E. A., & Walker, A. S. (2013). Diverse sources of *C. difficile* infection identified on whole-genome sequencing. *N Engl J Med, 369*(13), 1195-1205. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1216064

Hilty, M., Betsch, B. Y., Bögli-Stuber, K., Heiniger, N., Stadler, M., Küffer, M., Kronenberg, A., Rohrer, C., Aebi, S., Endimiani, A., Droz, S., & Mühlemann, K. (2012). Transmission dynamics of extended-spectrum β-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in the tertiary care hospital and the household setting. *Clin Infect Dis, 55*(7), 967-975. https://doi.org/10.1093/cid/cis581

Li, Q., Chang, W., Zhang, H., Hu, D., & Wang, X. (2019). The role of plasmids in the multiple antibiotic resistance transfer in ESBLs-producing *Escherichia coli* isolated from wastewater treatment plants [original research]. *Front Microbiol, 10*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00633

Logre, E., Bert, F., Khoy-Ear, L., Janny, S., Giabicani, M., Grigoresco, B., Toussaint, A., Dondero, F., Dokmak, S., Roux, O., Francoz, C., Soubrane, O., Durand, F., Paugam-Burtz, C., & Weiss, E. (2021). Risk factors and impact of perioperative prophylaxis on the risk of extended-spectrum β-Lactamase-producing *Enterobacteriaceae*-related infection among carriers following liver transplantation. *Transplantation, 105*(2), 338-345. https://doi.org/10.1097/tp.0000000000003231

Kondo, S. (2023). Screening for extended-spectrum β-lactamase (ESBL)–producing *Enterobacterales* and molecular detection of ESBL genes among patients who underwent abdominal surgery. international conference on infectious diseases “Discovering the new strategies in research, Treatment and Elimination in Infectious Diseases”, Hotel Isola Sacra Rome Airport , Rome, Italy.

Kondo, S., Apisarnthanarak, A., Trakulsomboon, S., Bootkotr, W., Mingmalairak, C., Mahawongkajit, P., Juntong, J., Limpavitayaporn, P., Sriussadaporn, E., & Tongyoo, A. (2022). Prevalence of extended-spectrum β-Lactamase-producing *Enterobacterales*

and distribution of bla_{ESBL} genes from patients who underwent abdominal surgery. Sci *Technol Asia*, 104-116.

Mahmud, B., Wallace, M. A., Reske, K. A., Alvarado, K., Muenks, C. E., Rasmussen, D. A., Burnham, C. D., Lanzas, C., Dubberke, E. R., & Dantas, G. (2022). Epidemiology of plasmid lineages mediating the spread of extended-spectrum beta-lactamases among clinical *Escherichia coli*. *mSystems, 7*(5), e0051922. https://doi.org/10.1128/msystems.00519-22

Mathers, A. J., Peirano, G., & Pitout, J. D. (2015). *Escherichia coli* ST131: The quintessential example of an international multiresistant high-risk clone. *Adv Appl Microbiol, 90*, 109-154. https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2014.09.002

Nakamura, K., Kaneko, M., Abe, Y., Yamamoto, N., Mori, H., Yoshida, A., Ohashi, K., Miura, S., Yang, T. T., Momoi, N., & Kanemitsu, K. (2016). Outbreak of extended-spectrum β-lactamase-producing *Escherichia coli* transmitted through breast milk sharing in a neonatal intensive care unit. *J Hosp Infect, 92*(1), 42-46. https://doi.org/10.1016/j.jhin.2015.05.002

Nimitvilai, S. (2018, 05/27). ปัจจัยเสี่ยงและผลการรักษาการติดเชื้อในกระแสโลหิตจากชุมชนที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Escherichia coli* (*E.coli*) ที่สร้างเอนไซม์ Extended spectrum beta-lactamase (ESBL). วารสารแพทย์เขต *4-5, 33*(1), 1-8. https://he02.tci-thaijo.org/index.php/reg45/article/view/125792

Nutman, A., Temkin, E., Harbarth, S., Carevic, B., Ris, F., Fankhauser-Rodriguez, C., Radovanovic, I., Dubinsky-Pertzov, B., Cohen-Percia, S., Kariv, Y., Buchs, N., Schiffer, E., Fallach, N., Klausner, J., & Carmeli, Y. (2020). Personalized ertapenem prophylaxis for carriers of extended-spectrum β-Lactamase-producing *Enterobacteriaceae* undergoing colorectal surgery. *Clin Infect Dis, 70*(9), 1891-1897. https://doi.org/10.1093/cid/ciz524

Pfeifer, E., Bonnin, R. A., & Rocha, E. P. C. (2022). Phage-plasmids spread antibiotic resistance genes through infection and lysogenic conversion. *mBio, 13*(5), e0185122. https://doi.org/10.1128/mbio.01851-22

Pitout, J., & DeVinney, R. (2017). *Escherichia coli* ST131: A multidrug-resistant clone primed for global domination [version 1; peer review: 2 approved]. *F1000Research, 6*(195). https://doi.org/10.12688/f1000research.10609.1

Pocaphan P, Kondo S , Tingpej P , & Apisarnthanarak A. (2020). Hospital-acquired bacterial infection at Thammasat University Hospital, Thailand (2008 to 2013). *J Med Assoc Thai 103*(3), 101-103.

Rodríguez-Baño, J., Navarro, M. D., Romero, L., Muniain, M. A., Cueto, M., Gálvez, J., Perea, E. J., & Pascual, A. (2008). Risk-factors for emerging bloodstream infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Infect, 14*(2), 180-183. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01884.x

Rogers, B. A., Sidjabat, H. E., & Paterson, D. L. (2011). *Escherichia coli* O25b-ST131: a pandemic, multiresistant, community-associated strain. *J Antimicrob Chemother, 66*(1), 1-14. https://doi.org/10.1093/jac/dkq415

Zahar, J. R., Lanternier, F., Mechai, F., Filley, F., Taieb, F., Mainot, E. L., Descamps, P., Corriol, O., Ferroni, A., Bille, E., Nassif, X., & Lortholary, O. (2010). Duration of colonisation by *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum beta-lactamase and risk factors for persistent faecal carriage. *J Hosp Infect, 75*(1), 76-78. https://doi.org/10.1016/j.jhin.2009.11.010

มยุรี ยอดอินทร์, ธัชภร อัศวคงคารัตน์, & อัจฉราพรรณ สิมะพัฒนสาร. (2560). ความชุกและแบบแผนความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Klebsiella pneumoniae* ชนิดสร้างเอนไซม์ Extended spectrum beta-lactamase ในผู้ป่วยมะเร็ง. วารสารโรคมะเร็ง*, 37*(3).

บทที่ 3

เชื้อดื้อยา *Staphylococcus aureus*

ในประเทศไทยมีรายงานความชุกของเชื้อดื้อยา MRSA ที่เป็นพาหะ โดยแยกจากโพรงจมูกของพนักงานที่ทำงานของบริษัทเอกชนในโรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้ามีเพียงร้อยละ 0.59 (Sudaluck et al., 2022) รายงานอื่นที่แสดงความชุกของเชื้อดื้อยา MRSA ในนักศึกษาแพทย์ในภาคกลางและนักศึกษาเทคนิคการแพทย์ในภาคเหนือร้อยละ 1 และร้อยละ 7.36 ตามลำดับ (Imwattana et al., 2019; Kitti et al., 2011) จากรายงานของผู้นิพนธ์และทีมวิจัยพบเชื้อดื้อยา MRSA ที่แยกได้จากโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ ช่วงปี ค.ศ. 2012–2015 ถึงร้อยละ 46% (Phokhaphan et al., 2017) ในขณะที่มีรายงานการศึกษาข้อมูลผลการเพาะเชื้อจากตัวอย่างผู้ป่วยในระหว่างช่วงปี ค.ศ. 2017 ที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ได้พบเชื้อ MRSA จำนวนร้อยละ 17 (Waitayangkoon et al., 2020)

สำหรับข้อมูลเชื้อดื้อยา MRSA ที่พบว่าเป็นสายพันธุ์ hVISA มีรายงานพบสายพันธุ์ hVISA ร้อยละ 3.2 ในประเทศไทย ซึ่งพบน้อยกว่าประเทศเกาหลีใต้และเวียดนาม โดยพบเชื้อสายพันธุ์ hVISA ถึงร้อยละ 7 ทั้งสองประทศ (Chung et al., 2015) ในขณะที่มีอีกรายงานได้แสดงข้อมูลการพบสายพันธุ์ hVISA เฉลี่ยร้อยละ 4.3 ของเชื้อ MRSA โดยพบสายพันธุ์ hVISA ในประเทศไทยร้อยละ 2.1 และร้อยละ 8.2 ในประเทศญี่ปุ่น แต่เนื่องจากยังไม่มีมาตรฐานในการคัดกรองเพื่อหาเชื้อสายพันธุ์ hVISA อุบัติการณ์การของเชื้อสายพันธุ์ hVISA จึงไม่อาจเปรียบเทียบกันได้ (Chen et al., 2014)

เชื้อดื้อยา MRSA ที่เป็นสายพันธุ์ VRSA มีค่า MIC ของแวนโคมายซินระหว่าง 16-64 μg/ml เป็นสายพันธุ์ที่มีรายงานว่าพบในผู้ป่วยติดเชื้อน้อยมาก เคยมีรายงานการพบเชื้อ VRSA 13 สายพันธุ์ในประเทศสหรัฐอเมริกา (Limbago et al., 2014) และมีรายงานพบ VRSA 4 สายพันธุ์ในประเทศอินเดียตอนเหนือในช่วงปี ค.ศ. 2002-2005 (Tiwari et al., 2006) และอีกรายงานพบ VRSA 1 สายพันธุ์ ที่เมืองกัลกัตตาในปี ค.ศ. 2005 (Saha et al., 2008)

3.1 เชื้อดื้อยา *Staphylococcus aureus*

S. aureus เป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะรูปร่างกลม เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น ย้อมติดสีแกรมบวก นับได้ว่าเป็นหนึ่งในเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในคนที่มีความสำคัญอย่างมีนัยสำคัญ พบเชื้อนี้มานานและบ่อยที่สุด สามารถพบได้ในร่างกายของคนปกติตามผิวหนัง ต่อมผิวหนัง และ เยื่อบุผิวในช่องจมูกและลำไส้ โดยมีรายงานพบว่าคนปกติที่เป็นพาหะของเชื้อแบคทีเรียนี้ในจมูกประมาณร้อยละ 20 (persistent carriers) และคนที่เป็นพาหะแบบไม่ต่อเนื่อง (intermittent carriers) จำนวนร้อยละ 30 ในขณะที่มีจำนวนร้อยละ 50 ที่ไม่เป็นพาหะ (Wertheim et al., 2005) เชื้อแบคทีเรียที่สามารถโคโลไนซ์ในอวัยวะของคนปกติจึงเพิ่มความเสี่ยงของการติดเชื้อ *S. aureus*

เชื้อ *S. aureus* เป็นสาเหตุของการติดเชื้อที่ผิวหนังในระดับไม่รุนแรงได้จนถึงระดับรุนแรง เช่น การติดเชื้อในกระดูกแบบเรื้อรัง ติดเชื้อในกระแสเลือด และทำให้เยื่อหุ้มสมองอักเสบได้ เชื้อ *S. aureus* นี้ได้มีการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาเป็นเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิด ซึ่งทำให้โรคติดเชื้อที่เกิดจาก *S. aureus* มีรูปแบบที่เปลี่ยนไปจากเดิม หลังจากที่มีวิวัฒนาการการดื้อยาทำให้เป็นปัญหาทั่วโลก และได้เกิดอุบัติการณ์สายพันธุ์ดื้อยา methicillin คือ Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) ที่ก่อโรคในชุมชน ซึ่งพบว่ามียีนที่มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงที่เพิ่มขึ้น เชื้อ MRSA แม้ว่าจะพบว่ามีการติดเชื้อน้อยกว่าหนึ่งในสามของการติดเชื้อ *S. aureus* แต่ก็เป็นสายพันธุ์ที่ทำให้มีอัตราการตายสูงมากกว่าการติดเชื้อไวรัสในผู้ป่วยที่มีภูมิต้านทานต่ำ และยังเป็นสาเหตุของการติดเชื้อแบบรุกล้ำ (Invasive infection) มากกว่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญอื่นๆ เช่น Group A *Streptococcus* (Thean et al., 2021)

เชื้อ MRSA ยังสามารถถ่ายทอดยีนดื้อยาระหว่างสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียชนิดเดียวกันหรือข้ามสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียต่างชนิดกันได้ มีการถ่ายทอดเชื้อแบคทีเรียจากผู้ป่วยที่มีเชื้อแบคทีเรียไปยังผู้ป่วยคนอื่นๆได้จากการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียที่ไปกับแพทย์ บุคลากรทางการแพทย์ที่ดูแลรักษา และอุปกรณ์ที่ปนเปื้อนจากผู้ป่วยที่มีเชื้อแบคทีเรียดื้อยา ทำให้เกิดการระบาดในวงกว้างทั้งในโรงพยาบาลและในชุมชนได้อย่างรวดเร็ว ส่งผลให้มีอัตราการเจ็บป่วยและอัตราการเสียชีวิตมากขึ้น เป็นปัญหาด้านสาธารณสุขอย่างมาก โรงพยาบาลทุกแห่งจึงจำเป็นต้องเพิ่มมาตรการในการเฝ้าระวังและการควบคุมการระบาดให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

เชื้อ MRSA เป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในโรงพยาบาลทั่วโลกและยังคงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา มีรายงานการดื้อยาต้านจุลชีพอีกหลายชนิดเพิ่มขึ้นทั่วโลก หลังจากที่มียาต้านจุลชีพในกลุ่มยา Glycopeptide คือ แวนโคมายซินที่ผลิตขึ้นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1958 ยาแวนโคมายซินได้ถูกใช้เป็นยาทางเลือกในการรักษาการติดเชื้อชนิดรุนแรงที่เกิดจาก MRSA ซึ่งมีเพิ่มขึ้นทั่วโลก จากการใช้ยา vancomycin หลายปีไม่มีสัญญาณของการดื้อยาแวนโคมายซินต่อเชื้อ *S. aureus* ที่มีผลต่อการรักษา จึงได้มีรายงานที่แสดงให้เห็นถึงความไวของยาแวนโคมายซินที่ลดลงต่อเชื้อที่แยกจากผู้ป่วยในประเทศญี่ปุ่นใน ปี 1997 จากการศึกษาพบว่าเชื้อที่ทำการทดสอบเป็น heterogeneous VISA (hVISA) คือ เชื้อ *S. aureus* ที่ไวต่อยาแวนโคมายซินที่มี

subpopulation ที่มีค่า MIC ของยาแวนโคมายซิน≥ 4 µg/ml ซึ่งเชื้อสามารถพัฒนาเป็นเชื้อที่ดื้อยาแวนโคมาย-ซินต่อไปได้หากมีการใช้ยาอย่างพร่ำเพรื่อและไม่เหมาะสม นอกเหนือจากปัจจัยอื่นๆซึ่งรวมถึงสุขภาพของผู้ป่วยที่มีโรคประจำตัวและโรคแทรกซ้อนอื่นๆ มีภาวะทุพโภชนาการ มีการใช้ท่อช่วยหายใจหลังการผ่าตัด หรือมีค่าเม็ดเลือดขาวลดลงต่ำแล้ว การพบ hVISA จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยในโรงพยาบาลในประเทศญี่ปุ่นนี้สามารถอธิบายได้ว่าผลจากการรักษาโรคติดเชื้อ MRSA ที่ล้มเหลวมีความเกี่ยวข้องกับการพบเชื้อ hVISA ที่แยกได้จากผู้ป่วย (Hiramatsu et al., 1997)

มีรายงานสายพันธุ์ที่มีความไวต่อยาแวนโคมายซินลดลง (Adam et al., 2010; Pitz et al., 2011; Shindia et al., 2011) โดยเป็นเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ที่มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาแวนโคมัยซินที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ (Minimum inhibitory concentrations: MICs) ในช่วง 4-8 µg/ml เรียกว่า Vancomycin-intermediate *S. aureus* (VISA) และเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ Vancomycin susceptible *S. aureus* (VSSA) ที่มีค่า MIC สูงขึ้น โดยเรียกสายพันธุ์นี้ว่า “Vancomycin MIC creep” (MIC ≥ 1.5-2 µg/ml) สำหรับ“heterogeneous VISA (hVISA)” เป็นสายพันธุ์ที่มี subpopulation ของเชื้อที่มีค่า MIC ของยาแวนโค-มายซิน 4-6 µg/ml

จากรายงานของสายพันธุ์ *S. aureus* ที่มีค่า vancomycin MIC ของยาแวนโคมายซินมากกว่า 1.5 µg/ml มีความเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อในกระแสเลือด โดยพบในผู้ป่วยทุกรายในปี ค.ศ. 2010 หากแต่ค่าความไวต่อยาแวนโคมายซินที่สูงขึ้นพบจำนวนผู้ป่วยติดเชื้อนี้ในจำนวนที่ลดลงในช่วงปี ค.ศ. 2011-2014 และยังพบสายพันธุ์ที่มีค่าความไวต่อยาแวนโคมายซินสูงขึ้นที่ไม่เกี่ยวข้องกับการใช้ยาแวนโคมายซิน แต่กลับสัมพันธ์กับการใช้ยา Teicoplanin ทั้งนี้ในรายงานได้แสดงให้เห็นว่าการใช้ยาแวนโคมายซินและยาต้านจุลชีพกลุ่มกลัยโคเปปไตด์มีความสัมพันธ์กับจำนวนสายพันธุ์ของเชื้อ MRSA ที่มีค่า MIC ของยาแวนโคมายซินที่ทดสอบกับเชื้อ MRSA มากกว่า 1 µg/ml (Ruiz et al., 2018) พบการรายงานอื่นๆที่แสดงให้เห็นว่ามีการรักษาที่ล้มเหลวด้วยยากลุ่มกลัยโคเปปไตด์ (Casapao et al., 2013; Charles et al., 2004; Gould et al., 2009; Lodise et al., 2008; van Hal et al., 2012) รายงานแสดงอัตราการรักษาที่ล้มเหลวสูงถึงร้อยละ 52 โดยเกี่ยวข้องในผู้ป่วยเด็กที่มีค่า MIC ของยาแวนโคมายซิน ≥ 1.5 µg/ml (Arun et al., 2018) ซึ่งส่งผลให้ผู้ป่วยต้องอยู่ในโรงพยาบาลเป็นเวลานานส่งผลทำให้ต้องสูญเสียค่าใช้จ่ายในการดูแลรักษาเพิ่มขึ้น และอาจทำให้มีการติดเชื้อในโรงพยาบาลจากแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นๆที่ทำให้ผู้ป่วยมีความเจ็บป่วยรุนแรงมากขึ้นและอาจทำให้เสียชีวิตได้

จากการเปลี่ยนแปลงของยีนต่างๆ เช่นการเกิด deletion, nucleotide substitution, frameshift และ premature stop codon (Holden et al., 2010) ที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์แตกต่างจากสายพันธุ์ Vancomycin resistant *S. aureus* (VRSA) ที่มีค่า MIC ≥16 µg/ml โดยมียีน *vanA* เป็นกลไกการดื้อยาแวนโคมายซินของสายพันธุ์ การพบเชื้อดังกล่าวข้างต้นที่เพิ่มขึ้นทั่วโลกเป็นปัญหาทางการแพทย์เป็นอย่างยิ่งเนื่องจากยาแวนโคมายซินเป็นทางเลือกในการรักษาเชื้อ MRSA ที่มีประสิทธิภาพ เชื้อ MRSA ที่มีค่าความไวของเชื้อต่อยาแวนโคมายซินสูง

ขึ้น รวมถึง vancomycin MIC Creep และ hVISA ยังคงมีความสำคัญเนื่องจากมีหลายรายงานเกี่ยวกับการพบเชื้อสายพันธุ์เหล่านี้ในกระแสเลือดเป็นเวลานานและความล้มเหลวในการรักษาด้วยยาแวนโคมายซินในผู้ป่วยที่ติดเชื้อสายพันธุ์นี้ หากแต่ยังไม่ทราบถึงกลไกทางจีโนไทป์ที่แน่ชัด พบเพียงการรายงานที่แสดงลักษณะฟีโนไทป์ที่แสดงให้เห็นว่าเชื้อพยายามสร้างผนังเซลล์ให้หนากว่าปกติทำให้จำนวนเป้าหมาย (D-alanyl-D-alanine) ที่ยาแวนโคมายซินจะจับเพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณของยาแวนโคมายซินไม่เพียงพอและไม่สามารถทะลุผ่านผนังเซลล์ที่หนาลงไปจับเป้าหมายได้ เรียกว่ามี Sequestration หรือ Clogging effect (Courvalin, 2006; Périchon et al., 2009) นอกจากนี้ยังไม่มีรายงานการศึกษา molecular marker ในการตรวจหาสายพันธุ์ที่มีความไวต่อยาแวนโคมาย-ซินลดลง สำหรับวิธีทดสอบ Population analysis profile (PAP) ซึ่งเป็น gold standard ในการตรวจหาสายพันธุ์ดังกล่าวต้องใช้ระยะเวลานานถึง 5-7 วัน และมีขั้นตอนที่ยุ่งยาก จึงเป็นข้อจำกัดสำคัญที่ไม่สามารถทำการทดสอบในห้องปฏิบัติการเพื่อการวินิจฉัยได้

จากผลการศึกษาของผู้ประพันธ์และทีมผู้วิจัย เรื่อง “ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับผลการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อ MRSA ที่โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ” ในปี 2012-2015 พบผู้ป่วยติดเชื้อ MRSA ที่มีค่า vancomycin MICs creep (MIC ≥1.5-2 µg/ml) จำนวน 31 ตัวอย่าง (ร้อยละ 30) มีอัตราการรักษาล้มเหลวร้อยละ 42.9 ซึ่งสูงกว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่รักษาสำเร็จ (ร้อยละ 29.6) ดังแสดงในตารางที่ 3.1 ทั้งนี้สายพันธุ์ทั้งสองกลุ่มที่มีค่าของ vancomycin MICs creep และ non-creep พบว่ามีสายพันธุ์ที่ดื้อยาแฝงอยู่เป็น subpopulation ของเชื้อที่มีค่า MIC ของยา vancomycin ในระดับ intermediate (MIC 4-8 µg/ml) หรือเรียกสายพันธุ์นี้ว่า heterogeneous vancomycin intermediate *S. aureus* (hVISA) ที่ยังไม่เคยมีรายงานการพบสายพันธุ์นี้ในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติจากห้องปฏิบัติการ เนื่องจากเทคนิคการทดสอบที่ใช้ในห้องปฏิบัติการไม่สามารถตรวจหาเชื้อสายพันธุ์ที่มี subpopulation ของ hVISA ได้ ทั้งนี้ในการศึกษาตรวจพบสายพันธุ์ hVISA ร้อยละ 31 และพบว่าร้อยละ 60 ของสายพันธุ์ hVISA พบในผู้ป่วยที่การรักษาล้มเหลว (Phokhaphan, 2017)

ตารางที่ 3.1 ลักษณะทางคลินิกและทางจุลชีววิทยาของผู้ป่วยติดเชื้อ MRSA และผลการรักษา (Phokhaphan, 2017)

Characteristics	Clinical failure n (ร้อยละ) (n=21)	Clinical success n (ร้อยละ) (n=71)	*p*-value*
Infectious source			
- Pneumonia	11 (52.4)	50 (70.4)	0.18
- Wound/skin or soft tissue	1 (4.8)	2 (2.8)	0.54
- Bone/joint	1 (4.8)	3 (4.2)	1.00
- Bloodstream infection	6 (28.6)	12 (16.9)	0.34
- Surgical site	1 (4.8)	4 (5.6)	1.00
- Urinary tract infection	1 (4.8)	1 (1.4)	0.40
- Multiple sites infection	7 (33.3)	12 (16.9)	0.12
Microbiologicalcharacteristics			
- Vancomycin MICs value (1.5-2 µg/ml)	9 (42.9)	21 (29.6)	0.29
- hVISA strain infection**	6 (60.0)	4 (18.2)	0.03
- Co-microbe resistant strains infection	13 (61.9)	27 (38.0)	0.07
- Days to negative culture, mean ± SD	19 ± 11	7 ± 5	0.00

*p-value คำนวณด้วย Fisher's exact test ** เชื้อ MRSA จำนวน 32 สายพันธุ์ที่มีค่า vancomycin MICs = 1.5-2.0 µg/ml ที่ทดสอบ PAP เพื่อตรวจหาสายพันธุ์ hVISA

รายงานผลการศึกษาของสายพันธุ์ทั้งหมดที่ทดสอบมาจากผู้ป่วยที่มีโรคประจำตัวและโรคแทรกซ้อนชนิดรุกรานได้แก่ โรคปอดบวม การติดเชื้อในกระแสเลือด กระดูกอักเสบจากการติดเชื้อในกระแสเลือด (osteomyelitis) และโรคติดเชื้อที่เยื่อบุหัวใจ (Endocarditis) ผู้ป่วยส่วนใหญ่มีอายุมากกว่า 60 ปี สายพันธุ์ SCC*mec* type II ทั้งห้าสายพันธุ์จัดเป็นจีโนไทป์ ST764 ในขณะที่ SCC*mec* type III จัดเป็นจีโนไทป์ ST239 และ ST22 ไม่มีผู้ป่วยที่พบเชื้อเอชไอวี แต่มีผู้ป่วย 4 คนที่มีโรคเบาหวานและโรคไตเรื้อรัง และมีเพียงผู้ป่วย 1 คนที่พบสายพันธุ์ MRSA ST764 รอดชีวิต (Kondo, et al., 2022)

ผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพพบว่าทุกสายพันธุ์ดื้อต่อยา cefpirome และ clindamycin แต่ยังคงไวต่อยา vancomycin, trimethoprim-sulfamethoxazole, linezolid, mupirocin และ teicoplaninอย่างไรก็ตามค่า MIC ของ vancomycin ที่พบในสายพันธุ์ MRSA ST764 นี้ส่วนใหญ่มีค่า MIC สูงขึ้นคือ ที่ความเข้มข้น 1.5 - 2 µg/ml) (MIC creep) สายพันธุ์ที่ความไวต่อแวนโคมายซินลดลง มีการรายงานที่ได้แสดงถึงยีนต่างๆที่เกี่ยวข้องในกลไกของค่าความไวของเชื้อต่อแวนโคมายซินที่สูงขึ้นที่เกี่ยวข้องกับการรักษาที่ล้มเหลว หากแต่ยังไม่มีการศึกษายีนดังกล่าวในสายพันธุ์ MRSA ที่พบในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วยโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ ทั้งนี้ผู้นิพนธ์และทีมวิจัยได้นำสายพันธุ์ MRSA 7 สายพันธุ์เพื่อทำการศึกษาลำดับเบสทั่วจีโนม (Whole Genome Sequence, WGS) โดย NextSeq 500 sequencing (Illumina, USA) และได้วิเคราะห์ข้อมูลลำดับเบสทั่วจีโนม ผลการศึกษาวิเคราะห์พบว่าเชื้อ MRSA ที่ศึกษามีลักษณะจีโนไทป์ SCC*mec* type II ซึ่งพบว่าการศึกษาก่อนหน้านี้มีศึกษาชนิดของ SCC*mec* ในเชื้อ MRSA ที่แยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ จังหวัดขอนแก่น MRSA ผลการศึกษาในปี 2558-2559 มี SCC*mec* type มากที่สุดคือ type II (46.5%) รองลงมาเป็น type III (24.1%) type I (24.1%) และเป็นช่วงเวลาศึกษาที่ใกล้เคียงกัน(Sutthamee et al., 2019) อย่างไรก็ตามรายงานจากโรงพยาบาลระดับตติยภูมิในประเทศไทยส่วนใหญ่มีลักษณะจีโนไทป์ SCC*mec* type III (Lawung et al., 2014; Norchaleun et al., 2010)

การวิเคราะห์ MLST type จากผลลำดับเบสทั่วจีโนม พบว่าจำนวน 5 สายพันธุ์จัดอยู่ในจีโนไทป์ ST764 จำนวน 1 สายพันธุ์ จัดอยู่ในจีโนไทป์ ST22 และ อีก 1 สายพันธุ์จัดอยู่ในจีโนไทป์ ST239 สายพันธุ์ MRSA ST764 ที่พบในการศึกษานี้มีความสัมพันธ์การรักษาที่ล้มเหลว ทั้งนี้สายพันธุ์ ST764 พบว่าเป็นสายพันธุ์ที่พบได้ส่วนใหญ่ที่รายงานในประเทศญี่ปุ่น โดยมีรายงานพบว่าสายพันธุ์ MRSA ST764 มี Arginine catabolic mobile element (ACME) type II ที่พบใน Community setting ในครั้งแรกที่มีการรายงานในประเทศญี่ปุ่นในปี 2009 และสายพันธุ์ MRSA ST764 ที่รายงานนี้เป็น variant ของจีโนไทป์ ST5 ที่เป็นสายพันธุ์ SCC*mec* type II MRSA ที่มียีน *spa*2, *seb*2 ไม่พบยีน PVL เป็นสายพันธุ์ที่เป็น Hospital-acquired MRSA ที่มีความแตกต่างจากสายพันธุ์ MRSA ST764 ในรายงานอื่นของประเทศไทยที่เป็น Community- acquired MRSA จากคนงานในฟาร์มหมู และมีรายงานในเวลาต่อมาพบว่าในประเทศญี่ปุ่นพบเชื้อ MRSA ST764 นี้ทั้งในโรงพยาบาลระดับตติยภูมิ(Aung et al., 2019; Nakaminami et al., 2014)

ห้องตรวจคนไข้นอก (Aung et al., 2017) ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาในโรงพยาบาลเป็นเวลานาน (Kawamura et al., 2019) และในชุมชน (Otsuka et al., 2012)

ผลการศึกษาวิเคราะห์ลำดับเบสทั่วจีโนมของเชื้อ MRSA สายพันธุ์ ST764 ที่แยกจากตัวอย่างผู้ป่วยในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ พบว่าเป็นสายพันธุ์ที่เหมือนกับสายพันธุ์ที่พบในประเทศญี่ปุ่น ซึ่งเป็นที่รู้กันดีว่าเป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อในชุมชนนั้น การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าได้มีการเพิ่มการกระจายสายพันธุ์จีโนไทป์ ST764 ออกนอกเหนือเขตภูมิศาสตร์ของเอเชียตะวันออก แม้ว่าค่า MIC ของยาแวนโคมายซินของสายพันธุ์นี้จะแสดงค่าที่อยู่ในช่วงของระดับความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ คือมีค่า MIC ของยาแวนโคมายซิน เท่ากับ 1.5-2 µg/ml ซึ่งจัดเป็นสายพันธุ์ MRSA ที่มี vancomycin MIC สูงขึ้น นอกจากนี้พบว่ามีสายพันธุ์ของ hVISA ซึ่งค่าความเข้มข้นของยาแวนโคมายซินของเชื้อได้เพิ่มสูงขึ้น คือมีค่า vancomycin MIC 4-8 µg/ml จากการทดสอบด้วยวิธี PAP ซึ่งไม่มีการตรวจหา hVISA ในห้องปฏิบัติการทั่วไป การพบสายพันธุ์ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของยาแวนโคมายซินของเชื้อที่เพิ่มสูงขึ้นนี้จึงส่งผลให้ยาแวนโคมายซินมีผลในการยับยั้งเชื้อลดลง และพบว่าเป็นเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อในโรงพยาบาลชนิดรุนแรงที่มีผลให้ผู้ป่วยเสียชีวิต

ข้อมูลการศึกษานำร่องของลักษณะทางจีโนไทป์ในตัวอย่าง 7 สายพันธุ์ ทำให้เห็นความแตกต่างของสายพันธุ์ MRSA โดยแต่ละวิธีมีความสามารถในการแยกชนิดของสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน (Discrimination power) การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่าง PFGE pattern กับผลการรักษาทางคลินิกพบว่าเชื้อ MRSA ที่เป็น PFGE pattern P สัมพันธ์กับผลการรักษาที่ล้มเหลว (p-value = 0.001) และพบว่า PFGE pattern P มีความสัมพันธ์กับสายพันธุ์ hVISA (p-value= 0.019) และร้อยละ 60 ของ PFGE pattern P เป็นสายพันธุ์ vancomycin creep (MIC ≥1.5-2 µg/ml) (Phokhaphan et al., 2017)

การจำแนกลักษณะทางจีโนไทป์ดังกล่าวยังมีข้อจำกัดด้วยวิธีที่เป็นเทคนิคการทดสอบที่ยุ่งยากใช้เวลานาน ต้องทดสอบโดยผู้ที่มีความชำนาญ และค่าใช้จ่ายสูง การศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์จากลักษณะทางจีโนไทป์และค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลจะทำให้เห็นความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ได้อย่างละเอียดลึกซึ้งมากขึ้น และใช้ในการพัฒนาเครื่องมือในการตรวจหาสายพันธุ์ ช่วยในการวินิจฉัยสายพันธุ์ที่เป็นสาเหตุโรคติดเชื้อได้อย่างแม่นยำและถูกต้อง เพื่อวางแผนการรักษาได้อย่างเหมาะสมและมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังสามารถใช้ในการสืบสวนแหล่งที่มาของการระบาดเพื่อวางมาตรการการเฝ้าระวังเชื้อก่อโรคที่ระบาด รวมถึงการควบคุมและป้องกันเพื่อลดการติดเชื้อในโรงพยาบาลและชุมชน

3.2 ยีนดื้อยา

เชื้อ *S. aureus* เป็นเชื้อที่สามารถปรับตัวได้ดีในสภาวะแวดล้อม โดยปกติมีประมาณร้อยละ 25 ถึง 30 ที่คนปกติจะมี *S. aureus* อยู่บนผิวหนังและโพรงจมูก ยังพบได้ว่าเป็นเชื้อประจำถิ่นที่ไม่ทำให้เกิดการติดเชื้อในคนที่มีภูมิต้านทานปกติ อย่างไรก็ตามเชื้อนี้ก็เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคติดเชื้อที่เกิดอาการที่รุนแรงได้เช่นกัน เช่น การติดเชื้อในกระแสเลือดหรือเนื้อเยื่อชั้นใน สามารถก่อให้เกิดอาการได้ตั้งแต่อาการที่ไม่รุนแรงจนถึงขั้นรุนแรงและเสียชีวิตได้ นับได้ว่าเป็นเชื้อที่ยังคงปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญเนื่องจากได้เกิดอุบัติการณ์แพร่กระจายสายพันธุ์ที่ดื้อยาหลายชนิด เช่น Methicillin-resistant *S. aureus*

เมื่อเริ่มมีการใช้ยาเมธิซิลลินซึ่งเป็นอนุพันธ์ของยาเพนิซิลลินและเป็นยากลุ่มเบต้าแลคแตมกึ่งสังเคราะห์ (semi-synthetic β-lactam) การดื้อยาเมธิซิลลินได้เกิดขึ้นไม่นานหลังจากที่มีการใช้ยารักษาผู้ป่วยโรคติดเชื้อที่เกิดจาก *S. aureus* พบ Methicillin-resistant *S. aureus* ครั้งแรกในปีค.ศ. 1961 และยังพบสายพันธุ์ MRSA ที่ดื้อยาหลายขนาน (Multidrug-resistant MRSA) เชื้อที่ดื้อยาเมธิซิลลินมียีนที่ควบคุมการดื้อยาเมธิซิลลินคือ *mecA* หรือ *mecC* ซึ่งอยู่บน staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) ยีนดื้อยานี้จะควบคุมการสร้าง Penicillin-binding protein (PBP2a หรือ PBP2') มีผลให้การจับของยาเมธิซิลลินกับตำแหน่งเฉพาะของเชื้อได้น้อย ทำให้ยาเมธิซิลลินไม่สามารถออกฤทธิ์ได้ นอกจากนี้สายพันธุ์ที่ดื้อยาเมธิซิลลินยังดื้อต่อยากลุ่มเบต้าแลคแตมอื่นๆด้วย รวมถึงกลุ่มยาเพนิซิลลิน, เซฟาโลสปอริน (cephalosporins) และคาร์บาพีเนม (carbapenems)

เนื่องจากสายพันธุ์ของ *Staphylococcus* species สามารถถ่ายทอดยีนดื้อยาระหว่างสายพันธุ์ได้โดย staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) เป็นสารพันธุกรรมที่เคลื่อนย้ายได้(mobile genetic element) ระหว่างสายพันธุ์ทั้งที่เป็นจีนัส หรือสปีชีส์ เดียวกันและต่างกันได้ ทำให้เกิดอุบัติการณ์การระบาดของโรคติดเชื้อที่เกิดจากสายพันธุ์ MRSA ทั่วโลกทั้งในโรงพยาบาลและสถานการพยาบาลที่มีการใช้เครื่องมือทางการแพทย์ดูแลรักษาผู้ป่วย (Hospital acquired MRSA, HA-MRSA) ซึ่งวิวัฒนาการของสายพันธุ์ MRSA ได้มีการเปลี่ยนแปลงของสายพันธุ์ทำให้เกิดเป็นเผ่าพันธุ์ (Lineages) ของเชื้อ MRSA ที่ก่อโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลที่พบได้ทั่วไป ดังแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 เผ่าพันธุ์ (Lineages) ของเชื้อ MRSA ก่อโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลที่พบได้ทั่วไป (สุมาลี คอนโด, 2561)

Clonal Complex	ชนิด ของ MLST	ชื่อสามัญสำหรับโคลน จำเพาะของเชื้อ MRSA	หมายเหตุ
CC5	ST5	USA100และ NewYork/Japan clone	พบมากที่สุดในการติดเชื้อ MRSA ที่เกี่ยวข้องกับการดูแลรักษาผู้ป่วย (healthcare-associated MRSA) ในประเทศสหรัฐอเมริกา, SCC*mecII*
	ST5	EMRSA-3	SCC*mecI* พบบ่อยในประเทศอาร์เจนตินา
	ST5	USA800/Pediatric clone	โคลัมเบีย สหรัฐอเมริกา เป็นชนิด SCC*mecIV*
	ST5	HDE288/Pediatric clone (Portugal)	SCC*mecVI*
CC8	ST250	Archiac	โคลน MRSA ที่แยกชนิดได้ครั้งแรก เช่น สายพันธุ์ COL; SCC*mecI*
	ST247	Iberian clone & EMRSA-5	ลูกหลานของสายพันธุ์ COL, SCC*mecI*
	ST239	Brazilian/Hungarian clone	SCC*mecIII*
	ST239	EMRSA-1	Eastern Australian epidemic clone of 1980s, SCC*mecIII*
	ST8	AUS-2 และ AUS-3	SCC*mecII*
	ST8	USA500 & EMRSA-2,-6	SCC*mecIV*

ตารางที่ 3.2 (ต่อ) เผ่าพันธุ์ (Lineages) ของเชื้อ MRSA ที่ก่อโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลที่พบได้ทั่วไป (สุมาลี คอนโด, 2561)

Clonal Complex	ชนิด ของ MLST	ชื่อสามัญสำหรับโคลน จำเพาะของเชื้อ MRSA	หมายเหตุ
CC22	ST22	EMRSA-15	โคลนนานาชาติ (International clone) พบมากในยุโรปและออสเตรเลีย, SCC*mec*IV
CC30	ST36	USA200 และ EMRSA-16	เป็นสายพันธุ์เดียวที่พบว่าเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อที่เกิดจาก MRSA มากที่สุดในประเทศอังกฤษ และอันดับ 2 ในโรงพยาบาลที่ประเทศสหรัฐอเมริกา ในปี ค.ศ. 2003, SCC*mec*II
CC45	ST45	USA600 และ Berlin	SCC*mec*II

หลังจากที่เชื้อ *S. aureus* ดื้อยาเมธิซิลลิน ได้แพร่ระบาดทั่วโลกและยังมีการดื้อยาต้านจุลชีพอื่นๆ จึงได้มีการนำยาแวนโคมัยซิน ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อ MRSA ซึ่งได้ผลการรักษาที่มีประสิทธิภาพในช่วงปลายคริสต์ทศวรรษ 1980 ซึ่งในเวลาต่อมาเชื้อ MRSA ได้แสดงค่าความไวต่อยา vancomycin สูงขึ้น ทำให้การรักษาล้มเหลว ได้แก่

1) สายพันธุ์ที่ถูกยับยั้งด้วยยาแวนโคมายซินที่มีความเข้มข้น 4–8 µg/ml คือ Vancomycin intermediate *S. aureus*, (VISA)
2) สายพันธุ์ที่ถูกยับยั้งได้ด้วยยาแวนโคมายซินที่ความเข้มข้นสูง ≥16 µg/ml คือ “Vancomycin resistant *S. aureus* (VRSA)” การยืนยันว่าเป็น VRSA ด้วยการตรวจหายีน *vanA* หรือ *van* อื่นๆ ด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา
3) สายพันธุ์ที่ถูกยับยั้งด้วยยาแวนโคมายซินได้ที่ความเข้มข้นที่ต่ำกว่า 2 µg/ml แต่มี subpopulation ของเชื้อที่มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาแวนโคมายซินที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ 4-8 µg/ml คือ เชื้อ“Heterogeneous vancomycin-intermediate *S. aureus* (hVISA)”

ยาแวนโคมายซินได้ถูกนำมาใช้เพื่อการรักษาโรคติดเชื้อโดย Dr. Kornield ได้แยกตัวยาแวนโคมาย-ซินจากเชื้อ *Streptomyces orientalis* ในดินซึ่งพบอยู่ในป่าลึกของเกาะ Borneo ในปี ค.ศ. 1957 (Griffith, 1984) ยาแวนโคมายซินมีฤทธิ์ต้านต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกเช่น *Staphylococci*, Enterococci, *Streptococci*, *Pneumococci*, *Listeria*, *Corynebacterium* และ *Clostridia* ปัจจุบันแวนโคมายซินเป็นยาที่นำมาใช้ในการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อ MRSA และการรักษาผู้ป่วยที่มีอาการแพ้จากการใช้ยาเพนิซิลลิน หรือเซฟาโลสปอริน

ยาแวนโคมายซินเป็นยาต้านจุลชีพที่มีฤทธิ์ต้านต่อเชื้อ *S. aureus* และมีความปลอดภัยในการใช้ยาเพื่อรักษาในผู้ป่วยการติดเชื้อที่เกิดจากดื้อยาต้านจุลชีพใหม่ๆ ทำให้มีการใช้ยาแวนโคมายซินมากขึ้น รวมถึงได้ถูกนำมาใช้เป็นยาป้องกัน (Prophylaxis) ในผู้ป่วยที่มีปัญหาการทำงานของไตลดลงที่มีการรักษาด้วยการทำ dialysis นอกจากนี้ยังมีการใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่ใช้ร่วมกับยาต้านจุลชีพอื่นๆในการฆ่าเชื้อในระบบลำไส้ของผู้ป่วยมะเร็ง

ยาแวนโคมายซินออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย โดยการขัดขวางกระบวนการสร้างผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียที่ไวต่อยาแวนโคมายซิน ทั้งนี้ผนังเซลล์ของแบคทีเรียส่วนใหญ่มีโครงสร้างของ peptidoglycan ที่สามารถป้องกันเซลล์จากการบวมและการแตกของเซลล์ในสภาวะที่มี Intracellular osmolarity สูง peptidoglycan ที่ถูกสร้างโดยใช้ precursor lipid II ด้วยขบวนการ transglycosylation และ transpeptidation โดย penicillin-binding proteins (PBPs) ที่เป็นโปรตีนเกี่ยวข้องในขบวนการสังเคราะห์ cross-linked peptidoglycan จาก lipid intermediates และทำหน้าที่แยก D-alanine ออกจาก precursor lipid II ของ peptidoglycan เมื่อมีการให้ยาแวนโคมายซินโมเลกุลของยาแวนโคมายซินสามารถ

จับกับ D-Ala–D-Ala ด้วย hydrogen bond ของ precursor lipid II ซึ่งทำให้มีการเปลี่ยนแปลงที่ตำแหน่งที่ยาแวนโคมายซินจับบนผนังเซลล์ และไปยับยั้งการสร้าง peptidoglycan และยับยั้ง transpeptidation ตามลำดับ ทำให้ผนังเซลล์ถูกทำลายและเกิดการแตกสลายของเซลล์แบคทีเรียในที่สุด อย่างไรก็ตามโครงสร้างของยาแวนโคมายซินทำให้ไม่สามารถผ่านเข้าเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) ของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ยาแวนโคมายซินจึงไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ

Vancomycin intermediate *S. aureus* (VISA)

สายพันธุ์ที่มีค่าความไวต่อยาแวนโคมายซินสูงขึ้น เช่นสายพันธุ์ VISA ยังไม่สามารถอธิบายกลไกในระดับโมเลกุลที่สมบูรณ์ได้ แต่ก็มีการรายงานที่พยายามในการค้นหาตำแหน่งที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาสายพันธุ์ VISA โดยเปรียบเทียบจีโนม ทรานสคริบชันของ RNA ทั้งหมดที่เกิดจากการแสดงออกของยีนทั้งหมด (transcriptomics) และ โปรตีนที่ได้ถูกแปลจาก mRNA ทั้งหมด (proteomics) และ สายพันธุ์ isogenic VSSA เพื่อค้นหาตำแหน่งที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ ในยีนที่ทำให้เกิดเป็นสายพันธุ์ VISA โดยทั่วไปผลจากการกลายพันธุ์ที่สะสมมาเป็นลำดับของยีนที่เกี่ยวข้องกับ VISA ได้เป็นที่ยอมรับว่าเป็นกลไกที่ทำให้เกิดเป็นสายพันธุ์ VISA ได้แก่ ยีนที่ควบคุม component regulatory systems เช่น WalKR, GraSR และ VraSR สายพันธุ์ VISA โดยทั่วไปแสดงลักษณะของผนังเซลล์ที่หนาขึ้น autolytic activity ลดลง และความรุนแรงลดลง อย่างไรก็ตามกลไกที่เชื่อมโยงกับยีนที่กลายพันธุ์หลากหลายชนิดที่แสดงลักษณะของ VISA ยังไม่ชัดเจน จึงต้องทำการศึกษาเพื่อค้นหากลไกการดื้อยาของสายพันธุ์ VISA ต่อไป (Cong et al., 2020)

Vancomycin resistant *S. aureus* (VRSA)

การดื้อยาแวนโคมายซินที่เกิดขึ้นใหม่พบได้จากการใช้ยาแวนโคมายซินในการรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE) ซึ่งพบรายงานครั้งแรกในประเทศยุโรป ในปี ค.ศ. 1980 และได้แพร่ระบาดในโรงพยาบาลในห้องวิกฤต หลังจากที่ยาแวนโคมายซินได้ถูกนำมาใช้สำหรับการรักษาโรคติดเชื้อชนิดรุนแรงที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus* ในเวลาต่อมาได้พบเชื้อ *S. aureus* ดื้อยาแวน-โคมายซิน (Vancomycin-Resistant *S. aureus*, VRSA) อุบัติการณ์ของสายพันธุ์ VRSA นี้เกิดขึ้นจากการที่เชื้อ *S. aureus* ได้รับยีน *vanA* ที่ถ่ายทอดจากเชื้อ Enterococci ที่ดื้อยาแวนโคมายซินสูง

การพัฒนายาใหม่ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อของยาแวนโคมายซินด้วยการตัดส่วนประกอบของยีนดื้อยา *van* ยีนใดยีนหนึ่งที่เกี่ยวข้องในขบวนการขัดขวางการสร้างผนังเซลล์ ทำให้ยาต้านจุลชีพสามารถจับที่ตำแหน่งเป้าหมายบนผนังเซลล์ได้ ทำให้ยาแวนโคมายซินสามารถยับยั้งเชื้อได้ (Walsh et al., 1996) ยกตัวอย่างเช่น Hydroxyethylamines, Phosphinate และ Phosphonate transition-state analogues ซึ่งเป็นตัวยับยั้ง VanA (Ellsworth et al., 1996; Sova et al., 2009) Phosphinate based, covalent inhibitors และ sulfur containing compounds พบว่าเป็นตัวยับยั้ง VanX (Chen et al., 2019) โดยการใช้ตัวยับยั้งเหล่านี้

ร่วมกับยาแวนโคมายซินช่วยป้องกันการจับของยาแวนโคมายซินกับตำแหน่งเป้าหมายที่ลดลง ยังมียาต้านจุลชีพที่มีประสิทธิภาพสำหรับ VRSA เนื่องจากเชื้อ VRSA ยังคงมีความไวต่อยาต้านจุลชีพอื่น (Pawlak et al., 2012) จึงทำให้การรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจาก VRSA มีประสิทธิภาพ โดยมียาต้านจุลชีพ 2 ชนิด คือ daptomycin และ linezolid ที่เป็นอีกทางเลือกสำหรับการรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อ VRSA

3.3 การถ่ายทอดยีนดื้อยาและยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของสายพันธุ์

เชื้อ *S. aureus* ได้แสดงถึงวิวัฒนาการที่มีการเปลี่ยนแปลงในตัวเชื้อ และมีกลไกการถ่ายทอดยีนดื้อยาที่ควบคุมโดยพลาสมิดในแนวนอน (horizontal gene transfer) คือ conjugation และ transformation ทำให้มีการแพร่กระจายสายพันธุ์ดื้อยาระหว่างสายพันธุ์ และการถ่ายทอดของเชื้อ Staphylococcus ยังมีกลไกที่เรียกว่า SaPI-helper phage ที่เป็นเอกลักษณ์อีกกลไกหนึ่ง (Ram et al., 2012)

Staphylococcal pathogenicity islands (SaPIs) ซึ่งมี superantigen และยีนดื้อยาแพร่ระบาดอย่างกว้างขวางในกลุ่มเชื้อ *S. aureus* และแบคทีเรียแกรมบวกจีนัสอื่นๆ เนื่องจากเป็นสารพันธุกรรมที่เคลื่อนที่ได้ (mobile genetic elements) และในพาหะที่มียีนดื้อยาใน SaPIs จึงส่งผลให้มีการถ่ายทอดยีนดื้อยาเหล่านี้ด้วยความถี่สูง และสามารถคงอยู่ในสายพันธุ์เป็นเวลานาน (Long term persistence) (Novick et al., 2007; Ram et al., 2012)จากการศึกษาทั้งหมดที่พบในรายงานได้แสดงให้เห็นว่ายีนดื้อยาที่อยู่บนพลาสมิดซึ่งเป็นสารพันธุกรรมที่เคลื่อนที่ได้ เป็นส่วนสำคัญที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงและการดื้อยาในกลุ่มเชื้อ *S. aureus* (Arun Kumar et al., 2021)

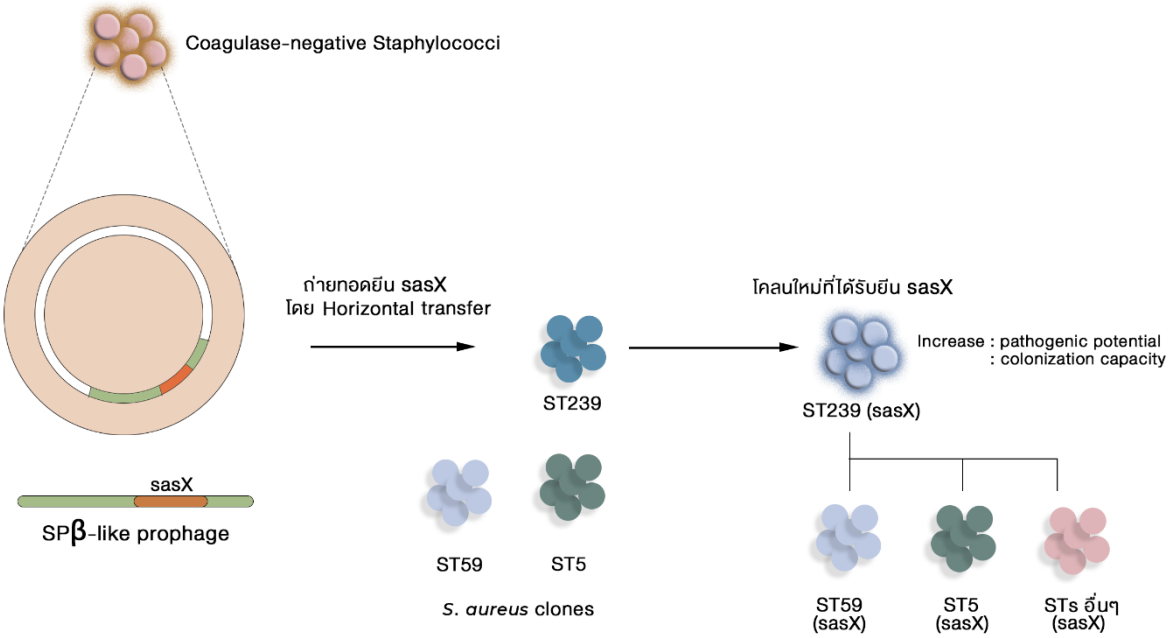
การถ่ายทอดยีนดื้อยา *mecA* ของสายพันธุ์เชื้อ MRSA พบว่ามีกลไกการถ่ายทอดยีนดื้อยาด้วยวิธี transduction ด้วย bacteriophages, transposition และ transformation (Maree et al., 2022) มีรายงานที่ได้เสดงให้เห็นว่าการถ่ายทอดยีนในแนวนอน (Horizontal transfer) เป็นกลไกสำคัญทำให้ยีนดื้อยา *mecA* มีการถ่ายทอดและแพร่กระจายไปสู่กลุ่มเชื้อ *S. aureus* (Hartman & Tomasz, 1984; Thakker-Varia et al., 1987; Wielders et al., 2002) นอกจากนี้ยังมีการถ่ายทอดยีนดื้อยา *mecA* จาก *S. epidermidis* ไปยังเชื้อ *S. aureus* และการถ่ายทอด *mecA* คาดว่าจะพบได้บ่อยขึ้นใน methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) (Bitrus et al., 2017; Wielders et al., 2001)

ยีนดื้อยาต้านจุลชีพและยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรง ส่วนใหญ่อยู่บนสารพันธุกรรมที่สามารถเคลื่อนย้ายได้ (mobile genetic elements, MGEs) เช่น plasmids, prophages, transposons, pathogenicity islands, insertion sequences, และ staphylococcal cassette chromosome (SCC) (Haaber et al., 2017; Lindsay, 2010; Malachowa et al., 2010) ผู้นิพนธ์ได้แสดงข้อมูลของยีนดื้อยาที่อยู่บน Mobile Genetic Elements (MGE) และกลไกการดื้อยาต้านจุลชีพไว้ในตาราง 3.3 โดยดัดแปลงจากตารางในรายงานของ Siddiqui et al., 2023

ยีน *sasX* อยู่บน ϕSPβ-like prophage เป็นยีนที่พบใหม่ใน MSSA ซึ่งคิดว่ามีบทบาทสำคัญในการโคโลไนซ์ในโพรงจมูกและความรุนแรงของเชื้อ MRSA พบว่ายีน *sasX* จากสายพันธุ์จีโนไทป์ ST239 ได้แพร่กระจายอย่างรวดเร็วไปยังจีโนไทป์ ST อื่นๆด้วยกลไกการถ่ายทอดแบบ Horizontal transfer ดังแสดงใน

ภาพที่ 3 ซึ่งผลการศึกษาได้พิสูจน์ให้เห็นว่าการถ่ายทอดยีนที่เกี่ยวข้องกับการโคโลไนซ์และความรุนแรงของสายพันธุ์เป็นกุญแจสำคัญในการทำให้เกิดคลื่นของการระบาดของ MRSA และเพิ่มอัตราความเจ็บป่วยและอัตราการเสียชีวิตจากการติดเชื้อนี้ได้ (Li et al., 2012)

การพบยีน *sasX* ในสายพันธุ์ MRSA ได้แสดงบทบาทในการช่วยให้มีการโคโลไนซ์สายพันธุ์ MRSA ในโพรงจมูก และจากการรายงานพบสายพันธุ์ MRSA ที่มียีน *sasX* โคโลไนซ์ที่สายสวนปัสสาวะจึงสนับสนุนบทบาทของยีน *sasX* ในการเพิ่มเกาะติดที่ผิวของสายสวนเช่นเดียวกับที่พบในโพรงจมูก (Li et al., 2014) และพบว่าสายพันธุ์ MRSA ที่มียีน *sasX* เป็นสาเหตุของการติดเชื้อแบบรุกล้ำมากกว่าสายพันธุ์ MRSA ที่ไม่มียีน *sasX* (Li et al., 2014)



ภาพที่ 3 กลไกการถ่ายทอดยีน *sasX* จากเชื้อ MSSA ไปยังเชื้อ MRSA
(ดัดแปลงรูปจาก Iyer et al., 2014)

ตารางที่ 3.3 ยีนดื้อยาที่อยู่บน Mobile Genetic Elements (MGE) และกลไกการดื้อยาต้านจุลชีพ (Siddiqui et al., 2023)

A. ยีนดื้อยาที่อยู่บนพลาสมิด

ยีนดื้อยา	ยาต้านจุลชีพ/โลหะหนัก	กลไกการดื้อยาต้านจุลชีพ
aadD	Neomycin, kanamycin, paromomycin, และ tobramycin	Aminoglycoside adenyltransferase
ant4'	Tobramycin	Aminoglycoside nucleotidyltransferase
arsRBC	Arsenate, antimonite	Efflux ATPase
blaZ, *blaI*, *blaR1*	Penicillin (β-lactam antibiotics)	β -lactamase
ble	Bleomycin	Bleomycin-binding protein prevents DNA damage by binding bleomycin
cadA, B	Cadmium resistance and probably zinc	Cadmium efflux ATPase
cadD, X	Cadmium resistance	Efflux
cat	Chloramphenicol	Chloramphenicol acetyltransferase
cfr	Chloramphenicol, florfenicol, and clindamycin	Methylation of 23S subunit of bacterial ribosome
dfrA, *dfrK*	Trimethoprim	Dihydrofolate reductase
ermB,*C*	MLSB resistance (macrolides: erythromycin, lincosamides: clindamycin, streptogramin B)	Methylation of 23S subunit of bacterial ribosome
fusB	Fusidic acid	Ribosome protection mechanism
ileS-2	High-level resistance to mupirocin (pseudomonic acid A)	Isoleucyl RNA synthetase

ตารางที่ 3.3 (ต่อ) ยีนดื้อยาที่อยู่บน Mobile Genetic Elements (MGE) และกลไกการดื้อยาต้านจุลชีพ (Siddiqui et al., 2023)

A. ยีนดื้อยาที่อยู่บนพลาสมิด (ต่อ)

ยีนดื้อยา	ยาต้านจุลชีพ/โลหะหนัก	กลไกการดื้อยาต้านจุลชีพ
mer operon	Mercury	Reduction of mercury ions to elementary Hg
mphBM	Macrolide antibiotics	Putative phosphorylase
msrA	Macrolide antibiotics	Active efflux
mupA	High-level mupirocin resistance	Novel isoleucyl RNA synthetase
qacA,*B* and *smr* (*qacC/D*)	Quaternary ammonium compounds, biocides	Drug efflux pump
str	Streptomycin	Streptomycin adenyltransferase
tetK, *tetL*	Tetracyclines	Active efflux of tetracycline
vat	Streptogramins type A	Acetylation of the antibiotic
vga	Streptogramins type A, lincosamides, and pleuromutilins	Efflux
vgb	Streptogramins type B	Inactivation by virginiamycin B lyase

ตารางที่ 3.3 (ต่อ) ยีนดื้อยาที่อยู่บน Mobile Genetic Elements (MGE) และกลไกการดื้อยาต้านจุลชีพ (Siddiqui et al., 2023)

B. ยีนดื้อยาที่อยู่บน Transposon

ยีนดื้อยา	ยาต้านจุลชีพ/โลหะหนัก	กลไกการดื้อยาต้านจุลชีพ
acA-aphD	Gentamycin, kanamycin, tobramycin	Antibiotic modification by aminoglycoside acetyltransferase and aminoglycoside phosphotransferase
blaZ, *blaI*, *blaR1*	β-Lactam antibiotics	Hydrolysis of β-Lactam ring
cadB, *cadC*	Cadmium resistance	Efflux
ermA,B	MLSB resistance (macrolides: erythromycin, lincosamides: clindamycin, streptogramin B)	Methylation of 23S subunit of bacterial Ribosome
fexA	Florfenicol, chloramphenicol	Efflux
merA, *B*	Respectively, inorganic and organic mercury resistance	Ion transport
sat4	Streptothricin	Streptothricin acetyltransferase
spc(*ant9*)	Spectinomycin	Spectinomycin adenyltransferase
tetM	Tetracycline, minocycline	Protection of ribosome binding site for tetracycline
vanRSHAXYZ[a]	Vancomycin	Production of low affinity pepdydoglican precursor with terminal D-Ala-D-Lac

ตารางที่ 3.3 (ต่อ) ยีนดื้อยาที่อยู่บน Mobile Genetic Elements (MGE) และกลไกการดื้อยาต้านจุลชีพ (Siddiqui et al., 2023)

C. ยีนดื้อยาที่อยู่บน Staphyloccocal chromodome cassette (SCC)

ยีนดื้อยา	ยาต้านจุลชีพ/โลหะหนัก	กลไกการดื้อยาต้านจุลชีพ
far1 (SCC*476*)	Fusidic acid resistance	
mer operon (SCC*mercury*)	Mercury	Ion transport

[a] Vancomycin resistance is encoded on the *Tn*1546 transposon but transferred by conjugative plasmid

3.4 ปัจจัยเสี่ยงการติดเชื้อดื้อยา *S. aureus*

มีรายงานการพบเชื้อแบคทีเรียดื้อยาในพื้นที่ของโรงพยาบาลที่มีการสัมผัสบ่อยๆ เช่น ลูกบิดประตู ราวกั้นเตียงผู้ป่วย ตู้เก็บของข้างเตียงและตามอ่างล้าง ทำให้มีโอกาสแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว และเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิดในสิ่งแวดล้อมเหล่านี้สามารถคงอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้เป็นเวลานาน และจากการที่เชื้อแบคทีเรียมียีนดื้อยาจึงส่งผลต่อการรักษาที่ไม่ได้ผลและผู้ป่วยต้องอยู่โรงพยาบาลนานขึ้น ซึ่งทำให้มีความเสี่ยงในการติดเชื้อที่มีการดื้อยาหลายชนิด และทำให้เสียชีวิตจากโรคติดเชื้อนี้ได้

จากรายงานในประเทศกรีซพบว่าผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อในโรงพยาบาลเป็นเวลา 90 วันมีความเสี่ยงของการเสียชีวิตสูง ทั้งนี้ได้มีการตั้งข้อสังเกตุถึงสาเหตุว่าเป็นผลมาจากการใช้ยาต้านจุลชีพที่มีปริมาณสูงสุดในประเทศกรีซ และเป็นประเทศที่ไม่สามารถแก้ไขปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพที่พบในประเทศแถบยุโรป (ECDC., 2019; Eze et al., 2022) เป็นตัวอย่างที่ชัดเจนของสาเหตุการดื้อยาต้านจุลชีพจากการใช้ยาอย่างพร่ำเพรื่อ ทั้งนี้การใช้ยาต้านจุลชีพที่ไม่เหมาะสมหรือใช้มากเกินไปเป็นปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพที่เกิดขึ้นทั่วโลก มีหลายรายงานการที่พบเชื้อแบคทีเรียดื้อยาในโรงพยาบาล ได้แก่ เชื้อ *Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* และ *Enterobacter* spp. (Chng et al., 2020; Li et al., 2015; Mirhoseini et al., 2016; Rodrigues et al., 2020)

การศึกษาเชื้อดื้อยาในโรงพยาบาลระดับทุติยภูมิในประเทศสิงคโปร์ พบเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากบริเวณที่มีการสัมผัสบ่อยๆ เช่น ราวจับเตียง ที่ล็อคข้างเตียง ประตูห้องผู้ป่วย และบริเวณที่มีการสัมผัสน้อย เช่น ที่เปิดปิดก๊อกน้ำ และเครื่องอัดอากาศเข้าไปในน้ำหรือของเหลว การพบเชื้อดื้อยาปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อมเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับการดื้อยาที่สำคัญทางคลินิกเนื่องจากเป็นสายพันธุ์ที่มียีนดื้อยาอยู่บนพลาสมิดคือ ยีน *mecA*, ยีน *qacA* และ *qacC* ที่ดื้อต่อน้ำยาฆ่าเชื้อ เชื้อแบคทีเรียดื้อยาเหล่านี้ที่ปนเปื้อนในโรงพยาบาลเป็นเวลาเกือบ 10 ปี ชี้ให้เห็นถึงสัญญาณของการถ่ายทอดและแลกเปลี่ยนยีนดื้อยาระหว่างสายพันธุ์และการแพร่ระบาดที่รวดเร็ว และก่อให้เกิดโรคติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาได้ทั้งในโรงพยาบาลและชุมชน (Chng et al., 2020; Siddiqui et al., 2023)

สำหรับการติดเชื้อ MRSA สามารถเกิดขึ้นได้จากการถ่ายทอดเชื้อจากคนหนึ่งไปยังคนอื่นๆได้ ส่งผลให้มีแพร่ระบาดของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล ดังนั้นบุคลากรทางการแพทย์ที่เกี่ยวข้องในการดูแลผู้ป่วยที่ติดเชื้อ MRSA ควรมีสุขอนามัยที่ดีในทุกขั้นตอนเพื่อลดโอกาสมีการถ่ายทอดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่อาจปนเปื้อนจากบุคลากรทางการแพทย์ หรือเครื่องมือที่ใช้ดูแลรักษาผู้ป่วยได้ ซึ่งช่วยให้การติดเชื้อไม่แพร่กระจายต่อไปยังผู้อื่นได้ แม้ว่าการถ่ายทอดโรคติดเชื้อที่เกิดจาก MRSA มักจะเกิดจากการสัมผัสโดยตรง แต่การได้สัมผัสรับเชื้อแบคทีเรียสามารถเกิดขึ้นได้จากเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่ปนเปื้อนในอุปกรณ์ เครื่องมือ และสิ่งแวดล้อมอื่นๆ และสามารถส่งต่อเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่จะทำให้เกิดการติดเชื้อได้เช่นกัน

นอกจากนี้ยังมีปัจจัยหลากหลายที่ทำให้มีการติดเชื้อ MRSA อีกเช่น ผู้ป่วยที่มีภูมิต้านทานต่ำ มีความผิดปกติของเม็ดเลือดขาว หรือการเข้าสู่ร่างกายโดยทำลายด่านหน้าในชั้นของผิวชั้นบนของโครงสร้างผิวหนัง ซึ่งสามารถทำให้มีการติดเชื้อเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังมีปัจจัยความเสี่ยงของการติดเชื้อดื้อยา *S. aureus* ดังนี้

1. การได้รับการดูแลรักษาในช่วงก่อนหน้าการติดเชื้อ 12 เดือน
    - การเข้ารักษาในโรงพยาบาลล่าสุด
    - การได้รับการรักษาด้วยเครื่องมือทางการแพทย์ในระยะเวลานาน
    - เข้ารับการผ่าตัดล่าสุด
    - เข้ารับการรักษาด้วยการฟอกเลือด (Hemodialysis)
2. ปัจจัยความเสี่ยงเฉพาะของผู้ป่วย
    - มีเชื้อ MRSA โคโลไนซ์หรือการติดเชื้อ MRSA ในอดีตมีการสัมผัสใกล้ชิดล่าสุด
    - มีการติดเชื้อ HIV
    - มีการใช้เข็มฉีดยา
    - เป็นผู้ไร้บ้าน
    - เป็นกลุ่มชายรักชาย
    - มีการใช้ยาต้านจุลชีพภายใน 6 เดือนก่อนหน้านี้
3. การได้รับเชื้อจากสิ่งแวดล้อมที่เกี่ยวข้องกับการระบาดของแผลติดเชื้อที่ผิวหนังมี abscess (หมายเหตุ: การได้รับเชื้อจากสิ่งแวดล้อมไม่เกี่ยวข้องกับโรคติดเชื้ออื่นที่เกิดจาก MRSA เช่น cellulitis ที่ไม่มี abscess)
    - ผู้อยู่ในเรือนจำ
    - ผู้ปฏิบัติการทหาร
    - เข้าร่วมอยู่ในโรงเรียนหรืออาศัยในชุมชนที่มีอัตราการโคโลไนซ์สูง
    - พักอาศัยอยู่ในแหล่งที่มีความแออัด
    - เข้าร่วมหรือทำงานในศูนย์เรียนเด็ก
    - มีการสัมผัสเครื่องมือที่ใช้ร่วมกันในการเล่นกีฬา
    - มีการใช้เข็ม ที่โกนหนวด และสิ่งของเครื่องใช้ร่วมกัน

บทสรุป

การติดเชื้อที่ได้รับจากโรงพยาบาล และในชุมชน เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียมีการดื้อยาต้านจุลชีพหลายขนาน ส่งผลให้เกิดการเจ็บป่วยและการเสียชีวิต รวมถึงค่าใช้จ่ายที่สูงขึ้น ซึ่งมีผลกระทบทางเศรษฐกิจของประเทศต่างๆทั่วโลก โดยเฉพาะเชื้อดื้อยาที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus* สามารถถ่ายทอดยีนดื้อยาในระหว่างสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียชนิดเดียวกันหรือข้ามสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียต่างชนิดกันได้ การถ่ายทอดเชื้อดื้อยาจากผู้ที่ติดเชื้อไปยังผู้ป่วยคนอื่นๆเกิดขึ้นได้จากการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียที่ไปกับแพทย์ บุคลากรทางการแพทย์ และอุปกรณ์ ทำให้เกิดการแพร่ระบาดของเชื้อดื้อยาในวงกว้างทั้งในโรงพยาบาลและในชุมชนได้อย่างรวดเร็ว โดยเชื้อดื้อยายังมีกลไกการถ่ายทอดได้รวดเร็ว จากการที่มีสารพันธุกรรมของยีนดื้อยาที่สามารถเคลื่อนที่ได้ (mobile genetic elements) ซึ่งทำให้เกิดปัญหาด้านการแพทย์และสาธารณสุขอย่างมาก จำเป็นต้องประสานงานในหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในการเพิ่มมาตรการการเฝ้าระวัง ป้องกัน และการควบคุมการระบาดให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

ผู้นิพนธ์ได้นำผลงานวิจัยของผู้นิพนธ์และทีมวิจัยเป็นตัวอย่างให้เห็นถึงความสำคัญของปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการรักษาโรคติดเชื้อจาก MRSA จากการศึกษาเรื่องปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับผลการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อ MRSA ที่โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ ทำให้เห็นรายละเอียดของปัจจัยที่ส่งผลต่อการรักษาที่สามารถนำไปปรับเปลี่ยนมาตรการเพื่อช่วยให้การรักษาได้ผลตามเป้าหมาย และเป็นข้อมูลสำคัญที่บุคลากรทาง การแพทย์ที่เกี่ยวข้องได้มีความตระหนักถึงผลกระทบจากอุบัติการณ์สายพันธุ์ใหม่ของเชื้อ MRSA ที่ก่อโรคติดเชื้อและดื้อยาต้านจุลชีพหลายขนาน ซึ่งจะส่งผลให้ผู้ป่วยติดเชื้อดื้อยาในโรงพยาบาลมีอัตราการเจ็บป่วยและอัตราการเสียชีวิตเพิ่มขึ้น

นอกจากนี้การศึกษาสายพันธุ์ MRSA ที่พบในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติในระดับโมเลกุลด้วยการวิเคราะห์ลำดับเบสทั่วจีโนมเป็นการศึกษาลักษณะจีโนไทป์ของสายพันธุ์ที่มีค่าความไวต่อยาแวนโคมายซินที่สูงขึ้น ผลการศึกษาแยกชนิดตามลักษณะของจีโนไทป์เป็นประโยชน์ต่อบุคลากรทางการแพทย์ที่เกี่ยวข้อง และเป็นแนวทางการศึกษาต่อยอดในการศึกษาเครื่องมือในการวินิจฉัยเชื้อดื้อยาได้ถูกต้องและรวดเร็ว เช่น เครื่องหมายโมเลกุลของเชื้อ MRSA ที่มีค่าความไวของยาแวนโคมายซินสูงขึ้น ซึ่งช่วยให้แพทย์สามารถให้การรักษาด้วยยาต้านจุลชีพที่เหมาะสม เช่น การใช้ยาแวนโคมายซินในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ทำให้การรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อ MRSA ได้ผลตามเป้าหมาย และไม่เกิดผลข้างเคียงจากการใช้ยาแวนโคมายซินในปริมาณที่มากเกินความจำเป็น

เอกสารอ้างอิง

Adam, H. J., Louie, L., Watt, C., Gravel, D., Bryce, E., Loeb, M., Matlow, A., McGeer, A., Mulvey, M. R., Simor, A. E., & Canadian Nosocomial Infection Surveillance, P. (2010). Detection and characterization of heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* isolates in Canada: results from the Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program, 1995-2006. *Antimicrob Agents Chemother, 54*(2), 945-949. https://doi.org/10.1128/AAC.01316-09

Arun, A., Swamy, S., Jacob, K., Sharma, R., Kohlhoff, S. A., & Hammerschlag, M. R. (2018). Evaluation of clinical outcome in children and adolescents receiving vancomycin for invasive infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: impact of increasing vancomycin MICs. *Minerva Pediatr, 70*(3), 207-211. https://doi.org/10.23736/s0026-4946.16.04688-0

Arun K., P., & Roma, A. C. (2021). Antibiotic Resistant *Staphylococcus aureus*. In A. Amjad (Ed.), *Insights Into Drug Resistance in Staphylococcus aureus* (pp. Ch. 1). IntechOpen. https://doi.org/10.5772/intechopen.100057

Aung, M. S., Kawaguchiya, M., Urushibara, N., Sumi, A., Ito, M., Kudo, K., Morimoto, S., Hosoya, S., & Kobayashi, N. (2017). Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from outpatients in northern Japan: increasing tendency of ST5/ST764 MRSA-IIa with arginine catabolic mobile element. *Microb Drug Resist, 23*(5), 616-625. https://doi.org/10.1089/mdr.2016.0176

Aung, M. S., Urushibara, N., Kawaguchiya, M., Sumi, A., Shinagawa, M., Takahashi, S., & Kobayashi, N. (2019). Clonal diversity and genetic characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from a tertiary care hospital in Japan. *Microb Drug Resist, 25*(8), 1164-1175. https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0468

Casapao, A. M., Leonard, S. N., Davis, S. L., Lodise, T. P., Patel, N., Goff, D. A., LaPlante, K. L., Potoski, B. A., & Rybak, M. J. (2013). Clinical outcomes in patients with heterogeneous

vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* bloodstream infection. *Antimicrob Agents Chemother, 57*(9), 4252-4259. https://doi.org/10.1128/aac.00380-13

Chambers, H. F., & Deleo, F. R. (2009). Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat Rev Microbiol, 7*(9), 629-641. https://doi.org/10.1038/nrmicro2200

Charles, P. G., Ward, P. B., Johnson, P. D., Howden, B. P., & Grayson, M. L. (2004). Clinical features associated with bacteremia due to heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis, 38*(3), 448-451. https://doi.org/10.1086/381093

Chen, C. J., & Huang, Y. C. (2014). New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection in Asia. *Clin Microbiol Infect, 20*(7), 605-623. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1469-0691.12705

Chen, A. Y., Adamek, R. N., Dick, B. L., Credille, C. V., Morrison, C. N., & Cohen, S. M. (2019). Targeting metalloenzymes for therapeutic intervention. *Chemical Reviews, 119*(2), 1323-1455. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00201

Chng, K. R., Li, C., Bertrand, D., Ng, A. H. Q., Kwah, J. S., Low, H. M., Tong, C., Natrajan, M., Zhang, M. H., Xu, L., Ko, K. K. K., Ho, E. X. P., Av-Shalom, T. V., Teo, J. W. P., Khor, C. C., Chen, S. L., Mason, C. E., Ng, O. T., Marimuthu, K., Ang, B., & Nagarajan, N. (2020). Cartography of opportunistic pathogens and antibiotic resistance genes in a tertiary hospital environment. *Nat Med, 26*(6), 941-951. https://doi.org/10.1038/s41591-020-0894-4

Chung, D. R., Lee, C., Kang, Y. R., Baek, J. Y., Kim, S. H., Ha, Y. E., Kang, C. I., Peck, K. R., Lee, N. Y., & Song, J. H. (2015). Genotype-specific prevalence of heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in Asian countries. *Int J Antimicrob Agents, 46*(3), 338-341. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2015.03.009

Courvalin, P. (2006). Vancomycin resistance in gram-positive cocci. *Clin Infect Dis, 42 Suppl 1*, S25-34. https://doi.org/10.1086/491711

Cong, Y., Yang, S., & Rao, X. (2020). Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* infections: A review of case updating and clinical features. *J Adv Res, 21*, 169-176. https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.10.005

European Center for Disease Prevention and control (ECDC). (2019). Antimicrobial resistance tackling the burden in the European Union. *Eur Cent Dis Prev Control*, 1-20.

Ellsworth, B. A., Tom, N. J., & Bartlett, P. A. (1996). Synthesis and evaluation of inhibitors of bacterial D-alanine: D-alanine ligases. *Chem Biol, 3*(1), 37-44. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1074-5521(96)90082-4

Eze, N., Cecchini, M., & Hashiguchi, T. C. O. (2022). Antimicrobial resistance in long-term care facilities. https://doi.org/doi:https://doi.org/10.1787/e450a835-en

Gould, F. K., Brindle, R., Chadwick, P. R., Fraise, A. P., Hill, S., Nathwani, D., Ridgway, G. L., Spry, M. J., & Warren, R. E. (2009). Guidelines (2008) for the prophylaxis and treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections in the United Kingdom. *J Antimicrob Chemother, 63*(5), 849-861. https://doi.org/10.1093/jac/dkp065

Griffith, R. S. (1984). Vancomycin use--an historical review. *J Antimicrob Chemother, 14 Suppl D*, 1-5. https://doi.org/10.1093/jac/14.suppl_d.1

Haaber, J., Penadés, J. R., & Ingmer, H. (2017). Transfer of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol, 25*(11), 893-905. https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.05.011

Hiramatsu, K., Hanaki, H., Ino, T., Yabuta, K., Oguri, T., & Tenover, F. C. (1997). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother, 40*(1), 135-136. https://doi.org/10.1093/jac/40.1.135

Holden, M. T., Lindsay, J. A., Corton, C., Quail, M. A., Cockfield, J. D., Pathak, S., Batra, R., Parkhill, J., Bentley, S. D., & Edgeworth, J. D. (2010). Genome sequence of a recently emerged, highly transmissible, multi-antibiotic- and antiseptic-resistant variant of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, sequence type 239 (TW). *J Bacteriol, 192*(3), 888-892. https://doi.org/10.1128/JB.01255-09

Imwattana, K., Bhumiwat, P., Vorathongchai, T., Kongurai, W., & Kiratisin, P. (2019). High prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal colonization among Thai medical students. *J Med Assoc Thail, 102*, 489-492.

Kawamura, K., Kitaoka, K., Kimura, K., Wachino, J. I., Kondo, T., Iinuma, Y., Murakami, N., Fujimoto, S., & Arakawa, Y. (2019). Spread of Seb-Positive Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* SCC*mec* Type II-ST764 among elderly Japanese in nonacute care settings. *Microb Drug Resist, 25*(6), 915-924. https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0337

Kitti, T., Boonyonying, K., & Sitthisak, S. (2011). Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among University students in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health, 42*(6), 1498-1504.

Lawung, R., Chuong, L. V., Cherdtrakulkiat, R., Srisarin, A., & Prachayasittikul, V. (2014). Revelation of staphylococcal cassette chromosome *mec* types in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from Thailand and Vietnam. *J Microbiol Methods, 107*, 8-12. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mimet.2014.08.024

Li, J., Cheng, W., Xu, L., Strong, P. J., & Chen, H. (2015). Antibiotic-resistant genes and antibiotic-resistant bacteria in the effluent of urban residential areas, hospitals, and a municipal wastewater treatment plant system. *Environ Sci Pollut Res Int, 22*(6), 4587-4596.https://doi.org/10.1007/s11356-014-3665-2

Li, S., Sun, J., Zhang, J., Li, X., Tao, X., Wang, L., Sun, M., Liu, Y., Li, J., Qiao, Y., Yu, S., Yao, K., Yang, Y., & Shen, X. (2014). Comparative analysis of the virulence characteristics of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains isolated from Chinese children: ST59 MRSA highly expresses core gene-encoded toxin. *Apmis, 122*(2), 101-114. https://doi.org/10.1111/apm.12105

Limbago, B. M., Kallen, A. J., Zhu, W., Eggers, P., McDougal, L. K., & Albrecht, V. S. (2014). Report of the 13th vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate from the United States. *J Clin Microbiol, 52*(3), 998-1002. https://doi.org/10.1128/jcm.02187-13

Lindsay, J. A. (2010). Genomic variation and evolution of *Staphylococcus aureus*. *Int J Med Microbiol, 300*(2-3), 98-103. https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2009.08.013

Lodise, T. P., Graves, J., Evans, A., Graffunder, E., Helmecke, M., Lomaestro, B. M., & Stellrecht, K. (2008). Relationship between vancomycin MIC and failure among patients with

methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia treated with vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother, 52*(9), 3315-3320. https://doi.org/10.1128/aac.00113-08

Malachowa, N., & DeLeo, F. R. (2010). Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. *Cell Mol Life Sci, 67*(18), 3057-3071. https://doi.org/10.1007/s00018-010-0389-4

Maree, M., Thi Nguyen, L. T., Ohniwa, R. L., Higashide, M., Msadek, T., & Morikawa, K. (2022). Natural transformation allows transfer of SCC*mec*-mediated methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* biofilms. *Nat. Commun., 13*(1), 2477. https://doi.org/10.1038/s41467-022-29877-2

Mirhoseini, S. H., Nikaeen, M., Shamsizadeh, Z., & Khanahmad, H. (2016) Hospital air: A potential route for transmission of infections caused by β-lactam–resistant bacteria. *Am J Infect Control, 44*(8), 898-904. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ajic.2016.01.041

Nakaminami, H., Noguchi, N., Ito, A., Ikeda, M., Utsumi, K., Maruyama, H., Sakamoto, H., Senoo, M., Takasato, Y., & Nishinarita, S. (2014). Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from tertiary care hospitals in Tokyo, Japan. *J Infect Chemother, 20*(8), 512-515. https://doi.org/10.1016/j.jiac.2014.03.006

Norchaleun, B., Wilailuckana, C., Hongsrichan, N., Kaewkes, W., Wilachai, C., Lulitanond, A., Chanawong, A., Pitak, P., Bourpoern, J., & Poldongnauk, S. (2010). Recognition of major methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clones by molecular surveillance in Srinagarind Hospital, Khon Kaen. *Arch. AHS., 22*(1), 26-36. https://he01.tci-thaijo.org/index.php/ams/article/view/66212

Novick, R. P., & Subedi, A. (2007). The SaPIs: mobile pathogenicity islands of *Staphylococcus*. *Chem Immunol Allergy, 93*, 42-57. https://doi.org/10.1159/000100857

Otsuka, T., Zaraket, H., Fujii, K., Masuda, Y., Komiyama, K., Ishikawa, Y., Shirai, T., Iwaya, A., & Okazaki, M. (2012). Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from children in a community with low antimicrobial pressure in Japan. *Jpn J Infect Dis, 65*(6), 483-488. https://doi.org/10.7883/yoken.65.483

Pawlak, J., & Johnson, L. B. (2012). *In vitro* susceptibilities and molecular analysis of vancomycin-intermediate and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* Isolates. *Clin. Infect. Dis., 55*(4), 582-586. https://doi.org/10.1093/cid/cis492

Périchon, B., & Courvalin, P. (2009). VanA-type vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother, 53*(11), 4580-4587. https://doi.org/10.1128/aac.00346-09

Phokhaphan, P. (2017). Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and factors associated with clinical outcomes in MRSA-infected patients at Thammasat University Hospital, Thailand, August 2012–July 2015. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, *48*, 351-359

Phokhaphan, P., Tingpej, P., Apisarnthanarak, A., & Kondo, S. (2017). Prevalence and antibiotic susceptiblity of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, collected at Thammasat University Hospital, Thailand, August 2012 - July 2015. *Southeast Asian J Trop Med Public Health, 48*(2), 351-359. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29642297

Pitz, A. M., Yu, F., Hermsen, E. D., Rupp, M. E., Fey, P. D., & Olsen, K. M. (2011). Vancomycin susceptibility trends and prevalence of heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in clinical methicillin-resistant *S. aureus* isolates. *J Clin Microbiol, 49*(1), 269-274. https://doi.org/10.1128/JCM.00914-10

Ram, G., Chen, J., Kumar, K., Ross, H. F., Ubeda, C., Damle, P. K., Lane, K. D., Penadés, J. R., Christie, G. E., & Novick, R. P. (2012). Staphylococcal pathogenicity island interference with helper phage reproduction is a paradigm of molecular parasitism. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 109*(40), 16300-16305. https://doi.org/doi:10.1073/pnas.1204615109

Rodrigues, D. O., Peixoto, L. d. P., Barros, E. T. M., Guimaraes, J. R., Gontijo, B. C., Almeida, J. L., Azevedo, L. G. d., Lima, J. C. O. e., & Camara, D. S. (2020). Epidemiology of bacterial contamination of inert hospital surfaces and equipment in critical and non-critical care units: A Brazilian Study. *Microbiol Res J Int, 30*(7), 31-43. https://doi.org/10.9734/mrji/2020/v30i730237

Ruiz, J., Ramirez, P., Concha, P., Salavert-Lletí, M., Villarreal, E., Gordon, M., Frasquet, J., & Castellanos-Ortega, Á. (2018). Vancomycin and daptomycin minimum inhibitory concentrations as a predictor of outcome of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *J Glob Antimicrob Resist, 14*, 141-144. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.03.007

Saha, B., Singh, A. K., Ghosh, A., & Bal, M. (2008). Identification and characterization of a vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from Kolkata (South Asia). *J Med Microbiol, 57*(1), 72-79. https://doi.org/https://doi.org/10.1099/jmm.0.47144-0

Shindia, A. A., Ragab, F. A., & Nasrat, H. M. (2011). Emergence of high-level vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in the critical care patients Cairo University Hospitals. *Aust J Basic & Appl Sci, 5*, 1281-1290.

Siddiqui, A. H., & Koirala, J. (2023). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. In *StatPearls*. StatPearls Publishing

Sova, M., Čadež, G., Turk, S., Majce, V., Polanc, S., Batson, S., Lloyd, A. J., Roper, D. I., Fishwick, C. W. G., & Gobec, S. (2009). Design and synthesis of new hydroxyethylamines as inhibitors of D-alanyl-D-lactate ligase (*vanA*) and D-alanyl-D-alanine ligase (*ddlB*). *Bioor. Med Chem, 19*(5), 1376-1379. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.01.034

Sudaluck, T., Tanit, B., Unchalee, V., Wichai, S., Sirachat, N., Adisak, N., Arunee, S., Piyanate, K., Sawayot, R., & Nitchatorn, S. (2022, 11/16). Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and other Staphylococcal nasal carriages among healthcare workers, Phramongkutklao Hospital. *J Southeast Asian Med Res*, 6(0).

Kondo, S., Phokhaphan, P., Tongsima, S., Ngamphiw, C., Phornsiricharoenphant, W., Ruangchai, W., Disratthakit, A., Tingpej, P., Mahasirimongkol, S., & Lulitanond, A. (2022). Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* genotype ST764-SCC *mec* type II in Thailand. *Sci Rep, 12*(1), 2085.

Sutthamee, P., Thaiderm, A., Wongthong, S., Srisrattakarn, A., Wonglakorn, L., Puang-Ngern, P., Tavichakorntrakool, R., Chanawong, A., & Lulitanond, A. (2019). SCC*mec* types of

methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in 2010, 2015 and 2016 from patients of Srinagarind Hospital, Khon Kaen Province. *Arch Med Health Sci., 31*(2), 140-149. https://he01.tci-thaijo.org/index.php/ams/article/view/210626

Thean, L. J., Jenney, A., Engelman, D., Romani, L., Wand, H., Mani, J., Paka, J., Cua, T., Taole, S., Soqo, V., Sahukhan, A., Kama, M., Tuicakau, M., Kado, J., Carvalho, N., Whitfeld, M., Kaldor, J., & Steer, A. C. (2021). Prospective surveillance for invasive *Staphylococcus aureus* and group A Streptococcus infections in a setting with high community burden of scabies and impetigo. *Int J Infect Dis, 108*, 333-339. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.05.041

Tiwari, H. K., & Sen, M. R. (2006). Emergence of vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) from a tertiary care hospital from northern part of India. *BMC Infect Dis., 6*, 1-6.

van Hal, S. J., Jensen, S. O., Vaska, V. L., Espedido, B. A., Paterson, D. L., & Gosbell, I. B. (2012). Predictors of mortality in *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Microbiol Rev, 25*(2), 362-386. https://doi.org/10.1128/cmr.05022-11

Waitayangkoon, P., Thongkam, A., Benjamungkalarak, T., Rachayon, M., Thongthaisin, A., Chatsuwan, T., Thammahong, A., & Chiewchengchol, D. (2020). Hospital epidemiology and antimicrobial susceptibility of isolated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a one-year retrospective study at a tertiary care center in Thailand. *Pathog Glob Health, 114*(4), 212-217. https://doi.org/10.1080/20477724.2020.1755550

Walsh, C. T., Fisher, S. L., Park, I. S., Prahalad, M., & Wu, Z. (1996). Bacterial resistance to vancomycin: five genes and one missing hydrogen bond tell the story. *Chem Biol, 3*(1), 21-28. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1074-5521(96)90079-4

Wertheim, H. F., Melles, D. C., Vos, M. C., van Leeuwen, W., van Belkum, A., Verbrugh, H. A., & Nouwen, J. L. (2005). The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis, 5*(12), 751-762. https://doi.org/10.1016/s1473-3099(05)70295-4

สุมาลี คอนโด. (2561). เชื้อดื้อยาเมธิซิลลิน: สแตฟฟิโลคอกคัส ออเรียส กับบทบาทของห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิค. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

บทที่ 4

กลไกการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*

เชื้อ *S. aureus* เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในคนโดยไม่ก่อโรค พบว่าเชื้อ *S. aureus* โคโลไนซ์ในคนที่มีสุขภาพดีพบได้ประมาณร้อยละ 20-40 อย่างไรก็ตามเชื้อ *S. aureus* ยังเป็นสาเหตุที่ก่อโรคติดเชื้อได้ทั้งที่เป็นการติดเชื้อในชุมชนและการติดเชื้อในโรงพยาบาล ทำให้เกิดการติดเชื้อที่ผิวหนังที่ไม่มีอาการรุนแรงและติดเชื้อที่มีอาการรุนแรง จนถึงขั้นเสียชีวิตได้ ยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *S. aureus* มีหลายชนิด ซึ่งมีกลไกการต้านเชื้อของยาต้านจุลชีพด้วยการยับยั้งกระบวนการที่สำคัญต่างๆของแบคทีเรีย ได้แก่ การสังเคราะห์ผนังเซลล์ การสังเคราะห์ดีเอ็นเอ การสังเคราะห์โปรตีน กระบวนการทรานสเลชั่น (Transcription) และกระบวนการเมตาโบลิซึม การพัฒนายาต้านจุลชีพใหม่เพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่มีการดื้อยาต้านจุลชีพต่างๆ จำเป็นต้องทราบกลไกการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียเพื่อให้การใช้ยาต้านจุลชีพที่ผลิตมีประสิทธิภาพในการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อ

รายชื่อกลุ่มยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อสายพันธุ์ *S. aureus* มีดังนี้คือ

1. กลุ่มยาต้านจุลชีพที่ยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์: β-lactams (penicillinase sensitive), β-lactams + β-lactamase inhibitors, β-lactams (penicillinase resistant), Cephalosporins, Carbapenems, Glycopeptides, Lipoglycopeptides, Phosphonic acid, Lipopeptide
2. กลุ่มยาต้านจุลชีพที่ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน: Oxazolidinones, Macrolides, Streptogramins, Lincosamides, Chloramphenicols, Pleuromutilins, Aminoglycosides, Tetracyclines, Glycylcyclines, Pseudomonic acid, Fusidic acid
3. กลุ่มยาต้านจุลชีพที่ยับยั้งการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ: Fluoroquinolones
4. กลุ่มยาต้านจุลชีพที่ยับยั้งกระบวนการ Transcription: Rifamycins
5. กลุ่มยาต้านจุลชีพที่ยับยั้งกระบวนการเมตาโบลิซึม: Trimethoprim, Sulfonamides

ยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus* ชนิดแรกคือยาเพนิซิลลิน (penicillin) ซึ่งค้นพบโดย Alexander Fleming ในปี ค.ศ. 1928 ได้มีอุบัติการณ์การดื้อยาเพนิซิลลินจากการที่มีการใช้ยาอย่างมาก ซึ่งเป็นสาเหตุให้เชื้อแบคทีเรียกลายพันธุ์สามารถผลิตเอนไซม์ที่ชื่อว่าเพนิซิลินเนส (penicillinase) หรือ “เบต้าแลคทาเมส (β-lactamase) ซึ่งสามารถทำลายโครงสร้างวงแหวนเบต้าแลคแตม (β-lactam ring) ของยานี้ได้ และทำให้ยารักษาไม่ได้ผล ในช่วงปี 1950s (Gaynes, 2017)

เมื่อมีการดื้อยาเพนนิซิลลินได้มีการพัฒนาต้านจุลชีพชนิดใหม่คือยาชื่อ เมธิซิลลิน (methicillin) ซึ่งเป็นยาเบต้าแลคแตมกึ่งสังเคราะห์ (semi-synthetic β-lactam) แต่อีกไม่นานเพียงระยะเวลา 6 เดือน ได้พบว่ามีเชื้อ *S. aureus* ดื้อต่อยาเมธิซิลลิน “Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA)” ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1961 สายพันธุ์ดื้อยาเมธิซิลลินได้มีการพัฒนาให้กลายพันธุ์เป็นสายพันธุ์ที่ดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิดเพิ่มขึ้น (Multidrug-resistant MRSA) รวมถึงการดื้อต่อยากลุ่มเบต้าแลคแตมอื่นๆ เช่น กลุ่มยา penicillins, cephalosporins และ carbapenems

ยีนดื้อยา “*mecA*” ในสายพันธุ์ของเชื้อ MRSA ทำหน้าที่ในการควบคุมการสร้าง Penicillin-binding protein (PBP2a หรือ PBP2’) เป็นกลไกของการดื้อยาเมธิซิลลิน PBP2a หรือ PBP2’ มีคุณสมบัติที่ทำให้การจับของยาเมธิซิลลินกับเซลล์แบคทีเรียได้น้อย ยาเมธิซิลลินจึงไม่สามารถออกฤทธิ์ทำลายเชื้อได้ เชื้อ MRSA ได้แพร่กระจายการติดต่อเชื้อดื้อยาในโรงพยาบาลทั่วโลกอย่างต่องเนื่องจนถึงปัจจุบัน หากแต่มีแนวโน้มที่ลดลง จากการที่มีการเฝ้าระวังและควบคุมป้องกันอย่างเข้มงวด

เมื่อมีการเพิ่มขึ้นของการดื้อยาต้านจุลชีพอื่นๆในเชื้อ MRSA จึงได้มีการพัฒนาต้านจุลชีพชนิดใหม่เพื่อการรักษาผู้ติดเชื้อ MRSA ที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายขนาน คือยาแวนโคมายซิน (Vancomycin) ซึ่งในเวลาต่อมาได้มีเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ที่มีค่าความเข้มข้นที่ต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ คือ 4–8 µg/ml “Vancomycin intermediate *S. aureus* (VISA)” พบครั้งแรกประเทศญี่ปุ่น (Hiramatsu et al., 1997) จากการที่ผู้ป่วยได้รับยาแวนโคมายซินเป็นเวลาน้อย และสายพันธุ์ Vancomycin resistant *S. aureus* (VRSA) ที่ยับยั้งได้ที่ความเข้มข้นสูง 16-64 µg/ml ในประเทศสหรัฐอเมริกา (Limbago et al., 2014) เนื่องจากเชื้อ *S. aureus* สามารถปรับตัวในสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างได้ดี เชื้อ *S. aureus* จากอุบัติการณ์การดื้อยาเพนิซิลลินและเมธิซิลลินของเชื้อ *S. aureus* ที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วหลังจากที่มียาต้านจุลชีพดังกล่าวในศตวรรษที่ 20 ทำให้มีปัญหาการรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus* ต่อมาเชื้อ *S. aureus* พบว่ามีการดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิด (Multiple resistant *S. aureus*) ซึ่งเป็นปัญหาสาธารณสุขทั่วโลก ทำให้การรักษาผู้ป่วยให้ได้ตามเป้าหมายได้ยากขึ้น ผู้ป่วยต้องรักษาในโรงพยาบาลในระยะเวลานานขึ้น ส่งผลให้บุคลากรทางการแพทย์ต้องดูแลผู้ป่วยติดเชื้อที่ต้องรักษาในโรงพยาบาลอย่างใกล้ชิดมากขึ้น รวมถึงค่าใช้จ่ายในการรักษาที่สูงขึ้น และการที่สายพันธุ์ *S. aureus* มี Mobile Genetic Elements ที่สามารถช่วยให้มีการถ่ายทอดยีนดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิดไปยังสายพันธุ์อื่นๆได้รวดเร็ว จึงทำให้มีการเพิ่มของการแพร่ระบาดของเชื้อดื้อยาอย่างรวดเร็ว อย่างไรก็ตามการติดเชื้อ *S. aureus* ที่มีการดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิด ยังคงมียาต้านจุลชีพที่ยังมีประสิทธิภาพในการรักษาได้คือ แวนโคมายซิน

4.1 กลไกการดื้อยาต้านจุลชีพ

กลไกของเชื้อจุลชีพที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพในกลุ่มเชื้อแบคทีเรียแกรมลบมี 4 กลไก สำหรับในกลุ่มเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกใช้กลไกการดื้อยาการจำกัดยาต้านจุลชีพที่เข้าสู่เซลล์น้อยกว่าเนื่องจากไม่มี Lipopolysaccharide และเยื่อหุ้มเซลล์ด้านนอก และไม่มีกลไก Efflux pump (Reygaert, 2018) และรายละเอียดยาต้านจุลชีพชนิดต่างๆในการต้านเชื้อแบคทีเรียและกลไกการยับยั้งได้มีการจัดกลุ่มตามโครงสร้างทางเคมีและเป้าหมายของยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์แตกต่างกัน (Reygaert, 2018)Joseph et al., 2021; Ma et al., 2020) ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4

1. กลไกจากการที่เชื้อจุลชีพเปลี่ยนแปลงผนังเซลล์ด้านนอก เช่น แบคทีเรียแกรมลบซึ่งมีผนังเซลล์ด้านนอกป้องกันไม่ให้ยาต้านจุลชีพเข้าสู่ภายในเซลล์ กล่าวคือผนังเซลล์ในกลุ่มเชื้อแบคทีเรียแกรมลบประกอบด้วยเยื่อหุ้มเซลล์สองชั้น ซึ่งมี Porins หลายชนิด คือ OmpA, OmpC, OmpF, OmpW, และ OmpX ซึ่งมีบทบาทในการขนส่งสารต่างๆรวมถึงยาต้านจุลชีพผ่านผนังเซลล์ โดยที่ porins ชนิดต่างๆที่พบสัมพันธ์กับความสามารถของยาต้านจุลชีพในการผ่านเข้าสู่เซลล์ (drug permeability) และความแข็งแรงของผนังเซลล์ (membrane integrity) (Zhou et al., 2023) Porins หลากหลายชนิดมีความเกี่ยวข้องกับการผ่านเข้าสู่เซลล์และขนส่งชนิดของยาต้านจุลชีพที่แตกต่างกัน

2. กลไกจากการที่เชื้อจุลชีพกำจัดยาต้านจุลชีพที่เข้าสู่เซลล์โดยใช้ Efflux Pumps ในผนังเซลล์ ตัวอย่างที่พบในเชื้อ *P. aeruginosa* เพื่อกำจัดยาต้านจุลชีพ เช่น ยาในกลุ่ม fluoroquinolones, beta-lactams, chloramphenicol และ trimethoprim

3. กลไกจากการที่เชื้อจุลชีพทำลายยาต้านจุลชีพด้วยเอนไซม์ หรือโปรตีน เช่น *K. pneumoniae* ที่ผลิตเอนไซม์ carbapenemases ทำลาย carbapenem และยากลุ่มเบต้าแลคแตม

4. กลไกจากการที่เชื้อจุลชีพเปลี่ยนตำแหน่งการทำลายโดยยาต้านจุลชีพที่ผลิตมาเพื่อทำลายส่วนเฉพาะของเชื้อแบคทีเรีย เช่น *E. coli* ที่มียีน *mcr*-1 สามารถเติมส่วนประกอบของผนังเซลล์ ทำให้ยา colistin ไม่สามารถจับกับตำแหน่งการทำลายของยาได้ นอกจากนี้การดื้อยาด้วยกลไกของเชื้อจุลชีพโดยการพัฒนากระบวนการใหม่ของเซลล์ที่หลีกเลี่ยงตำแหน่งเฉพาะสำหรับการทำลายของยาต้านจุลชีพ เช่นในเชื้อ *S. aureus* ที่ดื้อยา trimethoprim พบ mutation ของยีน *dfr* ซึ่งทำให้เกิดการแทนที่ของ amino acid จาก Phe98 เป็น Tyr98 ในโมเลกุลของ dihydrofolate reductase ทำให้ยา trimethoprim ไม่สามารถจับกับตำแหน่งที่จะทำลายเชื้อนี้ได้ (Dale et al., 1997)

ตารางที่ 4 กลไกการต้านเชื้อจุลชีพ

กลไกการต้านเชื้อจุลชีพ		กลุ่มยาต้านจุลชีพ
ยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์		Cycloserine Fosfomycin Vancomycin Bacitracin Beta-lactams: Penicillins, Cephalosporins Monobactam Carbapenem
ยับยั้งการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ		
1.	DNA gyrase	Fluoroquinolones เช่น Nalidixic acid, Ciprofloxacin และ Novobiocin
2.	RNA elongation	Actinomycin
3.	DNA-directed RNA polymerase	Rifampin, Streptovaricins

ตารางที่ 4 (ต่อ) กลไกการต้านเชื้อจุลชีพ

กลุ่มยาต้านจุลชีพ	กลุ่มยาต้านจุลชีพ
ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน	
1. 30S inhibitors	Tetracyclines Aminoglycosides เช่น Gentamicin, Amikacin, Streptomycin Spectinomycin, Nitrofurans
2. 50S inhibitors	Erythromycin (macrolides) Chloramphenicol Clindamycin Lincomycin
3. tRNA	Mupirocin Puromycin
ยับยั้งขบวนการเมตาบอลิซึม (Folic acid metabolism)	Trimethoprim Sulfonamides
ทำลายโดยการเพิ่มการผ่านผนังเซลล์เมมเบรน (Cytoplasmic membrane structure)	Polymyxins Daptomycin

4.2 กลไกการดื้อยาแวนโคมายซินและการถ่ายทอดยีนดื้อยา

กลไกการถ่ายทอดยีนดื้อยาแวนโคมายซินของเชื้อ Enterococci ควบคุมโดย transposon ซึ่งอยู่บนพลาสมิด (plasmid) จากลักษณะการถ่ายทอดยีนดื้อยาโดยพลาสมิด ทำให้ต้องตระหนักถึงความเสี่ยงของการแพร่กระจายของยีนดื้อยาที่จะมีเพิ่มขึ้น โดยเกิดการถ่ายทอดยีนดื้อยานี้สู่สายพันธุ์ที่สำคัญที่ไวต่อยาต้านจุลชีพโดยเฉพาะเชื้อ *S. aureus* และยังได้มีการยืนยันถ่ายทอดยีนดื้อยาแวนโคมายซินจากการศึกษาพบว่ายีน *van* จากเชื้อ *Enterococcus faecalis* สามารถถ่ายทอดยีนดื้อยา *van* ไปยังสายพันธุ์ MRSA ได้ในหนูทดลอง (Noble et al., 1992)

มีรายงานการพบ VRSA ครั้งแรกที่เมืองมิชิแกน ประเทศสหรัฐอเมริกาในปี ค.ศ. 2002 และต่อมาที่เพนซิลวาเนียในปีเดียวกัน จากรายงานการพบเชื้อสายพันธุ์ VRSA 52 สายพันธุ์ที่มียีน *van* ซึ่งแยกเชื้อ VRE จากประเทศต่างๆ รวมถึง ประเทศสหรัฐอเมริกา (14 สายพันธุ์) อินเดีย (16 สายพันธุ์) อิหร่าน (11 สายพันธุ์) ปากีสถาน (9 สายพันธุ์) บราซิล (1 สายพันธุ์) และโปรตุเกส (1 สายพันธุ์) (Cong et al., 2020)

กลไกการดื้อยาแวนโคมายซินได้มีคำอธิบายอย่างชัดเจนและมีนัยสำคัญต่อการแพร่ระบาด หากแต่จำนวนที่รายงานการพบสายพันธุ์แบคทีเรียอื่นๆที่ได้รับการถ่ายทอดยีนดื้อยา *van* ยังมีจำนวนน้อย ยีนดื้อยาแวนโคมายซินส่วนใหญ่พบในกลุ่มเชื้อ *Enterococcus* จึงนับว่าเชื้อกลุ่มนี้เป็นแหล่งเก็บสำคัญของยีนดื้อยา *van* ที่สามารถถ่ายทอดยีนดื้อยาไปยังเชื้อแบคทีเรีย species อื่นๆโดยการถ่ายทอดแบบแนวนอน (Horizontal gene transfer) ด้วยวิธี conjugation จากการที่พบว่า เชื้อ *Enterococcus* มีพลาสมิดที่เรียกว่า Inc18 incompatibility conjugative plasmid แต่ไม่พบ*ใน Staphylococcus* spp. และ Inc18 ประกอบด้วยพลาสมิดที่เหมือน pSK41 ที่มียีนดื้อยาหลายชนิด (pSK41-like multi-resistant conjugative plasmids) และพลาสมิดเหล่านี้สามารถถ่ายทอดจาก *E. faecalis* ไปยัง *S. aureu*s (Zhu et al., 2013)

การดื้อยาแวนโคมายซินที่ควบคุมโดย *vanA* operon พบได้ในแบคทีเรียก่อโรค เช่น *E. faecalis*, *E. faecium*, *S. aureus* และ *Clostridium difficile*, glycopeptide-producing Actinomycetes (*Amycolotopsis orientalis*, *Actinoplanes teichomyceticus* และ *Streptomyces toyocaensis*), anaerobic bacterium ที่เป็นเชื้อประจำถิ่นในลำไส้ของคน เช่น *Ruminococcus* species และ *Paenibacillus popilliae* ซึ่งเป็นสารกำจัดศัตรูพืชชีวภาพ (biopesticide) ซึ่งเชื้อดังกล่าวมีศักยภาพในการทำให้เกิดการถ่ายทอดยีนดื้อยา *van* ไปยังเชื้อที่ก่อโรคในคนได้

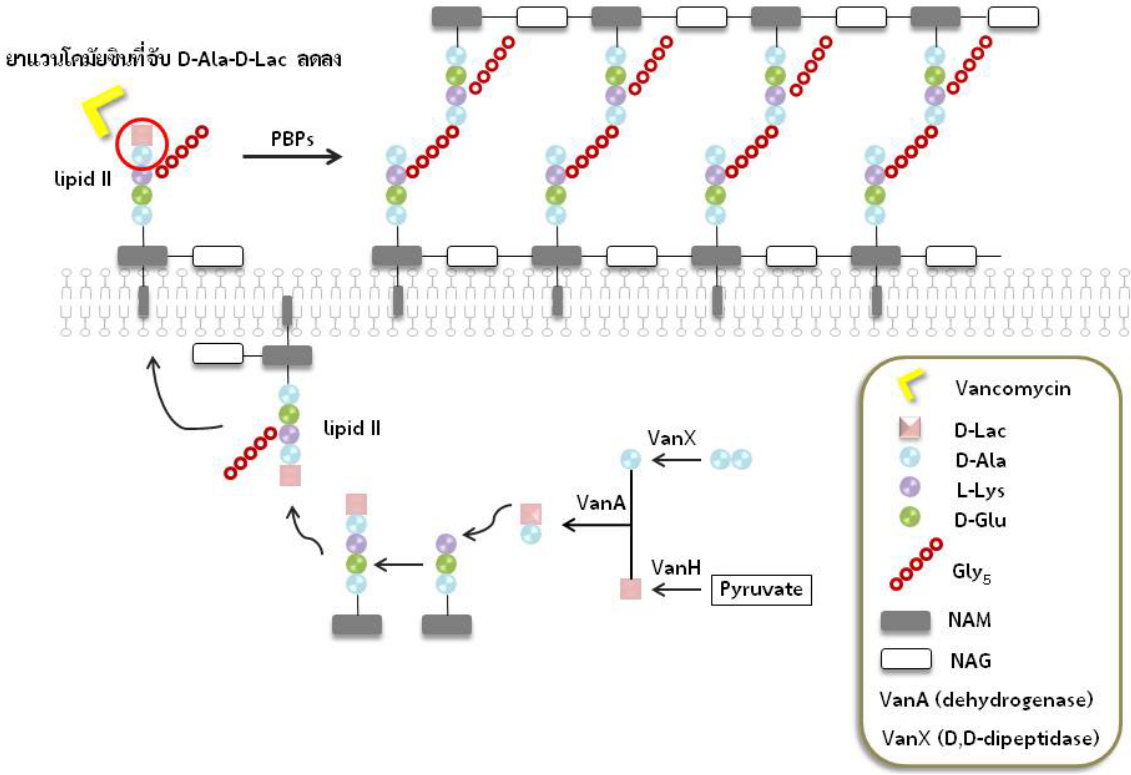
ยีนดื้อยาแวนโคมายซินได้ถูกแบ่งออกเป็น *van* หลายกลุ่ม (van gene cluster) โดยใช้ลำดับเบสของยีน *van* ซึ่งควบคุมเอนไซม์สำหรับการสังเคราะห์ของ D-alanyl–D-lactate (D-Ala–D-Lac) หรือ D-alanyl–D-serine (D-Ala–D-Ser) โดยมียีน *van* ที่ค้นพบมีทั้งหมด 11 ยีนที่มีฟีโนไทป์ดื้อยาแวนโคมายซิน ได้แก่

VanA, VanB, VanD, Van F, VanI, VanM, VanC, VanE, VanG, VanL และ VanN ในเชื้อ *Enterococcus* มีเพียง *vanA* ที่มีรายงานในสายพันธุ์ VRSA (Werner et al., 2008)

ยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ D-Alanyl-D-Lac ligases ได้แก่ *vanA*, *vanB*, *vanD*, *van F*, *vanI* และ *vanM* ที่มีผลทำให้ค่า MIC ของยาแวนโคมายซินสูงมากกว่า 256 µg/ml สำหรับยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ควบคุมการสร้างเอนไซม์ D-Ala-D-Ser ligases คือยีน *vanC*, *vanE*, *vanG*, *vanL* และ *vanN* มีค่า MIC ของยาแวนโคมายซิน 8 µg/ml กลไกการดื้อยาแวนโคมายซินควบคุมด้วย vanA operon ซึ่งอยู่บนสารพันธุกรรมที่เคลื่อนที่ได้ (transposon, mobile genetic element, Tn*1546*) โดยมีโปรตีน 5 ชนิดที่จำเป็นในกลไกของการดื้อยาแวนโคมายซินคือ VanS, VanR, VanH, VanA และ VanX ซึ่งควบคุมการสร้างโดยกลุ่มยีน *vanA* (*vanA* gene cluster) (Arun Kumar et al., 2021)

หน้าที่ของยีนที่สังเคราะห์โปรตีน 5 ชนิดในกลไกของการดื้อยาแวนโคมายซิน ดังนี้คือ VanS และ VanR ร่วมกันควบคุมการทำงานของกลุ่มยีน *van* เมื่อมีการใช้ยาแวนโคมายซิน VanH, VanA, และ VanX ทำหน้าที่เปลี่ยน D-Ala-D-Ala สารตั้งต้นของผนังเซลล์ที่ไวต่อยาแวนโคมายซิน เป็น D-Ala-D-Lac ที่ดื้อต่อยาแวนโคมายซิน โดยมี VanH ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ dehydrogenase เพื่อเปลี่ยน pyruvate เป็น D-Lac และ VanX ทำหน้าที่ผลิต D,D-dipeptidase ที่ใช้ในการ hydrolyze สารตั้งต้น D-Ala–D-Ala และป้องกันการสังเคราะห์และ cross-linking ของ peptidoglycans โดย VanA ทำการสังเคราะห์ D-Ala-D-Lac แทนที่ D-Ala–D-Ala ที่ใช้ในการสังเคราะห์ peptidoglycan จากนั้นการเปลี่ยนแปลงเป็น D-Ala–D-Lac ทำให้การจับของยาแวนโคมายซินลดลงเกือบ 1000 เท่า ทำให้ยาแวนโคมายซินไม่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ ดังแสดงในภาพที่ 4

จากรายงานก่อนหน้าพบว่า Tn*1546* transposon ที่อยู่บนพลาสมิดของ VRSA ไม่เสถียร ดังนั้นลักษณะฟีโนไทป์ที่แสดงของยีนดื้อยาแวนโคมายซินในหลายสายพันธุ์ที่พบว่าเมื่อมีการเพาะเชื้อ (subculture) 2 ครั้ง ทำให้เชื้อแบคทีเรียเปลี่ยนลักษณะฟีโนไทป์จากดื้อยาแวนโคมายซินเป็นสายพันธุ์ที่แสดงลักษณะฟีโนไทป์ที่ลดระดับของการดื้อยาแวนโคมายซินลง (Périchon et al., 2009)



ภาพที่ 4 กลไกการดื้อยาแวนโคมายซินของเชื้อ *S. aureus*

(D-Ala: D-Alanine; D-lac: D-lactate; L-Lys: L-Lysine; D-Glu; D-glutamate; Gly5: Pentaglycine; NAM: N-acetylmuramic acid; NAG: N-acetylglucosamine)

(ดัดเปลงจาก Cong et al., 2020)

การติดเชื้อที่เกิดจาก VRSA ยังพบได้น้อย หากแต่มีอุบัติการณ์และการแพร่ระบาดที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วของเชื้อ *Enterococci* ที่ดื้อยาแวนโคมายซินมีความโดดเด่นกว่าที่พบการแพร่ระบาดของ VRSA โดยมีสมมุติฐานของสาเหตุที่ยังมีรายงานที่พบการติดเชื้อ VRSA ในผู้ป่วยจำนวนน้อยดังนี้ (Corvaglia et al., 2010; Waldron et al., 2006)

1. ในสายพันธุ์ *S. aureus* มี restrictive modification systems 2 ระบบ คือ SauI และ type III-like restriction system ที่ขัดขวางการถ่ายทอดยีนดื้อยาจากเชื้อสายพันธุ์อื่นสู่เชื้อสายพันธุ์ *S. aureus* และควบคุมการแพร่กระจายของยีนดื้อยาระหว่างสายพันธุ์ที่มาจากเผ่าพันธุ์ (lineages) ที่แตกต่างกันของสายพันธุ์ *S. aureus*

2. การใช้ยาแวนโคมายซินอย่างจำกัด กล่าวคือ ผลจากผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยยาแวนโคมายซินก่อนมีส่วนเกี่ยวข้องกับจำนวนผู้ป่วยที่ติดเชื้อ VRSA มีจำนวนมากที่สุด การใช้ยาแวนโคมายซินเป็นปัจจัยความเสี่ยงของการติดเชื้อและโคโลไนซ์ของเชื้อ VRE และทำให้เกิดอุบัติการณ์ใหม่ของ VRSA เมื่อมีการควบคุมการใช้ยาต้านจุลชีพทำให้การดื้อยาแวนโคมายซินลดลง

3. ข้อจำกัดการถ่ายทอดเชื้อ VRSA ในเชื้อ *S. aureus* การรายงานการติดเชื้อ VRSA ที่เพิ่มขึ้นพบว่ามาจากการถ่ายทอดกลุ่มยีน *van* จาก VRE ไปยัง *S. aureus* หากแต่การศึกษาระบาดวิทยาและการตรวจสอบในห้องปฏิบัติการได้ประเมินความเสี่ยงของการถ่ายทอด VRSA ไปยังผู้ป่วยอื่นๆ ชี้ให้เห็นว่าบุคลากรที่ให้การดูแลผู้ป่วยและญาติผู้ป่วยไม่พบว่ามีการถ่ายทอด VRSA ระหว่างกลุ่มคนดังกล่าว นอกจากนี้รายงานล่าสุดแสดงจำนวนเชื้อ VRSA 52 สายพันธุ์ที่พบทั่วโลก ได้ทำการทดสอบหายีน *van A* ด้วยวิธี Polymerase chain reaction (PCR) และแสดงข้อมูลของการติดเชื้อและการโคโลไนซ์ร่วมกันของเชื้อ VRE และ VRSA จึงแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการถ่ายทอดยีน *vanA* ได้เกิดขึ้นระหว่างเชื้อแบคทีเรียสองสายพันธุ์ที่ต่างจีนัสกัน (Cong, 2020)

บทสรุป

กลไกหลักของการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียคือ กลไกที่จำกัดปริมาณยาต้านจุลชีพที่เข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรีย กลไกการเปลี่ยนแปลงเป้าหมายการทำลายของยาต้านจุลชีพ กลไกการทำลายยาต้านจุลชีพ และกลไกการกำจัดยาต้านจุลชีพโดยใช้ Efflux pump ในผนังเซลล์ของแบคทีเรีย เมื่อเชื้อแบคทีเรียมีแนวโน้มดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิดมากขึ้น ความต้องการยาต้านจุลชีพใหม่ที่สามารถใช้ทดแทนยาต้านจุลชีพที่ไม่สามารถใช้ได้ผลในการรักษาจึงมีมากขึ้น ดังนั้นความเข้าใจถึงกลไกการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียจึงมีความสำคัญในการพัฒนายาต้านจุลชีพใหม่ๆที่มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากแบคทีเรียดื้อยา (Reygaert, 2018)

เชื้อ *S. aureus* ที่พบว่าเป็นปัญหาสาธารณสุขทั่วโลก ส่วนใหญ่เป็นเชื้อดื้อยาเมธิซิลลิน (MRSA) ที่ทำให้เกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาล (HA-MRSA) และในชุมชน (CA-MRSA) ซึ่งยังคงมีเพิ่มขึ้นทั่วโลก สายพันธุ์ MRSA ที่ระบาดส่วนใหญ่เป็นจีโนไทป์ชนิดเดียวกันในทวีปเอเชียที่ได้แพร่ระบาดไปในระหว่างประเทศ ซึ่งเป็นโคลนของเชื้อ MRSA เชื้อดื้อยา MRSA สามารถถ่ายทอดสายพันธุ์ที่มียีนดื้อยาไปสู่ผู้ป่วยได้จากการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในระหว่างการรักษาในโรงพยาบาล ดังที่มีรายงานในประเทศในเอเชีย เช่น ประเทศไต้หวัน ญี่ปุ่น เกาหลี และสิงคโปร์ (Chen et al., 2014; Ejaz et al., 2023; Nelwan et al., 2021)

นอกจากนี้สายพันธุ์ที่พบในประเทศไทยที่มีรายงาน รวมถึงรายงานที่ผู้นิพนธ์ได้ศึกษาพบว่าส่วนใหญ่เป็นจีโนไทป์ ST239 อย่างไรก็ตามงานวิจัยที่ศึกษาผู้นิพนธ์ที่ได้พบอุบัติการณ์ใหม่ของสายพันธุ์ ST764 เป็นรายงานครั้งแรกในประเทศไทย ซึ่งได้กล่าวถึงในบทที่ 3 แสดงให้เห็นว่าความเสี่ยงที่อาจก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลของสายพันธุ์ ST764 ได้เริ่มมีบทบาทสำคัญมากขึ้น เนื่องจากยังไม่เคยพบสายพันธุ์ ST764 นี้ในประเทศไทยที่ก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล จึงจำเป็นอย่างยิ่งในการจัดการวางแผนสำหรับมาตรการการเฝ้าระวัง การป้องกันและควบคุมการแพร่ระบาดที่มีประสิทธิภาพต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Arun K., P., & Roma, A. C. (2021). Antibiotic Resistant *Staphylococcus aureus*. In A. Amjad (Ed.), *Insights Into Drug Resistance in Staphylococcus aureus* (pp. Ch. 1). Intech. https://doi.org/10.5772/intechopen.100057

Chen, C. J., & Huang, Y. C. (2014, Jul). New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection in Asia. *Clin Microbiol Infect,* 20(7), 605-623. https://doi.org/10.1111/1469-0691.12705

Cong, Y., Yang, S., & Rao, X. (2020). Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* infections: A review of case updating and clinical features. *J Adv Res,* 21, 169-176. https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.10.005

Corvaglia, A. R., François, P., Hernandez, D., Perron, K., Linder, P., & Schrenzel, J. (2010). A type III-like restriction endonuclease functions as a major barrier to horizontal gene transfer in clinical *Staphylococcus aureus* strains. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.,* 107(26), 11954-11958. https://doi.org/doi:10.1073/pnas.1000489107

Dale, G. E., Broger, C., D'Arcy, A., Hartman, P. G., DeHoogt, R., Jolidon, S., Kompis, I., Labhardt, A. M., Langen, H., Locher, H., Page, M. G., Stüber, D., Then, R. L., Wipf, B., & Oefner, C. (1997). A single amino acid substitution in *Staphylococcus aureus* dihydrofolate reductase determines trimethoprim resistance. *J Mol Biol,* 266(1), 23-30. https://doi.org/10.1006/jmbi.1996.0770

Ejaz, M., Syed, M. A., Jackson, C. R., Sharif, M., & Faryal, R. (2023). Epidemiology of *Staphylococcus aureus* non-susceptible to vancomycin in South Asia. *Antibiotic,* 12(6), 972. https://www.mdpi.com/2079-6382/12/6/972

Gaynes R. The Discovery of penicillin—New insights after more than 75 years of clinical use. *Emerg Infect Dis*. 2017;23(5):849-853. doi:10.3201/eid2305.161556

Hiramatsu, K., Hanaki, H., Ino, T., Yabuta, K., Oguri, T., & Tenover, F. C. (1997). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother,* 40(1), 135-136. https://doi.org/10.1093/jac/40.1.135

Hutchings, M. I., Truman, A. W., & Wilkinson, B. (2019). Antibiotics: past, present and future. *Curr Opin Microbiol,* 51, 72-80. https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008

Limbago, B. M., Kallen, A. J., Zhu, W., Eggers, P., McDougal, L. K., & Albrecht, V. S. (2014). Report of the 13th vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate from the United States. *J Clin Microbiol,* 52(3), 998-1002. https://doi.org/10.1128/jcm.02187-13

Nelwan, E. J., Andayani, D., Clarissa, G., & Pramada, T. (2021). Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* infection post-liposuction in South Korea. *Cureus,* 13(4), e14357. https://doi.org/10.7759/cureus.14357

Périchon, B., & Courvalin, P. (2009). VanA-type vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother,* 53(11), 4580-4587. https://doi.org/10.1128/aac.00346-09

Reygaert, W. C. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiol,* 4(3), 482-501. https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.3.482

Waldron, D. E., & Lindsay, J. A. (2006). Sau1: a novel lineage-specific type I restriction-modification system that blocks horizontal gene transfer into *Staphylococcus aureus* and between *S. aureus* isolates of different lineages. *J Bacteriol,* 188(15), 5578-5585. https://doi.org/10.1128/jb.00418-06

Werner, G., Strommenger, B., & Witte, W. (2008). Acquired vancomycin resistance in clinically relevant pathogens. *Future Microbiol,* 3(5), 547-562. https://doi.org/10.2217/17460913.3.5.547

Zhou, G., Wang, Q., Wang, Y., Wen, X., Peng, H., Peng, R., Shi, Q., Xie, X., & Li, L. (2023). Outer membrane porins contribute to antimicrobial resistance in gram-negative bacteria. *Microorganisms,* 11(7), 1690. https://www.mdpi.com/2076-2607/11/7/1690

Zhu, W., Clark, N., & Patel, J. B. (2013). pSK41-like plasmid is necessary for Inc18-like *vanA* plasmid transfer from *Enterococcus faecalis* to *Staphylococcus aureus in vitro*. *Antimicrob Agents Chemother,* 57(1), 212-219. https://doi.org/10.1128/aac.01587-12

บทที่ 5

เทคนิคทางอณูชีววิทยาในการศึกษาลักษณะทางจีโนไทป์

5.1 การศึกษาลักษณะทางจีโนไทป์

การศึกษาลักษณะของสายพันธุ์แบคทีเรียแยกชนิดของสายพันธุ์ออกเป็นลักษณะฟีโนไทป์และจีโนไทป์ โดยวิธีการแยกชนิดที่เป็นแบบดั้งเดิม (Conventional Typing) ได้แก่ Conventional typing serotypes, biotype และ phage type ซึ่งมีการใช้เป็นเครื่องมือในการแยกชนิดของสายพันธุ์แบคทีเรียมาเป็นเวลานานแล้ว ในปัจจุบันจำเป็นต้องใช้วิธีการแยกชนิดที่เป็นการทดสอบลักษณะทางจีโนไทป์ของสายพันธุ์แบคทีเรียด้วยเทคนิคการทดสอบในระดับโมเลกุล เนื่องจากเป็นเทคนิคที่มีความจำเพาะมากกว่าและใช้เป็นข้อมูลในการสนับสนุนลักษณะฟีโนไทป์ที่เกี่ยวข้อง ตัวอย่างเช่น เชื้อแบคทีเรียหนึ่งสปีชีส์อาจมี subtype หรือ subpopulation มากมาย โดยที่หนึ่งในจำนวน subtype หรือ subpopulation นั้นอาจมีคุณสมบัติก่อโรคได้มากกว่าชนิดอื่น ดังนั้นการศึกษาทดสอบหาลักษณะทางจีโนไทป์ด้วยเทคนิคขั้นสูงในระดับโมเลกุลจึงมีบทบาทสำคัญในการแยกชนิดความแตกต่างของสายพันธุ์ และยังสามารถใช้ในการสืบค้นแหล่งที่มาของการระบาดของสายพันธุ์แบคทีเรียได้

การศึกษาลักษณะทางจีโนไทป์ของสายพันธุ์แบคทีเรียด้วยเทคนิคการทดสอบในระดับโมเลกุล เพื่อแยกชนิดของสายพันธุ์ในกลุ่มเชื้อดื้อยาเมธิซิลลิน *S. aureus* (MRSA) เป็นประโยชน์ในการศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์ รวมถึงวิวัฒนาการของสายพันธุ์และกลไกการถ่ายทอดยีนที่สำคัญ เช่น ยีนดื้อยาและยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงในการก่อโรค ทั้งนี้ความสามารถในการถ่ายทอดยีนต่างๆจากเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์หนึ่งไปยังเชื้อแบคทีเรียอีกสายพันธุ์หนึ่งทั้งในกลุ่มสายพันธุ์แบคทีเรียชนิดเดียวกัน และข้ามกลุ่มสายพันธุ์แบคทีเรียได้ก่อให้เกิดปัญหาสาธารณสุขและทางการแพทย์ จากการแพร่ระบาดสายพันธุ์แบคทีเรีย ดื้อยาของทั่วโลกที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว

วิธีการแยกชนิดของสายพันธุ์แบคทีเรียดื้อยาที่มีความสามารถในการแยกชนิดของสายพันธุ์ที่ระบาดออกจากสายพันธุ์ที่พบทั่วไปได้ โดยเป็นเทคนิคการทดสอบที่มีความจำเพาะและมีอำนาจการแยกชนิดของสายพันธุ์ (discriminatory power) ในช่วงเวลาการระบาด นอกจากนี้การแยกชนิดลักษณะจีโนไทป์ยังต้องแสดงข้อมูลของผลการทดสอบที่ถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็ว ซึ่งเป็นข้อมูลสำคัญที่ใช้ในการสืบสวนและค้นหาแหล่งที่มาของการระบาดของสายพันธุ์แบคทีเรียดื้อยาที่มีการถ่ายทอดเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคติดเชื้อในช่วงการระบาด จากคนหนึ่งไปยังอีกคนหนึ่งหรือปนเปื้อนสายพันธุ์แบคทีเรียดื้อยาในสิ่งแวดล้อม ที่ส่งผลการแพร่กระจายของสายพันธุ์แบคทีเรียดื้อยาโรงพยาบาลหรือในชุมชน และจากผลการพบแหล่งที่มาของสายพันธุ์แบคทีเรียดื้อยาทำให้วางแผนและออกแบบมาตรการการควบคุมการติดเชื้อ (Infection control-

measurement) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และช่วยลดการแพร่ระบาดของสายพันธุ์แบคทีเรียดื้อยาที่ก่อโรคในโรงพยาบาลและสถานบริการสุขภาพที่ผู้ป่วยพักรักษาเป็นระยะเวลานานได้

การเฝ้าระวังการแพร่ระบาดจำเป็นต้องดำเนินการอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นวิธีการทดสอบเพื่อหาลักษณะจีโนไทป์ที่ให้ผลการทดสอบต้องมีความเสถียรที่เพียงพอในช่วงเวลาการสืบสวนการระบาดนั้น มากไปกว่านั้นข้อมูลของเชื้อแบคทีเรียในช่วงเวลาที่มีการระบาดควรมีความกระชับ สามารถใช้งานได้ง่ายและผ่านระบบฐานข้อมูลที่เปิดให้ใช้งานเชื่อมต่อโดยผ่านระบบอินเทอร์เน็ตที่สามารถช่วยให้มีการเปรียบเทียบสายพันธุ์ทั่วโลกได้ (Mazen et al., 2018)

วิธีการศึกษาลักษณะจีโนไทป์ของเชื้อ *S. aureus* เป็นการศึกษาบนพื้นฐานของลักษณะฟีโนไทป์ ตัวอย่างการศึกษาลักษณะจีโนไทป์ด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา ได้แก่ วิธีตรวจสอบด้วย PCR typing และ sequence typing ได้มีความพยายามในการสืบสวนการระบาดของเชื้อ *S. aureus* เนื่องจากเชื้อ *S. aureus* มีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิดโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล ชุมชน และปศุสัตว์

จากการระบาดของเชื้อ *S. aureus* ที่ดื้อยาเมธิซิลลินทั่วโลก แสดงผลการแพร่กระจายของเชื้อ MRSA ที่ทำให้มีการเพิ่มอัตราการระบาดของสายพันธุ์ในพื้นที่ภูมิภาคต่างๆมากมายอย่างรวดเร็ว การเกิดอุบัติการณ์พบเชื้อ MRSA แพร่ระบาดทั่วโลกได้ส่งผลกระทบต่อระบบการดูแลรักษาสุขภาพอย่างมีนัยสำคัญ การศึกษาการเปลี่ยนแปลงระบาดวิทยาของการติดเชื้อ *S. aureus* ในคนและสัตว์ ได้เน้นถึงเหตุผลหลักของการศึกษาคือเพื่อเข้าใจวิวัฒนาการและรูปแบบการแพร่กระจายของสายพันธุ์และเพื่อหากลยุทธ์ในการรักษาโรคติดเชื้อด้วยยาต้านจุลชีพที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการจัดการกับการติดเชื้อ

การศึกษาลักษณะจีโนไทป์ของเชื้อ MRSA เป็นการแยกชนิดของสายพันธุ์โดยเทคนิคอณูชีววิทยาเพื่อสืบสวนเพื่อแยกชนิดและสืบหาเชื้อก่อโรคที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อ แหล่งที่มาของสายพันธุ์ในการระบาด แหล่งที่มีเชื้อสะสมอยู่ปกติ ผลจากการสืบสวนทางระบาดวิทยามักจะใช้เป็นแนวทางการรักษาผู้ป่วยโดยการเลือกยาต้านจุลชีพที่เหมาะสม มากไปกว่านั้นยังทำให้มีความเข้าใจระบาดวิทยาของการติดเชื้ออย่างลึกซึ้งและช่วยในการประเมินวัดผลการควบคุมการติดเชื้อและการบริหารจัดการเชื้อแบคทีเรียดื้อยา รวมถึงการเฝ้าระวังป้องกันและควบคุมการแพร่ระบาดต่อไป

ดังนั้นการศึกษาทางระบาดวิทยาจึงได้มีการใช้เทคนิคการแยกชนิดของสายพันธุ์ที่มีหลากหลายวิธีเพื่อแสดงให้เห็นถึงอัตราการติดเชื้อที่เพิ่มขึ้นในภูมิภาคทั่วโลก ช่วยในการสืบสวนแหล่งที่มาของการติดเชื้อในช่วงการระบาด และมีการเฝ้าระวังการระบาดด้วยการแยกชนิดของสายพันธุ์ด้วยวิธีที่แม่นยำและรวดเร็ว ทั้งนี้เครื่องมือแต่ละชนิดที่ใช้ศึกษาเพื่อการแยกลักษณะจีโนไทป์มีทั้งข้อดีและข้อจำกัดของแต่ละวิธีแตกต่างกันไป ดังแสดงในตารางที่ 5.2 (สุมาลี คอนโด, 2561)

จากรายงานการศึกษาที่ได้ใช้วิธีการแยกลักษณะจีโนโทป์ที่หลากหลายของสายพันธุ์ *S. aureus* จำนวนมากทำให้บอกถึงลักษณะจีโนโทป์ของสายพันธุ์ในช่วงการระบาดมีความเกี่ยวข้องกัน โดยเป็นสายพันธุ์ที่มาจากเผ่าพันธุ์เดียวกัน ตัวอย่างการแยกความหลากหลายของสายพันธุ์ MRSA โดยเทคนิคทางอณูชีววิทยาที่ได้ถูกนำไปใช้เพื่อเป็นแนวทางของการสืบสวนการระบาดและเพื่อการศึกษาวิวัฒนาการของสายพันธุ์ โดยใช้วิธีการศึกษาด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymerase chain reaction, PCR) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ง่ายมีความจำเพาะและรวดเร็ว

วิธีการทดสอบอื่นๆโดยใช้เทคนิคขั้นสูงในระดับโมเลกุลเพื่อศึกษาและแยกชนิดของเชื้อ MSSA และ MRSA ได้แก่ การทดสอบ Pulse field Gel electrophoresis, coagulase gene PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) และ Staphylococcal cassette chromosome *mec* typing (SCC*mec*) นอกจากนี้ยังมีเทคนิคที่วิเคราะห์จากลำดับเบสของเชื้อแบคทีเรียเพื่อศึกษาลักษณะจีโนไทป์ของสายพันธุ์ และศึกษาทางระบาดวิทยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มเชื้อ MRSA เช่น *spa* gene-typing และ Multilocus Sequence Typing (MLST)

ทั้งนี้การศึกษาลักษณะจีโนไทป์ของสายพันธุ์ด้วยวิธี PFGE และ MLST นับว่าเป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard) ในการแยกชนิดของ MSSA และ MRSA เนื่องจากมีอำนาจในการแยกสายพันธุ์ได้สูง แม้ว่าวิธีการทั้งสองจะต้องใช้เวลา ค่าใช้จ่ายสูง และแรงงานในการทดสอบจำนวนมาก ทั้งนี้ผู้นิพนธ์ได้ยกตัวอย่างเทคนิคการทดสอบแต่ละวิธีให้เห็นถึงข้อดีและข้อจำกัดในการทดสอบ ดังแสดงในตารางที่ 5.2 (สุมาลี คอนโด, 2561)

ประโยชน์ของการศึกษาระบาดวิทยาระดับโมเลกุลของเชื้อ MRSA ที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในโรงพยาบาล (HA-MRSA) จากรายงานของประเทศต่างๆในเอเชีย ได้แก่ ประเทศไต้หวัน ญี่ปุ่น เกาหลี ฮ่องกง และสิงคโปร์ แสดงให้เห็นถึงลักษณะจีโนไทป์ที่เหมือนกันของสายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 5.1 (สุมาลี คอนโด, 2561) ชี้ให้เห็นถึงการกระจายของเชื้อ MRSA สายพันธุ์ที่มาจากเผ่าพันธุ์ของเชื้อที่มีความใกล้ชิดกัน และอธิบายถึงลักษณะของสายพันธุ์ที่เกิดการแพร่ระบาดระหว่างชุมชนและโรงพยาบาล โดยเฉพาะเชื้อสายพันธุ์ CA-MRSA ที่พบระบาดในโรงพยาบาลมีความแตกต่างจาก HA-MRSA อย่างชัดเจน (Otter & French, 2011; Song et al., 2011)

ตารางที่ 5.1 Multilocus sequence types (STs) และ SCC*mec* type ที่พบบ่อยในสายพันธุ์ HA-MRSA และ CA-MRSA ในแต่ละประเทศ

ประเทศ	HA-MRSA	CA-MRSA
จีน	ST239-III/IIIA	ST59, ST338 (CC59) IV/V
ฮ่องกง	ST239-III, ST5-II	ST59-V/-IV, ST30-IV, ST8-IVA
ไต้หวัน	ST239-III/IIIA, ST5-II	ST59-V/-IV
เกาหลี	ST239-III, ST5-II	ST72-IV
ญี่ปุ่น	ST5-II	ST30-IV, ST8-IV
กัมพูชา	-	ST834 IV, ST121 V
เวียดนาม	ST239-IIIA	ST58 IV
ไทย	ST239-III/IIIA	-
มาเลเซีย	ST239 III	ST30 IV
ฟิลิปปินส์	ST239-IIIA	ST30 IV
สิงคโปร์	ST239-III/IIIA, ST22IV	ST59 IV, ST30 IV
อินโดนีเซีย	ST239-IIIA	-
ปากีสถาน	ST239-III	ST8-IV
อินเดีย	ST239-III/IIIA	ST772-IV, ST22-IV
ศรีลังกา	ST239-III-A	-

ดัดแปลงจาก Chen & Huang, 2014 (สุมาลี คอนโด, 2561)

ในการศึกษาสายพันธุ์ในระดับโมเลกุลมีหลากหลายการทดสอบดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้น โดยมีการแบ่งชนิดของการทดสอบได้ดังนี้คือ (1) เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymerase chain reaction, PCR) (2) เทคนิคการแยกชนิดด้วยลำดับเบส (Sequence typing) (3) เทคนิคการแยกชนิดด้วยจีโนม (Genomics-based typing) และ (4) เทคนิคการศึกษาลำดับเบสทั่วจีโนม (Whole genome sequencing, WGS) แต่ละเทคนิคมีวิธีการทดสอบต่างๆ ดังนี้

1. เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส
    - Amplified fragment length polymorphism (AFLP)
    - 16s ribosomal RNA (16s rRNA)
    - Multiple-locus variable-number tandem repeat assay (MLVA)
    - Repetitive element polymerase chain reaction (rep-PCR)
2. เทคนิคการแยกชนิดด้วยลำดับเบส
    - *Staphylococcal protein A (spa)* typing
    - Multilocus sequences typing (MLST)
3. เทคนิคการแยกชนิดด้วยจีโนม (Genomics-based typing tool)
    - Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)
    - DNA microarray
4. เทคนิคการศึกษาลำดับเบสทั่วจีโนม (Whole genome sequencing, WGS)
    - Next generation sequencing

ตารางที่ 5.2 ข้อดีและข้อจำกัดของแต่ละวิธีทดสอบในการศึกษาเชื้อ *S. aureus* (สุมาลี คอนโด, 2561)

วิธีทดสอบ	หลักการ	ข้อดี	ข้อจำกัด/ข้อเสีย	เอกสารอ้างอิง
Pulse-field gel electrophoresis	DNA ของ *S. aurues* ที่ถูกตัดด้วยเอ็นไซม์เป็นชิ้นขนาดใหญ่ที่เคลื่อนที่ในเจลแสดงรูปแบบของ fragment เทียบกับสายพันธุ์อื่นเพื่อดูความเกี่ยวข้องกันของสายพันธุ์	- อำนาจการแยกชนิดของสายพันธุ์สูง	- เป็นเทคนิคที่ต้องใช้เวลา มีข้อจำกัดของคุณภาพของผลการทดสอบเมื่อทดสอบในต่างห้องปฏิบัติการมีความหลากหลายของการตั้งชื่อ	(Tenover et al., 1995)
Multilocus sequence typing (MLST)	เป็นการหาลำดับเบสประมาณ 500bp ในยีนเจ้าบ้าน (House keeping gene: *arc*C, *aro*E, *glp*F, *gmk*, *pta*, *tpi* และ *yqi*L) โดยเปรียบเทียบกับอัลลีลที่มีการแยกชนิดในแต่ละตำแหน่งจาก MLST online database	- หาความสัมพันธ์ของสายพันธุ์จาก Phylogenic Structure ของ core genome - มีคุณภาพของผลการทดสอบในต่างห้องปฏิบัติการ - มีการตั้งชื่อเป็นมาตรฐาน	- อำนาจการแยกชนิดมีจำกัด - low throughput - ราคาแพง	(Enright et al., 2000)

ตารางที่ 5.2 (ต่อ) ข้อดีและข้อจำกัดของแต่ละวิธีทดสอบในการศึกษาเชื้อ *S. aureus*

วิธีทดสอบ	หลักการ	ข้อดี	ข้อจำกัด	เอกสารอ้างอิง
S. aureus protein A (*spa*)	เป็นการ typing ที่ single locus zone ใน polymorphic region X ของ *S. aureus* protein A ซึ่งเกี่ยวข้องใน การ duplication และ mutation ใน variable repeats ขนาด 24bp	- รวดเร็ว - High throughput - มีคุณภาพของผล การทดสอบใน ต่างห้องปฏิบัติการ - มีการตั้งชื่อเป็น มาตรฐาน (แหล่งที่มาของ MLSTS STs โดย BURP algorithm)	- มีอำนาจการแยกชนิดของสาย พันธุ์ปานกลาง - มีข้อผิดพลาดในการจำแนก STs เฉพาะบางชนิดสาเหตุ จาก recombination/ homoplasy	(Szabó, 2014)
Rep-PCR typing	Polymorphism ใน chromosomal inter-repeat element spacers	- รวดเร็ว - High throughput	- อำนาจการแยกชนิดมีจำกัด - ไม่มีการตั้งเกณฑ์การแปลผล - ไม่มีการตั้งชื่อเป็นมาตรฐาน	(Struelens et al., 2009)
Multilocus VNTR analysis (MLVA)	Polymorphism ใน chromosomal VNTR elements	- รวดเร็ว - High throughput	- อำนาจการแยกชนิดมีจำกัด - ไม่มีการตั้งเกณฑ์การแปลผล - ไม่มีการตั้งชื่อเป็นมาตรฐาน	(Struelens et al., 2009)

5.2 การวิเคราะห์ลำดับเบสทั่วจีโนม

การตรวจหาลำดับเบสทั่วจีโนมเป็นเทคโนโลยีใหม่ที่ได้มีการพัฒนาวิธีการตรวจมาอย่างต่อเนื่อง เพื่อใช้ในการศึกษาวิเคราะห์ลำดับเบสของจีโนมของสิ่งมีชีวิตที่มีความหลากหลาย โดยได้พัฒนาเทคนิคให้มีความรวดเร็วและต้นทุนค่าใช้จ่ายที่ต่ำลง ซึ่งปัจจุบันได้มีเทคนิคการวิเคราะห์ลำดับเบสเรียกว่า Next Generation Sequencing, NGS) เป็นการพัฒนาเทคนิคการตรวจหาลำดับเบสทั่วจีโนมจากเดิมที่ใช้วิธีการวิเคราะห์ลำดับเบสโดยวิธี Sanger Sequencing ซึ่งนับเป็นยุคแรกของการวิเคราะห์ลำดับเบส ปัจจุบันวิธีการวิเคราะห์ลำดับเบสเป็นยุคของ NGS เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ลำดับเบสที่พัฒนาขึ้นเป็นยุคที่ 2 โดยเรียกว่า second generation sequencing หรือ high-throughput sequencing ข้อดีของเทคนิคการวิเคราะห์ลำดับเบสที่พัฒนาขึ้นใหม่ คือในการทดสอบสามารถสร้างข้อมูลลำดับเบสได้นับล้านพร้อมกัน โดยมีข้อมูลความยาวลำดับเบสระหว่าง 35-700 bp ซึ่งทำให้ลดค่าใช้จ่ายในการทดสอบอย่างมาก

ปัจจุบัน WGS เป็นเครื่องมือที่ได้รับความสนใจในการนำมาใช้สำหรับการศึกษาทางระบาดวิทยา และวิธีนี้เป็นวิธีที่มีศักยภาพที่ใช้เป็นการทดสอบในงานประจำของห้องปฏิบัติการ เพื่อแยกชนิดและลักษณะของสายพันธุ์แบคทีเรียในอนาคตได้ แม้ว่าการแปลผลและการวิเคราะห์ข้อมูลที่มีขนาดใหญ่ยังคงเป็นความท้าทายที่ต้องศึกษาต่อไป ในปัจจุบันการวิเคราะห์ลำดับเบสทั่วจีโนมได้ใช้เป็นเครื่องมือที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการศึกษาในระดับยีนของเชื้อแบคทีเรียเพื่อวิเคราะห์ความเกี่ยวข้องทางพันธุกรรมระหว่างสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรีย นอกจากนี้การวิเคราะห์ลำดับเบสทั่วจีโนมยังสามารถใช้ในการแยกความหลากหลายของสนิปส์จากข้อมูลลำดับเบสของจีโนม (single nucleotide polymorphism , SNP) ซึ่งไม่สามารถตรวจหาได้จากเทคนิคที่เป็นวิธีทดสอบทางอณูชีววิทยาดั้งเดิมในการแยกชนิดของสายพันธุ์ได้ (Convention Molecular Typing) ดังนั้นการศึกษาลักษณะ การถ่ายทอด และการระบาดของสายพันธุ์ ด้วยข้อมูลการวิเคราะห์ลำดับเบสทั่วจีโนมจึงมีความถูกต้องและแม่นยำ อย่างไรก็ตามการนำเทคโนโลยี NGS มาเป็นเครื่องมือที่ใช้ได้ในงานประจำของห้องปฏิบัติการยังคงต้องทำการศึกษาต่อยอดเพื่อประโยชน์ต่อการวินิจฉัยที่รวดเร็วและแม่นยำต่อไป

การวิเคราะห์ลำดับเบสทั่วจีโนมโดยการศึกษาสนิปส์ที่แสดงรายละเอียด และเป้าหมายเฉพาะของลำดับเบส ทำให้สามารถวิเคราะห์ความหลากหลายระหว่างสายพันธุ์ที่เกี่ยวข้องกัน ชี้ให้เห็นถึงสายพันธุ์ที่เกี่ยวข้องในการระบาดที่แตกต่างจากสายพันธุ์ที่ไม่เกี่ยวข้องในการระบาด นอกจากนี้ข้อมูลการวิเคราะห์ลำดับเบสทั่วจีโนมยังช่วยสนับสนุนผลการแสดงออกของลักษณะทางฟีโนไทป์ที่หลากหลายของสายพันธุ์ได้ เช่น การดื้อยาต้านจุลชีพและความรุนแรงของสายพันธุ์แบคทีเรียที่ก่อโรค รวมถึงความสามารถในการค้นหาเครื่องหมายทางพันธุกรรม (genetic markers) ตัวอย่างเช่น การพบเครื่องหมายทางพันธุกรรมที่แสดงการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนของยีนที่มีความเกี่ยวข้องกับความรุนแรงของโรคติดเชื้อที่เกิดจากสายพันธุ์

แบคทีเรีย รายงานที่รวบรวมยีนที่สร้าง toxin และยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของสายพันธุ์ได้แสดงไว้ในตารางที่ 5.3 (Malachowa et al., 2010)

จากการศึกษาด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ลำดับเบสทั่วจีโนมของสายพันธุ์ *S. aureus* ได้เห็นประโยชน์ในการวินิจฉัยการดื้อยาของสายพันธุ์แบคทีเรียที่ส่งผลถึงการรักษา แพทย์สามารถวางแผนการรักษาที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ บ่งชี้สืบแหล่งที่มาของสายพันธุ์ที่เกิดการระบาด ซึ่งในการปรับเปลี่ยนกลยุทธ์การควบคุมการติดเชื้อ การแพร่ระบาดให้มีประสิทธิภาพ และการตรวจหาสายพันธุ์ใหม่ที่มียีนกลายพันธุ์ที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของสายพันธุ์ซึ่งพบทั้งในเฉพาะส่วนภูมิภาค และสายพันธุ์ที่ระบาดในประเทศต่างๆทั่วโลก

ตัวอย่างความหลากหลายของลักษณะทางพันธุกรรมของสายพันธุ์ *S. aureus* ทำให้ได้ข้อมูลใหม่ของสายพันธุ์ *S. aureus* ที่ช่วยให้เข้าใจพื้นฐานสายพันธุ์ที่ได้มีการแพร่กระจาย ซึ่งเป็นเครื่องมือที่มีประโยชน์ของการสืบสวนแยกสายพันธุ์ *S. aureus* ที่ดื้อยาเมธิซิลลิน (MRSA) ในทางระบาดวิทยา ทำนายลักษณะฟีโนไทป์ของความไวของเชื้อ MRSA ต่อยาต้านจุลชีพที่พบในช่วงระบาด ซึ่งทำให้วางแผนและพัฒนามาตรการการจัดการสถานการณ์การติดเชื้อในโรงพยาบาลและผลการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อ MRSA สายพันธุ์ที่แพร่กระจายในโรงพยาบาลเพื่อลดการติดเชื้อดื้อยาในโรงพยาบาล

ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับเบสทั่วจีโนมของสายพันธุ์ในช่วงเวลาการระบาด ช่วยให้เกิดการตระหนักถึงการดูแลผู้ป่วยที่ติดเชื้อ MRSA ที่ต้องมีมาตรการการควบคุมและป้องกันการแพร่ระบาดอย่างเข้มงวด และช่วยในการสืบหาที่มาของการถ่ายทอดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาจากคนหนึ่งไปยังอีกคนหนึ่งในระบบการดูแลสุขภาพผู้ป่วย มีตัวอย่างการศึกษาที่ได้ประโยชน์จากการใช้ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับเบสทั่วจีโนมของสายพันธุ์ในการสืบสวนเชื้อ MRSA ที่ได้รับจากชุมชน (Community-acquired MRSA) ในประเทศสหรัฐอเมริกา คือสายพันธุ์ USA300-0114 ซึ่งพบว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรมและชี้ให้เห็นถึงวิวัฒนาการของสายพันธุ์ที่มีมาอย่างต่อเนื่องของเผ่าพันธุ์ดั้งเดิมซึ่งจำกัดอยู่ในภูมิภาคนั้น และมีผลกระทบต่อการรักษาที่ยากมากขึ้น (Tenover et al., 2006)

จากข้อมูลการศึกษาด้วยเทคนิค WGS ดังกล่าวข้างต้น เป็นการแสดงให้เห็นว่าการใช้เทคนิค WGS เป็นเครื่องมือการคัดกรองในลำดับแรกที่สามารถเปรียบเทียบกับข้อมูลที่ได้จากวิธีที่แสดงลักษณะฟีโนไทป์ของสายพันธุ์ และครอบคลุมและเพิ่มความไวของการตรวจพบยีนต่างๆที่สามารถคัดกรองยีนดื้อยาต้านจุลชีพใหม่ๆ ดังนั้นเทคนิค WGS จึงนับว่าเป็นเครื่องมือในการศึกษาระบาดที่มีประโยชน์มาก และสามารถใช้เป็นเครื่องมือในการเฝ้าระวังการระบาดของสายพันธุ์ทั้งในระดับชาติและนานาชาติที่มีความแม่นยำน่าเชื่อถือซึ่งจำเป็นสำหรับเป็นแหล่งข้อมูลพื้นฐานสำหรับการจัดการในการรักษาและการควบคุมการแพร่ระบาดที่รวดเร็วของสายพันธุ์ดื้อยาเหล่านี้ (Mazen et al., 2018)

ตารางที่ 5.3 ยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อ *S. aureus* ที่อยู่บน Mobile genetic elements (Al-Jabri et al., 2023)

Toxin/virulence determinant (gene)	**Mobile Genetic Elements (MGE)**	**Disease/mechanism of action**
Adhesion protein Bap (*bap*)	SaPIbov2	Specific adhesion to bovine mammary mucosa
Bacteriocin (*bsa*)	*v*SA*β*	Bactericidal activity against other bacteria
Capsular polysaccharide protein	SCC*capI*	Inhibits phagocytosis
Chemotaxis inhibitory protein of *S. aureus* (*chip*)	ϕ13, ϕtp310-3, ϕN315, ϕ252B, ϕNM3, ϕMu3A, ϕSa3USA300, ϕSa3JH1, ϕSa3mw, ϕSa3 ms, ϕSa3JH9, ϕ*β*C-USA300_TCH1516	Blocks C5a and fMLP-induced neutrophil activation and chemotaxis; blocks C5a and formylated peptide receptor

ตารางที่ 5.3 (ต่อ) ยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อ *S. aureus* ที่อยู่บน Mobile genetic elements (Al-Jabri et al., 2023)

Toxin/virulence determinant (gene)	**Mobile Genetic Elements (MGE)**	**Disease/mechanism of action**
Epidermal cell differentiation inhibitor B (*edin*-B)	*v*SAγ(etdPI)	ADP-ribosyltransferase; inhibits morphological differentiation of keratinocytes in *vitro* and modifies eukaryotic Rho GTPase
Epidermal cell differentiation inhibitor C (*edin-C*)	pETB	
Exfoliative toxin A (*eta*)	ϕETA, ϕETA2, ϕETA3	Causes staphylococcal scalded skin syndrome (SSSS), Ritter disease, and bulbous impetigo in neonates
Exfoliative toxin B (*etb*)	pETB, pRW001	Causes SSSS, Ritter disease, and bulbous impetigo in neonates
Exfoliative toxin D (*etd*)	*v*SAγ (etdPI)	

ตารางที่ 5.3 (ต่อ) ยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อ *S. aureus* ที่อยู่บน Mobile genetic elements (Al-Jabri et al., 2023)

Toxin/virulence determinant (gene)	Mobile Genetic Elements (MGE)	Disease/mechanism of action
Enterotoxin A (*sea*)	ϕSa3 ms, ϕSa3, ϕSa3mw, ϕ252B, ϕNM3, ϕMu50A	Super antigen (SAg), causes food Poisoning
Enterotoxin B (*seb*)	SaPI1, SaPI3,pZA10	
Enterotoxin C (*sec*)	SaPIbov1	
Enterotoxin C1 (*sec1*)	SaPI4, pZA10	
Enterotoxin C3 (sec3)	SaPIn1/m1	
Enterotoxin C4 (sec4)	SaPImw2, SaPIm3	
Enterotoxin D (*sed*)	pIB485	
Enterotoxin G (*seg*)	ϕSa3, *v*SAβ (SaPIn3/m3)	
Enterotoxin I (*sei*), M (*sem*), N (*sen*), O (*seo*)	*v*SAβ (SaPIn3/m3)	
Enterotoxin K (*sek*)	SaPI1, SaPI3, SaPI5	

ตารางที่ 5.3 (ต่อ) ยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อ *S. aureus* ที่อยู่บน Mobile genetic elements (Al-Jabri et al., 2023)

Toxin/virulence determinant (gene)	Mobile Genetic Elements (MGE)	Disease/mechanism of action
Enterotoxin K2 (*sek2*)	ϕSa3	Super antigen (SAg), causes food Poisoning
Enterotoxin L (*sel*)	SaPI1, SaPIbov1, SaPI3, SaPIn1/m1, SaPI4	
Enterotoxin L2 (*sel2*)	SaPImw2, SaPIm3	
Enterotoxin P (*sep*)	ϕN315, ϕMu50A	
Enterotoxin Q (*seq*)	ϕSa3 ms, ϕSa3mw, SaPI1, SaPI3, SaPI5	
Ferrichrome operon (*fhuD*)	SaPI3, SaPIm4	Iron up-take
α-hemolysin (*hla*)	*v*SAγ (etdPI)	Pore-forming cytolytic toxin
Hyaluronate lyase (*hysA*)	*v*SAβ	Degradation of mucopolysaccharide hyaluronic acid

ตารางที่ 5.3 (ต่อ) ยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อ *S. aureus* ที่อยู่บน Mobile genetic elements (Al-Jabri et al., 2023)

Toxin/virulence determinant (gene)	**Mobile Genetic Elements (MGE)**	**Disease/mechanism of action**
Leukocidin (*lukM*, *lukF*)	ϕPV83	Pore-forming leukocyte toxin
Leukotoxin D, E (*lukD*, *lukE*)	*v*SAβ	Pore-forming leukocyte toxin
Lipoprotein-like (*lpl*)	*v*SAα	Induce inflammatory response of host immune system
Lysophospholipase	pAvX (poultry strains)	Hypothetical role in virulence
Pantone-Valentine leukocidin (*lukF-PV*, *lukS-PV*)	ϕSa2mw, ϕPVL108, ϕSa2, ϕSa2USA300, ϕSLT, ϕPVL, ϕSLT-USA300_TCH1516, ϕtp310-1, ϕ2958PVL	Pore-forming leukocyte toxin, linked by epidemiology to necrotic infections
Pathogenicity island protein (*ear*)	SaPImw2; SaPI1, SaPI3, SaPI4, SaPI5	Unknown
Phenol-soluble modulin located within SCC*mec* (*psm-mec*)		Pro-inflammatory and cytolytic activity
Phenol-soluble modulins (*psmβ*)	*v*SAγ (etdPI)	Possible pro-inflammatory activity

ตารางที่ 5.3 (ต่อ) ยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อ *S. aureus* ที่อยู่บน Mobile genetic elements (Al-Jabri et al., 2023)

Toxin/virulence determinant (gene)	**Mobile Genetic Elements (MGE)**	**Disease/mechanism of action**
Plasmin-sensitive surface protein (*pls*)	SCC*mec I*	Decreases the invasiveness of MRSA strains, acts as an adhesin
Serine protease-like protein (*spl*)	*v*SAβ (SaPIn3/m3)	Hypothetical role in virulence
Staphopain A (*scpA*)	pAvX	Edematous and necrotic dermatitis in chickens
Staphylococcal inhibitor of complement (*scn*)	ϕ13, ϕtp310-3, ϕN315, ϕSa3mw, ϕ252B, ϕNM3, ϕMu50A, ϕSa3JH1, ϕSa3 ms, ϕSa3JH9, ϕMu3A, ϕSa3USA300, ϕbC-USA300_TCH1516	Inhibits phagocytosis of S. aureus by human neutrophils; blocks formation of C3b
Staphylococcal superantigen-like, SSL (former, staphylococcal enterotoxin-like, *set*)	*v*SAα (SaPIn2/m2)	Targeting elements of innate immune response

ตารางที่ 5.3 (ต่อ) ยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อ *S. aureus* ที่อยู่บน Mobile genetic elements (Al-Jabri et al., 2023)

Toxin/virulence determinant (gene)	**Mobile Genetic Elements (MGE)**	**Disease/mechanism of action**
Staphylokinase (*sak*)	ϕ N315, ϕ Mu50A, ϕ Sa2, ϕ Sa3mw, ϕ 6390, ϕ 13, ϕ 252B, ϕ NM3, ϕ Mu3A, ϕ Sa3 ms, ϕ tp310-3, ϕbCUSA300_TCH1516, ϕ Sa3USA300 ϕSa3JH1, ϕSa3JH9	Proteolytic destruction of host tissue; activates conversion of plasminogen to plasmin; inhibits opsonization by degradation of IgG and C3b, promotes resistance to defensins
TSST-1 (*tst*)	SaPI1, SaPI2, SaPIbov1, SaPI3, SaPIn1/m1	Causes toxic shock syndrome (TSS)

Genomic islands: *v*SAα, *v*SAβ, and *v*SAγ (etdPI); Pathogenicity islands: SaPIbov1 and SaPIbov2, SaPI1- SaPI5, SaPIn1/m1, SaPIn3/m3, SaPImw2, SaPIm3, and SaPIm4; Phages: ϕ13, ϕtp310-3, ϕN315, ϕSa3, ϕSa3mw, ϕ252B, ϕNM3, ϕMu50A, ϕSa3JH1, ϕSa3 ms, ϕSa3JH9, ϕMu3A, ϕSa3USA300, ϕbCUSA300_TCH1516, ϕETA, ϕETA2, ϕETA3, ϕPV83, ϕPVL108, ϕSLT, ϕPVL, ϕSLT-USA300_TCH1516, ϕtp310-1, and ϕ2958PVL; Plasmids: pAvX, pIB485, pZA10, pETB, and pRW001; SCC: Staphylococcal cassette chromosome

5.3 การศึกษาการกลายพันธุ์ของเชื้อดื้อยา

เชื้อ MRSA เป็นเชื้อแบคทีเรียดื้อยาในโรงพยาบาลที่เป็นปัญหาสำคัญในการก่อโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล (Nosocomial infection) โดยมียาแวนโคมัยซินเป็นยาหลักที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อ MRSA แต่พบรายงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าเชื้อ MRSA สายพันธุ์ที่ค่าความไวของเชื้อ MRSA ต่อยาแวนโคมายซินสูงขึ้น (vancomycin MIC creep) เกี่ยวข้องกับการรักษาที่ล้มเหลว (de Sanctis et al., 2011; Fujimori et al., 2022; van Hal et al., 2013) และยังไม่สามารถวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการได้อย่างละเอียดด้วยข้อจำกัดในการทดสอบที่บ่งชี้ถึงลักษณะการดื้อยาดังกล่าวได้

จากผลการศึกษาของทีมวิจัยโดยผู้ประพันธ์เป็นหัวหน้าโครงการวิจัยพบว่า สายพันธุ์ MRSA ที่มี vancomycin MIC creep และ vancomycin MIC non-creep ที่มี subpopulation ของ vancomycin intermediate resistant population (MIC 4-8 µg/ml) ไม่สามารถตรวจหา subpopulation ของสายพันธุ์ดื้อยาได้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป แพทย์จึงยังใช้ยารักษาในขนาดปกติเพราะไม่ทราบว่ามีกลุ่มเชื้อดื้อยาทำให้เมื่อทำการตรวจเพาะเชื้อจากตัวอย่างคนไข้ จึงยังพบเชื้อในตัวอย่างผู้ป่วยที่ได้รับยา (microbiological persistence) ซึ่งเป็นการรักษาที่ใช้ขนาดยาไม่เหมาะสม แต่กรณีที่ตรวจหา subpopulation ของสายพันธุ์ดื้อยาได้จะช่วยให้แพทย์สามารถเลือกใช้ขนาดยารักษาได้เหมาะสม กรณีที่ต้องเพิ่มขนาดยาอาจมีผลข้างเคียงสูงอาจจำเป็นต้องเปลี่ยนยาต้านจุลชีพชนิดอื่น

เนื่องจาก Population analysis profile (PAP) ที่ใช้ในการวิจัยดังกล่าวข้างต้น มีข้อจำกัดหลายประการ คือ มีความยุ่งยาก ใช้เวลา แรงงานสูง และ ความชำนาญในการทดสอบ ดังนั้นการตรวจหาลำดับเบสเพื่อค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลที่สามารถบ่งชี้ถึงสายพันธุ์ vancomycin MIC creep และ hVISA รวมถึงการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างเชื้อ vancomycin MIC creep และ non-creep จะช่วยให้พบข้อมูลเชิงลึกที่จะทำให้ทราบถึงกลไกการที่เชื้อมีค่าความไวต่อเชื้อสูงขึ้น และนำมาพัฒนาสร้างเครื่องมือช่วยในการตรวจหาสายพันธุ์ได้อย่างถูกต้อง รวดเร็ว รวมทั้งแนวทางการป้องกันเพื่อลดการแพร่กระจายเชื้อดื้อยา ช่วยให้แพทย์สามารถวินิจฉัยจากผลการตรวจหาเชื้อ วางแผนการรักษา และการใช้ยาได้อย่างเหมาะสมในการฆ่าเชื้อเพื่อการรักษาผู้ป่วยอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

ดังนั้นจึงทำการศึกษาลำดับเบสของจีโนมในเชื้อ MRSA สายพันธุ์ที่ความไวของเชื้อต่อยาแวนโคมัยซินลดลงเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ที่ยังไวต่อยาแวนโคมายซิน เพื่อค้นหาเครื่องหมายพันธุกรรมสนิปส์และ Structural variants (SV) ที่เชื่อมโยงกับลักษณะทางฟีโนไทป์ ศึกษาคุณสมบัติจีโนไทป์และจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อ MRSA ที่มี Vancomycin MIC creep และรวบรวมข้อมูลพันธุกรรมของเชื้อดื้อยา MRSA ที่จะเป็นส่วนช่วยในการจัดทำฐานข้อมูลสาธารณะที่เป็นประโยชน์ในการต่อยอดงานวิจัย การนำเครื่องหมายโมเลกุลใช้ในการวินิจฉัยอย่างถูกต้องและแม่นยำ ส่งผลให้มีการวางแผนการรักษาและการใช้ยาอย่างเหมาะสมเพื่อประสิทธิภาพในการรักษาโรคติดเชื้อ MRSA ที่มีความไวของเชื้อต่อยาแวนโคมายซินลดลงได้

ผู้ประพันธ์และทีมวิจัยได้ทำการศึกษาลักษณะของเชื้อสแตฟฟีโลคอคคัส ออเรียส ที่ดื้อยาเมธิซิลลิน (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) ที่แยกจากผู้ป่วยในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ ช่วงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2555 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2558 ทำการวิเคราะห์ลักษณะของสายพันธุ์จีโนไทป์ SCC*mec* type II MRSA และลักษณะจีโนไทป์ SCC*mec* type III MRSA โดยได้ทำการศึกษาสายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วย ด้วยการวิเคราะห์ลำดับเบสทั่วจีโนม (Whole Genome Sequencing, WGS) โดย NextSeq 500 sequencing (Illumina, USA) จากข้อมูลลำดับเบสทั่วจีโนม สายพันธุ์ MRSA SCC*mec* type II ได้ถูกจัดอยู่ในจีโนไทป์ ST764 ซึ่งพบว่าเป็นสายพันธุ์ที่พบได้ส่วนใหญ่ที่รายงานในประเทศญี่ปุ่นครั้งแรกที่มีการรายงานในประเทศญี่ปุ่นในปี ค.ศ. 2009 สายพันธุ์ทั้งหมดที่ทดสอบพบ ACME Type II′, SaPln2, SaPln3, seb, interrupted SA1320 และมียีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงเหมือนที่พบในสายพันธุ์ที่พบในประเทศญี่ปุ่น การศึกษานี้ทำให้มีความตระหนักถึงปัญหาความไวของเชื้อ MRSA ต่อยาแวนโคมายซินที่สูงขึ้น และ การเฝ้าระวังที่เข้มงวดสำหรับสายพันธุ์ MRSA นี้จึงเป็นสิ่งสำคัญและจำเป็นในประเทศไทยเพื่อป้องกันการถ่ายทอดและแพร่กระจายต่อไป

จากงานวิจัยเชื้อ MRSA ที่แยกได้จากตัวอย่างสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยในช่วงปี ค.ศ. 2012-2015 จำนวน 101 สายพันธุ์ ได้ศึกษาลักษณะทางจีโนไทป์ ได้แก่ SCC*mec* types, pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) patterns, virulence genes patterns และลักษณะฟีโนไทป์จาก antibiotic resistance pattern โดยเชื้อ MRSA จำนวน 41 สายพันธุ์ที่พบว่าเป็นสายพันธุ์ SCC*mec* type II และพบเป็นส่วนใหญ่ของสายพันธุ์ทั้งหมดมีรูปแบบ PFGE คือ A หรือ P (Phokhaphan, 2017) จากนั้นได้ทำการสุ่มคัดเลือกสายพันธุ์เพื่อศึกษาลำดับเบสทั่วจีโนมจำนวน 7 สายพันธุ์โดยมีรูปแบบ PFGE A หรือ P ทั้งนี้จำนวน 5 สายพันธุ์เป็น MRSA สายพันธุ์ SCC*mec* type II ส่วนอีก 2 ตัวอย่างเป็น MRSA สายพันธุ์ SCC*mec* type III ที่พบในการศึกษานี้ด้วย สำหรับข้อมูลผู้ป่วยทางคลินิก และข้อมูลทางห้องปฏิบัติการได้จากฐานข้อมูลห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติโดยได้รับอนุญาตในการเก็บข้อมูลดังกล่าว ได้ทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพใช้วิธี broth microdilution และ E-test โดยยาต้านจุลชีพที่ทดสอบได้แก่ vancomycin, cefpirome, clindamycin, trimethoprim, trimethoprim-sulfamethoxazole, rifampicin, mupirocin, fusidic acid, teicoplanin และ linezolid ทดสอบหายีน *mecA* และ *pvl* ด้วยวิธี Polymerase chain reaction (PCR) ทดสอบ SCC*mec* type ใช้วิธี multiplex PCR ใช้ primers: SCC*mec* types I, II, III, และ IV โดยมี Positive controls: SCC*mec* type I (613 bp); SCC*mec* type II (398 bp); SCC*mec* type III (280 bp) และ SCC*mec* type IV (200 bp) ทดสอบหาลำดับเบสทั่วจีโนมโดยเตรียม DNA บริสุทธิ์เพื่อเตรียม 150 base read library โดยใช้ Nextera XT DNA Library Preparation Kit (Illumina, USA) ขั้นตอนในการเตรียม DNA Library คือ tagmentation ของ genomic DNA, library amplification, library clean up, library normalization และ library pooling จากนั้นเป็นขั้นตอนของ Library denaturation และ dilution แล้วใส่ diluted PhiX control V3 เข้าไปใน libraries จะได้ร้อยละ 1 PhiX เป็น external control

Library pool ที่เตรียมขึ้น แล้ว load ลงใน reagent cartridge จากนั้น sequence ด้วย 150 bp paired end NextSeq 500 sequencing (Illumina, USA) จากผล WGS ของ 5 สายพันธุ์ HA-MRSA SCC*mec* type II และ 2 สายพันธุ์ HA-MRSA SCC*mec* type III ได้ยื่นเข้าในฐานข้อมูล โดยมี accession numbers ดังแสดงในวารสารตีพิมพ์ของงานวิจัยนี้ (Kondo, et al., 2022)

การวิเคราะห์ทางชีวสถิติ นำ Sequencing reads ที่ได้ทำการตรวจสอบคุณภาพแล้วด้วย Trimmomatic version 0.39 มา align กับ MRSA ST5 N315 reference genome โดยใช้ Burrows-Wheeler Aligner (BWA) version 0.7.17 กับ BWA-MEM algorithm ทำ Sequencing read duplication โดยใช้ Picard Toolkit version 2.18.27 ทำ variant identification ของ single nucleotide variants (SNVs) และ short insertion-deletions (Indels) ของแต่ละสายพันธุ์ของ MRSA โดยใช้ HaploytypeCaller module of Genome Analysis Toolkit (GATK) version 4.1.4.1 Variant annotation ใช้ SnpEff version 4.3 การแยกชนิดของ Structural variants (SVs) ใช้ program Manta จากข้อมูล BAM file (sorted และ mapped reads) ด้วย align กับ reference sequence ผลของ SV events ทำการยืนยันโดย integrative genomics viewer (IGV) De novo Genome assembly โดยใช้ SPAdes3.9

Multilocus sequencing typing (MLST) แยกชนิดโดยใช้ variants ที่พบใน 7 housekeeping genes (*arcC*, *aroE*, *glp*, *gmk*, *pta*, *tpi*, *yqiL*) โดยนำ assembled contigs ของแต่ละสายพันธุ์มา align กับ *S. aureus* MLST primers; *Spa* typing *spa* sequence types โดยใช้ spaTyper1.0; Phylogenetic tree construction โดยใช้ PhyML version 3.0 และ อ่านผลโดย SeaView program; ACME/SCC*mec* type II โครงสร้างของ ACME/SCC*mec* type II ได้จากการจำแนก *arcA*, *arcB*, *arcC*, *arcD*, *opp3* และ *ccrC* โดยใช้ sequence ของ MRSA USA300 เป็น reference และจำแนก pUB110 และ cJR1 โดยใช้ N315 และ NCTC10442 (SCC*mec* type I) เป็น reference ตามลำดับ; Virulence gene identification ตรวจหายีนที่ปรากฏอยู่ใน 3 pathogenicity islands (SaPIn1, SaPIn2 และ SaPIn3) และยีนอื่นๆ รวมถึง enterotoxins, exfoliative toxins, leukocidin, panton-valentine leukocidin, hemolysins, และ adhesin สำหรับยีน *SA1320* ได้ตรวจสอบหา insertion โดย blast กับ *SA1320* sequence of N315

จากข้อมูลการศึกษาลักษณะทางจีโนไทป์ในของเชื้อ MRSA ที่คัดเลือกมาเป็นตัวแทนของสายพันธุ์จำนวน 7 สายพันธุ์ ที่แยกจากผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อในโรงพยาบาลและเป็นผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูงในการเสียชีวิต (pneumonia, septicemia, osteomyelitis และ endocarditis) และมีอายุมากกว่า 60 ปี ไม่พบผู้ป่วยที่ศึกษามีการติดเชื้อ HIV แต่มี 4 รายในผู้ป่วยที่พบเชื้อสายพันธุ์จีโนไทป์ ST764 มีภาวะโรคเบาหวานและโรคไตเรื้อรัง มีเพียงรายเดียวที่พบเชื้อสายพันธุ์จีโนไทป์ ST764 รอดชีวิต ทุกสายพันธุ์ดื้อต่อยา cefpirome และ clindamycin ยังไวต่อยา vancomycin, trimethoprim, sulfamethoxazole, linezolid, mupirocin และ teicoplanin ค่า MIC ของยา vancomycin ยังคงอยู่ในช่วงที่สามารถยับยั้งเชื้อ MRSA ได้

แต่พบว่าระดับ MIC ที่สูงขึ้น กล่าวคือมีค่าในช่วง 1.5 ถึง 2 µg/ml ข้อมูลลำดับเบสทั่วจีโนมของ MRSA ST764 SCC*mec* type II จำนวน 5 สายพันธุ์ และอีก 2 สายพันธุ์เป็น SCC*mec* type III ทำการวิเคราะห์หา SNVs และหาความสัมพันธ์เชิงระบาดวิทยาของเชื้อ MRSA ที่แยกจากโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ และแหล่งที่มาของสายพันธุ์

ผลการจำแนกเชื้อตามจีโนไทป์ทั้ง 7 สายพันธุ์พบว่าเป็น SCC*mec* II และ SCC*mec* III ซึ่งจัดเป็นชนิดที่พบในการติดเชื้อในโรงพยาบาล (Hospital acquired-MRSA: HA-MRSA) และ MLST Typing พบสายพันธุ์ ST764, ST239 และ ST22 และจากรายงานนี้ได้แสดงผลการศึกษาให้เห็นว่าการพบสายพันธุ์ HA-MRSA จีโนไทป์ ST764 นับว่าเป็นรายงานครั้งแรกในประเทศไทยที่ยังไม่เคยพบการรายงานใน hospital setting ของประเทศไทย และเป็นสายพันธุ์ที่พบว่ามียีน *arcA–D* แต่ไม่พบ *opp3* จึงจัดให้เป็น ACME Type II' โดยไม่มี SNV ในยีน *arcA–D* เหมือนสายพันธุ์ที่พบในประเทศญี่ปุ่น และพบ cJR1 DNA segment แต่ไม่พบ pUB110 และ *ccrC* (จัดเป็นType A3), SaPIn2, SaPIn3, *seb*, interrupted *SA1320* และ Virulence gene profile ที่พบในสายพันธุ์จีโนไทป์ ST764 ในประเทศญี่ปุ่น แต่สายพันธุ์ที่รายงานในประเทศญี่ปุ่นนี้พบ C4913T mutation ในยีน *arcB* จากรายงานครั้งแรกของสายพันธุ์จีโนไทป์ ST764 ในประเทศญี่ปุ่นในปี ค.ศ. 2009 พบว่าเป็นสายพันธุ์ CA-MRSA ซึ่งเป็น variant ของจีโนไทป์ ST5 SCC*mec* type II/*spa2*/*seb*2/PVL- (Ozaki et al., 2009) และต่อมาได้พบอีกหลายรายงานที่เป็นจีโนไทป์ที่พบได้อย่างกว้างขวางใน hospital setting รวมถึงโรงพยาบาลที่เป็นโรงเรียนแพทย์ ห้องตรวจผู้ป่วยนอก เครื่องมือที่ใช้ดูแลผู้ป่วยที่ต้องดูแลในระยะเวลานาน และในชุมชน และพบว่า ST764 ได้มีการระบาดมากขึ้นเป็นลำดับ (Kawaguchiya et al., 2013; Nakaminami et al., 2014)

Arginine catabolic mobile element (ACME) มีส่วนประกอบของสองกลุ่มยีนคือ *arc*-operon และ *opp3*-operon โดยที่ *arc*-operon ประกอบด้วย 6 ยีนที่ควบคุมการผลิตเอนไซม์หลายชนิดใน arginine deiminase catabolic pathway ที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของสายพันธุ์ โดยการเปลี่ยน L-arginine เป็น carbon dioxide, carbamoyl ornithine, ammonia, และ ATP (Diep & Otto, 2008; Diep, Stone, et al., 2008) การจำแนก ACME โดยแบ่งออกเป็น 3 อัลโลไทป์ (allotype) คือ ACME-I พบครั้งแรกในเชื้อสายพันธุ์ *S. aureus* USA300 โดยมีทั้ง *arc*-operon และ *opp3*-operon; ACME-II I พบครั้งแรกในเชื้อสายพันธุ์ *S. epidermidis* ATCC12228 ส่วนใหญ่พบว่ามี *arc*-operon; ACME-III พบเฉพาะ *opp3*-operon มีรายงานพบทั้ง 3 อัลโลไทป์ในเชื้อ *S. epidermidis* (Miragaia et al., 2009)

จากการที่พบว่าสายพันธุ์นี้เป็น ACME type II มีศักยภาพในการเพิ่มความรุนแรงของการเกิดติดเชื้อและส่งเสริมให้เชื้อแบคทีเรียมีความสามารถในการโคโลไนซ์บนผิวหนังและ mucous membrane ได้ดีขึ้น จึงอาจส่งผลถึงการแพร่ระบาดของเชื้อได้ดีขึ้น จากข้อมูลความเหมือนของ genetic profile ที่พบในสายพันธุ์ MRSA ST764 SCC*mec* type II ทั้งในประเทศญี่ปุ่น (Kawaguchiya et al., 2013) โดยสายพันธุ์ ST764

ทั้งหมดที่ศึกษานี้มียีน *arcA–D* แต่ไม่พบ *opp3* ดังกล่าวข้างต้น ซึ่ง *opp3* operon มีหน้าที่หลากหลาย รวมถึง pheromone transport, chemotaxis, และ การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของการก่อโรค (virulence determinants) (Diep et al., 2006) ในการศึกษานี้ผู้วิจัยและทีมจึงได้แสดงความเห็นว่าเชื้อสายพันธุ์ที่พบในประเทศไทยนี้มาจากการแพร่ระบาดของ clone ที่มาจากประเทศญี่ปุ่น

ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสมีมากกว่าร้อยละ 90 ของลำดับเบสของสายพันธุ์ ST764 มีความเหมือนกับลำดับเบสของ *S. aureus* N315 จีโนไทป์เป็น ST5 พบ SNVs จำนวน 50,021 ระหว่างสายพันธุ์ ST764 มีจำนวน SNVs ระหว่าง 237 ถึง 261 SNV distance ระหว่างสายพันธุ์ ST764 คือ 49.8 และ Phylogenetic tree ของ 7 สายพันธุ์ ST764 ได้แสดงในภาพที่ 5 โดย SATU130–SATU131 และ SATU132–SATU136 มี SNV distances คือ 11 แสดงให้เห็นว่ามีความสัมพันธ์เชิงระบาดวิทยาของแต่ละคู่สายพันธุ์นี้ SATU130–SATU131 แยกจากหอผู้ป่วยเดียวกัน และระยะเวลาของการพบเชื้อห่างกัน 26 วัน ดังนั้นเชื้อสองสายพันธุ์นี้น่าจะเป็น clone เดียวกัน SATU132–SATU136 แยกจากหอผู้ป่วยต่างกัน ระยะเวลาของการพบเชื้อห่างกัน 9 เดือน และ SATU136 ไม่พบ *seb* ซึ่ง SATU132 ไม่พบความสัมพันธ์เชิงระบาดวิทยาของคู่สายพันธุ์นี้จึงยังไม่ชัดเจน พบว่าทั้ง 5 สายพันธุ์มี 3 ตำแหน่งที่เกิด deletion และ 4 ตำแหน่งที่มี insertion ซึ่งไม่พบใน ST22 และ ST239 มี indel ที่พบในบางสายพันธุ์ของ ST764 โดยพบ deletion เหมือนกันใน SATU132–SATU136 ในขณะที่ deletion และ insertion บางตำแหน่งเฉพาะในสายพันธุ์ SATU130, SATU131 และ SATU134 ดังแสดงในภาพที่ 5 และตาราง 5.4 (Kondo, et al., 2022)

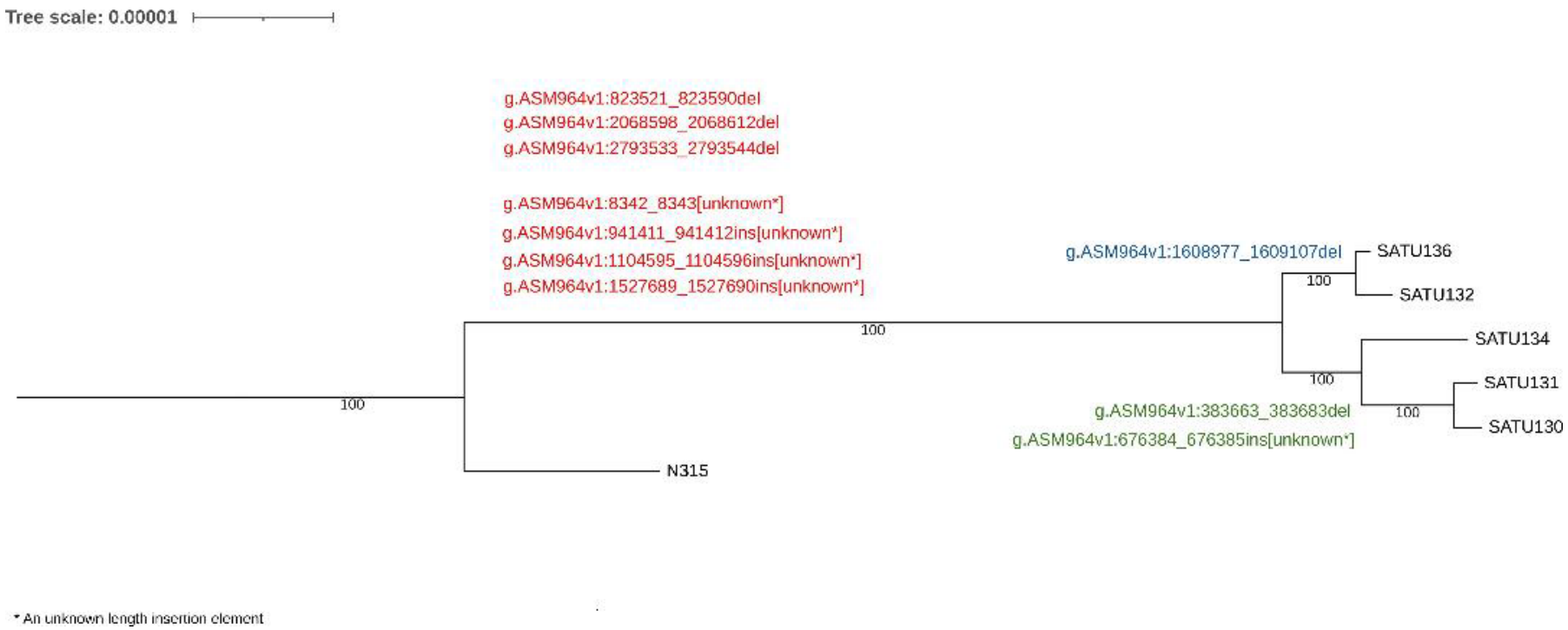
การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ ST764 นี้ได้มีการแพร่ระบาดเพิ่มขึ้นในขอบเขตทางภูมิศาสตร์ที่นอกเหนือจากที่พบในแถบเอเชียตะวันออก จากรายงานการพบเชื้อ MRSA สายพันธุ์ในประเทศไทยพบว่าเป็นสายพันธุ์ MRSA ST 239 SCC*mec* type III เป็นส่วนใหญ่ ในขณะที่สายพันธุ์ SCC*mec* type II MRSA ที่แยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ มีจำนวนถึง ร้อยละ 41 โดยมีความสัมพันธ์กับการรักษาที่ล้มเหลวซึ่งแตกต่างจากโรงพยาบาลที่เป็นโรงเรียนแพทย์ในประเทศ (Jariyasethpong et al., 2010; Lulitanond et al., 2010) สายพันธุ์ MRSA ST764 SCC*mec* type II จึงนับได้ว่าเป็นอุบัติการณ์ใหม่ในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรตินี้ที่ถือว่าเป็นปัญหาที่ทำให้เกิดโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลอย่างมีนัยสำคัญและมีศักยภาพในการถ่ายทอดสายพันธุ์ของเชื้อนี้ไปยังโรงพยาบาลอื่นๆในภูมิภาคนี้ด้วย เนื่องจากสายพันธุ์จีโนไทป์ ST764 ที่พบว่าเป็นสายพันธุ์ชนิด CA-MRSA สามารถที่จะแพร่ระบาดจากชุมชนสู่โรงพยาบาลได้

ดังนั้นจากการพบสายพันธุ์นี้จึงเป็นข้อมูลที่สำคัญในการเตรียมการเพื่อการเฝ้าระวังอย่างจริงจังในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ และโรงพยาบาลที่อยู่ในพื้นที่ใกล้เคียง จากข้อมูลสนิปส์บ่งชี้ถึงสายพันธุ์ที่มีการพัฒนาเป็นสายพันธุ์ดื้อยาที่มีความรุนแรงมากขึ้น ดังนั้นจึงต้องมีแนวทางการจัดการกับเชื้อ MRSA ที่เป็นปัญหา ตลอดจนนำองค์ความรู้จากผลการศึกษานี้ในการพัฒนาการวินิจฉัยเชื้อ MRSA สืบหา

แหล่งแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาในโรงพยาบาล การลดการติดเชื้อดื้อยาในโรงพยาบาล ทั้งนี้การเฝ้าระวังการแพร่ระบาดอย่างใกล้ชิดและการวางมาตรการป้องกันและควบคุมการระบาดของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลที่เกิดจากเชื้อ MRSA สายพันธุ์ใหม่อย่างมีประสิทธิภาพ จะช่วยลดการติดเชื้อในโรงพยาบาลที่ส่งผลให้อัตราการเจ็บป่วยและอัตราการเสียชีวิตจากการรักษาไม่ได้ผลให้ลดลงได้

ตารางที่ 5.4 จำนวน Sequence Nucleotide Variant (SNV) ที่แตกต่างระหว่างแต่ละคู่สายพันธุ์ (Kondo, et al., 2022)

	N315	SATU130	SATU131	SATU132	SATU134	SATU136	SATU133	SATU135
N315								
SATU130	261							
SATU131	258	11						
SATU132	238	67	66					
SATU134	258	49	48	64				
SATU136	237	62	61	11	59			
SATU133	22720	22893	22890	22880	22897	22877		
SATU135	31919	32087	32084	32074	32093	32071	35871	



ภาพที่ 5 Phylogenetic tree ของเชื้อ MRSA 7 สายพันธุ์ (Kondo, et al., 2022)

บทสรุป

การศึกษา Genotype classification โดยใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยาในการแยกชนิดเพื่อวินิจฉัยสายพันธุ์ที่เป็นสาเหตุได้อย่างถูกต้องและรวดเร็วและในการรักษาที่มีประสิทธิภาพต่อไป นอกจากนี้จะเป็นส่วนสนับสนุนการสร้างฐานข้อมูล (Web-based database) ที่จะเป็นประโยชน์สำหรับการศึกษาวิจัยในอนาคต

งานวิจัยของผู้ประพันธ์และทีมวิจัยได้ชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของสายพันธุ์ MRSA ST764 SCC*mec* type II ที่นับได้ว่าเป็นอุบัติการณ์ใหม่ที่พบในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรตินี้ และเป็นปัญหาที่ทำให้เกิดโรคติดเชื้อดื้อยาในโรงพยาบาลอย่างมีนัยสำคัญ เชื้อสายพันธุ์นี้มีศักยภาพในการถ่ายทอดสายพันธุ์ของสายพันธุ์ MRSA ST764 SCC*mec* type II ไปยังโรงพยาบาลอื่นๆในภูมิภาคนี้ด้วย

นอกจากนี้สายพันธุ์จีโนไทป์ ST764 ที่มีรายงานว่าเป็นสายพันธุ์ชนิด CA-MRSA สามารถแพร่ระบาดจากชุมชนสู่โรงพยาบาลได้ ซึ่งมีโอกาสที่สายพันธุ์ MRSA ST764 SCC*mec* type II ที่พบในโรงพยาบาล (HA-MRSA) อาจมีการพัฒนาเป็นสายพันธุ์ดื้อยาที่มีความรุนแรงมากขึ้น จึงจำเป็นต้องวางแผนและมาตรการการเฝ้าระวังอย่างจริงจังในโรงพยาบาลเพื่อป้องกันและควบคุมการระบาดของการติดเชื้อในโรงพยาบาลที่เกิดจากเชื้อ MRSA ซึ่งเป็นปัญหาในการรักษาที่ล้มเหลว โดยบุคลากรทางการแพทย์ที่เกี่ยวข้องควรตระหนักถึงผลกระทบจากการดื้อยาของเชื้อ MRSA และร่วมมือกันปฏิบัติตามแนวทางมาตรการการเฝ้าระวัง ป้องกันและควบคุมการระบาด เพื่อลดปัญหาการการติดเชื้อดื้อยาในโรงพยาบาลและลดการแพร่ระบาดของเชื้อดื้อยาได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Al-Jabri, Z., & Al-Mebairik, N. (2023). Genomic Islands in *Staphylococcus*. In I. Mani, V. Singh, K. J. Alzahrani, & D.-T. Chu (Eds.), *GEIs.* (pp. 207-231). Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-19-9342-8_11

De Sanctis, J. T., Swami, A., Sawarynski, K., Gerasymchuk, L., Powell, K., Robinson-Dunn, B., Carpenter, C. F., & Sims, M. D. (2011). Is there a clinical association of vancomycin MIC creep, *agr* group II locus, and treatment failure in MRSA bacteremia? *Diagn Mol Pathol, 20*(3), 184-188. https://doi.org/10.1097/PDM.0b013e318208fc47

Diep, B. A., Gill, S. R., Chang, R. F., Phan, T. H., Chen, J. H., Davidson, M. G., Lin, F., Lin, J., Carleton, H. A., Mongodin, E. F., Sensabaugh, G. F., & Perdreau-Remington, F. (2006). Complete genome sequence of USA300, an epidemic clone of community-acquired meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet, 367*(9512), 731-739. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(06)68231-7

Diep, B. A., & Otto, M. (2008). The role of virulence determinants in community-associated MRSA pathogenesis. *Trends Microbiol, 16*(8), 361-369. https://doi.org/10.1016/j.tim.2008.05.002

Diep, B. A., Stone, G. G., Basuino, L., Graber, C. J., Miller, A., des Etages, S. A., Jones, A., Palazzolo-Ballance, A. M., Perdreau-Remington, F., Sensabaugh, G. F., DeLeo, F. R., & Chambers, H. F. (2008). The arginine catabolic mobile element and staphylococcal chromosomal cassette *mec* linkage: convergence of virulence and resistance in the USA300 clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis, 197*(11), 1523-1530. https://doi.org/10.1086/587907

Fujimori, T., Hagiya, H., Iio, K., Higashionna, T., Kakehi, A., Okura, M., Minabe, H., Yokoyama, Y., Otsuka, F., & Higashikage, A. (2022) Vancomycin MIC creep progresses in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* despite the national antimicrobial stewardship campaign: single facility data in Japan. *J Infect Chemother*, *28*(7), 918-922. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jiac.2022.03.017

Kawaguchiya, M., Urushibara, N., Ghosh, S., Kuwahara, O., Morimoto, S., Ito, M., Kudo, K., & Kobayashi, N. (2013). Genetic diversity of emerging Panton–Valentine leukocidine/arginine catabolic mobile element (ACME)-positive ST8 SCCmec-IVa meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains and ACME-positive CC5 (ST5/ST764) MRSA strains in northern Japan. *J Med Microbiol, 62*(12), 1852-1863. https://doi.org/https://doi.org/10.1099/jmm.0.062125-0

Malachowa, N., & DeLeo, F. R. (2010). Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. *Cell Mol Life Sci, 67*(18), 3057-3071. https://doi.org/10.1007/s00018-010-0389-4

Miragaia, M., de Lencastre, H., Perdreau-Remington, F., Chambers, H. F., Higashi, J., Sullam, P. M., Lin, J., Wong, K. I., King, K. A., Otto, M., Sensabaugh, G. F., & Diep, B. A. (2009). Genetic diversity of arginine catabolic mobile element in *Staphylococcus epidermidis*. *PLOS ONE, 4*(11), e7722. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007722

Nakaminami, H., Noguchi, N., Ito, A., Ikeda, M., Utsumi, K., Maruyama, H., Sakamoto, H., Senoo, M., Takasato, Y., & Nishinarita, S. (2014). Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from tertiary care hospitals in Tokyo, Japan. *J Infect Chemother, 20*(8), 512-515. https://doi.org/10.1016/j.jiac.2014.03.006

Phokhaphan, P. (2017). Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and factors associated with clinical outcomes in MRSA-infected patients at Thammasat University Hospital.

Kondo, S., Phokhaphan, P., Tongsima, S., Ngamphiw, C., Phornsiricharoenphant, W., Ruangchai, W., Disratthakit, A., Tingpej, P., Mahasirimongkol, S., Lulitanond, A., Apisarnthanarak, A., & Palittapongarnpim, P. (2022). Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* genotype ST764-SCC*mec* type II in Thailand. *Sci Rep, 12*(1), 2085. https://doi.org/10.1038/s41598-022-05898-1

Tenover, F. C., McDougal, L. K., Goering, R. V., Killgore, G., Projan, S. J., Patel, J. B., & Dunman, P. M. (2006). Characterization of a strain of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* widely disseminated in the United States. *J Clin Microbiol, 44*(1), 108-118. https://doi.org/10.1128/jcm.44.1.108-118.2006

Van Hal, S. J., & Fowler, V. G., Jr. (2013). Is it time to replace vancomycin in the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections? *Clin Infect Dis, 56*(12), 1779-1788. https://doi.org/10.1093/cid/cit178

ดัชนี

A

Acinetobacter baumannii, 17, 22, 30, 49, 119
Acinetobacter spp, 17
ACME type II, 164
ACME Type II', 163
aminoglycosides, 15
Antimicrobial stewardship programmes, 30
APS, 30
arcA, 162, 163
arcA–D, 163
arcB,, 162
arcC, 148, 162
arcD, 162
arc-operon, 164
Arginine catabolic mobile element, 103
aztreonam, 52, 55, 57

B

beta-lactams, 132
blast, 163
broad spectrum, 56

C

C4913T, 164
Campylobacter, 17
Campylobacter spp, 19
CA-MRSA, 146, 164, 165, 170
carbapenem, 17, 28, 85, 132
carbapenemases, 22, 132
carbapenems, 15, 49, 52, 53, 57, 61, 63, 106
ccrC, 162, 163
cefpirome, 103, 161, 163
ceftazidime, 53, 55, 57, 60, 62
Center for Disease Control and Prevention (CDC), 21
cephalosporin, 19, 52, 56
cephamycins, 57
chloramphenicol, 132
cilastatin, 52, 63
cJR1, 162, 163
clarithromycin, 19
clindamycin, 31, 103, 161, 163
Clogging effect, 101
clone, 107, 109, 164
Clostridium difficile, 14, 31, 136
colistin, 22, 23, 49, 64, 132
Community acquired MRSA, 104
Community-acquired infection, 50
CTX-M, 22, 23, 57, 58, 59, 60, 64, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79

D

deletion, 101, 165

DNA gyrase, 134
DNA segment, 163
DNA-directed RNA polymerase, 134
doripenem, 52, 63
double disk synergy test, 62

E

E. coli, 17, 22, 52, 53, 55, 57, 61, 62, 63, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 85, 86, 89
efflux pumps, 22
endocarditis, 163
Enterobacterales, 17, 18, 22, 49, 51, 52, 53, 59, 60, 61, 63, 81, 83, 84, 85, 86, 92
Enterococci, 23, 49, 110, 111, 136, 139
Enterococcus faecium, 19
ertapenem, 52, 63
ESBL, 18, 22, 49, 59, 60, 63, 70, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92
ESBL-PE, 84, 85, 92
Escherichia coli, 49, 58, 132
Extended-spectrum, 18, 49, 50, 57, 81
Extremely drug-resistance, 30

F

fluoroquinolone, 19
fluoroquinolones, 132

G

Genotype classification, 170
glycopeptides, 15
Group A *Streptococcus*, 99

H

Haemophilus influenzae, 19
HA-MRSA, 106, 162, 163, 170
Health-care-associated infections, 33
Helicobacter pylori, 19, 28
horizontal evolution, 28
horizontal gene transfer, 22, 113
Hospital acquired MRSA, 104, 106
hospital setting, 163
hVISA, 23, 24, 100, 101, 102, 104, 110, 160

I

imipenem, 52, 58, 63
indel, 165
inhibitor, 53, 59, 63
inhibitors, 135
insertion, 162, 163, 165
interrupted, 161, 164
intracellular targets, 22

K

K. pneumoniae, 23, 30, 52, 53, 55, 59, 62, 63, 64, 67, 68, 70, 85, 86
Klebsiella pneumoniae, 49, 132
Klebsiella spp., 17

L

linezolid, 103, 112, 161, 163
lipopeptides, 15

M

mcr, 22, 23, 25, 28, 64, 75, 79, 132

mecA, 23, 25, 106, 113, 119, 162
meropenem, 52, 63
methicillin, 19, 23, 49, 99, 110, 113
Methicillin-resistant *S. aureus*, 106
MIC, 23, 61, 100, 101, 103, 104, 137, 160, 163
MIC creep, 23, 100, 103, 160
MLST, 81
mobile genetic elements, 81
MRSA, 23, 49, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 106, 107, 109, 110, 113, 114, 119, 120, 121, 136, 146, 151, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 169, 170
MRSA ST764, 170
mucous membrane, 164
Multidrug-resistance, 30
Multilocus sequence types, 146
multiplex PCR, 62, 162
mupirocin, 103, 161, 163
mutation, 57, 149, 164

N

N315, 162, 163, 165, 167
Neisseria gonorrhoeae, 17, 19
noncommunicable diseases, 38
non-creep, 101, 160

O

opp3, 162, 163
opp3-operon, 164
osteomyelitis, 103, 163
OXA, 22, 23, 58, 60, 64, 73, 74, 75, 76

P

P. aeruginosa, 59, 60, 61, 88
penicillin-binding protein, 52
Phylogenetic tree, 62, 162, 165, 169
pneumonia, 33, 163
Prophylaxis, 56
Proteus mirabilis, 55, 61
Pseudomonas aeruginosa, 17, 22, 49, 58, 119, 132
Pseudomonas spp., 17
pUB110, 162, 163
PVL, 104, 164

Q

qacA, 119
qacC, 119

R

rectal swab, 23, 62, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 84, 85, 87, 88, 89, 90, 91
RNA elongation, 134

S

SA132, 163
SA1320, 161, 163, 164
Salmonella, 17, 28, 57
Salmonellae, 19
SaPIn2, 161, 163
SaPIn3, 161, 163, 164
sasX, 114

SATU130, 165, 167
SATU131, 165, 167
SATU132, 165, 167
SATU134, 165, 167
SATU136, 165, 167
SCC*mec* II, 163
SCC*mec* type II, 103, 104, 161, 162, 163, 164, 165, 170
seb, 161, 164, 165
selective pressure, 28, 51
self-transmissible plasmid, 81
septicemia, 163
Sequence Type, 23
SHV, 22, 23, 57, 58, 59, 60, 64, 73, 75, 76, 77, 79
single nucleotide variants, 162
SNV, 163, 165, 167
SSI, 50
ST22, 103, 109, 146, 163, 165
ST239, 103, 107, 114, 146, 163, 165
ST764, 103, 104, 161, 163, 164, 165, 170
Staphylococcus aureus, 19, 23, 49, 98, 99, 106, 119, 132, 161, 162
Streptococcus pneumoniae, 19
Structural variants (SV), 160
subpopulations, 23
sulfamethoxazole, 52, 103, 161, 163
surgical site infections, 50

T

teicoplanin, 161, 163
TEM, 22, 23, 57, 58, 59, 60, 64, 71, 73, 74, 76, 77, 78, 79
TEM-type ESBLS, 59
Thailand Surveillance of Antimicrobial Consumption: Thailand-SAC, 32
trimethoprim, 52, 103, 132, 161, 163
Type A3, 163

V

van gene cluster, 137
vanA, 23, 25, 101, 110, 111, 136, 137
vancomycin, 19, 23, 99, 101, 102, 103, 104, 110, 134, 160, 161, 163
vancomycin MICs creep, 101
Vancomycin susceptible, 100
vancomycin-resistant, 16
Vancomycin-Resistant, 111
variant, 59, 60, 61, 103, 162, 164
Virulence gene profile, 164
VISA, 100, 110, 111
VRE, 111, 136, 139
VRSA, 101, 110, 111, 112, 136, 137, 139

W

Web-based database, 170

B

β-lactamase, 18

เ

เชื้อแบคทีเรียดื้อยา, 119

เชื้อก่อโรคดื้อยา, 14
เชื้อจุลชีพ, 132
เชื้อที่ก่อโรค, 26
เทคนิคทางอณูชีววิทยา, 82, 170
เอนไซม์, 22, 23, 49, 50, 51, 52, 53, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 64, 81, 83, 85, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 132, 137
เอนไซม์เบต้าแลคตาเมส, 51, 57
เอนไซม์เบต้าแลตาเมส, 52

แ

แกรมบวก, 30
แกรมลบ, 30
แบคทีเรีย, 12, 14, 15, 17, 19, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 28, 29, 30, 32, 33, 34, 38, 49, 50, 51, 52, 53, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 64, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 81, 82, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 93, 99, 100, 110, 111, 113, 121, 132, 135, 136, 150, 151, 160, 164
แพร่ระบาด, 25, 53

โ

โคโลไนซ์, 28, 164
โปรตีน, 110, 111, 132, 135, 137
โรคเบาหวาน, 103, 163
โรคไตเรื้อรัง, 163
โรคติดเชื้อในโรงพยาบาล, 49
โรคติดเชื้อดื้อยา, 170
โรงพยาบาล, 14, 21, 23, 24, 25, 30, 31, 32, 33, 49, 50, 51, 52, 53, 60, 62, 63, 64, 81, 82, 84, 85, 86, 99, 100, 101, 103, 104, 105, 106, 107, 109, 111, 120, 121, 151, 160, 161, 163, 165, 170
โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ, 163, 165

ก

กลไกการดื้อยา, 22
กลไกของเชื้อจุลชีพที่ต้านต่อยาต้านจุลชีพ, 132
กลยุทธ์, 29
การเฝ้าระวัง, 29
การกลายพันธุ์, 37
การดื้อยาต้านจุลชีพ, 14
การติดเชื้อ, 14
การติดเชื้อ HIV, 163
การติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยา, 21
การติดเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาต้านจุลชีพ, 14
การถ่ายทอดยีนดื้อยา, 113
การปศุสัตว์, 14
การผลิตยาต้านจุลชีพ, 14
การระบาด, 31

ค

ควบคุมการระบาด, 170
ความไวต่อยาแวนโคมายซิน, 100
ความชุก, 23
ความชุกของเชื้อดื้อยา, 22, 98
ความสัมพันธ์เชิงระบาดวิทยา, 163, 165

จ

จีโนไทป์, 23

ช

ชุมชน, 17, 23, 25, 30, 34, 50, 51, 53, 60, 65, 81, 82, 84, 85, 86, 99, 104, 105, 119, 120, 121, 151, 164, 165, 170

ฐ

ฐานข้อมูล, 161, 170

ป

ประเทศญี่ปุ่น, 164
ปัจจัยเสี่ยง, 25

ผ

ผนังเซลล์, 132
ผู้ป่วยนอก, 164

ฟ

ฟีโนไทป์, 23

ย

ยาต้านจุลชีพ, 14, 15, 29, 132
ยีน *arcB*, 164
ยีนดื้อยา, 23, 113
ยีนที่ผลิตเอนไซม์, 58

ล

ลำดับเบสทั่วจีโนม, 103

ส

สายพันธุ์, 169
สายพันธุ์ในประเทศไทย, 165

อ

องค์การอนามัยโลก, 17
อัตราการดื้อยา, 30
อุบัติการณ์, 21, 28, 29, 31, 32, 49, 50, 59, 64, 86, 99, 106, 111, 121, 139, 165, 170