สถานการณ์ความชุกของเชื้อดื้อยา Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae (CRE) และยีนดื้อยา Carbapenemase ในโรงพยาบาลเลิดสิน

ปริชาติ บุญรอด ทพ.ม., อภิวัฒน์ พรศิริวัฒนากุล วท.บ.
โรงพยาบาลเลิดสิน ถนนสีลม แขวงบางรัก เขตบางรัก กรุงเทพมหานคร 10500

Abstract: Prevalence of Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae and Carbapenemase Genes in Lerdsin Hospital

Parichat Boonrod, M.MT., Apiwat Pornsiriwatanakul, B.Sc.
Lerdsin Hospital, Silom Road, Sri Wiang, Bang Rak, Bangkok, 10500
(E-mail: parichat.br@gmail.com)
(Received: 29 November, 2021; Revised: 5 January, 2023; Accepted: 1 May, 2023)

Background: Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) is a global problem including in Thailand. Most prevalence studies are conducted at the phenotype level because studies at the genotype level have many limitations, especially in terms of cost. **Objective:** This study aimed to determine the prevalence of CRE and carbapenemase-producing genes to assess the situation of Lerdsin Hospital. **Method:** Routine reports from 2017 to 2021 were analyzed for the prevalent study. 48 isolates of *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) and *Escherichia coli* (*E. coli*) from four groups of specimens: blood, urine, sputum, and sterile site that showed carbapenem resistance by microbroth dilution, were tested for bla_{KPC}, bla_{NDM}, bla_{OXA-48}, bla_{VIM} and bla_{IMP} by multiplex PCR technique. **Result:** The results showed that carbapenem-resistant *K. pneumoniae* and carbapenem-resistant *E. coli* had a rising trend. In 2017, the number of cases of carbapenem-resistant *K. pneumoniae* was 31.42% and carbapenem-resistant *E. coli* was 1.39%. It then increased to 38.83% and 3.55%, respectively in 2021. The highest prevalence was found at the intensive care unit and mostly found in sputum and followed by urine, blood, and sterile site. Multiplex PCR for detecting five major carbapenemase-producing genes was identified from 48 samples, of which 31 isolates were *K. pneumoniae* and 17 isolates were *E. coli.* There were 20 isolates (41.7%) found in target genes: 12 isolates from *K. pneumoniae* and 8 isolates from *E. coli*, $bla_{NDM,}$ and bla_{OXA-48} were found in 10 isolates equally. The bla_{NDM} gene was most found in *E. coli* from the sterile site, and the bla_{OXA-48} gene was most found in *K. pneumoniae* from urine. **Conclusion:** This study shows a rising trend of CRE in Lerdsin Hospital. This CRE problem is not only caused by carbapenemase-producing genes but may also be caused by other mechanisms or a combination of several mechanisms.

Keywords: Prevalence, Carbapenem resistant *Enterobacteriaceae*, CRE, Carbapenemase gene

บทคัดย่อ

ภูมิหลัง: สถานการณ์ความชุกของเชื้อดื้อยา Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) มีแนวโน้มสูงขึ้น เป็นปัญหาระดับโลกรวมทั้งในประเทศไทย การศึกษาความชุกส่วนใหญ่จะศึกษาในระดับ phenotype เนื่องจากการศึกษาในระดับ genotype มีข้อจำกัดหลายด้านโดยเฉพาะเรื่องค่าใช้จ่าย **วัตถุประสงค์:** การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ที่จะหาความชุก และยีนดื้อยา carbapenemase ของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) และ *Escherichia coli* (*E. coli*) เพื่อประเมินสถานการณ์ของโรงพยาบาลเลิดสิน **วิธีการ:** เก็บข้อมูลผลการทดสอบเพาะเลี้ยงและทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพตั้งแต่ปี พ.ศ. 2560 ถึง พ.ศ. 2564 โคโลนีของ *K. pneumoniae* และ *E. coli* ที่ให้ผลดื้อยากลุ่ม carbapenem ด้วยวิธี microbroth dilution จากสิ่งส่งตรวจ 4 กลุ่มได้แก่ เลือด ปัสสาวะ เสมหะ และสิ่งส่งตรวจ

จากบริเวณปราศจากเชื้อ ทดสอบหายีนดื้อ bla_{KPC}, bla_{NDM}, bla_{OXA-48}, bla_{VIM} และ bla_{IMP} ด้วยเทคนิค multiplex PCR **ผล:** ผลการศึกษาพบว่า *K. pneumoniae* และ *E. coli* ดื้อยากลุ่ม carbapenem และมีแนวโน้มสูงขึ้น ปี 2560 จำนวนผู้ป่วยที่พบ *K. pneumoniae* ดื้อยา carbapenem เท่ากับร้อยละ 31.42 และ *E. coli* ดื้อยา carbapenem เท่ากับร้อยละ 1.39 ในปี 2564 เพิ่มเป็นร้อยละ 38.83 และ 3.55 ตามลำดับ พบความชุกที่หอผู้ป่วยหนักสูงสุด และพบในสิ่งส่งตรวจที่เป็นเสมหะมากที่สุด รองลงมาคือ ปัสสาวะ เลือดและสิ่งส่งตรวจจากบริเวณปราศจากเชื้อตามลำดับ ตรวจหายีนสร้างเอ็นไซม์ carbapenemase ที่สำคัญ 5 ยีนจากตัวอย่าง 48 ตัวอย่าง โดยเป็นเชื้อ *K. pneumoniae* 31 ตัวอย่าง และ *E. coli* 17 ตัวอย่าง ตรวจพบยีนเป้าหมาย 20 ตัวอย่างพบในเชื้อ *K. pneumoniae* 12 ตัวอย่าง และ *E. coli* 8 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 41.7 เป็นยีน bla_{NDM} และ bla_{OXA-48} อย่างละ 10 ตัวอย่าง ยีน bla_{NDM} พบในเชื้อ *E. coli* จากสิ่งส่งตรวจปราศจากเชื้อมากที่สุด ยีน bla_{OXA-48} พบในเชื้อ *K. pneumoniae* จากปัสสาวะมากที่สุด **สรุป:** การศึกษานี้ทำให้ทราบถึงปัญหาและแนวโน้มการพบเชื้อดื้อยา CRE ที่สูงเพิ่มขึ้นซึ่งไม่ได้เกิดจากเอ็นไซม์ carbapenemase เพียงอย่างเดียวอาจเกิดจากกลไกอื่น ๆ นอกจากการสร้างเอ็นไซม์ทำลายยาหรือเกิดจากหลาย ๆ กลไกร่วมกัน

คำสำคัญ: ความชุก, เชื้อ *Enterobacteriaceae* ดื้อยากลุ่ม carbapenemase, CRE, ยีนดื้อยา carbapenemase

บทนำ

แบคทีเรียดื้อยามีความสำคัญเพราะนอกจากจะมีผลต่อการรักษาแล้วยีนดื้อยามักอยู่ในส่วนของ mobile genetic elements จึงมีโอกาสถ่ายทอดยีนดื้อยาไปสู่เชื้อสายพันธุ์อื่นทำให้เกิดการระบาดของเชื้อดื้อยาและยากในการควบคุม[1] มีการคาดการณ์ว่าหากไม่มีมาตรการใด ๆ จำนวนผู้เสียชีวิตจากการติดเชื้อดื้อยาทั้งโลกในปี ค.ศ. 2050 (พ.ศ. 2597) จะสูงถึง 10,000,000 รายต่อปี[2] Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae* หรือ CRE เป็นเชื้อดื้อยาที่มีความสำคัญในระดับโลกมีแนวโน้มที่เพิ่มสูงขึ้นทุกปีรวมถึงในประเทศไทย องค์การอนามัยโลก และ Centers for Disease Control and Prevention (CDC) จัดอันดับให้ เป็นเชื้อที่มีความสำคัญเป็นหนึ่งในเชื้อที่องค์การอนามัยโลกเห็นควรให้วิจัยหายาปฏิชีวนะใหม่อย่างเร่งด่วน[3, 4] กลุ่มเชื้อในวงศ์ *Enterobacteriaceae* ที่พบดื้อยากลุ่ม carbapenem มากที่สุดคือ เชื้อ *K. pneumoniae* และ *E. coli* ข้อมูลย้อนหลัง 20 ปีจากศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุขกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (National Antimicrobial Resistant Surveillance Center, Thailand; NARST) พบว่าเชื้อ *K. pneumoniae* และ *E. Coli* ดื้อยากลุ่ม carbapenem สูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง[5] ความชุกของการพบเชื้อแตกต่างกันตามพื้นที่โดยมีความชุกต่ำสุดในภาคใต้และสูงสุดในพื้นที่เขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ[6] เชื้อ *Enterobacteriaceae* ดื้อยา carbapenem (Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae*; CRE) ได้แก่ยา ertapenem, imipenem, meropenem หรือ doripenem ตัวใดตัวหนึ่งหรือหลายตัวพร้อมกัน ซึ่งเกิดจากกลไกดื้อยากลไกใดกลไกหนึ่งหรือหลายกลไกร่วมกันก็ได้ การสร้างเอ็นไซม์ carbapenemase ทำลายยาเป็นกลไกหนึ่งซึ่งพบได้มากและมีความสำคัญเนื่องจากเชื้อจะมีอัตราการดื้อยาสูงและดื้อยาหลายขนานทำให้ยากต่อการรักษา อัตราการเสียชีวิตสูง นอกจากนั้นยังพบปัญหาการแพร่กระจายเชื้อไปสู่แบคทีเรียอื่นเนื่องจากยีนดื้อยาจะอยู่ในส่วนของ mobile genetic element ทำให้ส่งต่อการดื้อยาให้เชื้ออื่น ๆ ต่อไปอีก[7] ยีนที่ควบคุมการสร้างเอ็นไซม์ carbapenemase แบ่งตามโครงสร้างโมเลกุล (molecular classification หรือ Ambler classification) จะอยู่ใน class A, B และ D กลุ่ม class A เอ็นไซม์ carbapenemases ชนิดที่พบมากที่สุดคือ KPC กลุ่ม class B metallo-β- lactamases (MBLs) ส่วนใหญ่เป็นการดื้อยาด้วยยีน VIM และ IMP ซึ่งต่อมามีการกลายพันธุ์เป็น New Delhi metallo lactamase-1 (NDM-1) และ Class D สร้างเอนไซม์ชนิด OXA-48[8-10] วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อศึกษาความชุกของเชื้อ *K. pneumoniae* และ *E. coli* ดื้อยา carbapenem และยีนดื้อยาที่ควบคุมการสร้างเอ็นไซม์ carbapenemase ช่วยให้เห็นปัญหาเชื้อดื้อยาในโรงพยาบาลเลิดสิน แหล่งที่พบเชื้อและแนวโน้มของปริมาณเชื้อดื้อยา ซึ่งช่วยให้สามารถควบคุมและป้องกันการแพร่กระจายเชื้อดื้อยาได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

วัตถุและวิธีการ

งานวิจัยนี้ผ่านคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมวิจัยในคนโรงพยาบาลเลิดสิน โดยทำการศึกษาในรูปแบบการศึกษาย้อนหลัง (retrospective study) รวบรวมข้อมูลผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการจากโปรแกรมสารสนเทศ MLAB วิเคราะห์ข้อมูลร่วมกับโปรแกรม WHONET และศึกษายีนดื้อยา carbapenemase โดยใช้ผลการศึกษาส่วนหนึ่งจากการเข้าร่วมโครงการ “เครือข่ายเฝ้าระวังและศึกษาระดับโมเลกุลของแบคทีเรียดื้อยาในโรงพยาบาลและชุมชนตัวอย่างในประเทศไทย” (เครือข่ายมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์)

ตัวอย่าง

ศึกษาความชุกของเชื้อ *K. pneumoniae* และ *E. coli* ดื้อยากลุ่ม carbapenem (ertapenem, imipenem, meropenem หรือ doripenem อย่างใดอย่างหนึ่ง) จากสิ่งส่งตรวจทั้งหมดที่สั่งตรวจเพาะเชื้อ 5 ปีย้อนหลัง ตั้งแต่มกราคม 2560 ถึง ธันวาคม 2564 และศึกษายีนดื้อยา carbapenemase โดยใช้ผลการศึกษาจากการเข้าร่วมโครงการ “เครือข่ายเฝ้าระวังและศึกษาระดับโมเลกุลของแบคทีเรียดื้อยาในโรงพยาบาลและชุมชนตัวอย่างในประเทศไทย” ที่กำหนดเกณฑ์การทดสอบเป็น *K. pneumoniae* และ *E. coli* ดื้อยากลุ่ม carbapenem ที่พบ 3 isolate แรกของเดือนของเชื้อ

แต่ละชนิด จากสิ่งส่งตรวจ 4 ประเภทคือ เลือด, ปัสสาวะ, เสมหะ, สิ่งส่งตรวจจากบริเวณที่ปราศจากเชื้อ (sterile site)

การเพาะเชื้อ จำแนกชนิดเชื้อ และทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ

สิ่งส่งตรวจเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด 5% sheep blood agar, MacConkey agar, chocolate agar ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง โคโลนีของเชื้อ *K. pneumoniae* และ *E. coli* ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อทดสอบวินิจฉัยแยกชนิดเชื้อด้วยเครื่อง Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometer (MALDI-TOF MS) Microflex LT (Bruker Diagnostics, Germany) และทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพโดยวิธี microbroth dilution ด้วยเครื่อง Sensititre ARIS 2X (Thermo Fisher Scientific, UK) และควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ด้วยเชื้อสายพันธ์มาตรฐาน *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumonia* ATCC 700603 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

การตรวจหายีน

เชื้อ *K. pneumoniae* และ *E. coli* ที่นำมาตรวจหาชนิดยีนควบคุมการสร้างเอ็นไซม์ carbapenem คัดเลือกจากเชื้อที่แยกได้จาก เลือด, ปัสสาวะ, เสมหะ, สิ่งส่งตรวจจากบริเวณที่ปราศจากเชื้อ (sterile site) ที่ให้ผลการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพดื้อยากลุ่ม carbapenem ด้วยวิธี microbroth dilution 3 ตัวอย่างแรกของแต่ละสิ่งส่งตรวจในแต่ละเดือน (ตุลาคม 2560-กันยายน 2561) โดยส่งตรวจที่ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ทำการตรวจหายีน bla_{KPC}, bla_{NDM}, bla_{OXA-48}, bla_{VIM} และ bla_{IMP} สกัด DNA templates โดยต้มโคโลนีของเชื้อที่อุณภูมิ 95 องศาเซลเซียส ใน Tris-Ethylenediaminetetraacetic acid buffer (TE buffer) 15 นาทีปั่นเหวี่ยง 13,500 rpm นาน 5 นาที ใช้ปิเปตดูดส่วนใส (supernatant) ทดสอบหายีนด้วยเทคนิค multiplex PCR อ่านผลด้วย gel electrophoresis อ่านขนาดของ DNA ด้วย UV Transilluminator โดย ขนาดของ bla_{KPC}, bla_{NDM}, bla_{OXA-48}, bla_{VIM} และ bla_{IMP} เท่ากับ 798 bp, 621 bp,438 bp, 390 bp และ 188 bp ตามลำดับ

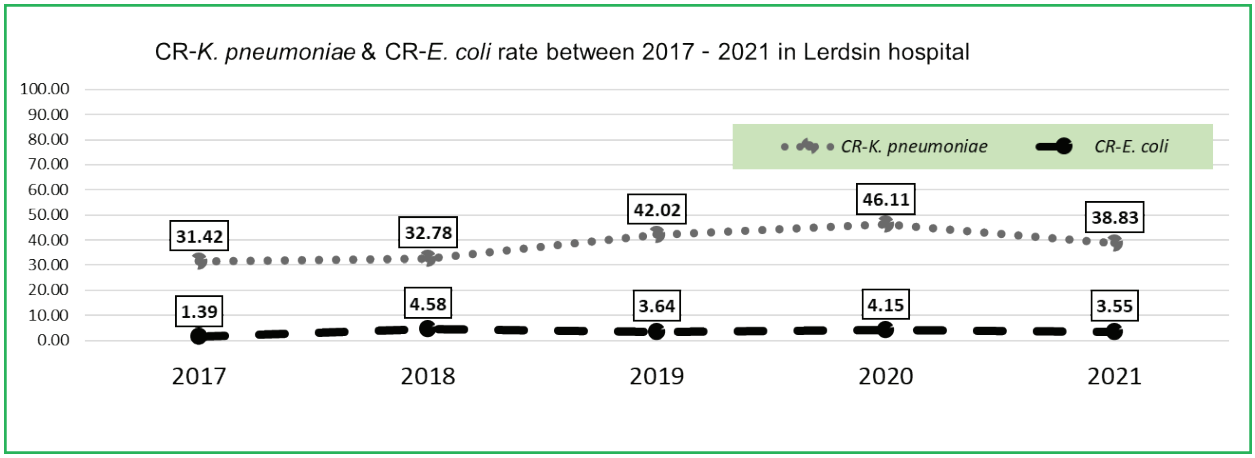
วิเคราะห์ข้อมูลเชิงสถิติ

ด้วยร้อยละของการพบเชื้อเป้าหมาย

ผล

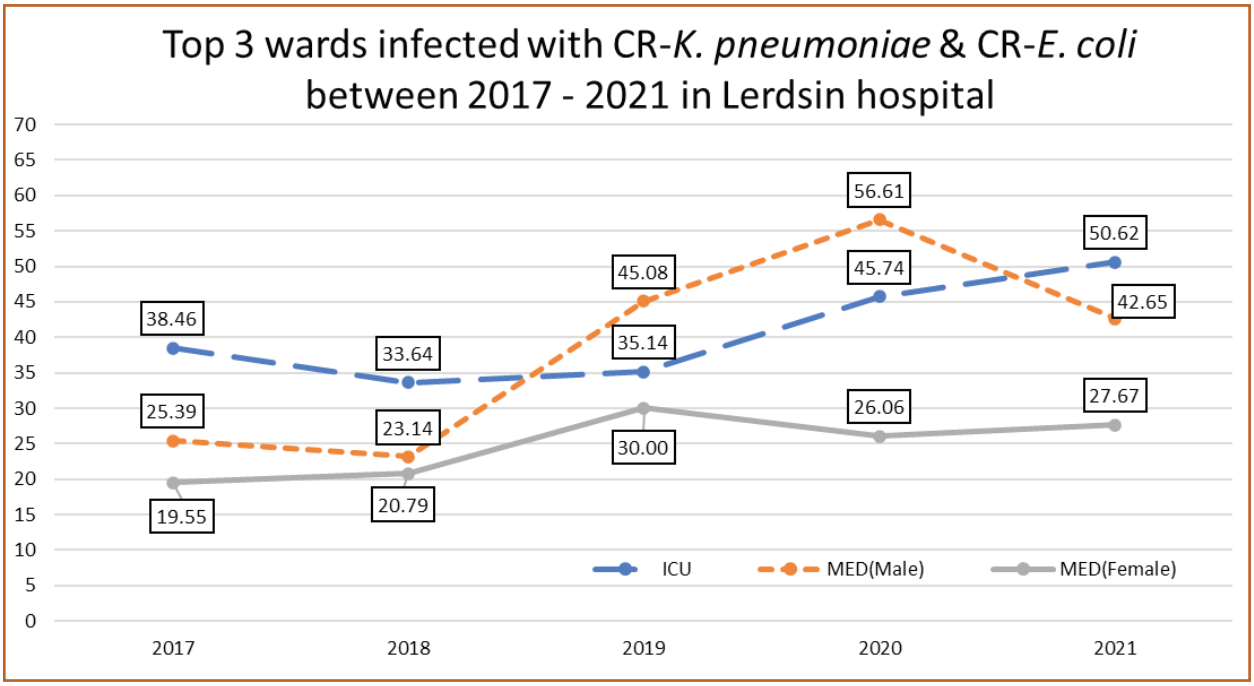
ผลการศึกษาความชุกของเชื้อดื้อยาชนิด CRE ช่วงเดือนมกราคม 2560 ถึง ธันวาคม 2564 ผู้ป่วย 25,218 ราย ส่งสิ่งส่งตรวจเพาะเชื้อในโรงพยาบาลเลิดสิน 141,901 ตัวอย่าง (อัตราส่วนผู้ป่วยต่อสิ่งส่งตรวจ 1 : 5.63) เป็น *E. coli* ที่ดื้อยา carbapenem (Carbapenem Resistant *E. coli*, CR -*E. coli*) 198 ราย จากผู้ป่วยที่พบเชื้อ *E. coli* 5,766 ราย (3.43 %) เป็นเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ดื้อยากลุ่ม carbapenem (Carbapenem Resistant *K. pneumoniae*, CR- *K. pneumoniae*) 1,862 ราย จากจำนวนผู้ป่วยที่พบเชื้อ *K. pneumoniae* 4,829 ราย (38.56%) และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณการพบเชื้อในแต่ละปีจะพบว่ามีแนวโน้มดังที่แสดงในกราฟที่ 1

กราฟที่ 1 แสดงแนวโน้มอัตราร้อยละของจำนวนผู้ป่วย (HN) ที่พบเชื้อดื้อยา Carbapenem Resistant *E.coli* และ Carbapenem Resistant *K. pneumoniae* ต่อจำนวนผู้ป่วยที่พบเชื้อชนิดเดียวกันแยกตามช่วงปีตั้งแต่ปี พ.ศ. 2560-2564 (ค.ศ. 2017-2021)



ปี พ.ศ. 2560-2564 (ค.ศ. 2016-2021) ห้องปฏิบัติการพบเชื้อ CR- *E. coli* จำนวน 17, 49, 43, 52 และ 37 ราย จาก *E. coli* ทั้งหมด 1,220, 1,070, 1,182, 1,252 และ 1,042 ราย คิดเป็นร้อยละ 1.39, 4.58, 3.64, 4.15 และ 3.55 ตามลำดับ และพบเชื้อ CR- *K. pneumoniae* 268, 295, 392, 474 และ 433 ราย เทียบกับผู้ป่วยที่ตรวจพบเชื้อ *K. pneumoniae* ทั้งหมด 853, 900, 933, 1,028 และ 1,115 ราย คิดเป็นร้อยละ 31.42, 32.78, 42.02, 46.11 และ 38.83 ตามลำดับ

กราฟที่ 2 แสดงอัตราส่วนผู้ป่วยที่พบเชื้อดื้อยา CR- *E. coli* และ CR- *K. pneumoniae* ต่อจำนวนผู้ป่วยที่พบเชื้อชนิดเดียวกันแยกตามหอผู้ป่วยตั้งแต่ปี 2560-2564



หอผู้ป่วยที่พบอัตราส่วนผู้ป่วยติดเชื้อ CRE สูงที่สุดคือหอผู้ป่วยหนัก พบอัตราเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ดื้อยา carbapenem ร้อยละ 38.46 ในปี พ.ศ. 2560 และมีแนวโน้มสูงขึ้น โดย พบสูงขึ้นเป็นร้อยละ 50.62 ในปี พ.ศ. 2564 และหอผู้ป่วยที่พบเชื้อดื้อยาดังกล่าวสูงอันดับ 2 และ 3 คือ หอผู้ป่วยอายุรกรรมชาย และหอผู้ป่วยอายุรกรรมหญิง ปี พ.ศ. 2560 หอผู้ป่วยอายุรกรรมชายพบการดื้อยาอัตราร้อยละ 25.39 เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 42.65 ในปี พ.ศ. 2564 โดยในปี พ.ศ. 2562 และ 2563 หออายุรกรรมชายพบเชื้อ CR- *E. coli* และ CR- *K. pneumoniae* เพิ่มสูงมากขึ้นถึงร้อยละ 45.08 และ 56.61 ตามลำดับ ซึ่งสูงมากอันดับหนึ่ง หอผู้ป่วยอายุรกรรมหญิงปี พ.ศ. 2560 ถึง 2564 พบเชื้อดื้อยาอัตราส่วนร้อยละ 19.55, 20.75, 30, 26.06 และ 27.67 ตามลำดับ ดังข้อมูลที่แสดงในกราฟที่ 2

ผลการศึกษาความชุกในการพบเชื้อดื้อยากลุ่ม carbapenem ในเชื้อ *K. pneumoniae* และ *E. coli* แยกตามสิ่งส่งตรวจเฉลี่ย 5 ปี ในแต่ละสิ่งส่งตรวจต่อจำนวนเชื้อ CR- *K. pneumoniae* และ CR-*E. coli* ในทุกสิ่งส่งตรวจ พบว่าความชุกของชนิดของสิ่งส่งตรวจที่พบเชื้อ CR- *K. pneumoniae* และ CR-*E. coli* มากที่สุด เรียงตามลำดับคือ เสมหะ ร้อยละ 47.63 (เฉลี่ย 177 ราย/ปี) ปัสสาวะร้อยละ 41.28 (เฉลี่ย 153 ราย/ปี) เลือด ร้อยละ 9.26 (เฉลี่ย 34 ราย/ปี) และสิ่งส่งตรวจปราศจากเชื้อร้อยละ 1.83 (เฉลี่ย 7 ราย/ปี)

ตารางที่ 1 แสดงอัตราส่วนเชื้อ CR-*K. pneumoniae* ต่อ *K. pneumoniae* และ CR-*E. coli* ต่อ *E. coli* แยกตามชนิดสิ่งส่งตรวจ เลือด ปัสสาวะ เสมหะ และสิ่งส่งตรวจปราศจากเชื้อ ปี พ.ศ. 2560-2564

Rate of CR-*K. pneumoniae* & CR-*E. coli* in blood, urine, sputum and sterile site between 2017 – 2021 in Lerdsin hospital

		พ.ศ.2560 (2017)			พ.ศ.2561 (2018)			พ.ศ.2562 (2019)			พ.ศ.2563(2020)			พ.ศ.2564 (2021)			รวม(%)
		Total	CR	%	Total	CR	%	Total	CR	%	Total	CR	%	Total	CR	%	
blood	*K.pneumoniae*	72	12	16.67	100	27	27.00	93	27	29	136	60	44.1	115	35	30.43	31.20
	E.coli	154	1	0.65	123	3	2.44	196	3	1.53	170	4	2.35	157	0	0.00	1.38
urine	*K.pneumoniae*	245	99	40.41	278	104	37.41	293	130	44.4	363	176	48.5	356	140	39.33	42.28
	E.coli	767	8	1.04	709	33	4.65	848	24	2.83	894	31	3.47	710	22	3.10	3.00
sputum	*K.pneumoniae*	415	144	34.70	461	160	34.71	446	177	39.7	446	171	38.3	600	196	32.67	35.81
	E.coli	161	5	3.11	141	11	7.80	95	3	3.16	146	8	5.48	148	10	6.76	5.35
sterile site	*K.pneumoniae*	20	2	10.00	17	1	5.88	18	6	33.3	20	10	5	21	11	52.38	31.25
	E.coli	25	1	4.00	28	2	7.14	19	0	0	16	1	6.25	5	0	0.00	4.30

CR = Carbapenem Resistant , % = (Carbapenem Resistant/Total)x100

เมื่อเปรียบเทียบร้อยละของเชื้อดื้อยากลุ่ม carbapenem ต่อเชื้อชนิดกันแยกตามชนิดสิ่งส่งตรวจแต่ละชนิด พบว่าปี พ.ศ. 2560-2564 (ค.ศ. 2016-2021) ห้องปฏิบัติการพบอัตราเชื้อ CR-*E. coli* ต่อ *E. coli* สูงสุดในสิ่งส่งตรวจประเภทเสมหะ ร้อยละ 5.35 (37/691) รองลงมาคือ สิ่งส่งตรวจปราศจากเชื้อ ร้อยละ 4.30 (4/93) ปัสสาวะ ร้อยละ 3.00 (118/3,928) และเลือด ร้อยละ 1.38 (11/1,800) มากตามลำดับ ส่วนอัตราเชื้อ CR- *K. pneumoniae* ต่อ *K. pneumoniae* พบมากสุดในปัสสาวะ ร้อยละ 42.28 (649/1,535) เสมหะ ร้อยละ 35.81 (848/2,368) และสิ่งส่งตรวจปราศจากเชื้อ ร้อยละ 31.25 (30/96) ใกล้เคียงกับอัตราส่วนที่พบในเลือด ร้อยละ 31.20 (161/516) ตามลำดับ ดังที่แสดงในตารางที่ 1

ผลการศึกษายีนดื้อยาจากตัวอย่างเชื้อของโรงพยาบาลเลิดสินที่เข้าร่วมโครงการ “เครือข่ายเฝ้าระวังและศึกษาระดับโมเลกุลของแบคทีเรียดื้อยาในโรงพยาบาลและชุมชนตัวอย่างในประเทศไทย” ผลการทดสอบหายีนที่สร้างเอ็นไซม์ carbapenemase ได้แก่ bla_{KPC} ,bla_{NDM} ,bla_{OXA-48}, bla_{VIM} และ bla_{IMP} ด้วยวิธี multiplex PCR จากจำนวน 48 ตัวอย่างโดยเป็นเชื้อ *K. pneumoniae* ดื้อยากลุ่ม carbapenem 31 ตัวอย่าง และ *E. coli* ดื้อยากลุ่ม carbapenem 17 ตัวอย่าง พบยีนที่ควบคุมการสร้างเอ็นไซม์ carbapenemase 20 ตัวอย่าง จากเชื้อ *K. pneumoniae* 12 ตัวอย่าง และ *E. coli* 8 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 41.7 ของจำนวนตัวอย่างที่ทดสอบ

ตารางที่ 2 แสดงผลการตรวจพบยีนดื้อยา bla_{KPC},bla_{NDM},bla_{OXA-48}, bla_{VIM} และ bla_{IMP} แยกตามชนิดเชื้อและสิ่งส่งตรวจ

Carbapenemase producing gene in CR-K. pneumoniae & CR-E. coli in blood, urine, sputum and sterile site

			carbapenamase detection (isolate)					
		n	bla_{KPC}	bla_{NDM}	bla_{OXA-48}	bla_{VIM}	bla_{IMP}	
CR- *K. pneumoniae*	Blood	6	-	1(3.23%)	2(6.45%)	-	-	12(38.71%)
	Urine	11	-	-	4(12.90%)	-	-	
n=31	sputum	6	-	1(3.23%)	1(3.23%)	-	-	
	sterile site	8	-	1(3.23%)	2(6.45%)	-	-	
CR-*E. coli*	Blood	2	-	-	1(5.88%)	-	-	8(47.06%)
	Urine	5	-	3(17.65%)	-	-	-	
n=17	sputum	2	-	-	-	-	-	
	sterile site	8	-	4(23.53%)	-	-	-	

จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบยีนที่สร้างเอ็นไซม์ carbapenemase 20 ตัวอย่าง แยกชนิดของยีนที่พบ (ตารางที่ 2) พบว่าเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่ทดสอบ ไม่พบยีน bla_{IMP}, bla_{KPC} และ bla_{VIM} เชื้อ *E. coli* 17 ตัวอย่าง พบยีน bla_{NDM} จากปัสสาวะ 3 ตัวอย่างและสิ่งส่งตรวจจากบริเวณปราศจากเชื้อ 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 17.65 และ 23.53 ตามลำดับ พบยีน bla_{OXA-48} พบในเลือด 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 5.88 เชื้อ *K. pneumoniae* จำนวน 31 ตัวอย่าง พบยีน bla_{NDM} ในเสมหะ เลือด และ สิ่งสิ่งตรวจจากบริเวณปราศจากเชื้ออย่างละ 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อย 3.23 ยีน bla_{OXA-48} พบในเสมหะ 1 ตัวอย่าง ปัสสาวะ 4 ตัวอย่าง เลือดและสิ่งส่งตรวจปราศจากเชื้ออย่างละ 2 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 3.23, 12.90 และ 6.45 ตามลำดับ

วิจารณ์

การกระจายตัวของเชื้อดื้อยา CRE ที่ตรวจพบในโรงพยาบาลเลิดสินพบว่าหอผู้ป่วยหนักมีผู้ป่วยที่ตรวจพบเชื้อ CRE สูงเป็นอันดับหนึ่งเช่นเดียวกับหลายๆงานวิจัยจากต่างประเทศที่ส่วนมากจะพบในหอผู้ป่วยหนัก (ICU)[11, 12] แต่เนื่องจากข้อมูลที่นำมาวิเคราะห์มีการแยกหอผู้ป่วยอายุรกรรมชายกับอายุรกรรมหญิง ถ้านำข้อมูลของหอผู้ป่วยอายุรกรรมชายและหญิงรวมกันเป็นกลุ่มผู้ป่วยอายุรกรรมจะพบว่าจำนวนเชื้อดื้อยาสูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยหนักเช่นเดียวกับหลายๆโรงพยาบาลในประเทศไทย เช่น โรงพยาบาลสุราษฎร์ธานี[13] โรงพยาบาลอุตรดิตถ์[6] โรงพยาบาลพระปกเกล้า[14] โรงพยาบาลตราด[15] และ โรงพยาบาลมุกดาหาร[16] ที่พบเชื้อจากหอผู้ป่วยอายุรกรรมสูงที่สุด สิ่งส่งตรวจที่พบเชื้อมากที่สุด 2 อันดับแรก คือ เสมหะ ปัสสาวะ เหมือนกัน แต่อันดับพบมีความแตกต่างกันบ้าง โดย โรงพยาบาลอุตรดิตถ์ โรงพยาบาลมุกดาหาร โรงพยาบาลตราด พบในปัสสาวะสูงสุด รองลงมาคือ เสมหะ ในขณะที่โรงพยาบาลเลิดสินพบในเสมหะมากที่สุด เหมือนโรงพยาบาลสุราษฎร์ธานีและโรงพยาบาลสมเด็จพระเจ้าตากสินมหาราชจังหวัดตาก[17] จะเห็นได้ว่าการกระจายตัวของเชื้อ CRE ที่แยกได้จากผู้ป่วยในประเทศไทยมีความคล้ายคลึงกัน แตกต่างกันบ้างในอันดับของสิ่งส่งตรวจที่พบเชื้อ แต่สิ่งที่พบว่าเป็นปัญหาสำคัญที่เหมือนกันคือการที่อัตราดื้อยาที่เพิ่มขึ้นสอดคล้องกับรายงานสถานการณ์เชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ ปี 2543-2563 ของ NARST ประเทศไทย พบว่าความชุกของเชื้อ CRE เพิ่มสูงขึ้นต่อเนื่อง โดยปี 2543 ความชุกของเชื้อ K. pneumoniae ดื้อยา imipenem เพิ่มจากร้อยละ 1 เพิ่มเป็น 11.6 ในปี 2563 E. coli เพิ่มจากร้อยละ 0.9 เป็น 3[5] จากการศึกษานี้ผู้วิจัยพบว่าความชุกของการติดเชื้อ CRE ในโรงพยาบาลเลิดสินมีอัตราการตรวจพบที่สูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลของ NARST และเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานอัตราส่วนเชื้อดื้อยาในเขต 13 กรุงเทพมหานครปี 2560 เชื้อ *K. pneumoniae* และ *E. coli* ที่ไม่ไวต่อยา carbapenem เท่ากับร้อยละ 10.5 และ 0.9 ตามลำดับ[18] ในขณะที่ข้อมูลการพบเชื้อ CRE จากการศึกษานี้เปรียบเทียบในช่วงเวลาเดียวกันเท่ากับร้อยละ 31.42 และ 1.39 ในเชื้อ *K. pneumoniae* และ *E. coli* ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าประมาณ 3 เท่าในเชื้อ CR-K. *pneumoniae* ใกล้เคียงกับความชุกของเชื้อ CRE ในโรงพยาบาลราชวิถี พบ CR-K. *pneumoniae* เป็นร้อยละ 30.3 ในปี 2558[19] จากกราฟที่ 1 และ ตารางที่ 1 พบว่าปริมาณเชื้อ CR- *K. pneumoniae* และ CR -*E. coli* ปี พ.ศ. 2564 ลดลง อาจเนื่องมาจากสถานการณ์โควิด 19 ที่ลดจำนวนผู้ป่วยที่แออัดมิดและมาตรการในเรื่องการป้องกันการติดเชื้อโควิด 19 ที่ลดการสัมผัสและทำความสะอาดฆ่าเชื้อบริเวณพื้นที่สัมผัส เช่น ลูกบิดประตู ช่วยลดการติดเชื้ออื่น ๆ รวมถึงเชื้อดื้อยาด้วยทำให้กราฟจากปี พ.ศ. 2563 มาปี พ.ศ. 2564 มีแนวโน้มที่ลดต่ำลง

การศึกษายีน bla_{KPC},bla_{NDM},bla_{OXA-48}, bla_{VIM} และ bla_{IMP} ที่สร้างเอ็นไซม์ดื้อยา carbapenemase เปรียบเทียบกับการศึกษาอื่นในต่างประเทศที่พบความชุกแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ โดย bla_{KPC} พบมากสุดที่ สหรัฐอเมริกา อเมริกาใต้ ยุโรป bla_{NDM} พบมากในเอเชีย (อินเดีย ปากีสถาน บังคลาเทศ จีน) ส่วน $bla_{OXA-48\ like}$ พบแถวยุโรป (ฝรั่งเศส เยอรมัน เนเธอแลนด์ อิตาลี อังกฤษ และตะวันออกกลาง (ตุรกี)[20, 21] ซึ่งในการวิจัยนี้พบเพียงยีน bla_{NDM} และ bla_{OXA-48} เท่านั้น รายงานของธิติยา และคณะ[22] ที่ทำการศึกษาเชื้อดื้อยาโครงข่ายทั่วประเทศไทยรวมถึงการศึกษายีนดื้อยาที่สร้างเอ็นไซม์ carbapenemase จากตัวอย่างเชื้อ CR-*K. pneumoniae* 1,591 ตัวอย่างและ *E. coli* 722 ตัวอย่างจาก 74 โรงพยาบาล ตรวจพบ bla_{NDM} (ร้อยละ 52.9 และ 74.9) และ bla_{OXA-48} (ร้อยละ 54.1 และ 22.4) มากกว่ายีนอื่น ๆ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาอื่น ๆ ในประเทศไทยรายงานว่ายีนส่วนใหญ่ที่พบในเชื้อกลุ่ม *Enterobactericeae* คือ bla_{NDM} และ bla_{OXA-48} เช่น การศึกษาของ วิภา น้อยท่าช้าง และคณะ ที่ทดสอบหายีนที่สร้างเอ็นไซม์ carbapenemase จากการสุ่มตัวอย่างเชื้อ CR- *K. pneumoniae* 41 ตัวอย่างในโรงพยาบาลอุตรดิตถ์พบว่า ยีน bla_{NDM} มีความชุกมากที่สุด(ร้อยละ 90.2)[23] การศึกษาของ วราวุฒิ และคณะ ที่ทำการศึกษาในเขตกรุงเทพมหานคร 287 ตัวอย่างรายงานยีนที่พบมากที่สุด คือ bla_{NDM} และ $bla_{OXA-48-like}$ และยังพบว่าตัวอย่างที่ทดสอบมียีนดื้อยาทั้ง 2 ชนิดผสมกันถึงร้อยละ 25.11[24] ยีนดื้อยา bla_{NDM} ที่พบในงานวิจัยนี้ส่วนใหญ่พบจากสิ่งส่งตรวจบริเวณปราศจากเชื้อ และ $bla_{OXA-48-like}$ ตรวจพบจากปัสสาวะมากกว่าสิ่งส่งตรวจอื่น ซึ่งแตกต่างกับงานวิจัยของ วีวรรณ อาชีวะ ที่พบ bla_{NDM-1} ในปัสสาวะมากที่สุด[14] งานวิจัยนี้ไม่พบ bla_{KPC} จากตัวอย่างเชื้อในโรงพยาบาลเลิดสินและไม่พบตัวอย่างเชื้อที่มียีนดื้อยามากกว่า 1 ชนิด อาจเนื่องมาจากจำนวนตัวอย่างที่ใช้ศึกษายีนดื้อยาในงานวิจัยนี้มีจำนวนตัวอย่างน้อยอาจทำให้ไม่เห็นความหลายหลายของยีนดื้อยา

สรุป

การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงความชุกของเชื้อดื้อยา CRE ที่สูงมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อ CR- *K. pneumoniae* ที่สูงถึงร้อยละ 46.11 ในปี พ.ศ. 2563 ในขณะที่ CR -*E. coli* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 1.39 ในปี พ.ศ. 2560 เป็นร้อยละ 3.55 ในปี พ.ศ. 2564 จำเป็นต้องมีมาตรการการป้องกันการแพร่กระจายเชื้ออย่างเร่งด่วนและทำงานร่วมกันระหว่างสหวิชาชีพ เช่น คณะอนุกรรมการการใช้ยาอย่างสมเหตุผลและการจัดการการดื้อยาต้านชีพในโรงพยาบาล คณะกรรมการป้องกันการติดเชื้อในโรงพยาบาล สิ่งส่งตรวจที่ตรวจพบเชื้อดื้อ CRE มากที่สุด คือ เสมหะ การดื้อยาจากการสร้างเอ็นไซม์ carbapenemase พบร้อยละ 41.7 ยีนดื้อยาที่พบมากที่สุดคือ bla_{NDM} แสดงให้เห็นว่าเชื้อดื้อยาในโรงพยาบาลเลิดสินเกิดจากหลายสาเหตุทั้งการสร้างเอ็นไซม์และกลไกอื่น ๆ นอกจากการสร้างเอ็นไซม์ทำลายยาหรือเกิดหลายกลไกร่วมกัน ซึ่งผลการศึกษายีนดื้อยาจะช่วยเป็นข้อมูลในการเลือกใช้ยาในโรงพยาบาลให้มีความเหมาะสมและข้อมูลความชุกในการวิจัยนี้ช่วยสะท้อนปัญหาปริมาณเชื้อที่เพิ่มมากขึ้นเพื่อกระตุ้นให้เห็นถึงอันตรายและหามาตรการป้องกันการแพร่กระจายเชื้ออย่างจริงจังและเร่งด่วน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์จากความกรุณา คำแนะนำ ความช่วยเหลือ การสนับสนุนในด้านต่าง ๆ จากองค์กร หน่วยงาน และบุคคลหลายท่าน

ขอขอบพระคุณ โรงพยาบาลเลิดสิน สำหรับความกรุณาในการเก็บข้อมูลและตัวอย่างเชื้อ และสนับสนุนให้บุคลากรได้ทำงานวิจัยได้อย่างเต็มที่

ขอขอบพระคุณ ศ.ดร.นพ.ภัทรชัย กีรติสิน หัวหน้าโครงการ “เครือข่ายเฝ้าระวังและศึกษาระดับโมเลกุลของแบคทีเรียดื้อยาในโรงพยาบาลและชุมชนตัวอย่างในประเทศไทย” ที่ให้ความรู้และโอกาสได้เข้าร่วมงานวิจัยระดับประเทศ

รศ.ดร.วรดา สโมสรสุข ผู้วิจัยหลักโรงพยาบาลแม่ข่าย (โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ) “เครือข่ายเฝ้าระวังและศึกษาระดับโมเลกุลของแบคทีเรียดื้อยาในโรงพยาบาลและชุมชนตัวอย่างในประเทศไทย” อาจารย์ผู้ซึ่งคอยให้คำแนะนำ เมตตาและส่งเสริมความก้าวหน้าต่อศิษย์เสมอ

นายไพบูลย์ รัตนชัยพรพันธ์ หัวหน้ากลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิกและเทคนิคการแพทย์และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก โรงพยาบาลเลิดสิน หัวหน้าและเพื่อนร่วมงานผู้มีส่วนร่วมในแรงผลักดันให้เกิดงานวิจัย

References

1. Codjoe FS, Donkor ES. Carbapenem Resistance: A Review. Med Sci (Basel) 2018;6(1):1-28.
2. O’Neill J. Review on Antimicrobial Resistance. Tackling drug resistant infections globally: final report and recommendations. May 2016. [cited 2019 Feb 22]. Available from: https://www.biomerieuxconnection.com/wp-content/uploads/2018/04/Tackling-Drug-Resistant-Infections-Globally_-Final-Report-and-Recommendations.pdf.
3. World Health Organization. Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance 2014. [internet]. 2019 [cited 2019 Feb 22]. Available from: https://apps.who.int/iris/ bitstream/handle/10665/112642/9789241564748_eng.pdf.
4. Centers for Disease Control. Antibiotic Resistance Threats in the United States 2019. [internet]. 2019 [cited 2020 May 05]. Available from: https://www.cdc.gov/ drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf.

5. National Antimicrobial Resistance Surveillance Thailand. Situation of antimicrobial resistance 2000 - 2020 [internet]. 2020 [cited 2021 Sep 08]. Available from: http://narst. dmsc.moph. go.th/data/AMR%202000-2020-12M.pdf (in Thai)
6. Noitachang W, Prachayasittikul V, Lawung R. Situation Analysis of Carbapenem-Resistant Klebsiella pneumoniae in Uttaradit Hospital Between 2015 and 2017. Bamras j 2020;14(1):1-9.
7. Gupta N, Limbago BM, Patel JB, Kallen AJ. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: epidemiology and prevention. Clin Infect Dis 2011;53(1):60-7.
8. Taggar G, Attiq Rehman M, Boerlin P, Diarra MS. Molecular Epidemiology of Carbapenemases in Enterobacteriales from Humans, Animals, Food and the Environment. Antibiotics 2020; 9(10):693.
9. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, et al. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in Klebsiella pneumoniae sequence type 14 from India. Antimicrob Agents Chemother 2009;53(12):5046-54.
10. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis 2011;17(10):1791-8.
11. Li Y, Li J, Hu T, Hu J, Song N, Zhang Y, et al. Five-year change of prevalence and risk factors for infection and mortality of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae bloodstream infection in a tertiary hospital in North China. Antimicrob Resist Infect Control 2020; 9(1):79.
12. Wu D, Cai J, Liu J. Risk factors for the acquisition of nosocomial infection with carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae. South Med J 2011;104(2):106-10.
13. Peawpong C. Incidence of Carbapenem–resistant Enterobacteriaceae in Suratthani Hospital. Reg 11 Med J. 2016; 30(2):1-12.
14. Arsheewa W. Prevalence of carbapnemase enzyme in clinical isolates of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae from Prapokklao Hospital in 2012-2013. J Prapokklao Hosp Clin Med Educate Center 2016; 33(4):213-25.
15. Mukdapecharat T. Prevalence of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae (CRE) And Control Measures to Prevent The Spread of Infections in Patients across Trat Hospital. Department of Health Service Support Journal 2019; 15(3):51-61.
16. Ottiwet O. The prevalence of Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae in Mukdahan Hospital. Department of health Service Support Journal 2020; 16(2):47-56.
17. Sadsee P. Prevalence of Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae at Somdejphrachoataksinmaharaj Hospital, Tak. Bamras. J 2019; 13(2):78-86.
18. National Antimicrobial Resistance Surveillance Thailand. Situation of antimicrobial resistance [internet]. 2019 [cited 2019 Jul 27]. Available from: http://narst.dmsc.moph.go.th /data/ AMR2560.pdf
19. Thongkoom P, Kanchanahareutai S, Chantrakooptungkul S, Rahule S, Pupan M, Tuntrakul P, et al. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae at Rajavithi Hospital: Results of a Microbiology Laboratory Program (2009-2015). J Med Assoc Thai 2017;100(2):212.
20. Cui X, Zhang H, Du H. Carbapenemases in Enterobacteriaceae: Detection and Antimicrobial Therapy. Front Microbiol 2019; 10:1823.
21. David van Duin, Yohei Doi. The global epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Virulence 2017; 8(4): 460-9.
22. Yungyuen T, Chatsuwan T, Plongla R, Kanthawong S, Yordpratum U, Voravuthikunchai SP, et al. Nationwide Surveillance and Molecular Characterization of Critically Drug-Resistant Gram-Negative Bacteria: Results of the Research University Network Thailand Study. Antimicrob Agents Chemother 2021;65(9).
23. Noitachang W, Prachayasittikul V, Lawung R. Sutuation Analysis of Carbapenem-Resistant Klebsiella pneumoniae in Uttaradit Hospital Between 2015 and 2017. Bamras. J 2020;14(1):1-9.
24. Laolerd W, Akeda Y, Preeyanon L, Ratthawongjirakul P, Santanirand P. Carbapenemase-Producing Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae from Bangkok, Thailand, and their detection by the Carba NP and Modified carbapenem inactivation method tests. Microb Drug Resist 2018; 24(7): 1006–11.