**แบบเสนอโครงการประชุม**

**1.หัวข้อจัดประชุม** การประชุมวิชาการออนไลน์เก็บหน่วยกิต CMTE เรื่อง “Evolution of multi-drug resistant bacteria from 1994-2021”

**2.องค์กรผู้รับผิดชอบและจัดการประชุมวิชาการ** บริษัท เอเซค ฟรอนเทียร์ (ประเทศไทย) จำกัด

**3.หลักการและเหตุผลของโครงการ**

การค้นพบยาต้านจุลชีพนับเป็นการค้นพบที่สำคัญทางประวัติศาสตร์การแพทย์ มีบทบาทในการรักษาผู้ป่วยให้รอดชีวิตจากโรคติดเชื้อที่เป็นโรคที่น่าสะพรึงกลัวในอดีต การใช้ยาต้านจุลชีพทางคลินิกอย่างแพร่หลายเกิดขึ้นไม่นานไปกว่า 80 ปีที่ผ่านมา ยาต้านจุลชีพชนิดแรกๆ เป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่ม penicillin สามารถนำมาใช้รักษาการติดเชื้อที่บาดแผลได้เป็นอย่างดี แม้ว่าเชื้อก่อโรคจะเป็น Staphylococcus aureus ก็ตามซึ่งปัจจุบันดื้อ penicillin เกือบทั้งหมด ในเวลาต่อมาก็มีการรายงานการรักษาที่ไม่ได้ผลจากการติดเชื้อที่ดื้อยา โดยเมื่อศึกษาประวัติการคิดค้นยาต้านจุลชีพตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน จะพบว่ามีการพัฒนายาต้านจุลชีพเพื่อใช้ในการรักษาเชื้อดื้อยาอยู่ตลอดเวลา แต่เชื้อก่อโรคไม่เคยใช้เวลานานในการที่จะกลับมาเอาชนะยาได้ จึงทำให้การศึกษาเรื่องเชื้อโรคดื้อยานั้นสำคัญอย่างยิ่งในการพัฒนาองค์ความรู้และป้องกันการเกิดเชื้อโรคดื้อยาในอนาคตให้ได้มากที่สุด

การศึกษาวิวัฒนาการการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อมีความก้าวหน้าไปมาก มีรายละเอียดและสลับซับซ้อนไม่น้อย บริษัท เอเซค ฟรอนเทียร์ (ประเทศไทย) จำกัด เล็งเห็นถึงความสำคัญในการเพิ่มพูนความรู้ และข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับที่มาของปัญหาเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ ความเข้าใจการถ่ายทอดคุณสมบัติการดื้อยาจะสามารถป้องกันการเกิดแบคทีเรียดื้อยาสายพันธุ์ใหม่ การตรวจคุณสมบัติของเชื้อดื้อยาด้วยเทคนิคที่เหมาะสมกับยีนดื้อยา จึงได้เสนอจัดการประชุมวิชาการออนไลน์ขึ้น ในหัวข้อเรื่อง “Evolution of multi-drug resistant bacteria from 1994-2021” เพื่อให้นักเทคนิคการแพทย์ได้เพิ่มพูนความรู้และทักษะทางวิชาชีพในประเด็นดังกล่าว และเพิ่มประสิทธิภาพในการวินิจฉัยผลการตรวจการวิเคราะห์

**4.วัตถุประสงค์ของโครงการ**

4.1. เพื่อให้มีความรู้ที่ถูกต้องเกี่ยวกับโรคติดเชื้อ เชื้อดื้อยา
4.2. เพื่อให้มีเพิ่มความรู้เกี่ยวกับยาต้านจุลชีพและวิธีการนำไปใช้
4.3. เพื่อลดโอกาสการเกิดแบคทีเรียดื้อยาสายพันธุ์ใหม่
4.3. เพื่อให้สามารถวิเคราะห์และอ่านผล Lab ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด

**5.ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ**

5.1. นักเทคนิคการแพทย์มีความรู้ความเข้าใจที่ถูกต้องเกี่ยวกับโรคติดเชื้อ และเชื้อดื้อยามากขึ้น
5.2. นักเทคนิคการแพทย์สามารถวิเคราะห์และอ่านผล Lab ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด
5.3. นักเทคนิคการแพทย์มีความรู้ความเข้าใจในยาต้านจุลชีพมากขึ้น
5.4. นักเทคนิคการแพทย์ได้ร่วมแลกเปลี่ยนความรู้ เกี่ยวกับงานวิจัย การพัฒนาของโรคติดเชื้อ และเชื้อดื้อยา

**6.เป้าหมายผู้เข้าร่วมประชุม** นักเทคนิคการแพทย์ที่สนใจจำนวน 500 ท่าน

**7.วิทยากร** รศ.นพ.ชาญวิทย์ ตรีพุทธรัตน์

**8.ผู้ดำเนินรายการ** ดร.ทนพญ.ปรีดา โพธิ์ถาวร ภาควิชาวิทยาภูมิคุ้มกัน

**9.สถานที่ประชุม** ออนไลน์

**10.รูปแบบการประชุม**  การบรรยาย

**11.งบประมาณโครงการ** งบประมาณของบริษัท ASEC Frontier (ประเทศไทย) จำกัด

**12.ตารางเวลาประชุม** วันที่ 26 สิงหาคม 2564 เวลา 17:00 – 19:00

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| วันและเวลา | รายละเอียด | ผู้เกี่ยวข้อง |
| 16:40 – 17:00 | เตรียมตัวก่อนเริ่มงานประชุมวิชาการ |  |
| 17:00 – 19:00 | การบรรยายในหัวข้อเรื่อง “Evolution of multi-drug resistant bacteria from 1994-2021.” | รศ.นพ.ชาญวิทย์ ตรีพุทธรัตน์ |
| 19:00 | ทำแบบทดสอบ |  |

**13.เนื้อหาโดยสังเขป**

13.1. การนำยาต้านจุลชีพมาใช้ทางคลินิก

13.2. การเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียเมื่อมีการนำยาต้านจุลชีพมาใช้

13.3. การสะสมยีนและคุณสมบัติการดื้อยา

13.4. การค้นพบ genetic element ที่ทำหน้าที่สะสมยีนดื้อยา

13.5. การตรวจสายพันธุ์และการแพร่กระจายของแบคทีเรียดื้อยา

13.6. ปัญหาที่สำคัญในปัจจุบันเกี่ยวกับการดูแลรักษาผู้ป่วยติดเชื้อดื้อยาหลายขนาน

**14.ขอบเขตของเนื้อหา**

 14.1. การนำยาต้านจุลชีพมาใช้ทางคลินิก

การใช้ยาต้านจุลชีพในยุคแรกจะเป็นการใช้ยาที่แพทย์ทราบมาก่อนจากการทดลองไม่ว่าจะเป็น in vitro หรือ in vivo ว่าเชื้อไวต่อยาและน่าจะสามารถกำจัดเชื้อก่อโรคได้ มีผลการรักษาที่ประสบความสำเร็จสูงมาก เชื้อก่อโรคเองก่อมักจะไม่มีคุณสมบัติในการดื้อยาแต่อย่างใดในช่วงปีแรก เมื่อมีการใช้ยาต้านจุลชีพมากครั้งพอ ซึ่งมักจะไม่นานกว่า 3 ปี ก็จะเกิดเชื้อดื้อยาขึ้นในระดับที่อัตราการรักษาที่เป็นผลสำเร็จลดต่ำลงไปมาก เช่น น้อยกว่า 80 % การอธิบายกลไกการดื้อยาในยุคแรกจึงเป็นเรื่องของ natural resistance และ target mutation ทำให้เชื้อดื้อยา การใช้ยาต้านจุลชีพชนิดใหม่ที่เป็นยาในกลุ่มอื่นมักจะขจัดปัญหาการรักษาเชื้อดื้อยาตัวแรกไปได้ แต่ต่อมาไม่นานการใช้ยาหลายขนานก็ทำให้เกิดสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่ดื้อยาหลายขนานเช่นกัน แพทย์ที่ทำงานอยู่ในโรงพยาบาลขนาดใหญ่ที่ใช้ยาต้านจุลชีพปริมาณมากคงสงสัยว่าเหตุใดเชื้อก่อโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลจึงมักจะดื้อยาต้านจุลชีพมากกว่าเชื้อที่ก่อโรคในผู้ป่วยที่เพิ่งมาจากบ้านเพื่อรับการรักษาโรคติดเชื้อเป็นครั้งแรก แพทย์ทางด้านโรคติดเชื้อจะอธิบายว่าเชื้อดื้อยามีการกลายพันธุ์หรือมียีนดื้อยาซึ่งมีทั้งแบบที่เป็น pre-existing genes ที่มีอยู่แล้วใน chromosome ของมันแต่ไม่มีการแสดงออกหรือแสดงออกน้อยกว่าที่จะทำให้เชื้อดื้อยาในช่วงที่มีการใช้ยาครั้งแรก ๆ และแบบที่ได้รับมาใหม่ (acquired resistance genes)

14.2. การเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียเมื่อมีการนำยาต้านจุลชีพมาใช้

การที่เชื้อแบคทีเรียเปลี่ยนคุณสมบัติจากเชื้อที่ไวต่อยามาเป็นดื้อยา อาจอธิบายได้ว่าเชื้อมีการกลายพันธุ์ เช่น

14.2.1. มีการเปลี่ยนแปลงของการนำเข้าของยาต้านจุลชีพ ทำให้ยาไม่สามารถไปออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ target protein ได้ เช่น การไม่สร้าง outer membrane protein บางชนิด ตัวอย่างที่ชัดเจน คือ การไม่สร้าง OprD outer membrane porin protein ของเชื้อ Pseudomonas aeruginosa ที่ทำให้เชื้อดื้อยา imipenem

14.2.2. มีการเปลี่ยนแปลง target เช่น การเปลี่ยนแปลงของที่ sequence ของ ribosomal RNA (rRNA) ทำให้ยากลุ่ม aminoglycoside ไม่สามารถจับกับ rRNA จึงยับยั้งการทำงานของ ribosome ไม่ได้

14.2.3. การได้รับคุณสมบัติการทำลายยาต้านจุลชีพเพราะมี antibiotic modifying enzyme จากการได้รับยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ดังกล่าวมาจากเชื้อชนิดอื่น เช่น การได้รับ aminoglycoside acetyltransferase (aac) gene ที่ทำให้ดื้อ aminoglycoside หรือ การสร้าง β-lactamase ที่ทำให้ดื้อ penicillin เป็นต้น

14.2.4. การขับยาต้านจุลชีพออกจากเซลล์ของแบคทีเรียก่อนที่ยาจะออกฤทธิ์ได้ โดยการใช้ membrane protein ที่มีคุณสมบัติเป็น efflux pump เช่น การทำงานของ OprM protein ภายใต้การทำงานที่เพิ่มขึ้นของระบบยีน mexA-mexB operon ทำให้ P. aeruginosa ดื้อยาหลายชนิด โดยเฉพาะยากลุ่ม carbapenem

14.2.5. การสร้าง bypassed metabolic pathway จากการได้รับยีนที่ควบคุมเอนไซม์ชนิดใหม่จากเชื้อชนิดอื่น มาใช้ให้รอดจากการถูกยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ชนิดเดิมโดยยาต้านจุลชีพ เช่น การสร้าง dihydrofolate synthase หรือ dihydropteroate synthase ชนิดใหม่ที่ทำให้เชื้อดื้อยา sulfonamide หรือ trimethoprim เป็นต้น

14.2.6. การสร้าง binding target เพิ่มขึ้นให้มากพอที่จะทำให้ยาต้านจุลชีพไม่เหลือพอที่จะยับยั้งการทำงานของ target ของยา เช่น การสร้างผนังเซลล์ให้หนามากขึ้นของเชื้อ methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) จนทำให้ vancomycin ถูกจับไปหมด ไม่เหลือพอที่จะไปยับยั้งการ cross linking ของผนังเซลล์ที่อยู่ชั้นใน ทำให้เชื้อไม่ตาย

14.3. การสะสมยีนและคุณสมบัติการดื้อยา

 การค้นพบทางพันธุกรรมของเชื้อก่อโรคทำให้วงการแพทย์ทราบว่าเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยามีความสามารถในการดื้อยามาก่อนที่จะมีการใช้ยาต้านจุลชีพในมนุษย์ (5) อาจกล่าวได้ว่ามียีนดื้อยาอยู่ในเชื้อบางชนิดนานกว่าล้านปีแล้ว ยีนที่ควบคุมการดื้อยาดังกล่าวอาจมีหน้าที่บางอย่างในธรรมชาติที่ไม่เกี่ยวกับคุณสมบัติของการดื้อยาเลยก็ได้ หรืออาจเป็นยีนที่ทำให้ดื้อยาโดยตรงเนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้อาจมีวิวัฒนาการและต้องอาศัยอยู่ร่วมกับเชื้อจุลชีพอื่นที่สร้างสารปฏิชีวนะออกมาในสิ่งแวดล้อม การดื้อยาหรือสารปฏิชีวนะดังกล่าวจึงเป็นส่วนหนึ่งที่ถูกเรียกว่า natural resistance (นอกเหนือจากการที่เชื้อไม่มี target ของยาต้านจุลชีพ)

14.4. การค้นพบ genetic element ที่ทำหน้าที่สะสมยีนดื้อยา

 แพทย์หลายท่านคงเคยสงสัยว่าทำไมเชื้อบางสายพันธุ์จึงดื้อยาต้านจุลชีพได้หลายกลุ่มพร้อมกันในเวลาไม่นาน “ขบวนการที่ทำให้เชื้อดื้อยาได้อย่างรวดเร็ว” กับ “ขบวนการที่ทำให้เชื้อดื้อยาหลายขนาน” อาจเป็นผลลัพธ์ความสามารถทางพันธุกรรมที่แตกต่างกันแต่เกี่ยวข้องกัน การศึกษาทางพันธุกรรมในแบคทีเรียเผยให้เห็นว่า เชื้อแบคทีเรียมีความสามารถในการถ่ายทอดยีนควบคุมการดื้อยาให้กันและกันได้โดย vertical gene transfer และ horizontal gene transfer 3 ขบวนการ ที่เรียก transformation, conjugation, และ transduction ที่ทำให้เชื้อดื้อยาได้อย่างรวดเร็ว ภายในชั่วข้ามคืนหรือไม่กี่นาทีขึ้นกับสภาวะและความเหมาะสมของสิ่งแวดล้อมและชนิดของแบคทีเรีย และการที่เชื้อมี “mobile genetic elements” ที่เรียก “transposon” และ “insertion sequence element” ที่ทำหน้าที่แพร่กระจายยีนดื้อยาชนิดต่าง ๆ ไปแทรกใน chromosome หรือ plasmid โดยที่ตามปกติ transposon หนึ่งชนิดมักทำให้เชื้อดื้อยาหนึ่งขนานเช่น เชื้อที่มี transposon หลายชนิด ก็จะทำให้เชื้อดื้อยาหลายขนาน และการมี genetic element ที่เพิ่งถูกค้นพบไม่นานนัก ที่เรียกว่า “integron element” ทำให้เชื้อดื้อยาต้านจุลชีพได้หลายขนานพร้อมกัน (9-11) เนื่องจาก integron มีความสามารถในการที่จะนำ resistance gene หลายอัน มาเรียงต่อกันได้ เมื่อมีการใช้ยาต้านจุลชีพหลายขนาน ในปริมาณมาก เป็นเวลานาน ก็จะมีแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติของการถ่ายทอดยีนแบบ horizontal gene transfer (และ vertical gene transfer) มี transposons และ/หรือ integron ที่มียีนควบคุมการดื้อยาครบทุกขนานอยู่ภายในเซลล์ของมัน โดยที่เชื้อดังกล่าวก็คือเชื้อที่อยู่รอดจากการรักษาด้วยยาหลายขนาน นั่นคือเชื้อที่ก่อโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลส่วนใหญ่นั่นเอง

14.5. การตรวจสายพันธุ์และการแพร่กระจายของแบคทีเรียดื้อยา

14.5.1. Extended-spectrum β-lactamase (ESBL) genes: ยีน ESBL มีวิวัฒนาการมาจาก restricted-spectrum β-lactamase ที่เดิมเป็น natural resistance gene ในเชื้อบางชนิด ยีนเหล่านี้สร้างเอนไซม์ส่วนใหญ่ที่พบว่าเป็น class A β-lactamase มีส่วนน้อยที่เป็นยีนที่สร้าง class D β-lactamase ตัวอย่างที่มีผลการศึกษายืนยันชัดเจนเช่น β-lactamase ที่ชื่อ blaSHV-1 ที่เป็น chromosomal gene ดั้งเดิมของ Klebsiella pneumoniae หรือ ต้นกำเนิดของ blaCTX-M genes จาก Kluyvera spp. (12-14) ที่มีการกลายพันธุ์แบบ point mutation แล้วทำให้ได้ยีนชนิดใหม่ที่ต่างไปจากยีนเดิมเพียงเล็กน้อย แต่สร้างเอนไซม์ที่มี spectrum ต่อยาต้านจุลชีพเพิ่มขึ้น เป็นที่มาของชื่อ “extended-spectrum” และมีตัวเลขตามหลังจากหมายเลข 1 ไปจนถึงกว่า 200 variants ในยีนบางตระกูล เช่น blaTEM-220 (หมายเหตุ: ยังไม่ทราบว่าเชื้อที่เป็นต้นกำเนิด blaTEM-1 คือเชื้อชนิดใด) เมื่อยีนดังกล่าวถูกบรรจุไว้ใน transposon หรือ integron โดยความบังเอิญของการกลายพันธุ์ร่วมกับ “antibiotic selective pressure” ทำให้มีการแพร่กระจายของ ESBL genes ไปยังเชื้อ species อื่นที่ไม่ใช่เชื้อต้นกำเนิดของยีนนั้น การศึกษาชนิดของ ESBL genes ร่วมกับชนิดของ mobile genetic elements จะช่วยให้การเฝ้าระวังและควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อจึงมีความเป็นไปได้อย่างจำเพาะและมีประสิทธิภาพกว่าการใช้ general precaution เพราะสามารถทำให้เป็น evidence-based practice ได้ นอกจากนี้การศึกษาคุณสมบัติของ ESBL แต่ละชนิดสามารถทำให้ทราบว่า ESBL แต่ละชนิดมีความสามารถในการทำลายยาและ/หรือไวต่อการยับยั้งด้วย β-lactamase inhibitor ไม่เหมือนกัน การวิเคราะห์ ESBL gene จึงมีความสำคัญต่อการเลือกใช้ยาด้วย

14.5.2. Metallo-β-lactamase (MBL) หรือ class B β-lactamase: เป็นยีนที่ควบคุมการสร้าง β-lactamase ชนิดใหม่ ที่ใช้ Zn ion มาใช้ใน hydrolytic mechanism ในการทำลาย β-lactam ring ของ β-lactam antibiotic ยีนกลุ่มนี้ทำให้เชื้อดื้อ β-lactam เกือบทุกกลุ่ม ได้แก่ penicillins, cephalosporins, และ carbapenems ยกเว้น monobactam (ได้แก่ aztreonam ซึ่งไม่มีใช้ในประเทศไทยในปัจจุบัน) ขณะนี้พบว่า MBL genes ได้ถูก integron element จับไว้เป็น resistance cassettes ของมันแล้ว ทำให้ MBL genes สามารถแพร่กระจายข้าม ของ Gram-negative bacteria ได้ มีการศึกษาที่ทำในเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยโรงพยาบาลศิริราชและรามาธิบดีพบว่ามีเชื้อที่มี MBL genes ในตระกูล blaIMP และ blaVIM ตามลำดับ และอาจพบ blaIMP ในโรงพยาบาลอื่น ๆ ได้อีก เช่นที่ โรงพยาบาลในจังหวัดพิษณุโลก ขอนแก่น นครราชสีมาและนนทบุรี เป็นต้น (15)

14.5.3. mecA gene ที่อยู่บน SCCmec elements: mecA gene จะสร้าง penicillin-binding protein ชนิดใหม่เพื่อให้เชื้อสามารถสร้างผนังเซลล์ที่แข็งแรงได้ในภาวะที่มีการใช้ยาต้านจุลชีพกลุ่ม β-lactams เช่น oxacillin, methicillin, cephalosporins, และ carbapenems ที่มีใช้ในปัจจุบัน SCCmec element ที่ถูกค้นพบในปัจจุบันที่ทำให้เชื้อดื้อยากลุ่ม β-lactams มีอยู่อย่างน้อย 14 types (16-21) แต่ละ type มียีนดื้อยาแทรกอยู่จากการมี transposon insertion ไม่เหมือนกัน ทำให้เชื้อที่มี SCCmec คนละ type ดื้อยาต้านจุลชีพชนิดต่าง ๆ ไม่เหมือนกัน และด้วยการที่ SCCmec element แทรกตัวอยู่ในสาย chromosome ที่มีเพียง 1 วง ของเชื้อ staphylococci ทำให้การถ่ายทอดยีนดื้อยาเป็นแบบ vertical gene transfer จากเซลล์แม่สู่เซลล์ลูก การแพร่กระจายของ MRSA และ MRCoNS (methicillin-resistance coagulase negative staphylococci) จึงเป็นปัญหาที่เกิดจากการมี cross-infection จากผู้ป่วยสู่ผู้ป่วยเพราะไม่มี contact precaution ที่ส่วนใหญ่เกิดจากการไม่ล้างมือของบุคลากรทางการแพทย์ทุกระดับและการไม่มีการเฝ้าระวังหรือติดตามผู้ป่วยที่เป็น carrier รวมถึงผู้ที่เป็น reservoir ของเชื้อ แต่ไม่มีโรคติดเชื้อ (colonizer) การศึกษาทางพันธุกรรมของ MRSA ในศิริราชพบว่าเชื้อที่แพร่กระจายอยู่ในโรงพยาบาลเป็นเชื้อที่ระบาดข้ามมาจากต่างประเทศ มีบางสายพันธุ์ที่อยู่ยืนยงอยู่ในโรงพยาบาลไม่น้อยกว่า 10 ปี โดยการกระโดดข้ามจากผู้ป่วยหนึ่งรายไปยังผู้ป่วยรายอื่น ๆ โดยไม่ถูกกำจัดให้หมดไป นอกจากที่เชื้อไม่ถูกกำจัดให้หมดไปแล้ว เชื้อยังสามารถแพร่ไปยังทุกหอผู้ป่วยในโรงพยาบาลอีกด้วย นอกจากนี้ยังมีการนำเข้าของเชื้อ MRSA ตัวใหม่ๆซึ่งมากับผู้ป่วยรายใหม่ (เก่ามาจากโรงพยาบาลอื่น) เข้ามาเติมให้กับสิ่งแวดล้อมในโรงพยาบาลและผู้ป่วยรายใหม่ โดยที่แพทย์ไม่สามารถทราบได้เพราะไม่เคยตรวจหรือซักประวัติการมี MRSA จากการเคยได้รับการรักษาในโรงพยาบาลมาก่อน ไม่ว่าจะเป็นโรงพยาบาลในประเทศหรือต่างประเทศ (constant influx ของเชื้อ MRSA)

การศึกษาเชื้อในช่วงปี 2542-2546 พบว่าเชื้อ MRSA ในศิริราชเป็นสายพันธุ์ ST239-MRSA-III เกือบทั้งหมด มีอยู่น้อยกว่าร้อยละ 1 ที่เป็นเชื้อ ST5-MRSA-II (ST เป็น sequence type โดยการศึกษา evolution ของเชื้อโดยวิธี multi-locus sequence typing และอักษรโรมันต่อท้ายเป็น SCCmec type ที่เชื้อ sequence type นั้นมีใน chromosome)

14.6. ปัญหาที่สำคัญในปัจจุบันเกี่ยวกับการดูแลรักษาผู้ป่วยติดเชื้อดื้อยาหลายขนาน

 ปัญหาของเชื้อดื้อยาชนิดต่างๆ ที่น่าสนใจและควรทำความเข้าใจ

14.6.1การดื้อยาหลายขนานของเชื้อในกลุ่ม Gram-negative bacteria: เชื้อกรัมลบมีความสามารถในการ conjugation ได้เป็นอย่างดี ขณะนี้มีการแพร่กระจายของ plasmid ที่มีคุณสมบัติของการ conjugation ข้าม genus ได้ เช่น จาก E. coli ไปยัง P. aeruginosa E. coli ไปยัง Proteus spp. Aeromonas sp. ไปยัง Vibrio sp. และในทางกลับกันด้วย โดยยีนดื้อยาที่ตรวจพบบน plasmid ซึ่งน่าจะมีขนาดใหญ่กว่า 100 kilobases อยู่ในส่วนของ integron element ได้แก่ยีนที่เป็น ESBL gene ชื่อ blaVEB-1 ที่ทำให้ดื้อ cephalosporin ทุก generation, aadB ที่ทำให้ดื้อ gentamicin, arr-2 ที่ทำให้ดื้อ rifampin, cmlA ที่ทำให้ดื้อ chloramphenicol, aadA ที่ทำให้ดื้อ streptomycin เป็นต้น (22-26) การที่ยีนดื้อยาหลายชนิดอาจพบอยู่บน plasmid ซึ่งเป็น extrachromosomal DNA การตรวจสายพันธุ์ที่เกี่ยวกับ chromosome เช่น วิธี pulsed-field electrophoresis (PFGE) จะไม่สามารถบอกถึงปัญหาการแพร่กระจายของยีนดื้อยาได้ทั้งหมด จำเป็นต้องศึกษา plasmid ร่วมด้วย และเชื้อก่อโรคที่ดื้อยามักเป็นเชื้อหลายสายพันธ์ หรือเป็น polyclonal pathogens

14.6.2.ปัญหาที่อาจพบหากมีการใช้เทคนิค Antibiotic cycling และการเกิดปัญหา indirect selection of other resistance genes จากการมี integron elements: Integron element มีความสามารถในการสะสมยีนดื้อยาหลายๆชนิดมาเรียงต่อกัน อย่างไม่จำกัดจำนวน และการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า มียีนที่ทำให้เชื้อดื้อยาที่เคยใช้ในอดีตและหยุดใช้ไปนานแล้ว ก็ยังคงถูกเก็บไว้เป็นส่วนหนึ่งของ integron element เสมอ ทำให้การนำยาเก่าเวียนมาใช้ใหม่ จะไม่สามารถทำลายเชื้อที่มี integron element ดังกล่าวได้ และการที่ integron สามารถเรียงยีนดื้อยาไว้ติดๆกันได้ ทำให้เกิดภาวะของ gene linkage เกิดขึ้น กล่าวคือยีนดื้อยาต่างชนิดกัน อาจจะอยู่ด้วยกันตลอด เมื่อให้ยาต้านจุลชีพขนานหนึ่งอาจคัดเลือกยีนดื้อยาขนานอื่นๆที่อยู่ติดกันไปด้วยเสมอ

14.6.3.เชื้อดื้อยาหลายขนานที่มีคุณสมบัติในการอยู่รอดนอกร่างกายของผู้ป่วยได้เป็นเวลานานหลายเดือน: ได้แก่เชื้อ MRSA และ pan-resistant Acinetobacter baumannii จะพบปัญหาการแพร่กระจายของเชื้อไปทั่วหอผู้ป่วย เชื้อจะอยู่ในโรงพยาบาลนานพอที่จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของสายพันธุ์ในรุ่นลูกหลานของมัน ที่อาจมากพอจนทำให้การตรวจสายพันธุ์โดยการใช้ chromosome มาตรวจด้วยวิธี PFGE มีความแตกต่างกันในเชื้อที่กลายเป็น endemic strain ที่มีต้นกำเนิดมาจากเชื้อรุ่นแรก ๆ ที่เป็นสายพันธุ์เดียวกัน การแปลผล PFGE pattern จะบอกว่าไม่มีการระบาดของเชื้อ แต่ความจริงปัญหารุนแรงแบบคาดไม่ถึง เพราะเชื้อแพร่กระจายไปมาบ่อยครั้งและนานจนกระทั่งจับไม่ได้ว่าอาจเป็นการ ”ระบาดซ้อน” หรือเป็นภาวะ “endemic” มาเป็นเวลานาน สืบสวนครั้งใดก็พบว่ามีเชื้อในผู้ป่วยอยู่หลายสายพันธุ์ทุกครั้ง ทำให้ไม่สามารถตรวจจับ small outbreak inside high endemic background ได้

14.6.4.Polyclonal กับ oligoclonal strains of nosocomial pathogens: Polyclonal bacteria เป็นคำอธิบายสายพันธุ์ของเชื้อดื้อยาหลายขนานว่าเกิดจากเชื้อหลายๆสายพันธุ์ในช่วงเวลาเดียวกัน การเกิดการคัดเลือกเชื้อดื้อยาหลายๆสายพันธุ์เป็นเพราะมีการใช้ antibiotic pressure จากการใช้จำนวนชนิดของยาต้านจุลชีพมากเกินไป เป็นผลให้มีการสะสมของยีนดื้อยาหลายๆยีนพร้อมกัน แล้วเชื้อหลายๆ species หรือหลาย genus ส่งต่อยีนดื้อยาให้กันและกัน และมักเกิดจากเชื้อมี transposon หรือ integron ที่สะสมยีนดื้อยาไว้ได้หลายชนิดแล้ว ส่วน oligoclonal bacteria เป็นผลมาจากการที่มี infection control ที่ไม่ดี ทำให้เชื้อสายพันธุ์เดียวกันแพร่กระจายไปได้ในผู้ป่วยหลายราย เมื่อสถานพยาบาลใดมีการใช้ยาอย่างไม่จำกัดและมี infection control ที่ไม่ดี ก็จะเกิดปัญหาการแพร่กระจายของเชื้อที่มีทั้งแบบ polyclonal และ oligoclonal pathogens

16.6.5.ปัญหาการรายงานผลความไวต่อยาต้านจุลชีพทางห้องปฏิบัติการ: การแปลผลการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพเป็นเรื่องที่ไม่ง่ายอย่างที่คิด และแพทย์ทั่วไปอาจมองไม่เห็นปัญหาที่ซ่อนอยู่ หากแพทย์ผู้รักษามีความรู้เป็นอย่างดีเกี่ยวกับคุณสมบัติการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย การแปลผลการดื้อยา การเลือกใช้ยาต้านจุลชีพ และการพยากรณ์ผลการรักษาจะเป็นเรื่องที่ท้าทายความสามารถของแพทย์เป็นอย่างยิ่ง แพทย์ต้องพิจารณาคุณสมบัติของเชื้อและต้องคำนึงถึงคุณสมบัติของร่างกายและระบบภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยควบคู่ไปด้วย เชื้อแบคทีเรียที่ถูกทดสอบในห้องปฏิบัติการ อาจมีคุณสมบัติที่แตกต่างออกไปเมื่อเชื้ออยู่ในร่างกายของผู้ป่วย

* เนื่องจากการทดสอบในหลอดทดลองไม่สามารถเลียนแบบภาวะที่เชื้อจะสัมผัสกับยาในร่างกายของผู้ป่วย การกระจายตัวของยาและคุณสมบัติการมีฤทธิ์ที่ขึ้นอยู่กับ pharmacokinetics และ pharmacodynamics ล้วนมีผลต่อการรักษา
* การทดสอบทางห้องปฏิบัติการมักไม่สามารถแสดงภาวะจำเพาะบางอย่างของคุณสมบัติการดื้อยา เช่น การเกิด antagonistic หรือ synergistic effects เมื่อมีการใช้ยาต้านจุลชีพมากกว่า 1 ขนาน รวมถึงการที่ยีนดื้อยาบางชนิดมีภาวะ inducible การทดสอบที่ไม่สามารถสร้างภาวะที่ยีนจะถูก induced ให้แสดงการดื้อยา ก็จะได้ผลการทดสอบว่าเชื้อไวต่อยา ซึ่งในความเป็นจริงในการรักษา เชื้ออาจดื้อยาได้
* ปริมาณของเชื้อที่ใช้ในการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ เช่น การมี inoculum effect ในเชื้อที่สร้าง β-lactamase จะพบว่าค่า minimal inhibitory concentration (MIC) ของยาต้านจุลชีพจะไม่เท่ากัน ถ้ามีจำนวนเชื้อที่ใช้ในการทดสอบไม่เท่ากัน หรือจำนวนเชื้อที่ทดสอบอาจมีอยู่น้อยเกินไป จะไม่สามารถตรวจพบเชื้อที่มีอัตราการกลายพันธุ์ต่ำ เช่น เชื้อ MRSA ที่มีโอกาสกลายพันธุ์ที่ 1 ใน ล้านถึง 1 ใน 100 ล้าน ไปเป็นเชื้อที่ดื้อต่อ vancomycin การใช้เชื้อจำนวน 104 – 105 CFU ในการทดสอบ vancomycin โดยวิธี disk diffusion จะไม่สามารถตรวจพบการดื้อยา vancomycin ได้

16.6.6.เชื้อ E. coli และ Salmonella enterica จากวงการปศุสัตว์ ที่อยู่ในสัตว์เลี้ยงเพื่อการบริโภค เช่น ไก่ สุกร มีเชื้อดื้อยาหลายขนานและแพร่ระบาดจากฟาร์มสู่ชุมชนและโรงพยาบาล การศึกษาสายพันธุ์ของเชื้อดื้อยาและยีนดื้อยาทำให้ทราบว่ามีเชื้อก่อโรคที่แพร่ระบาดในห่วงโซ่อาหารของไทย (Kongsanan)

16.6.7.เชื้อก่อโรคหนองในดื้อยาในกลุ่ม cephalosporin ขณะนี้เริ่มมีการตรวจพบ Neisseria gonorrhoeae ดื้อยาต้านจุลชีพหลายขนานและยากลุ่มสุดท้ายที่อยู่ใน guideline การรักษาโรคหนองใน และเป็นสายพันธุ์ที่ระบาดข้ามประเทศโดยมีประเทศไทยอยู่ในกลุ่มประเทศที่พบเชื้อชนิดเดียวกัน

**17. ลิงก์การลงทะเบียนสมัคร** https://medical-leaders-thailand.com/cpd/

**18. สอบถามเพิ่มเติมหรือมีข้อสงสัยติดต่อได้ที่**
- คุณธนพร thanapron@asec-frontier.com
- คุณชนาภา chanapa@asec-frontier.com
- Email : info@medical-leaders-thailand.com
- Line Official Account: @mltofficial

**19. อ้างอิงที่มา**

1. Travis J. Reviving the antibiotic miracle? [news]. Science 1994;264(5157):360-2.

2. Rasheed JK, Jay C, Metchock B, Berkowitz F, Weigel L, Crellin J, et al. Evolution of extended-spectrum beta-lactam resistance (SHV-8) in a strain of Escherichia coli during multiple episodes of bacteremia. Antimicrob Agents Chemother 1997;41(3):647-53.

3. Medeiros AA. Evolution and dissemination of beta-lactamases accelerated by generations of beta-lactam antibiotics. Clin Infect Dis 1997;24 Suppl 1:S19-45.

4. Collatz E, Labia R, Gutmann L. Molecular evolution of ubiquitous beta-lactamases towards extended-spectrum enzymes active against newer beta-lactam antibiotics. Mol Microbiol 1990;4(10):1615-20.

5. Mazel D, Dychinco B, Webb VA, Davies J. Antibiotic resistance in the ECOR collection: integrons and identification of a novel aad gene. Antimicrob Agents Chemother 2000;44(6):1568-74.

6. Resistance to antibiotics. Science 1994;264(5157):360-93.

7. Neu HC. The crisis in antibiotic resistance. Science 1992;257(5073):1064-73.

8. Naenna P, Noisumdaeng P, Pongpech P, Tribuddharat C. Detection of outer membrane porin protein, an imipenem influx channel, in Pseudomonas aeruginosa clinical isolates. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2010 May;41(3):614-24.

9. Recchia GD, Hall RM. Origins of the mobile gene cassettes found in integrons. Trends Microbiol 1997;5(10):389-94.

10. Stokes HW, Hall RM. A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site- specific gene-integration functions: integrons. Mol Microbiol 1989;3(12):1669-83.

11. Hall RM, Collis CM. Mobile gene cassettes and integrons: capture and spread of genes by site-specific recombination. Mol Microbiol 1995;15(4):593-600.

12. Matagne A, Lamotte-Brasseur J, Frere JM. Catalytic properties of class A beta-lactamases: efficiency and diversity [published erratum appears in 1998 May 1;331(Pt 3):975]. Biochem J 1998;330(Pt 2):581-98.

13. Du Bois SK, Marriott MS, Amyes SG. TEM- and SHV-derived extended-spectrum beta-lactamases: relationship between selection, structure and function. J Antimicrob Chemother 1995;35(1):7-22.

14. Poirel L, Kampfer P, Nordmann P. Chromosome-encoded Ambler class A beta-lactamase of Kluyvera georgiana, a probable progenitor of a subgroup of CTX-M extended-spectrum beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother 2002;46(12):4038-40.

15. Prombhul S, Tribuddharat C, Laikijrung P, Aranya C, Bamrungsri N, Mekviwattanawong S. New variant of an imipenemase, IMP-32, in Klebsiella pneumoniae from a fatal case of a Thai patient. J Med Microbiol. 2016 Jun;65(6):572-3. doi: 10.1099/jmm.0.000252. Epub 2016 Mar 22.

16. Okuma K, Iwakawa K, Turnidge JD, Grubb WB, Bell JM, O'Brien FG, et al. Dissemination of New Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Clones in the Community. J. Clin. Microbiol. 2002;40(11):4289-4294.

17. Hiramatsu K, Cui L, Kuroda M, Ito T. The emergence and evolution of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Trends Microbiol 2001;9(10):486-93.

18. Hiramatsu K, Ito T, Tsubakishita S et al. Genomic basis for methicillin resistance in Staphylococcus aureus. Infect Chemother 2013; 45: 117–36.

19. International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements (IWG-SCC). Classification of staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec): guidelines for reporting novel SCCmec elements. Antimicrob Agents Chemother 2009; 53: 4961–7.

20. Urushibara N, Aung MS, Kawaguchiya M, Kobayashi N, Novel staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) type XIV (5A) and a truncated SCCmec element in SCC composite islands carrying speG in ST5 MRSA in Japan, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, Volume 75, Issue 1, January 2020, Pages 46–50, https://doi.org/10.1093/jac/dkz406

21. Wilailuckana C. Molecular characterization of Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Bangkok: Mahidol University; 2005.

22. Girlich D, Poirel L, Leelaporn A, Karim A, Tribuddharat C, Fennewald M, et al. Molecular epidemiology of the integron-located VEB-1 extended-spectrum beta-lactamase in nosocomial enterobacterial isolates in bangkok, thailand [In Process Citation]. J Clin Microbiol 2001;39(1):175-82.

23. Girlich D, Naas T, Leelaporn A, Poirel L, Fennewald M, Nordmann P. Nosocomial spread of the integron-located veb-1-like cassette encoding an extended-spectrum beta-lactamase in Pseudomonas aeruginosa in Thailand. Clin Infect Dis 2002;34(5):603-11.

24. Tribuddharat C, Fennewald M. Integron-mediated rifampin resistance in Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother 1999;43(4):960-2.

25. Tribuddharat C. Mechanisms of Antibiotic Resistance in Pseudomonas aeruginosa. North Chicago: Finch University of Health Sciences/The Chicago Medical School; 1999.

26. Thapa B, Tribuddharat C, Srifuengfung S, Dhiraputra C. High prevalence of bla(OXA)-23 in oligoclonal carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii from Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2010 May;41(3):625-35.

27. Cherdtrakulkiat T, Wongsurawat T, Jenjaroenpun P, Sutheeworapong S, Leelawiwat W, Hickey AC, et al. Complete Genome Sequences of Three Neisseria gonorrhoeae Isolates from Thailand with Multidrug Resistance and Multilocus Sequence Type 1903. Microbiol Resour Announc. 2020 May 7;9(19):e00198-20. doi: 10.1128/MRA.00198-20.