

การศึกษาเบื้องต้น : ความชุกของเอนเทอโรแบคทีเรียแลสที่สร้างเอนไซม์ ESBL ในลำไส้
แมลงสาบจากชุมชนเคหะ จังหวัดสมุทรปราการ

Preliminary Study : Prevalence of ESBL-Producing Enterobacterales in
Cockroaches' intestine among Community Housing, Samut Prakan Province

วัชรินทร์ รังษิภาณรัตน์*, พงศพิชญ์ รัตนา, วรารัตน์ มาสาและ, ภาณุพงศ์ สหายสุข,

สุชา จุลสำลี, พัชรี กัมมารเจษฎากุล, เพ็ญนภา ชมะวิต

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ สมุทรปราการ 10540

Watcharin Rangspanuratr*, Puttipong Ratana, Wararat Masalae, Panupong Sahaisook,

Sucha Chulsamlee, Patcharee Kammarnjassadakul, Pennapa Chamavit

Faculty of Medical Technology, Huachiew Chalermprakiet University, Samut Prakan 10540

*Corresponding authors, e-mail: watcharin.rang@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยเบื้องต้นนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจหาความชุกของเชื้อ Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacterales จากลำไส้แมลงสาบที่จับจากบริเวณชุมชนเคหะ จังหวัดสมุทรปราการ จำนวน 55 ตัว โดยจำแนกชนิดแมลงสาบ และเพาะเชื้อจากลำไส้บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดคัดเลือกและแยกความแตกต่าง ทำการวินิจฉัยเชื้อโดยการทดสอบทางชีวเคมีหรือ MALDI-TOF Mass Spectrometry และตรวจหาการสร้างเอนไซม์ ESBL โดยวิธีทางพีไอน์ไทป์และจีไอน์ไทป์ ผลการวิจัยพบว่า แมลงสาบทั้งหมดเป็นชนิดแมลงสาบอเมริกัน (*Periplaneta americana*) และพบแบคทีเรียก่อโรคทางการแพทย์ในลำไส้ทุกตัว คิดเป็นร้อยละ 100 โดยแบคทีเรียที่แยกได้ 3 อันดับแรก ได้แก่ *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae* และ *Escherichia coli* ร้อยละ 30.67, 17.33 และ 12.0 ตามลำดับ พบ ESBL-producing *C. freundii* 1 สายพันธุ์ และตรวจยืนยันโดยวิธีทาง PCR พบว่าเป็น *bla_{VEB}* คิดเป็นความชุกร้อยละ 1.33 สรุปว่าแมลงสาบ *P. americana* เป็นพาหะของแบคทีเรียก่อโรคและแพร่เชื้อ ESBL-producing Enterobacterales

คำสำคัญ : แมลงสาบอเมริกัน ความชุก ESBL-producing Enterobacterales



Abstract

This preliminary study aimed to survey the prevalence of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing Enterobacterales from cockroach intestines. A total of 55 cockroaches were collected from households in community housing, Samut Prakan province and further identified. All guts were cultured on selective and differential agar for bacterial isolation. The bacterial species were identified by using biochemical media or MALDI-TOF Mass Spectrometry and further identified for ESBL production by phenotypic and genotypic methods. The result showed that all cockroaches were American cockroaches (*Periplaneta americana*). Medically significant bacteria were isolated from the intestines of 100% of cockroaches. The top three bacterial species identified were *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, and *Klebsiella pneumoniae* (30.67, 17.33, and 12.0%, respectively). ESBL expression was detected in one strain of *C. freundii* and confirmed to be *bla*_{VEB} by PCR, representing a prevalence of 1.33%. In conclusion, *P. americana* is considered a potential carrier and a vector of pathogenic bacteria, especially transmission of ESBL-producing Enterobacterales.

Keywords : American cockroach, prevalence, ESBL-producing Enterobacterales

บทนำ

แมลงสาบ (Cockroach) มีความสำคัญทางการแพทย์และสาธารณสุข เนื่องจากเป็นพาหะสำคัญที่สามารถนำเชื้อโรคมาสู่มนุษย์ได้ จัดอยู่ในชั้น (Class) Insecta อันดับ (Order) Blattodea มักจะอาศัยอยู่ในบริเวณที่ใกล้ชิดกับมนุษย์ เช่น บ้าน ห้องครัว ตลาด และท่อน้ำทิ้ง เป็นต้น จากรายงานการสำรวจแมลงสาบในประเทศไทยพบแมลงสาบตามที่พบบ่อยและแหล่งชุมชนต่าง ๆ 12 ชนิด แต่ที่พบบ่อยมี 5 ชนิด ได้แก่ แมลงสาบอเมริกันหรือ American cockroach (*Periplaneta americana*) แมลงสาบเยอรมันหรือ German cockroach (*Blattella germanica*) แมลงสาบคานีสน้ำตาลหรือ Brown-banded cockroach (*Supella longipalpa*) แมลงสาบออสเตรเลียหรือ Australian cockroach (*Periplaneta australasiae*) และ Large brown cockroach (*Periplaneta brunnea*) ตามลำดับ⁽¹⁾ แมลงสาบเป็นสัตว์ที่ออกหากินในเวลากลางคืน โดยกินอาหารและสิ่งปฏิกูลได้ทุกชนิด เช่น ซากพืช ซากสัตว์ น้ำลาย เสมหะ และอุจจาระ ทำให้แมลงสาบเป็นแหล่งสะสมเชื้อโรค และเป็นพาหะสำคัญที่สามารถนำเชื้อโรคต่าง ๆ เช่น แบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส หรือปรสิต ติดต่อมาสู่มนุษย์ได้โดยที่เชื้อโรคเหล่านี้ติดมากับขาหรือลำตัวของแมลงสาบในขณะที่แมลงสาบออกหากินตามบริเวณที่สกปรก หรือการที่เชื้อโรคเหล่านี้ถูกแมลงสาบกินเข้าไปแล้วไปสะสมอยู่ในระบบทางเดินอาหาร ขณะกินจะถ่ายมูลและสารถอาหารออกมาด้วย ทำให้เชื้อโรคดังกล่าวสามารถปนเปื้อนในอาหารหรือภาชนะที่แมลงสาบเดินผ่านได้ แมลงสาบจึงเป็นพาหะนำโรคหลายชนิดมาสู่คนแบบ Biological transmission มีรายงานการตรวจพบเชื้อแบคทีเรียก่อโรคและเชื้อดื้อยาจำนวนมากจากบริเวณผิวหนังนอก (Cuticle) และลำไส้ของแมลงสาบ ได้แก่ *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*,

Enterobacter spp., *Citrobacter freundii*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* ⁽¹⁻⁵⁾

Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacterales หมายถึง แบคทีเรียใน Order Enterobacterales ที่มีกลไกการดื้อยาโดยการสร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมสแบบฤทธิ์ขยายไปทำลายโครงสร้างวงแหวนบีตา-แลคแทมของยาในกลุ่มเพนิซิลลินส์ (Penicillins) กลุ่มเซฟาโลสปอรินส์รุ่นที่ 3 (Third generation cephalosporins) และกลุ่มโมโนแบคแทม (Monobactams) ได้ แต่ไม่มีฤทธิ์ทำลายยาในกลุ่มเซฟาไมซินส์ (Cephameycins) และกลุ่มคาร์บาเพนิมส์ (Carbapenems) และถูกต้านฤทธิ์ด้วยสารยับยั้งเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส มียีน *bla* ที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์อยู่บนพลาสมิด ทำให้แพร่กระจายได้ง่าย เอนไซม์ ESBL มีมากกว่า 200 ชนิด ชนิดที่พบบ่อย ได้แก่ CTX-M, SHV, TEM, VEB เป็นต้น เชื้อกลุ่มนี้ดื้อยาจึงก่อให้เกิดปัญหาทางสาธารณสุขทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทย องค์การอนามัยโลกจัดลำดับเชื้อนี้เป็น Superbug ระดับวิกฤติ (Critical) มีรายงานการวิจัยจากหลายประเทศพบเชื้อกลุ่มนี้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย⁽⁶⁻⁸⁾ และในลำไส้แมลงสาบเช่นกัน⁽⁹⁻¹⁰⁾ โดยในประเทศไทยมีรายงานการแยกเชื้อ ESBL-producing Enterobacterales จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยร้อยละ 26-39⁽⁷⁻⁸⁾ และมีรายงานการตรวจพบเชื้อแบคทีเรียใน Order นี้หลายชนิด จากบริเวณผิวนอกและทางเดินอาหารของแมลงสาบจากโรงพยาบาลแห่งหนึ่งในเขตอำเภอดอนเจดีย์ จังหวัดสุพรรณบุรี⁽²⁾ และจากสิ่งแวดล้อมบริเวณรอบอาคารคณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย⁽³⁾ โดย 3 อันดับแรก ได้แก่ *E. coli*, *C. freundii* และ *K. pneumoniae*

จากรายงานศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาด้านจุลชีพแห่งชาติ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข พบว่าเชื้อดื้อยาด้านจุลชีพเป็นปัญหาสำคัญด้านสาธารณสุขระดับโลก โดยเฉพาะในประเทศไทย ปัญหาเชื้อดื้อยาด้านจุลชีพที่เพิ่มขึ้นในขณะนี้มีสาเหตุหลักจากพฤติกรรมการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างไม่เหมาะสม ได้แก่ การซื้อยารับประทานเอง การรับประทานยาไม่ครบตามที่แพทย์สั่ง รวมไปถึงการใช้ยารักษาโรคที่ไม่ได้มีสาเหตุจากการติดเชื้อแบคทีเรีย รายงานวิจัยพบว่าปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ต่อพฤติกรรมการใช้ยาปฏิชีวนะที่สำคัญ ได้แก่ อายุ ความรู้เกี่ยวกับยาปฏิชีวนะ ระดับการศึกษา อาชีพ และโรคประจำตัว⁽¹¹⁾ เนื่องจากชุมชนเคหะ จังหวัดสมุทรปราการ เป็นชุมชนขนาดใหญ่ มีผู้อยู่อาศัยอยู่เป็นครอบครัวจำนวนมาก ส่วนใหญ่ประกอบอาชีพรับจ้าง เมื่อเจ็บป่วยอาจจะรักษาด้วยการไปซื้อยาจากร้านขายยาในตลาดมารับประทานเอง หรือรับประทานยาไม่ครบตามกำหนด ทำให้เชื้อโรคหรือแบคทีเรียประจำถิ่นในร่างกายเกิดการพัฒนาจนดื้อยา และปนเปื้อนออกมากับเสมหะ อุจจาระ ปัสสาวะตามผ้าอ้อมหรือกระดาษชำระ เมื่อมีการทิ้งวัสดุที่มีสิ่งปฏิกูลเหล่านี้ตามสิ่งแวดล้อม และแมลงสาบมากินสิ่งปฏิกูลจะมีโอกาสรับเชื้อแบคทีเรียดื้อยาเข้าไปในระบบทางเดินอาหาร มีการถ่ายมูลและสํารอกอาหารตามบริเวณที่เดินผ่าน ทำให้เกิดการแพร่เชือนี้กลับสู่สิ่งแวดล้อมต่อไป ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาหาความชุกของเชื้อ ESBL-producing Enterobacterales จากลำไส้ของแมลงสาบในชุมชนนี้เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาในจังหวัดสมุทรปราการ



วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อสำรวจหาความชุกของเชื้อ ESBL-producing Enterobacterales จากลำไส้ของแมลงสาบในชุมชนเคหะจังหวัดสมุทรปราการ

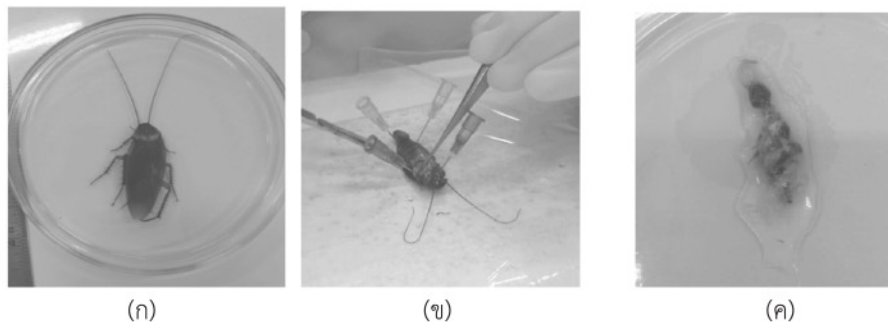
วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บตัวอย่าง งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเชิงพรรณนาแบบภาคตัดขวาง (Cross-sectional descriptive study) โดยศึกษาในแมลงสาบตัวเต็มวัย โดยผู้จับใส่ถุงมือปราศจากเชื้อจับแมลงสาบโดยตรงจากบริเวณที่วางขยะ แลวห้องชุดที่พักอาศัย แลวตลาด และตามฝาที่ระบายน้ำในชุมชนเคหะแห่งหนึ่งในจังหวัดสมุทรปราการ ในช่วงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2559 จำนวน 55 ตัว แล้วใส่ในถุงพลาสติกที่เจาะรูเพื่อให้มีการถ่ายเทของอากาศ ถุงละ 1 ตัว⁽¹²⁻¹³⁾ ใส่กล่องและนำมาเก็บที่ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

วิธีการวิจัย

การจำแนกชนิดแมลงสาบ นำแมลงสาบที่แช่แข็งมาดั่งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 15 นาที (รูปที่ 1 ก) ทำการจำแนกชนิดแมลงสาบ โดยใช้กุญแจอนุกรมวิธาน (Taxonomic keys) ของแมลงสาบที่พบในประเทศไทย⁽¹⁴⁾

การเพาะเลี้ยงและจำแนกเชื้อ Enterobacterales ที่สำคัญทางการแพทย์จากลำไส้ของแมลงสาบ นำแมลงสาบที่จำแนกชนิดแล้วมาแช่ใน 70% alcohol เป็นเวลา 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ นำมาตรึงด้วยเข็มปราศจากเชื้อ (รูปที่ 1 ข) ใช้มีดผ่าตัดปราศจากเชื้อกรีดบริเวณด้านข้างของท้องแมลงสาบ ใช้ปากคีบปราศจากเชื้อคีบส่วนลำไส้ของแมลงสาบใส่ในจานอาหารที่มีน้ำเกลือปกติปราศจากเชื้อ (Sterile normal saline) 2 มิลลิลิตร (รูปที่ 1 ค) บดให้ละเอียด ใช้เข็มฉีดยาปราศจากเชื้อดูดน้ำที่ได้จากการบดลำไส้แมลงสาบใส่ในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาดเล็ก ขนาด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นใช้ Loop ปริมาตร 10 ไมโครลิตรจุ่มน้ำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey agar และ *Salmonella-Shigella* agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง⁽¹³⁾ พิสูจน์เชื้อจากลักษณะโคโลนี และวินิจฉัยเชื้อโดยการทดสอบทางชีวเคมี⁽¹⁵⁾ กรณีวินิจฉัยไม่ได้จะส่งเชื้อเพื่อตรวจวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค MALDI-TOF Mass Spectrometry ที่บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด กรุงเทพมหานคร



รูปที่ 1 (ก) ลักษณะของแมลงสาบ *Periplaneta americana*

(ข) การตรึงแมลงสาบ

(ค) ลำไส้ของแมลงสาบในจานอาหาร

การตรวจคัดกรอง ESBL-producing Enterobacterales โดยวิธี Disk diffusion test การตรวจคัดกรอง ESBL-producing Enterobacterales ทำตามวิธีมาตรฐานของ Clinical and Laboratory Standards Institute⁽¹⁶⁾ ด้วยวิธี Disk diffusion test โดยเพาะเชื้อแบคทีเรียที่พิสูจน์ว่าอยู่ใน Order Enterobacterales บนอาหาร Trypticase soy agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง จากนั้นเชยเชื้อใส่ในน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 2 มิลลิลิตร ให้มีความขุ่นเทียบเท่ากับ McFarland standard No. 0.5 จุ่มไม้พันสำลีปราศจากเชื้อในหลอดและบิดสำลีกับผนังหลอดทดลองให้หมด ๆ นำไปป้าย 3 ระบายบนผิวหน้าอาหาร Mueller-Hinton agar (MHA, Oxoid, UK) จากนั้นใช้ปากคีบปราศจากเชื้อคีบแผ่นยา 3 ชนิด ได้แก่ Ceftazidime (30 µg), Ceftriaxone (30 µg) และ Cefotaxime (30 µg) (Oxoid, UK) มาวางบนผิวหน้าอาหาร MHA นำอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง ในบรรยากาศปกติ อ่านผลการทดสอบโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสที่เกิดขึ้นรอบแผ่นยาในหน่วยมิลลิเมตรและนำไปเทียบกับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของยาแต่ละชนิดใน CLSI guideline ถ้าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 22, 25 และ 27 มิลลิเมตร ตามลำดับ จะรายงานว่า ตี้อ และนำไปตรวจหา ESBL ต่อไป การควบคุมคุณภาพการทำ Disk diffusion test ใช้เชื้อมาตรฐาน *E. coli* ATCC 25922

การตรวจยืนยัน ESBL-producing Enterobacterales โดยวิธีทางพีโนไทป์ นำเชื้อแบคทีเรียที่ให้ผลตี้อย่า Ceftazidime, Ceftriaxone หรือ Cefotaxime มาตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL โดยวิธี Combination disk test ตามวิธีมาตรฐานของ Clinical and Laboratory Standards Institute⁽¹⁶⁾ โดยวางแผ่นสารต้านจุลชีพ 2 คู่ ได้แก่ Ceftazidime (30 µg) คู่กับ Ceftazidime-clavulanate (30/10 µg) และ Cefotaxime (30 µg) คู่กับ Cefotaxime-clavulanate (30/10 µg) นำไปบ่มที่ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง ถ้าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของแผ่นสารต้านจุลชีพชนิดใดชนิดหนึ่ง หรือทั้งสองชนิดที่มี Clavulanate กว้างกว่าชนิดที่ไม่มี Clavulanate มากกว่าหรือเท่ากับ 5 มิลลิเมตร ถือว่า ESBL ให้ผลบวก



การตรวจหายีนส์ที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ ESBL โดยวิธีทางจีโนไทป์ ส่งเชื้อแบคทีเรียที่ให้ผลตรวจการสร้างเอนไซม์ ESBL เป็นผลบวกไปยืนยันทางจีโนไทป์โดยตรวจหายีนส์ที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ ESBL 7 ชนิด ได้แก่ *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{OXA}, *bla*_{GES}, *bla*_{VEB}, *bla*_{PER} ด้วยวิธี Polymerase chain reaction (PCR) ที่คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล โดยชนิดและสภาวะการทำ PCR ดำเนินการตามงานวิจัยของ Bubpamala et al.⁽¹⁷⁾

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้สถิติเชิงพรรณนา คือ ร้อยละ

ผลการวิจัย

ผลการจำแนกแมลงสาบตัวเต็มวัยจำนวน 55 ตัว พบว่าเป็นชนิดอเมริกันหรือ *Periplaneta americana* ร้อยละ 100 เนื่องจากมีขนาดใหญ่ ยาวประมาณ 2.8-4.4 เซนติเมตร ลำตัวและปีกมีสีน้ำตาลแดงมันวาว ไม่มีแถบสีเหลืองที่ขอบปีก ที่บริเวณแผ่นแข็งที่ปกคลุมส่วนนอก (Pronotum) มีจุดสีดำขนาดใหญ่ 2 จุดล้อมรอบด้วยวงเส้นสีเหลือง ส่วนรอบนอกสุดเป็นวงสีดำ มีหนวดเรียวยาวแบบเส้นด้ายและยาวกว่าลำตัว^(1,14)

ผลการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียจากลำไส้แมลงสาบ พบเชื้อ Enterobacterales ที่สำคัญทางการแพทย์ทุกตัว คิดเป็นร้อยละ 100 และแมลงสาบ 1 ตัวมีเชื้อมากกว่า 1 ชนิด จำแนกเชื้อได้ 7 จินัส รวม 75 สายพันธุ์ โดยเชื้อที่พบมากที่สุด ได้แก่ *C. freundii* ร้อยละ 30.67 รองลงมา ได้แก่ *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Klebsiella* (*Enterobacter*) *aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *K. oxytoca*, *C. koseri* ร้อยละ 17.33, 12.0, 9.33, 6.67, 6.67, 5.33 ตามลำดับ *Proteus mirabilis*, *Providencia rettgeri* ร้อยละ 4.0 เท่ากัน *Proteus vulgaris*, *C. amalonaticus* และ *Shimwelia blattae* ร้อยละ 1.33 เท่ากัน (ตารางที่ 1)

ผลการตรวจคัดกรอง ESBL-producing Enterobacterales พบเชื้อ *C. freundii* 1 สายพันธุ์ที่ให้ผลดื้อต่อยา Cefotaxime, Ceftriaxone และ Ceftazidime เมื่อตรวจยืนยันโดยวิธีทางพีโนไทป์ พบว่าให้ผลบวก ผลการยืนยันโดย PCR พบว่า เชื้อนี้มียีน *bla*_{VEB} คิดเป็นความชุกร้อยละ 1.33 (1/75) ต่อเชื้อทั้งหมด หรือร้อยละ 4.35 (1/23) ต่อเชื้อ *C. freundii* ทั้งหมด

ตารางที่ 1 ชนิด จำนวนและร้อยละของแบคทีเรีย Enterobacterales ที่แยกได้จากลำไส้แมลงสาบ

Enterobacterales	จำนวน (isolate)	ร้อยละ	ผลการทดสอบ ESBL บวก	ผลการทดสอบ PCR บวก
<i>Citrobacter freundii</i>	23	30.67	1	1 (<i>bla</i> _{VEB})
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12	17.33	0	Not Done
<i>Escherichia coli</i>	10	12.00	0	Not Done
<i>Klebsiella aerogenes</i>	7	9.33	0	Not Done
<i>Enterobacter cloacae</i>	5	6.67	0	Not Done
<i>Klebsiella oxytoca</i>	5	6.67	0	Not Done



ตารางที่ 1 ชนิด จำนวนและร้อยละของแบคทีเรีย Enterobacteriales ที่แยกได้จากลำไส้แมลงสาบ (ต่อ)

Enterobacteriales	จำนวน (isolate)	ร้อยละ	ผลการทดสอบ ESBL บวก	ผลการทดสอบ PCR บวก
<i>Citrobacter koseri</i>	4	5.33	0	Not Done
<i>Proteus mirabilis</i>	3	4.00	0	Not Done
<i>Providencia rettgeri</i>	3	4.00	0	Not Done
<i>Proteus vulgaris</i>	1	1.33	0	Not Done
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	1	1.33	0	Not Done
<i>Shimwelia blattae</i>	1	1.33	0	Not Done
รวม	75	100	1 (1.33%)	1 (1.33%)

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

การจำแนกชนิดของแมลงสาบจำนวน 55 ตัว พบว่าเป็นแมลงสาบอเมริกันหรือ *P. americana* ทุกตัว คิดเป็นร้อยละ 100 แมลงสาบชนิดนี้มีรายงานพบมากที่สุดในประเทศไทย⁽¹⁾ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chamavit et al.⁽¹²⁾ ที่ทำการสำรวจชนิดแมลงสาบจากบริเวณตลาดสดของทุกอำเภอในจังหวัดสมุทรปราการจำนวน 920 ตัว พบว่าเป็น *P. americana* ร้อยละ 97.50 และงานวิจัยจากภูมิภาคอื่นในประเทศไทย^(2,18-19) แมลงสาบอเมริกันมีรายงานการพบเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ปริมาณมากจากผิวนอกและลำไส้ รวมถึงสร้างสารก่อภูมิแพ้ (Allergen)⁽¹⁾

ผลการตรวจหาเชื้อ Enterobacteriales ที่สำคัญทางการแพทย์จากลำไส้แมลงสาบ พบเชื้อร้อยละ 100 และพบเชื้อ 1-2 ชนิด/แมลงสาบ 1 ตัว เชื้อที่พบ 3 อันดับแรก ได้แก่ *C. freundii*, *K. pneumoniae* และ *E. coli* สอดคล้องกับงานวิจัยจากประเทศไทยและต่างประเทศ⁽¹⁻⁵⁾ เชื้อเหล่านี้พบได้จากสิ่งแวดล้อมทั่วไปและในโรงพยาบาล ก่อให้เกิดโรคฉวยโอกาสได้หลายระบบในผู้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ ได้แก่ ระบบทางเดินหายใจ ระบบทางเดินปัสสาวะ และแผลกดทับ สำหรับการพบ *E. coli* แสดงว่าแมลงสาบมีการสัมผัสกับอุจจาระของคนหรือสัตว์เลื้อยคลาน จึงมีโอกาสแพร่เชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร เช่น *Salmonella*, *Shigella* spp. ไปตามอาหารที่แมลงสาบเดินผ่านได้ ในการศึกษาครั้งนี้พบเชื้อ *S. blattae* ซึ่งเป็นเชื้อประจำถิ่นส่วน Hindgut ของลำไส้แมลงสาบ แต่ไม่พบรายงานการก่อโรคในมนุษย์

ESBL-producing Enterobacteriales เป็นเชื้อดื้อยาที่เป็นปัญหาสำคัญระดับวิกฤติทั่วโลก รวมถึงประเทศไทย รายงานจากทั่วโลกพบว่าเชื้อที่สร้าง ESBL มากที่สุดจากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย ได้แก่ *E. coli* และ *K. pneumoniae*⁽⁶⁻⁸⁾ ในงานวิจัยนี้ตรวจจากลำไส้ของแมลงสาบ พบเชื้อ *C. freundii* ที่สร้าง ESBL โดยวิธีทางพีไนโทปี ร้อยละ 4.35 (1/23) ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของ Ikechukwu et al.⁽⁹⁾ จากประเทศไนจีเรียที่เพาะเชื้อจากลำไส้ของแมลงสาบที่จับจากสิ่งแวดล้อมภายในโรงพยาบาลและที่พักอาศัย จำนวน 517 ตัว พบเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* spp. ที่สร้าง ESBL ร้อยละ 15.84 (16/101) และ 16 (4/25) โดยวิธี Double disk synergy test ตามลำดับ น่าจะเกิดจากจำนวนของแมลงสาบที่นำมาทดสอบ ชนิดแมลงสาบ วิธีเพาะเชื้อแบคทีเรีย และสถานที่ในการเก็บตัวอย่างแตกต่างกัน



ในการศึกษาทางด้านอนุชีววิทยาพบเชื้อ *C. freundii* 1 สายพันธุ์ที่ตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL โดยวิธี PCR พบว่าเป็น *bla_{VEB}* ยีนนี้มีรายงานครั้งแรกในปี ค.ศ. 1996 ในเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากผู้ป่วยเด็กชาวเวียดนาม จึงเรียกว่า Vietnamese extended-spectrum beta-lactamase (VEB) ปัจจุบันมีรายงานการพบ *bla_{VEB}* ในเชื้อแบคทีเรียแกรมลบจากประเทศไทยและต่างประเทศ ได้แก่ *E. coli*, *K. pneumoniae*⁽⁷⁾, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Providencia stuartii* และ *Pseudomonas aeruginosa*⁽²⁰⁾ ผลวิจัยนี้แตกต่างจากงานวิจัยของ Obeng-Nkrumah et al.⁽¹⁰⁾ ที่พบยีน *bla_{CTX-M-15}* ในเชื้อ *E. coli* จำนวน 3 สายพันธุ์ และพบยีน *bla_{TEM-24}* และ *bla_{SHV-3}* ใน *E. coli* และ *K. pneumoniae* อย่างละ 1 สายพันธุ์ ในแมลงสาบปั่นทั้งตัว (Whole insect homogenate) จำนวน 100 ตัวอย่าง และยังพบยีนดื้อยาคาร์บาเพนิม ได้แก่ *bla_{NDM}* และ *bla_{OXA-48}* ใน *C. freundii*, *E. cloacae* และ *E. coli* อย่างละ 1 สายพันธุ์ น่าจะเกิดจากจำนวนของแมลงสาบที่นำมาทดสอบ ชนิดแมลงสาบ วิธีเพาะเชื้อแบคทีเรีย เวลาและสถานที่ในการเก็บตัวอย่างแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามผลการศึกษาทางด้านอนุชีววิทยาในประเทศไทยจากเชื้อแบคทีเรียในสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยส่วนใหญ่พบยีน *bla* มากกว่า 1 ชนิด โดยพบ *bla_{CTX-M}* มากที่สุดถึงร้อยละ 99.2 ใน ESBL-producing *K. pneumoniae* และร้อยละ 99.6 ใน ESBL-producing *E. coli* และยังพบ *bla_{VEB-1}* ร้อยละ 10.2 ใน ESBL-producing *K. pneumoniae* และร้อยละ 8.5 ใน ESBL-producing *E. coli*⁽⁷⁾ ดังนั้น แมลงสาบน่าจะเป็นแหล่งสะสมหรือพาหะของเชื้อแบคทีเรียดื้อยา ผู้เกี่ยวข้อง ได้แก่ แพทย์ เภสัชกร พยาบาล เจ้าหน้าที่สาธารณสุขจึงควรให้ความรู้แก่ประชาชนเกี่ยวกับการรับประทานยาปฏิชีวนะให้ครบตามกำหนด การรักษาสุขอนามัย การกำจัดขยะ การกำจัดแมลงสาบอย่างต่อเนื่อง เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อโดยมีแมลงสาบเป็นพาหะต่อไป

ข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้เป็นการสำรวจเบื้องต้นเพื่อหาความชุกของเชื้อ ESBL-producing Enterobacterales ในลำไส้แมลงสาบเพียงชุมชนเดียวในจังหวัดสมุทรปราการ เก็บตัวอย่างในระยะเวลาอันสั้น และจำนวนแมลงสาบค่อนข้างน้อย ทำให้พบเชื้อเพียง 1 สายพันธุ์ จึงควรศึกษาเพิ่มเติมโดยการเพิ่มจำนวนแมลงสาบ การตรวจหาเชื้อจากบริเวณผิวหนังนอกของแมลงสาบ ปรับปรุงวิธีการเพาะเชื้อเพื่อคัดเลือกเชื้อดื้อยา และเพิ่มสถานที่จับแมลงสาบให้ครอบคลุมโดยเพิ่มจำนวนชุมชนและบริเวณภายในโรงพยาบาลซึ่งอาจทำให้พบเชื้อแบคทีเรียดื้อยามากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ภญ. มัลลิกา (ไตรเดช) ชมนาวัง คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้ความอนุเคราะห์พิสูจน์ยืนยัน ESBL โดยวิธี Polymerase chain reaction



เอกสารอ้างอิง

1. Saichua P, Jumnainsong A. Cockroach in Thailand: The vector of pathogens and allergens. TMJ 2016;16(4):663-71.
2. Nammanee S, Lauprasert P, Tokamoltham J. Cockroaches control in hospital and its as the vectors of *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* and *Citrobacter freundii*. Dis Control J 2015;41:264-70.
3. Chaichanawongsaroj N, Vanichayatanarak K, Pipatkullachat T, Polrojpanya M, Somkiatcharoen S. Isolation of Gram-negative bacteria from cockroaches trapped from urban environment. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2004;35(3):681-4.
4. Moges F, Eshetie S, Endris M, Huruy K, Muluye D, Feleke T, et al. Cockroaches as a source of high bacterial pathogens with multidrug resistant strains in Gondar Town, Ethiopia. BioMed Res Int [internet]. 2016 [Cited 2021 October 30]; Article ID 2825056:1-6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/2825056>
5. Ifeanyi OT, Odunayo OO. Microbiology of cockroaches - A public health concern. IJSR 2015;4:485-87.
6. Bezabih YM, Sabiiti W, Alamneh E, Alamneh Bezabih A, Peterson GM, Bezabhe WM, et al. The global prevalence and trend of human intestinal carriage of ESBL-producing *Escherichia coli* in the community. J Antimicrob Chemother 2021;76:22-9.
7. Kiratisin P, Apisarnthanarak A, Laesripa C, Saifon P. Molecular characterization and epidemiology of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates causing health care-associated infection in Thailand, Where the CTX-M family is endemic. Antimicrob Agents Chemother 2008;52(8):2818-24.
8. Jitsurong S, Yodsawat J. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) produced in blood isolates of Gram-negative bacteria in a teaching hospital in southern Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2006;37(1):131-35.
9. Ikechukwu O, Ifeanyichukwu I, Chika E, Ukpai E, Ogbonnaya O. Cockroaches (*Periplaneta americana*) as possible reservoirs of extended spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing pathogenic bacteria. Int J Res Biosciences 2017;6(3):41-9.



10. Obeng-Nkrumah N, Labi A, Blankson H, Awuah-Mensah G, Oduro-Mensah D, Anum J, et al. Household cockroaches carry CTX-M-15-, OXA-48- and NDM-1-producing enterobacteria, and share beta-lactam resistance determinants with humans. BMC Microbiology [internet]. 2019 [Cited 2021 Oct 23];19:272. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1629-x>
11. Yana A, Chaisombut D. Factors related to antibiotic use behaviors among patients in outpatient departments of community hospitals. NJPH 2021;31(1):121-34.
12. Chamavit P, Sahaisook P, Niamnuy N. The majority of cockroaches from the Samutprakarn province of Thailand are carriers of parasitic organisms. EXCLI J 2011;10:218-22.
13. Kassiri H, Kasiri A, Quaderi A. Detection and prevalence rate of American cockroaches (*Periplaneta americana*) bacterial infections in human dwellings. Arch Clin Infect Dis 2014;9(4):e18737.
14. Asahina S. Domiciliary cockroach species in Thailand. Promotion of Provincial Health Service project. PPH-Project-Series No. 5.12 [internet]. 1983 [Cited 2021 October 1]. Available from <http://nih.dmsc.moph.go.th/login/filedata/Cockroaches.pdf>
15. Tille PM. Bailey & Scott's diagnostic microbiology. 13rd ed. St. Louis: Elsevier Mosby; 2014. pp. 307-28.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 27th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.
17. Bubpamala J, Khuntayaporn P, Thirapanmethree K, Montakantikul P, Santanirand P, Chomnawang M. Phenotypic and genotypic characterizations of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in Thailand. Infect Drug Resist 2018;11:2151-57.
18. Tawatsin A, Thavara U, Chompoosri J, Kong-ngamsuk W, Chansang C, Paosriwong S. Cockroach surveys in 14 provinces of Thailand. J Vector Ecol 2002;26(2):232-8.
19. Chompoosri J, Thavara U, Tawatsin A, Sathantriphop S, Yi T. Cockroach surveys in the Northern region of Thailand and Guangxi province of China. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2004;35(2):46-9.
20. Naas T, Poirel L, Nordmann P. Minor extended-spectrum β -lactamases. CMI 2008;14:42-52.