

ยีนดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อ enterococci ที่ดื้อยา vancomycin ณ โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า

วิชัย สันติมาลีวรกุล¹, ฐิติวัฒน์ ช่างประดับ², สุดาลักษณ์ ธัญญาหาร³, จาญพจน์ เหมพรรณไพเราะ^{4*}

¹รองศาสตราจารย์, ภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

²พันเอก นายแพทย์ แผนก โรคติดเชื้อ ภาควิชาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า

³ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พันเอกหญิง สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ วิทยาลัยนครราชสีมา

⁴ผู้ช่วยศาสตราจารย์, สาขาวิชาเภสัชกรรมปฏิบัติและการบริหาร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

*ติดต่อผู้พิมพ์: จาญพจน์ เหมพรรณไพเราะ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา เลขที่ 169 ถนน ลงหาดบางแสน ตำบลแสนสุข

อำเภอเมืองชลบุรี ชลบุรี 20131 โทร 0-3839-0401 อีเมลล์: jatapathemapanpairoa@gmail.com

บทคัดย่อ

ยีนดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อ enterococci ที่ดื้อยา vancomycin ณ โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า

วิชัย สันติมาลีวรกุล¹, ฐิติวัฒน์ ช่างประดับ², สุดาลักษณ์ ธัญญาหาร³, จาญพจน์ เหมพรรณไพเราะ^{4*}

ว. เภสัชศาสตร์อีสาน 2566; 19(4) : 15-22

รับบทความ: 5 มิถุนายน 2565

แก้ไขบทความ: 30 ตุลาคม 2566

ตอบรับ: 15 พฤศจิกายน 2566

การติดเชื้อ enterococci เป็นปัญหาสำคัญทางการแพทย์ เนื่องจากเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิดรวมทั้งยา vancomycin ยืนควบคุมการดื้อยา vancomycin ของเชื้อ enterococci ที่พบได้บ่อยในประเทศไทยคือ *vanA* และ *vanB* โดยส่วนใหญ่เป็น *vanA* ข้อมูลการศึกษายีนดื้อยาของเชื้อ enterococci ที่ดื้อยา vancomycin (Vancomycin-resistant Enterococci; VRE) ในประเทศไทยเป็นข้อมูลที่ไม่ได้ศึกษาเฉพาะผู้ที่ติดเชื้อ ขาดความทันสมัย และศึกษาเพียงยีนที่ควบคุมการดื้อยา vancomycin การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารูปแบบยีนดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อ VRE ณ โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า **วิธีดำเนินการวิจัย:** ตัวอย่างเชื้อ VRE ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยที่รักษา ณ โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า ระหว่างวันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2557 ถึง 1 เมษายน พ.ศ. 2561 ถูกจัดกลุ่มตามสารพันธุกรรมด้วยวิธี RAPD typing และศึกษารูปแบบการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อตัวแทนกลุ่มด้วยวิธีศึกษาลำดับเบสในสายพันธุกรรม **ผลการวิจัย:** เชื้อ VRE ตัวอย่าง 49 สายพันธุ์เป็นชนิด *Enterococcus faecium* และแบ่งเชื้อได้เป็น 7 กลุ่มตามลักษณะแถบพันธุกรรม โดยกลุ่ม A และ E พบมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 55.1 และ 26.53 ตามลำดับ ส่วนกลุ่ม D F และ G มีเพียงจำนวนกลุ่มละ 1 สายพันธุ์ เชื้อ VRE ตัวแทน 7 สายพันธุ์ที่ศึกษารูปแบบการดื้อยา vancomycin พบว่าเชื้อ 4 สายพันธุ์ เป็นยีน *vanHAX* เชื้อตัวแทนทุกสายพันธุ์ไวต่อยา linezolid และไม่มีเชื้อสายพันธุ์ใดพบยีนดื้อยา linezolid **สรุปผลการวิจัย:** เชื้อ VRE ยังคงมีความไวต่อยา linezolid ยืนที่ควบคุมการดื้อยา vancomycin ที่พบในเชื้อ VRE เป็นชนิด *vanA* ซึ่งยีนอยู่ได้ทั้งบนพลาสมิดและโครโมโซม เนื่องจากเชื้อดื้อยาอาจสามารถแพร่ไปสู่บุคคลอื่นได้ ดังนั้น ควรมีมาตรการป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาในโรงพยาบาล

คำสำคัญ: enterococci ดื้อยา vancomycin, VanA, *E. faecium*, vancomycin



Antimicrobial Resistance Genes of Vancomycin-Resistant Enterococci at Phramongkutklao Hospital

Wichai Santimaleeworagun¹, Dhitiwat Changpradub², Sudaluck Thunyaharn³, Jatapat Hemapanpairoa^{4*}

¹Associate professor, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakorn Pathom

²Colonel (Col.), Division of Infectious Disease, Department of Medicine, Phramongkutklao Hospital

³Assistant Professor Colonel (Col.), Faculty of Medical Technology, Nakhonratchasima College, Nakhon Ratchasima

⁴Assistant Professor, Department of Pharmacy Practice and Pharmaceutical Care, Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Burapha University, Chonburi

***Corresponding author:** Jatapat Hemapanpairoa, Department of Pharmacy Practice and Pharmaceutical Care,
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Burapha University, Chonburi 20131
Tel: 0-3839-0401 Email: jatapathemapanpairoa@gmail.com

Abstract

Antimicrobial Resistance Genes of Vancomycin-Resistant Enterococci at Phramongkutklao Hospital

Wichai Santimaleeworagun¹, Dhitiwat Changpradub², Sudaluck Thunyaharn³, Jatapat Hemapanpairoa^{4*}

IJPS, 2023; 19(4) : 15-22

Received: 5 June 2022

Revised: 30 October 2023

Accepted: 15 November 2023

Enterococci infection is a serious medical problem due to resistance to many antimicrobial agents, including vancomycin. The most common of vancomycin resistant genes in Thailand were *vanA* and *vanB*, mainly *vanA*. Data on drug resistance genes of vancomycin-resistant enterococci in Thailand are not specific to those infected, lack of up-to-date information and studied only the vancomycin resistance gene. The purpose of this study was to determine the pattern of antimicrobial resistant genes in VRE at Phramongkutklao Hospital. **Methods:** Bacterial isolates obtained from patients with VRE infections between 1 January, 2014, and 1 April, 2018 at Phramongkutklao Hospital were reviewed. Clonal relationships were assessed by random amplified polymorphic DNA analysis and identified resistance genes of representative pathogens with whole genome sequencing analysis. **Results:** Forty-nine of the VRE strains were *E. faecium*. They were classified in seven groups according to amplified DNA bands. The predominant patterns were pattern A (55.1%) and pattern E was 26.53%. There was only one isolate in each group (D, F, G). Of the 7 representative VRE strains studied for their vancomycin resistance patterns, 4 strains were *vanHAX* gene. The VRE isolates tested were universally susceptible to linezolid and linezolid resistant gene was not detected. **Conclusion:** VRE were susceptible to linezolid. The majority of gene was *vanA*, found on plasmid and chromosome. Spread of vancomycin resistance genes to other persons can be prevented by standard and contact precaution.

Keywords: VRE, *vanA*, *E. faecium*, vancomycin, linezolid

บทนำ

เชื้อ enterococci เป็นเชื้อประจำถิ่นในบริเวณทางเดินอาหาร และเป็นสาเหตุของการติดเชื้อในโรงพยาบาล สปีชีส์ที่ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์มีหลายสปีชีส์ แต่สปีชีส์ที่มีความสำคัญทางคลินิกและเป็นสาเหตุของการติดเชื้อส่วนใหญ่คือ *Enterococcus faecalis* และ *Enterococcus faecium* เชื้อ enterococci มักดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายขนานทั้งเป็นการดื้อยาต้านจุลชีพแต่กำเนิด (intrinsic resistance) และดื้อยาต้านจุลชีพที่เกิดขึ้นภายหลัง (acquired resistance) ได้แก่ ampicillin และ vancomycin (Miller, *et al.*, 2022)

ข้อมูลจากศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ (National Antimicrobial Resistance Surveillance, Thailand: NARST) พบว่า เชื้อ enterococci ที่ดื้อยา vancomycin (Vancomycin-resistant Enterococci; VRE) มีความชุกเพิ่มขึ้นในทุกๆ ปี โดยเฉพาะ *E. faecium* (NARST, 2021) และการดื้อยา vancomycin ของเชื้อ enterococci นี้สามารถส่งผ่านยีนดื้อยาไปสู่เชื้ออื่นได้อย่างรวดเร็ว (Hollenbeck, *et al.*, 2012) แผนยุทธศาสตร์การจัดการดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ พ.ศ. 2560-2564 ของประเทศไทยจึงได้กำหนดให้เชื้อ enterococci ที่ดื้อยา vancomycin (Vancomycin-resistant Enterococci; VRE) เป็นเชื้อดื้อยาหลักที่ควรเฝ้าระวัง ป้องกันและควบคุมการกระจายของเชื้อดื้อยา สอดคล้องกับศูนย์ควบคุมและป้องกันเชื้อโรคของประเทศสหรัฐอเมริกา (Center for Disease Control and Prevention; CDC) และองค์การอนามัยโลก (World Health Organization; WHO) ที่กำหนดให้เชื้อ VRE เป็นเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่เป็นภัยคุกคามร้ายแรงและมีความวิกฤตสูง (CDC, 2019, WHO, 2017, Drug And Medical Supply Information Center, Ministry of Public Health, 2016)

การดื้อยา vancomycin ของเชื้อ enterococci เกิดจากการเปลี่ยนแปลงเป้าหมายการออกฤทธิ์ของยาที่ปลายสายเปปไทด์ของผนังเซลล์ ยีนที่ควบคุมการดื้อยา vancomycin ของเชื้อ enterococci มีหลายชนิด และทำให้มีลักษณะการดื้อยา vancomycin และ teicoplanin ที่แตกต่างกัน สำหรับประเทศไทยพบยีนดื้อยาทั้งชนิด *vanA* และ *vanB* และส่วนใหญ่เป็นชนิด *vanA* (Nilgate, *et al.*, 2003, Chotiprasitsakul, *et al.*, 2016, Saengsuwan, *et al.*, 2021, Thongkoom, *et al.*, 2012) ยาต้านจุลชีพที่ใช้รักษาการติดเชื้อ VRE มีค่อนข้างจำกัด ยาที่มี

ฤทธิ์ดีต่อเชื้อที่มียีน *vanA* และ *vanB* ได้แก่ daptomycin linezolid และ tigecycline ซึ่ง daptomycin ไม่มีจำหน่ายในประเทศไทย ส่วน linezolid และ tigecycline มีฤทธิ์เพียงยับยั้งเชื้อ มีข้อจำกัดกรณีรักษาการติดเชื้อรุนแรงและราคาแพงสำหรับยาต้านจุลชีพที่มีฤทธิ์ดีต่อเชื้อที่มียีน *vanB* ได้แก่ teicoplanin, telavancin และ dalbavancin (O'Driscoll, *et al.*, 2015)

ข้อมูลการศึกษายีนดื้อยาของเชื้อ VRE ในประเทศไทยเป็นข้อมูลที่ไม่ได้ศึกษาเฉพาะในผู้ที่ติดเชื้อ ขาดความทันสมัย และศึกษาเพียงยีนที่ควบคุมการดื้อยา vancomycin ดังนั้น การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารูปแบบยีนดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อ VRE เพื่อให้มีแนวทางพิจารณาเลือกยาที่มีฤทธิ์ต่อเชื้อ VRE และพิจารณานำยาเข้าประเทศไทยหรือโรงพยาบาลได้อย่างเหมาะสม

วิธีดำเนินการวิจัย

กลุ่มตัวอย่าง คัดเลือกเชื้อ VRE ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยที่รักษา ณ โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า ระหว่างวันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2557 ถึง 1 เมษายน พ.ศ. 2561 และตรงตามเกณฑ์คัดเลือกเข้าการศึกษา ได้แก่ 1) เป็นเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยคนละราย 2) แยกได้จากสิ่งส่งตรวจที่ปราศจากเชื้อ หรือจากสิ่งส่งตรวจของตัวแทนที่ติดเชื้อ 3) ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อของยา vancomycin มีค่า ≥ 32 มก./มล. ขนาดตัวอย่างของเชื้อ VRE ที่นำมาทดสอบ ควรมีจำนวนมากกว่า 41 ตัว คำนวณจากขนาดประชากรเชื้อ enterococci ที่ขึ้นในสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย ร.พ. พระมงกุฎเกล้า พ.ศ. 2557-2560 มีจำนวน 4,430 ตัว และความชุกของเชื้อ VRE จากเลือดของผู้ป่วย 74 โรงพยาบาลในประเทศไทย พ.ศ. 2560 มีค่าร้อยละ 12.2

รูปแบบการดื้อยาของเชื้อด้วยวิธีการศึกษาลำดับเบสในสาย DNA เทียบกับจีโนมอ้างอิง (whole genome sequencing) ศึกษากลไกดื้อยาของตัวแทนเชื้อ VRE ในแต่ละกลุ่มที่ได้จากการจัดกลุ่มเชื้อทางระบาดวิทยาเชิงโมเลกุล ดังนี้ 1) สกัดสารพันธุกรรมและเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อที่ต้องการโดยวิธี Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) ด้วยเครื่อง Biometra TGradient Thermocycler 44 รอบ และใช้ primer AP4 (5'-TCA CGC TGC A-3'), ERIC1R (5'-ATG TAA

GCT CCT GGG GAT TCA C-3') (Barbier, *et al.*, 1996) 2) นำผลิตภัณฑ์สารพันธุกรรมตรวจสอบด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสในแผ่นเจลอะกาโรสเข้มข้นร้อยละ 1.5 3) ดูแถบสารพันธุกรรมภายใต้รังสีอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 312 นาโนเมตร 4) เปรียบเทียบแถบสารพันธุกรรมของเชื้อ และจัดกลุ่มเชื้อจากความแตกต่างของแถบสารพันธุกรรม

นำผลิตภัณฑ์สารพันธุกรรมของตัวแทนเชื้อแต่ละกลุ่มที่ได้จากการสุ่มส่งให้บริษัท Louis T. Leonowens (Thailand) Limited บริษัทเอกชนที่รับบริการวิเคราะห์ลำดับเบสและนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ยีนที่ควบคุมการดื้อยาที่เกิดขึ้นภายหลังและการกลายพันธุ์ของโครโมโซมโดยใช้โปรแกรม ResFinder 3.1 ฐานข้อมูลของเว็บไซต์ <http://www.genomicpidemiology.org/>

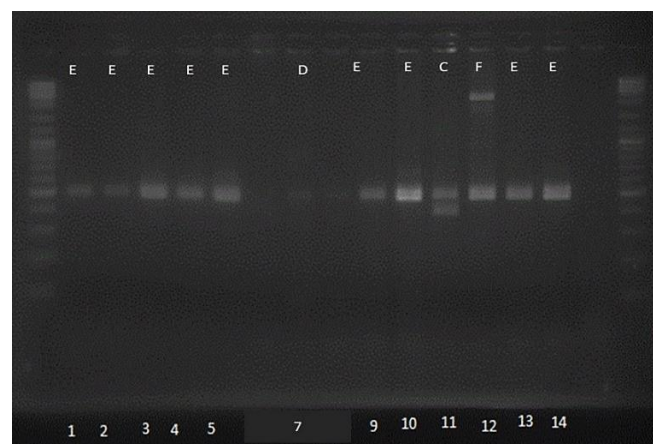
การทดสอบความไวของเชื้อต่อยา ทดสอบความไวยาต้านจุลชีพ 1 ครั้ง ทดสอบความไวยา vancomycin ของเชื้อ VRE ทุกสายพันธุ์ ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย และทดสอบความไวของตัวแทนเชื้อแต่ละกลุ่มต่อยา ampicillin, gentamicin ด้วยวิธี broth microdilution ตามเกณฑ์มาตรฐาน Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ยา linezolid, tigecycline, fosfomycin ด้วยวิธี Epsilonometer test (E-test) (Liofilchem, Teramo, Italy) ตามเกณฑ์มาตรฐาน CLSI และ European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (CLSI, 2018, EUCAST, 2019) สำหรับยา ciprofloxacin และ levofloxacin อ้างอิงจากผลที่รายงานโดยห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาโรงพยาบาล

จริยธรรมการวิจัย การวิจัยนี้ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการพิจารณาโครงร่างวิจัย กรมแพทยทหารบก เมื่อวันที่ 4 กรกฎาคม 2561 รหัสโครงร่างการวิจัย Q017b/61

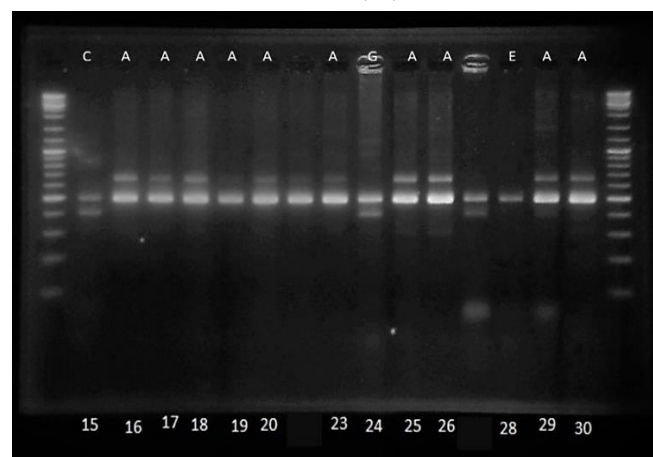
ผลการวิจัย

เชื้อ VRE ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยที่รักษา ณ โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า ระหว่างวันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2557 ถึง 1 เมษายน พ.ศ. 2561 มีจำนวน 91 สายพันธุ์ และเมื่อคัดเลือกเชื้อตามเกณฑ์การคัดเลือกตัวอย่างเหลือเชื้อจำนวน 49 สายพันธุ์ ทุกสายพันธุ์เป็นชนิด *E. faecium* ซึ่งแยกได้จากเลือด 14 สายพันธุ์ เลือดจากหัวใจ (ชันสูตร) 7 สายพันธุ์ ปัสสาวะที่ได้จากการสวนปัสสาวะ 15 สายพันธุ์ น้ำในช่องท้อง 4 สายพันธุ์ เนื้อเยื่อหรือกระดูกที่ได้จากห้องผ่าตัด 5 สายพันธุ์ เยื่อหุ้มปอด

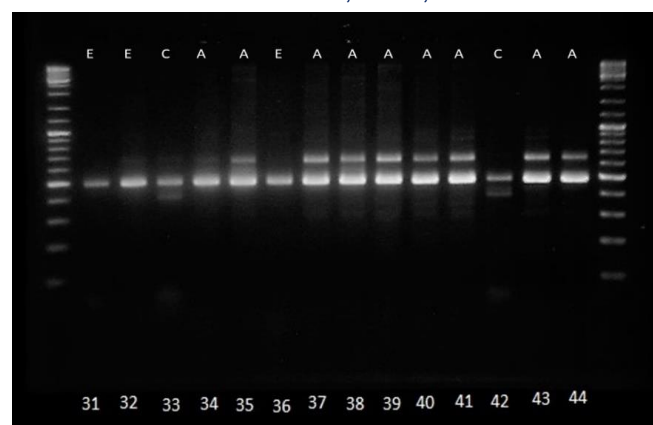
หรือน้ำเยื่อหุ้มปอด 3 สายพันธุ์ น้ำหล่อสมองไขสันหลัง 1 สายพันธุ์ โดยมีค่า MIC ของยา vancomycin เท่ากับ 64, 128 และมากกว่า 128 มก./มล. จำนวน 4, 25 และ 20 สายพันธุ์ ตามลำดับ



รูปที่ 1 ลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อ VRE
หมายเลข 1-5, 7, 9-14



รูปที่ 2 ลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อ VRE
หมายเลข 15-20, 23-26, 28-30



รูปที่ 3 ลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อ VRE หมายเลข 31-44



กลุ่มยีนที่ควบคุมการดื้อยา vancomycin ที่อยู่บนโครโมโซมของเชื้อ VRE พบ VanHAX 4 สายพันธุ์ในเชื้อกลุ่ม A, B, E และ F ส่วนยีนที่ควบคุมการดื้อยา aminoglycosides และ tetracycline พบในเชื้อทุกกลุ่ม (ตารางที่ 2)

กลุ่มเชื้อ	Linezolid	Tigecycline	Fosfomycin*	Ampicillin	Gentamicin	Ciprofloxacin#	Levofloxacin#
A	S	S	R	R	S	R	R
B	S	S	I	R	S	S	R
C	S	S	I	R	HLGR	R	R
D	S	S	R	S	S	R	R
E	S	S	R	R	S	R	R
F	S	S	I	R	S	R	R
G	S	S	S	S	S	R	R

HLGR (High-Level Gentamicin Resistance) = ตื้อยา gentamicin ระดับสูง

ยืนยันความคุ้มครองการดื้อยา		ฟีโนไทป์การดื้อยา							กลุ่มของเชื้อ VRE							
		A	B	C	D	E	F	G								
VanHAX	ดื้อ vancomycin และ teicoplanin	✓	✓	-	-	✓	✓	-								
parC	ดื้อ nalidixic acid และ ciprofloxacin	✓	✓	-	-	✓	✓	-								
gyrA	ดื้อ nalidixic acid และ ciprofloxacin	✓	✓	-	-	✓	✓	-								
pbp5	ดื้อ ampicillin	✓	✓	-	-	✓	✓	-								
ant(6)-Ia	ดื้อ streptomycin ระดับสูง	✓	✓	✓	-	✓	✓	-								
aac(6')-II	ดื้อ aminoglycosides ยกเว้น gentamicin streptomycin	✓	✓	-	✓	✓	✓	-								
aph(2'')-Ih	ดื้อ gentamicin ระดับสูง	✓	✓	-	-	✓	✓	-								
aac(6')-aph(2'')	ดื้อ gentamicin ระดับสูง	-	-	✓	-	-	-	✓								
aph(3')-III	ดื้อ aminoglycosides ยกเว้น gentamicin streptomycin	✓	-	✓	-	✓	✓	✓								
IIsa(A)	ดื้อ clindamycin streptogramin A และ streptogramin B	-	-	✓	-	-	-	✓								
IIsa(E)	ดื้อ clindamycin streptogramin A และ B	-	-	-	-	-	-	✓								

ตารางที่ 2 รูปแบบการดื้อยาของเชื้อ VRE (ต่อ)

ยีนควบคุมการดื้อยา	ฟิโนไทป์การดื้อยา	กลุ่มของเชื้อ VRE						
		A	B	C	D	E	F	G
erm(A)	ดื้อ macrolide lincosamide และ streptogramin A	-	-	-	-	✓	-	-
erm(B)	ดื้อ macrolide lincosamide และ streptogramin B	-	✓	✓	-	-	✓	✓
msr(C)	ดื้อ streptogramin B ระดับต่ำ	✓	✓	-	-	✓	✓	-
lnu(B)	ดื้อ lincomycin	✓	-	-	-	✓	-	✓
tet(M)	ดื้อ tetracycline minocycline ไม่ดื้อ tigecycline	✓	✓	✓	✓	✓	-	✓
tet(L)	ดื้อ tetracycline ไม่ดื้อ minocycline tigecycline	✓	-	-	✓	✓	-	-
tet(S)	ดื้อ tetracycline minocycline ไม่ดื้อ tigecycline	-	-	-	-	-	✓	-
dfrG	ดื้อ trimethoprim	-	-	-	-	-	✓	✓

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

เชื้อ VRE ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยที่รักษา ณ โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า ระหว่างวันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2557 ถึง 1 เมษายน พ.ศ. 2561 ทุกสายพันธุ์เป็นชนิด *E. faecium* สอดคล้องกับข้อมูลศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติรายงานอัตราดื้อยา vancomycin ในปี พ.ศ. 2564 ของเชื้อ *E. faecium* และ *E. faecalis* คิดเป็นร้อยละ 7.7 และ 0.5 ตามลำดับ (NARST, 2021)

เชื้อ VRE ตัวแทน 7 สายพันธุ์ ที่ศึกษารูปแบบการดื้อยา vancomycin พบว่าเชื้อ 4 สายพันธุ์ เป็นยีน *vanA* ซึ่งข้อมูลของประเทศไทยพบทั้ง *vanA* และ *vanB* ขึ้นอยู่กับแต่ละโรงพยาบาล (Nilgate, *et al.*, 2003, Chotiprasitsakul, *et al.*, 2016, Saengsuwan, *et al.*, 2021, Thongkoom, *et al.*, 2012) เชื้อ VRE อีก 3 สายพันธุ์ไม่พบยีนที่อยู่นบนโครโมโซม ซึ่งเป็นไปได้ว่ายีนที่ควบคุมการดื้อยา vancomycin นั้นอยู่บนบริเวณทรานสโพซอน (transposon) ซึ่งเป็นสารพันธุกรรมของเชื้อแบคทีเรียที่เคลื่อนที่ได้ (mobile genetic element) อยู่บนพลาสมิด จึงไม่พบยีนดื้อยาของเชื้อ (Hollenbeck, *et al.*, 2012, Gold, 2001)

เชื้อตัวแทนทั้ง 7 สายพันธุ์ ไวต่อยา linezolid และไม่พบยีนดื้อยา linezolid เมื่อเทียบกับฐานข้อมูลสากล ประเทศไทยยังไม่พบเชื้อ VRE ที่ดื้อยา linezolid ซึ่งแตกต่างจากต่างประเทศที่มีรายงานการดื้อยา linezolid ของเชื้อ VRE ทั้งชนิด *vanA* และ *vanB* ในเชื้อ *E. faecalis* และ *E. faecium* แต่กียังคงพบเป็นส่วนน้อย การดื้อยา linezolid ของเชื้อ enterococci เกิดได้จากการกลายพันธุ์ระดับยีนของ ribosomal RNA บนโครโมโซม หรือการส่งผ่านยีน *cfr* ที่อยู่บนพลาสมิดจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* (Hollenbeck, *et al.*, 2012, de Almeida, *et al.*, 2014, Bender, *et al.*, 2018)

เชื้อ enterococci ที่ไวยา tigecycline ลดลง เกิดจากการกลายพันธุ์ของยีนบางชนิด ได้แก่ *tet(M)* *tet(L)* และ *rpsJ* (Bender, *et al.*, 2018) ซึ่งจากตัวแทนของเชื้อทั้ง 7 กลุ่ม ไม่มีเชื้อตัวใดพบการกลายพันธุ์ของยีน *rpsJ* บนโครโมโซม แต่พบ *tet(M)* 6 สายพันธุ์ *tet(L)* 3 สายพันธุ์ และทั้ง 7 สายพันธุ์ไวต่อยา tigecycline สอดคล้องกับการศึกษาของ Cattoir V และคณะ *E. faecium* ที่ดื้อยา vancomycin จำนวน 2 สายพันธุ์ โดยพบหนึ่งสายพันธุ์มีค่า MIC ของยา tigecycline 0.5 มก./มล. (ดื้อ) พบยีน *vanA* และ *tet(M)* และอีกสายพันธุ์หนึ่งมีค่า MIC ของยา tigecycline 0.25 มก./มล. (ไว) พบยีน *vanA*, *tet(M)* และ *tet(L)* (Cattoir, *et al.*, 2015) ซึ่งอาจจะยังไม่มีมีการแสดงออกของยีนดื้อยา

กลุ่มตัวแทนของเชื้อ VRE ในการศึกษาไม่มีเชื้อตัวใดที่พบยีนดื้อยา fosfomycin ซึ่งอาจมีสาเหตุจากยีนดื้อยาไม่ได้อยู่บนโครโมโซม จากการศึกษาของ Chen C และคณะ ที่พบว่าเชื้อ *E. faecium* ที่ดื้อยา vancomycin และดื้อยา fosfomycin มียีน *fosB* ที่ควบคุมการทำงานของ fosfomycin-modifying enzymes และยีน *fosB* สามารถส่งผ่านไปสู่เชื้ออื่นและส่งผ่านไปด้วยพร้อมกับยีน *van* ในทรานสโพซอน (Chen, *et al.*, 2014, Xu, *et al.*, 2013)

พบยีนดื้อยาควบคุมการสร้าง aminoglycoside modifying enzyme ในเชื้อตัวแทนทุกสายพันธุ์ แต่มีการแสดงออกการดื้อยา gentamicin ระดับสูง 1 สายพันธุ์ การแสดงออกและกลายพันธุ์ของ penicillin binding protein 5 (PBP5) ใน *E. faecium* ส่งผลให้ยา beta-lactams จับ PBP ลดลง และดื้อยา ampicillin ดังที่พบในเชื้อสายพันธุ์ A, B, E, F (Hollenbeck, *et al.*, 2012)



เชื้อกลุ่ม A และ E เป็นเชื้อที่พบเป็นส่วนใหญ่ และทั้งสองกลุ่มนี้มีความต่างของแถบ DNA เพียง 1 แถบ และมียีนดื้อยาที่แตกต่างกันเพียงยีนเดียว ซึ่งอาจเป็นไปได้ที่เชื้อจะแพร่กระจายในโรงพยาบาลจากผู้ป่วย บุคลากรทางการแพทย์ หรือสิ่งแวดล้อมและเครื่องมือทางการแพทย์ ดังการศึกษาแยกเชื้อ VRE ขึ้นจากผิวหนังของผู้ป่วยร้อยละ 55 จากสิ่งแวดล้อมร้อยละ 17 พบว่าแถบ DNA ของเชื้อที่แยกจากผู้ป่วยและสิ่งแวดล้อมคล้ายกัน บุคลากรทางการแพทย์ที่ดูแลผู้ป่วยแยกเชื้อ VRE ขึ้นจากถุงมือหรือมือร้อยละ 52 หลังจากสัมผัสผู้ป่วยอย่างเดียวยและร้อยละ 70 หลังจากสัมผัสสิ่งแวดล้อมและผู้ป่วย (Hayden, *et al.*, 2008)

การวิจัยนี้มีข้อจำกัดคือทำการศึกษาเพียง 1 สายพันธุ์ของเชื้อในแต่ละกลุ่ม จึงอาจมีความแม่นยำน้อย การสกัดเชื้อ VRE สกัดเฉพาะส่วนของโครโมโซมของเชื้อ ซึ่งยีนสามารถอยู่ได้ทั้งส่วนพลาสมิดและโครโมโซม อีกทั้งหากพบยีนดื้อยาของเชื้อ ยีนนั้นอาจไม่ได้มีการแสดงออก จึงพบว่าเชื้อมีความไวต่อยา

โดยสรุปเชื้อ VRE ตัวแทน 7 สายพันธุ์ ที่ศึกษารูปแบบการดื้อยา vancomycin พบว่าเชื้อ 4 สายพันธุ์ เป็นยีน *vanA* โดยยีนที่ควบคุมการดื้อยาทั้งหมด 4 สายพันธุ์คือ *vanA* ยา teicoplanin รวมทั้ง dalbavancin, telavancin จึงไม่เหมาะสมสำหรับรักษาการติดเชื้อ VRE ในโรงพยาบาลแห่งนี้ และยังไม่พบยีนควบคุมการดื้อยา linezolid ที่เป็นยาทางเลือกหลักสำหรับรักษาการติดเชื้อ VRE เนื่องจากเชื้อดื้อยาอาจสามารถแพร่ไปสู่บุคคลอื่น และสิ่งแวดล้อมได้ จึงควรควบคุมการระบาด ป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อ VRE ที่ติดต่อโดยการสัมผัสอย่างเคร่งครัด (Miller, *et al.*, 2022, Hollenbeck, *et al.*, 2012)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ (พิเศษ) นายแพทย์ กำพล สุวรรณพิมลกุล เกษัชกร รองศาสตราจารย์ ชาญกิจ พุฒิเลอพงศ์ และ เกษัชกร อาจารย์ ดร. วีรยุทธ์ แซ่ลิ่ม ที่ให้คำแนะนำ ชี้ให้เห็นข้อบกพร่องและให้ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัยนี้ และขอขอบพระคุณ เกษัชกรหญิง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทศวรรณ จิตราศินกุล ภาควิชาชีวเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่ให้การช่วยเหลือ ให้ความรู้ในการทำปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา

References

- Barbier N, Saulnier P, Chachaty E, Dumontier S, Andremont A. Random amplified polymorphic DNA typing versus pulsed-field gel electrophoresis for epidemiological typing of vancomycin-resistant enterococci. *J Clin Microbiol.* 1996;34(5):1096-9.
- Bender JK, Cattoir V, Hegstad K, Sadowy E, Coque TM, Westh H, *et al.* Update on prevalence and mechanisms of resistance to linezolid, tigecycline and daptomycin in enterococci in Europe: Towards a common nomenclature. *Drug Resistance Updates.* 2018;40:25-39.
- Cattoir V, Isnard C, Cosquer T, Odhiambo A, Bucquet F, Guérin F, *et al.* Genomic analysis of reduced susceptibility to tigecycline in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(1):239-44.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2019 AR Threat Report [online]. 2021 Nov 23 [cited 2022 May 5]. Available from: https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fdrugresistance%2Fbiggest_threats.html. 2019.
- Chen C, Xu X, Qu T, Yu Y, Ying C, Liu Q, *et al.* Prevalence of the fosfomycin-resistance determinant, *fosB3*, in *Enterococcus faecium* clinical isolates from China. *J Med Microbiol.* 2014;63(Pt 11):1484-9.
- Chotiprasitsakul D, Santanirand P, Thitichai P, Rotjanapan P, Watcharananan S, Siriarayapon P, *et al.* Epidemiology and control of the first reported vancomycin-resistant enterococcus outbreak at a tertiary-care hospital in Bangkok, Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2016;47(3):494-502.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-eight information supplement. CLSI document M100. Wayne, PA. 2018.



- de Almeida LM, de Araújo MR, Iwasaki MF, Sacramento AG, Rocha D, da Silva LP, *et al.* Linezolid resistance in vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolates in a Brazilian hospital. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(5):2993-4.
- Drug And Medical Supply Information Center, Ministry of Public Health, 2016. National Strategic Plan on Antimicrobial Resistance 2017-2021 Thailand [Internet]. 2022 [cited 5 May 2022] Available from: <https://dmsic.moph.go.th/index/detail/6849.%202559>.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for MICs and zone diameters interpretation of January 1, 2019 [Internet]. 2019 [cited 3 June 2019]. Available from: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/
- Gold HS. Vancomycin-resistant enterococci: mechanisms and clinical observations. *Clin Infect Dis.* 2001;33(2):210-9.
- Hayden MK, Blom DW, Lyle EA, Moore CG, Weinstein RA. Risk of Hand or Glove Contamination After Contact With Patients Colonized With Vancomycin-Resistant *Enterococcus* or the Colonized Patients' Environment. *Infection Control & Hospital Epidemiology.* 2008;29(2):149-54.
- Hollenbeck BL, Rice LB. Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus. *Virulence.* 2012;3(5):421-33.
- Miller WR, Arias CA, Murray BE. Enterococcal Infections. In: Loscalzo J, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Longo D, Jameson JL, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 21e. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2022.
- National Antimicrobial Resistance Surveillance Center, Thailand. Antimicrobial Resistance 2000-2021. [online]. [cited 5 May. 2021]. Available from: <http://narst.dmsc.moph.go.th/>
- Nilgate S, Nunthapisud P, Chongthaleong A. Vancomycin-resistant enterococci in King Chulalongkorn Memorial Hospital: a 5-year study. *J Med Assoc Thai.* 2003;86 (Suppl 2):S224-9.
- O'Driscoll T, Crank CW. Vancomycin-resistant enterococcal infections: epidemiology, clinical manifestations, and optimal management. *Infect Drug Resist.* 2015;8:217-30.
- Saengsuwan P, Singkhamanan K, Madla S, Ingviya N, Romyasamit C. Molecular epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* clinical isolates in a tertiary care hospital in southern Thailand: a retrospective study. *PeerJ.* 2021;9:e11478.
- Thongkoom P, Kanjanahareutai S, Chantrakooptungool S, Rahule S. Vancomycin-resistant enterococci (VRE) isolates isolated in Rajavithi Hospital between 1999 and 2009. *J Med Assoc Thai.* 2012;95 (Suppl 3):S7-15.
- Who.int. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed [Internet]. 2017. [cited 3 June 2019]. Available from: <https://www.who.int/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed> WHO.
- Xu X, Chen C, Lin D, Guo Q, Hu F, Zhu D, *et al.* The fosfomycin resistance gene *fosB3* is located on a transferable, extrachromosomal circular intermediate in clinical *Enterococcus faecium* isolates. *PLoS One.* 2013;8(10):e78106.