

Detection of Yeasts from Cockroaches' Intestine by Polymerase Chain Reaction (PCR) Techniques and DNA Sequencing in Internal Transcribed Spacer 1 and 2 (ITS1-2)

Patcharee Kammarnjassadakul^{1*}, Natamon Nooin², Pattaranit Amphonritthisak³,
Pennapa Chamavit¹ and Watcharin Rangsipanuratn¹

¹Faculty of Medical Technology, Hauchiew Chalermprakiet University, Samut Prakan Province, Thailand

²Bangkok IVF Center, Bangkok, Thailand

³Division of Pathology, Fort Somdej Phranasuan Maharaj Hospital, Phitsanulok Province, Thailand

Abstract

Cockroaches are omnivore that are capable of transmitting many human pathogens. The major habitat is dwellings, so there is a high possibility that pathogens are acquired by cockroaches. This research aimed to explore the yeasts in gut of cockroaches collected from Bangphli housing, Bang Sao Thong District, Samut Prakan province. Polymerase chain reaction (PCR) method was used to amplify the internal transcribed spacer 1 and 2 region (ITS1-2) followed by DNA sequencing to compare the findings with NCBI database. The results revealed that 75% of the yeasts were opportunistic pathogens in human classified as *Candida tropicalis* (40%), *C. glabrata* (20%), *C. nivariensis* (5%), *C. palmiroleophila* (5%), *Pichia kudriavzevii* (5%) and the other 25% were non-pathogenic yeasts. These pathogenic yeasts can cause serious infections in immunocompromised patients and have been recognized to have high incidence of drug resistance especially to the azole group. The data from this study emphasized the significance of cockroaches as potential vectors of medically important yeasts in community environments.

Keywords: Cockroach, Polymerase chain reaction (PCR), Internal transcribed spacer, Yeasts

*Corresponding author E-mail address: kpatcharee@gmail.com

การตรวจหาเชื้อยีสต์จากลำไส้ของแมลงสาบโดยเทคนิค ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรสและการหาลำดับเบสบริเวณ Internal Transcribed Spacer 1 และ 2 (ITS1-2)

พัชรี กัมมารเจษฎากุล^{1*} ณฐมน หนูอินทร์² ภัทรนิษฐ์ อัมพรฤทธิศักดิ์³
เพ็ญภา ชมะวิต¹ และ วัชรินทร์ รังษิภาณูรัตน์¹

¹คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสมุทรปราการ

²บริษัทบางกอก อินฟอร์ทีลิตี้ เซ็นเตอร์ จำกัด (สาขา 2) กรุงเทพมหานคร

³แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายสมเด็จพระนเรศวรมหาราช จังหวัดพิษณุโลก

บทคัดย่อ

แมลงสาบเป็นพาหะนำเชื้อโรคหลากหลายชนิด มีนิสัยกินอาหารได้ทุกประเภท พบมากในบริเวณที่พักอาศัยของมนุษย์ ดังนั้นจึงมีโอกาสที่จะนำเชื้อยีสต์ก่อโรคมานุษย์ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดของเชื้อยีสต์ที่อยู่ในลำไส้ของแมลงสาบจากบริเวณห้องชุดที่พักอาศัยในชุมชนเคหะบางพลี อำเภอบางเสาธง จังหวัดสมุทรปราการ โดยใช้เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส (PCR) บริเวณ internal transcribed spacer 1 และ 2 (ITS1-2) และหาลำดับเบสโดยการทำ sequencing เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI ผลการวิจัยพบเชื้อยีสต์ที่สามารถก่อโรคในมนุษย์ร้อยละ 75 ได้แก่ *Candida tropicalis*, *C. glabrata*, *C. nivariensis*, *C. palmiophila*, *Pichia kudriavzevii* (ร้อยละ 40, 20, 5, 5 และ 5 ตามลำดับ) และเชื้อยีสต์ที่ไม่พบรายงานการก่อโรคในมนุษย์ร้อยละ 25 สำหรับเชื้อยีสต์ที่ก่อโรคในมนุษย์พบรายงานการก่อโรคในกลุ่มเสี่ยง อีกทั้งยังพบอุบัติการณ์การดื้อต่อยาต้านเชื้อราในกลุ่ม azole มากขึ้นในปัจจุบัน ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าแมลงสาบเป็นพาหะที่สำคัญของยีสต์ที่มีความสำคัญทางการแพทย์ในสิ่งแวดล้อมของชุมชน

คำสำคัญ: แมลงสาบ เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส Internal transcribed spacer ยีสต์

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: kpatcharee@gmail.com

รับบทความ: 9 ตุลาคม 2562

แก้ไขบทความ: 12 กุมภาพันธ์ 2563

รับตีพิมพ์บทความ: 24 กุมภาพันธ์ 2563

บทนำ

แมลงสาบ (cockroaches) เป็นแมลงที่อยู่ใน order Blattodea มีการเจริญเติบโตแบบไม่สมบูรณ์ (incomplete metamorphosis) เป็นสัตว์ที่ออกหากินในเวลากลางคืน ตัวเต็มวัยมีขนาดประมาณ 1-5 เซนติเมตร แมลงสาบกินอาหารและสิ่งปฏิกูลได้หลายประเภท เช่น พืช สัตว์ น้ำลาย เสมหะ และอุจจาระ สายพันธุ์ของแมลงสาบที่พบได้ตามที่พักอาศัยและแหล่งชุมชนต่างๆ มากที่สุด 5 อันดับคือ American cockroach (*Periplaneta americana*), German cockroach (*Blattella germanica*), Brown-banded cockroach (*Supella longipalpa*), Australian cockroach (*Periplaneta australasiae*) และ Large brown cockroach (*Periplaneta brunnea*) ตามลำดับ⁽¹⁾ ถิ่นอาศัยของแมลงเหล่านี้มักพบใกล้ชิดกับมนุษย์ เช่น อาคารพาณิชย์ บ้านที่พักอาศัย และท่อน้ำทิ้ง/น้ำเสีย แมลงสาบเป็นแหล่งสะสมเชื้อโรค การที่อยู่ใกล้ชิดกับมนุษย์ประกอบกับนิสัยการกินของแมลงสาบซึ่งขณะกินมักจะขับถ่ายออกมาด้วยทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อโรคตามสิ่งแวดล้อมทั่วไป เมื่อมนุษย์กินอาหารที่แมลงสาบสัมผัสอาจได้รับเชื้อก่อโรคได้ เช่น *Salmonella* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ และนอกจากเชื้อในกลุ่มแบคทีเรียแล้ว แมลงสาบยังเป็นพาหะของ ปรสิตร ไวรัส และราอีกด้วย^(2, 3)

ในปี พ.ศ. 2550 Salehzadeh A และคณะ⁽⁴⁾ รายงานการพบแบคทีเรีย ปรสิตร และราที่บริเวณผิวหนังนอกและภายใน รวมถึงภายในลำไส้ของแมลงสาบที่เก็บตัวอย่างจากโรงพยาบาล และที่พักอาศัยในเมืองฮามาแดน ประเทศอิหร่าน โดยแบคทีเรียที่พบมากที่สุดคือ *Enterobacter* spp. ปรสิตรที่พบมากที่สุดคือ ตัวเต็มวัยของ *Enterobius vermicularis* และไข่ของ *Ascaris* spp. เชื้อราที่พบมากที่สุดคือ

Candida spp. ซึ่งเชื้อที่พบส่วนใหญ่เป็นเชื้อที่มีความสำคัญทางการแพทย์ อีกทั้งยังเพิ่มโอกาสเสี่ยงในการติดเชื้อในโรงพยาบาลของผู้ป่วยอีกด้วย ต่อมาในปี พ.ศ. 2551 Saichau P. และคณะ⁽⁵⁾ พบว่าผิวหนังของแมลงสาบที่อาศัยอยู่บริเวณหอผู้ป่วยใน ของโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ พบเชื้อยีสต์ *Candida* spp. ที่สามารถก่อโรคในมนุษย์ และอาจนำเชื้อยีสต์มาสู่ผู้ป่วยได้ ต่อมาในปี พ.ศ. 2557 ในประเทศอิรัก Hussein AN ได้ศึกษาเชื้อ *Candida* spp. จากผิวของแมลงสาบและแมลงวันจากหลากหลายบริเวณ เช่น ห้องน้ำ ห้องรับแขก ห้องครัว และห้องนอน จากการสุ่มเลือกบริเวณบ้านพักอาศัยใน Al-Diwaniya city โดยแยกเชื้อโดยวิธีทางพีโนไทป์และจีโนไทป์ สรุปพบเป็น *Candida albicans* (ร้อยละ 44.6), *C. glabrata* (ร้อยละ 23), *C. krusei* (ร้อยละ 19.6), *C. tropicalis* (ร้อยละ 7.4), *C. dubliniensis* (ร้อยละ 3.6) และ *C. parapsilosis* (ร้อยละ 1.8) ผลทดสอบความไวต่อยาต้านเชื้อรา พบว่าเชื้อเหล่านี้มีความไวต่อยา nystatin (ร้อยละ 98) fluconazole (ร้อยละ 89.3) และดื้อต่อยา ketoconazole (ร้อยละ 16) นอกจากนี้ยังสรุปได้ว่าพบเชื้อจากแมลงสาบมากกว่าจากแมลงวันอีกด้วย⁽⁶⁾

ข้อมูลข้างต้น ทำให้เห็นว่าแมลงสาบเป็นแมลงที่สำคัญและเกี่ยวข้องกับมนุษย์ โดยเฉพาะด้านสุขภาพ เพราะมีโอกาสเป็นพาหะในการนำเชื้อก่อโรคมารสู่มนุษย์ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาชนิดของยีสต์ที่อยู่ในลำไส้ของแมลงสาบจากบริเวณห้องชุดที่พักอาศัย ในชุมชนเคหะบางพลี ตำบลบางเสาธง อำเภอบางเสาธง จังหวัดสมุทรปราการ โดยใช้เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่ PCR และการหาลำดับเบสบริเวณ internal transcribed spacer 1 และ 2 (ITS1-2) region⁽⁷⁾

วัสดุและวิธีการ

1. ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา

ใช้ตัวอย่างแมลงสาบจำนวน 55 ตัว จากบริเวณห้องชุดที่พักอาศัย ในชุมชนเคหะบางพลี ตำบลบางเสาธง อำเภอบางเสาธง จังหวัดสมุทรปราการ เก็บตัวอย่างโดยสวมถุงมือแล้วใส่ในถุงพลาสติกเจาะรูเพื่อให้มีการถ่ายเทอากาศ นำมาเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และใช้ดีเอ็นเอเชื้อ *Cryptococcus neoformans* (*C. neoformans*) เป็นตัวควบคุมผลบวก (positive control) สำหรับการทำ PCR บริเวณ ITS1-2 region

2. การเตรียมและเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์จากลำไส้ของแมลงสาบ

นำแมลงสาบแช่แข็งมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 5-15 นาที จำแนกชนิดโดยใช้ลักษณะภายนอกของแมลงสาบ หลังจากนั้นแช่ใน 70% alcohol เป็นเวลา 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น ใช้มีดผ่าตัดกรีดบริเวณด้านข้างของท้องแมลงสาบ แล้วใช้ forceps คีบส่วนลำไส้ของแมลงสาบใส่ใน glass plate ที่มี 0.85% normal saline บดให้ละเอียด ใช้ไซริงค์ดูดน้ำที่ได้จากการบดลำไส้แมลงสาบทั้งหมดใส่ในหลอด Eppendorf แล้วนำไปเจีย (streak) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud dextrose agar ที่มี 0.5% chloramphenicol (SC) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน พิจารณาลักษณะโคโลนีและส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยวิธี wet mount (ย้อมด้วยสี lactophenol cotton blue, LPCB) โดยโคโลนีเชื้อยีสต์จะมีลักษณะรูปร่างกลมหรือรูปไข่ ขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย และเมื่อดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบลักษณะของเซลล์ยีสต์ที่มีการแตกหน่อ (budding yeast cell) เลือกเชื้อที่มีลักษณะดังกล่าวไปเพาะเลี้ยงบน Sabouraud dextrose agar (SDA) ให้เป็นเชื้อที่ปราศจากการปนเปื้อน เพื่อการทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3. ผลการตรวจแยกชนิดเชื้อยีสต์จากลำไส้แมลงสาบด้วยวิธีทางจีโนม

3.1 การสกัดสารพันธุกรรมจากเชื้อยีสต์

นำเชื้อยีสต์อายุ 2 วันใน Sabouraud dextrose broth (SDB) ล้างด้วยน้ำกลั่น ปั่นตกเก็บที่ -20 องศาเซลเซียสข้ามคืน นำออกมาใส่ lysis buffer แล้วสกัดด้วยวิธีมาตรฐาน phenol-chloroform-isoamyl นำสารพันธุกรรมที่ได้ไปวัดค่าความบริสุทธิ์ด้วยเครื่อง Nanodrop 1000 (Thermo Scientific, USA) แล้วปรับให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร

3.2 การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยวิธี PCR และการหาลำดับเบสบริเวณ ITS1-2 region

เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในสารละลาย 50 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย 1× Hot start PCR master mix (Biotech rabbit, Germany), 1 ไมโครโมลาร์ ITS1 forward primer (5'- TCCG-TAGGTGAACCTGCGG- 3'), 1 ไมโครโมลาร์ ITS4 reverse primer (5'- TCCTCCGCTTATT-GATATGC- 3') และ template DNA 0.1 ไมโครกรัม ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในเครื่อง ThermoHybrid PCR thermocycler (Ashford, Middlesex, UK) นำ PCR product ที่ได้ไปตรวจสอบโดยวิธี gel electrophoresis หลังจากนั้นทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ GeneJET PCR purification kit (Thermo scientific Inc, USA) และส่งไปที่บริษัท Macrogen ประเทศเกาหลีใต้ เพื่อตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing) ด้วยเครื่อง ABI PRISM 377 DNA Sequencer แล้วนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราที่อยู่ใน GenBank โดยใช้โปรแกรม BLASTN การวิเคราะห์ข้อมูลใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ จำนวน ร้อยละ เป็นต้น

ผลการวิจัย

1. การจำแนกสายพันธุ์แมลงสาบ

ผลการจำแนกสายพันธุ์แมลงสาบจำนวน 55 ตัว พบเป็นแมลงสาบสายพันธุ์ *Periplaneta americana* ทั้งหมด (ร้อยละ 100) มีขนาดลำตัวยาว

ประมาณ 2.8 - 4.4 เซนติเมตร ลักษณะลำตัวและปีกมีสีน้ำตาลแดง บริเวณแผ่นแข็งที่ปกคลุมส่วนอก (pronotum) มีจุดสีดำที่บริเวณขอบล้อมรอบด้วยแถบสีเหลือง (Fig. 1)



Fig. 1 Characteristics of American cockroach found in Bangphli housing area

2. การเพาะเชื้อยีสต์จากลำไส้แมลงสาบและการตรวจดูลักษณะเชื้อยีสต์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

จากตัวอย่างแมลงสาบ 55 ตัวพบแมลงสาบที่มีเชื้อยีสต์ในลำไส้ 36 ตัว (ร้อยละ 65.5) โคโลนีของยีสต์มีลักษณะคล้ายของแบคทีเรียคือ กลม ขอบเรียบ นูน สีขาวจนถึงครีม มีขนาดแตกต่างกัน มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-3 มิลลิเมตร เมื่อย้อมด้วยสี LPCB แล้วส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบมีลักษณะรี ขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย เชื้อบางตัวพบเป็นเชลล์ยีสต์ที่มีการแตกหน่อ แมลงสาบบางตัวพบเชื้อยีสต์ในลำไส้มากกว่า 1 ชนิด คือพบเชื้อ 2 ชนิดที่มีลักษณะ

โคโลนีต่างกัน โดยมีจำนวนทั้งหมด 6 ตัว ที่พบเชื้อยีสต์ 2 ชนิด (ร้อยละ 16.67)

ผลการสกัดและเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมบริเวณ ITS1-2 จากตัวอย่างเชื้อยีสต์ 42 ไอโซเลตพบว่าได้ PCR product ขนาด 700-1,000 bp (Fig. 2) เมื่อนำลำดับเบสของเชื้อไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI โดยใช้โปรแกรม BLASTN สรุปได้ว่าเชื้อยีสต์ที่พบในลำไส้แมลงสาบคือ *C. tropicalis* (ร้อยละ 40), *C. glabrata* (ร้อยละ 20), *S. sinensis* (ร้อยละ 10), *P. kudriavzevii*, *C. carpophila*, *C. palmiroleophila*, *C. nivariensis*,

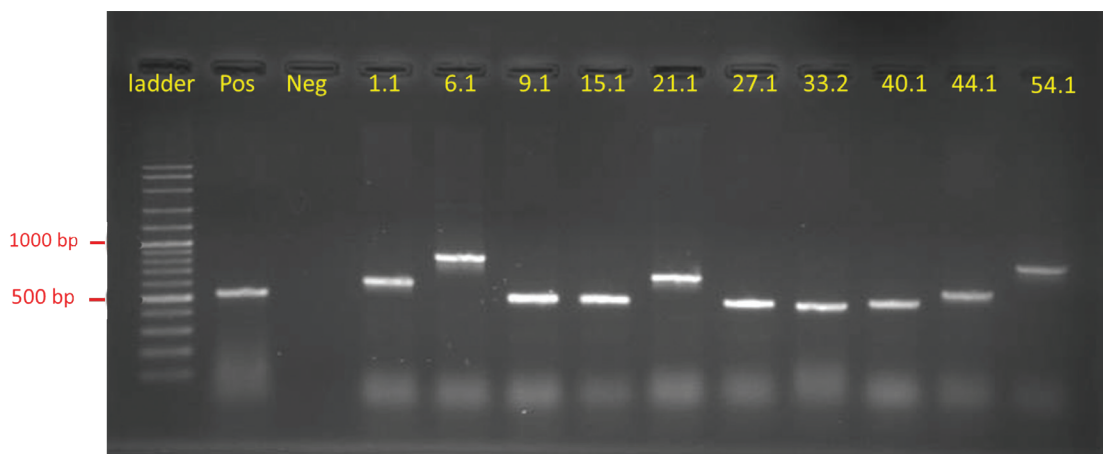


Fig. 2 Gel electrophoresis of ITS 1-2 region amplification between 600 - 1,000 bp. (Lane 1 = 100 bp ladder, lane 2 = positive control, lane 3 = negative control, lane 4 - 13 = PCR product of each sample)

Candida spp., และ uncultured fungi อย่างละ ร้อยละ 5 ตามลำดับ (Table 1 and Fig. 3) โดยแยก *C. tropicalis* ได้จากลำไส้แมลงสาบ 18 ตัว (ร้อยละ 50)

วิจารณ์

ผลการจำแนกตัวอย่างแมลงสาบจำนวน 55 ตัว พบว่าทุกตัวเป็นสายพันธุ์ *P. americana* (ร้อยละ 100) ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่พบมากที่สุดในประเทศไทยและสอดคล้องกับงานวิจัยของ Nammane S และคณะ⁽⁸⁾ ที่ดักจับแมลงสาบบริเวณโรงพยาบาลในเขตอำเภอคอนเจดีย์โดยใช้กับดักกาเหวและกับดักแก้วประยุกต์ พบว่าแมลงสาบที่จับได้ 100 ตัวเป็นสายพันธุ์ *P. americana* ทั้งหมด และจากงานวิจัยของ Tawatsin A และคณะ⁽⁹⁾ ซึ่งดักจับแมลงสาบบริเวณที่พักอาศัย 14 จังหวัดในประเทศไทย พบแมลงสาบสายพันธุ์ *P. americana* มากที่สุด คือร้อยละ 60.9⁽⁹⁾

ผลการตรวจหาเชื้อยีสต์ในลำไส้แมลงสาบ พบทั้งเชื้อยีสต์ที่สามารถก่อโรคและไม่ก่อโรคในมนุษย์

โดยพบเชื้อยีสต์ก่อโรค (ร้อยละ 75) มากกว่าเชื้อยีสต์ไม่ก่อโรค (ร้อยละ 25) โดยเชื้อยีสต์ที่ก่อโรคคือ *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. nivariensis*, *C. palmiroleophila* และ *P. kudriavzevii* และเชื้อยีสต์ที่ไม่ก่อโรคคือ *S. sinensis* และ *C. carophila* นอกจากนั้นยังมีเชื้อที่ยังไม่ทราบว่าเป็นก่อโรคหรือไม่เพราะยังไม่พบการรายงานคือ uncultured fungi และ *Candida* spp. เชื้อยีสต์ก่อโรคที่พบมากที่สุดคือในลำไส้แมลงสาบ คือ *C. tropicalis* ซึ่งจัดเป็นเชื้อก่อโรคที่มีอุบัติการณ์การก่อโรคมามากที่สุดในกลุ่ม *Candida non-albicans* ก่อโรค candidiasis⁽¹⁰⁾ ในผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องและผู้ที่มีการเปลี่ยนถ่ายอวัยวะ อีกทั้งยังมีรายงานพบอัตราการติดเชื้ออย่างต่อเนื่องในกลุ่ม azole โดยเฉพาะยา fluconazole เพิ่มขึ้น⁽¹¹⁻¹⁴⁾ เชื้อยีสต์ก่อโรคที่พบมากเป็นอันดับ 2 คือ *C. glabrata* จัดเป็นเชื้อที่มีอุบัติการณ์การพบในผู้ป่วย candidiasis เป็นอันดับ 2 ในกลุ่ม *Candida non-albicans* รองจาก *C. tropicalis* เชื้อ *C. glabrata* ก่อให้เกิดการติดเชื้อบริเวณช่องคลอดและปากช่องคลอด (vaginal and vulvovaginal

Table 1 List of the nucleotide similarities of ITS 1-2 region sequences from cockroaches' yeast isolates

Size (bp)	Yeast	Max Score	E-value
700	<i>Candida</i> spp. NYNU 14772	774	0.0
	<i>Pichia kudriavzevii</i> strain AO36	811	0.0
	<i>Candida tropicalis</i> strain 4S	1,411	0.0
750	<i>Candida tropicalis</i> strain Hb39	715	0.0
	<i>Candida tropicalis</i> isolate SY4-1	841	0.0
	<i>Candida tropicalis</i> strain H195A	802	0.0
780	<i>Candida tropicalis</i> isolate ZJ15	675	0.0
	Uncultured fungus clone 038A42229	57.2	5e-04
800	<i>Candida tropicalis</i> strain DBMY38	99	2e-16
	<i>Candida tropicalis</i> strain ATCC 13803	813	0.0
	<i>Candida carpophila</i> 18S ribosomal RNA gene	896	0.0
850	<i>Candida palmioleophila</i> isolate H3-4	994	0.0
880	<i>Saccharomyces sinensis</i> strain AS 2.1395	1,149	0.0
900	<i>Candida nivariensis</i> strain WM 09.151	708	0.0
	<i>Saccharomyces sinensis</i> strain AS 2.1395	1,134	0.0
950	<i>Candida tropicalis</i> isolate SY3-2	763	0.0
	<i>Candida glabrata</i> isolate Kw664/09	523	9e-145
	<i>Candida glabrata</i> strain DM 02	1,452	0.0
	<i>Candida glabrata</i> strain ITSH18	1,286	0.0
1,000	<i>Candida glabrata</i> strain DM 80	1,982	0.0

candidiasis) และปัจจุบันพบว่าการก่อโรคที่ผิวหนังชั้น superficial และก่อโรคแบบ systemic candidiasis เพิ่มขึ้น อีกทั้งมีรายงานอัตราการดื้อต่อยาในกลุ่ม azole เพิ่มขึ้นทุกปี^(15, 16) สำหรับเชื้อ *C. nivariensis* เป็นเชื้อก่อโรคที่มีอุบัติการณ์การพบมากขึ้น เนื่องจากเป็นเชื้อฉวยโอกาสที่ก่อโรคในผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง^(17, 18) และมีรายงานการก่อโรคใน

ผู้ป่วยเบาหวาน (diabetic patient with candidemia) อีกทั้งยังพบว่าเชื้อ *C. nivariensis* บางสายพันธุ์มีรายงานการดื้อต่อยากลุ่ม azole มากขึ้น^(19, 20) ส่วนเชื้อ *C. palmioleophila* เป็นเชื้อฉวยโอกาสที่ก่อโรคในผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง^(21, 22) และมีรายงานการพบเชื้อในพืชเศรษฐกิจ เช่น เนื้อเยื่อใบข้าว รวมทั้งในแหล่งน้ำบริเวณป่าชายเลน⁽²³⁻²⁵⁾ คาดว่าการพบ

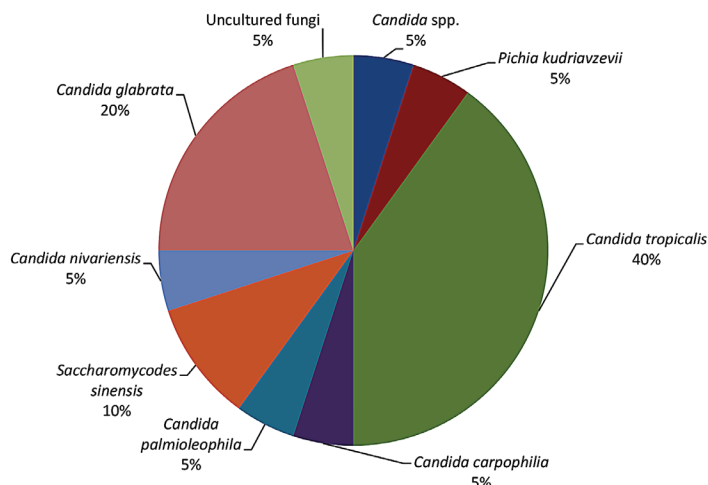


Fig. 3 Nucleotides analysis of cockroaches' yeast isolates with global distribution of BLASTN

เชื้อราในลำไส้แมลงสาบเป็นการปนเปื้อนจากการกินอาหารของแมลง และจากงานวิจัยของ Rasmus H. และคณะ⁽²⁶⁾ พบการดื้อต่อยา fluconazole และไวต่อยา itraconazole เล็กน้อย จึงอาจมีการดื้อต่อยา itraconazole ได้ในอนาคต และเชื้อก่อโรคในมนุษย์ที่พบในลำไส้แมลงสาบอีกชนิดหนึ่งคือ *P. kudriavzevii* (ร้อยละ 5) เป็น teleomorph (sexual stage) ของเชื้อ *C. krusei* ซึ่งเชื้อ *P. kudriavzevii* พบได้ในอาหารหมักดอง เครื่องดื่มที่หมักจากธัญพืช และเป็นสาเหตุทำให้เกิดอาหารเน่าเสียได้ อีกทั้งยังเป็นเชื้อก่อโรคในผู้ที่มีความเสี่ยง เช่น ผู้ที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกัน เด็กทารก และผู้ป่วย HIV^(27,28) และยังพบว่าเชื้อนี้ดื้อต่อยา fluconazole ด้วย⁽²⁹⁾

ดังที่กล่าวมาข้างต้นเชื้อทุกชนิดมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อในผู้ป่วยกลุ่มเสี่ยงและมีการดื้อต่อยาต้านเชื้อราในบางกลุ่ม ดังนั้นการได้รับเชื้อก่อโรคเหล่านี้ถือว่ามีความสำคัญทางคลินิกอย่างมาก การที่มีแมลงสาบอยู่ในชุมชน ถือว่าเป็นพาหะที่สำคัญในการเพิ่มปัจจัยเสี่ยงสำหรับคนในชุมชนที่เป็นกลุ่มเสี่ยง

เช่น ผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง ผู้ที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกัน ผู้ป่วย HIV ผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาว และผู้ที่เปลี่ยนถ่ายอวัยวะ เนื่องจากเชื้อยีสต์ก่อโรคส่วนใหญ่เป็นเชื้อในกลุ่ม *Candida spp.* ซึ่งก่อให้เกิดโรค candidiasis ได้และมีรายงานการดื้อต่อยากลุ่ม azole เช่น fluconazole, itraconazole, posaconazole และ ravuconazole ดังนั้นแพทย์จะต้องใช้ยากกลุ่ม echinocandins ในการรักษาแทน เช่น caspofungin, anidulafungin, micafungin หรืออาจให้ร่วมกับยา amphotericin B ในการรักษาผู้ที่ติดเชื้อรุนแรง ซึ่งยาที่กล่าวมาข้างต้นมีผลข้างเคียงสูงมาก เช่น ทำให้เกิดภาวะตับอ่อนอักเสบเฉียบพลัน ชัก หลอดลมอักเสบ หายใจลำบาก ภาวะตับโต ปัสสาวะเป็นเลือด และมีผลต่อการทำงานของไตเป็นอย่างมาก ทำให้คณะผู้วิจัยตระหนักถึงการควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อเพื่อลดการใช้ยา โดยให้ความรู้แก่ประชาชนในชุมชนต่างๆ เกี่ยวกับการรักษาสุขอนามัย การกำจัดขยะอย่างถูกวิธี เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อโดยมีแมลงสาบเป็นพาหะและการกำจัดแหล่งพาหะของเชื้อให้มีจำนวนลดลง

สรุป

แมลงสาบในชุมชนเคหะบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ เป็นสายพันธุ์อเมริกัน (*P. americana*) พบเชื้อยีสต์ที่ก่อโรคร้อยละ 75 ซึ่งมากกว่าเชื้อยีสต์ที่ไม่ก่อโรค โดยเชื้อยีสต์ที่ก่อโรคคือ *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. nivariensis*, *C. palmiophila* และ *P. kudriavzevii* เชื้อยีสต์ที่ไม่ก่อโรคคือ *S. sinensis* และ *C. carpophila* ส่วนเชื้อที่ยังไม่ทราบว่าก่อโรคเพราะยังไม่พบการรายงานคือ uncultured fungi, *Candida* spp. ซึ่งเชื้อยีสต์ก่อโรคที่พบมากที่สุดคือ *C. tropicalis* (ร้อยละ 40) ดังนั้นแมลงสาบสามารถเป็นพาหะนำเชื้อยีสต์ที่ก่อโรคไปสัมผัสกับมนุษย์และเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดโรคได้

เอกสารอ้างอิง

1. Pola J, Zapata C, Valdivieso R, *et al.* Cockroach asthma: case report and literature review. *Allergo Immunopath* 1988; 16: 61-5.
2. Arruda LK, Ferriani VP, Vailes LD, *et al.* Cockroach allergens: environmental distribution and relationship to disease. *Curr Allergy Asthma Rep* 2001; 1: 466-73.
3. Page K. Role of cockroach proteases in allergic disease. *Curr Allergy Asthma Rep* 2012; 12: 448-55.
4. Salehzadeh A, Tavacol P, Mahjub H. Bacterial, fungal and parasitic contamination of cockroaches in public hospitals of Hamadan, Iran. *J Vector Borne Dis* 2007; 44: 105-10.
5. Saichua P, Pinmai K, Somrithipol S, Tor-Udom S. Isolation of medically important fungi from cockroaches trapped at Thammasat Chalermprakiat Hospital. *Thammasat Med J* 2008; 8: 345-51.
6. Hussein AN. Phenotypic and genotypic characteristics of *Candida* species isolated from some domestic insects in Diwaniya city / Al — Qadisiya governorate. *Wassit Journal for Science & Medicine* 2014; 7: 1-14.
7. Kammarnjesadakul P, Palaga T, Sritunyalucksana K, *et al.* Phylogenetic analysis of *Pythium insidiosum* Thai strains using cytochrome oxidase II (COX II) DNA coding sequences and internal transcribed spacer regions (ITS). *Med Mycol* 2011; 49: 289-95.
8. Nammene 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.
9. Tawatsin A, Thavara U, Chompoosri J, *et al.* Cockroach surveys in 14 provinces of Thailand. *J Vector Ecol* 2001; 26: 232-8.
10. Myoken Y, Kyo T, Fujihara M, *et al.* Clinical significance of breakthrough fungemia caused by azole-resistant *Candida tropicalis* in patients with hematologic malignancies. *Haemato-log-ica* 2004; 89: 378-80.

11. Law D, Moore CB, Joseph LA, *et al.* High incidence of antifungal drug resistance in *Candida tropicalis*. *Int J Antimicrob* 1996; 7: 241-5.
12. Chen ZJ, Cao YS, Zai SB, *et al.* Investigation of drug resistance and multilocus sequence typing for differentiation of strains of *Candida tropicalis* of Shanghai. *Zhonghua yu fang yi xue za zhi* [Chinese journal of preventive medicine] 2018; 52: 932-5.
13. Xisto MI, Caramalho RD, Rocha DA, *et al.* Pan-azole-resistant *Candida tropicalis* carrying homozygous *erg11* mutations at position K143R: a new emerging superbug?. *J Antimicrob Chemother* 2017; 72: 988-92.
14. Brilhante RSN, de Oliveira JS, de Jesus Evangelista AJ, *et al.* *In vitro* effects of promethazine on cell morphology and structure and mitochondrial activity of azole-resistant *Candida tropicalis*. *Med Mycol* 2018; 56: 1012-22.
15. Vanden Bossche H, Marichal P, Odds FC, *et al.* Characterization of an azole-resistant *Candida glabrata* isolate. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 2602-10.
16. Wilson A, Delpont J, Ponich T. *Candida glabrata* Esophagitis: Are we seeing the emergence of a new azole-resistant pathogen?. *Int J Microb* 2014: 371631.
17. Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A, Isla G, *et al.* Prevalence of *Candida bracarensis* and *Candida nivariensis* in a Spanish collection of yeasts: comparison of results from a reference centre and from a population-based surveillance study of candidemia. *Med Mycol* 2011; 49: 525-9.
18. Chowdhary A, Randhawa HS, Khan ZU, *et al.* First isolations in India of *Candida nivariensis*, a globally emerging opportunistic pathogen. *Med Mycol* 2010; 48: 416-20.
19. Borman AM, Petch R, Linton CJ, *et al.* *Candida nivariensis*, an emerging pathogenic fungus with multidrug resistance to antifungal agents. *JCM* 2008; 46: 933-8.
20. Arastehfar A, Daneshnia F, Salehi MR, *et al.* Molecular characterization and antifungal susceptibility testing of *Candida nivariensis* from blood samples - an Iranian multicentre study and a review of the literature. *J Med Microbiol* 2019; 68: 770-7.
21. Arendrup MC, Bruun B, Christensen JJ, *et al.* National surveillance of fungemia in Denmark (2004 to 2009). *JCM* 2011; 49: 325-34.
22. Sugita T, Kagaya K, Takashima M, *et al.* A clinical isolate of *Candida palmioleophila* formerly identified as *Torulopsis candida*. *Nihon Ishinkin Gakkai zasshi* 1999; 40: 21-5.

23. Khunnamwong P, Jindamorakot S, Limtong S. Endophytic yeast diversity in leaf tissue of rice, corn and sugarcane cultivated in Thailand assessed by a culture-dependent approach. *Fungal Biol* 2018; 122: 785-99.
24. Limtong S, Kaewwichian R, Yongmanitchai W, Kawasaki H. Diversity of culturable yeasts in phylloplane of sugarcane in Thailand and their capability to produce indole-3-acetic acid. *World J Microbiol Biotechnol* 2014; 30: 1785-96.
25. Chanklan R, Kungkaew P, Am-In S and Jindamorakot S. Diversity of Yeasts in the Nature Education Center for Mangrove Conservation and Ecotourism, Chonburi Province. *TJST* 2012; 1: 155-68.
26. Jensen RH, Arendrup MC. *Candida palmioleophila*: characterization of a previously overlooked pathogen and its unique susceptibility profile in comparison with five related species. *JCM* 2011; 49: 549-56.
27. Nagarathnamma T, Chunchanur SK, Rudramurthy SM, *et al.* Outbreak of *Pichia kudriavzevii* fungaemia in a neonatal intensive care unit. *J Med Microbiol* 2017; 66: 1759-64.
28. Aslani N, Janbabaei G, Abastabar M, *et al.* Identification of uncommon oral yeasts from cancer patients by MALDI-TOF mass spectrometry. *BMC Infect Dis* 2018; 18: 24.
29. Espinel-Ingroff A, Turnidge J, Alastruey-Izquierdo A, *et al.* Method-dependent epidemiological cutoff values for detection of Triazole resistance in *Candida* and *Aspergillus* species for the sensititre yeast one colorimetric broth and Etest agar diffusion methods. *Antimicrob Agents Chemother* 2019; 63.