

# Incidence of Colistin Resistance among Carbapenem-resistant *Enterobacterales* Isolated from Clinical Specimens in Prapokklao Hospital, Thailand

Weewan Arsheewa<sup>1\*</sup>, Sasithorn Thaichareon<sup>1</sup>  
and Duangnate Pipatsatitpong<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Technology, Prapokklao Hospital, Ministry of Public Health,  
Chanthaburi Province, Thailand

<sup>2</sup>Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University,  
Pathum Thani Province, Thailand

## Abstract

The incidence of colistin resistance among *Enterobacterales* is increasing. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) has recently released the colistin resistance detection guideline in carbapenem-resistant *Enterobacterales* (CRE) by colistin broth disk elution (CBDE) method which is easy and inexpensive. The objective of this study was to investigate the incidence of colistin-resistant *Enterobacterales* isolated from clinical specimens at Prapokklao Hospital from January to December 2021. A total of 210 isolates, non-duplicated and carbapenem-resistant *Enterobacterales* specimens were used in this study. CBDE was used for colistin testing. Thirty-seven and one hundred seventy-three carbapenem-resistant isolates were resistant and intermediate to colistin respectively. *Klebsiella pneumoniae* were mostly resistant (35 isolates) and intermediate to colistin (153 isolates) respectively. One isolate each of *Citrobacter freundii* and *Klebsiella aerogenes* were found to be resistant to colistin. Colistin resistance was not found in *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, and *Citrobacter diversus*. The proportion of colistin-resistant and intermediate to colistin strains was found to highly correlate to the old-age group. Colistin resistance was commonly found in the medicine ward, dermatology and subcutaneous tissue groups. Most lethal patients were infected by colistin-intermediate *K. pneumoniae*. This study informed useful information concerning the treatment, prevention and control of colistin-resistant microorganisms in hospital.

**Keywords:** Colistin resistance, Colistin resistant detection, CBDE

---

\*Corresponding author E-mail address: sawii29naka@gmail.com

Received: 24 June 2022

Revised: 23 August 2022

Accepted: 24 September 2022

# อุบัติการณ์ของการดื้อยาโคลิสตินของเชื้อ Carbapenem-resistant *Enterobacterales* ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย ในโรงพยาบาลพระปกเกล้า

วีวรรณ อาชีวะ<sup>1\*</sup> ศศิธร ไทยเจริญ<sup>1</sup> และ ดวงเนตร พิพัฒน์สถิตพงศ์<sup>2</sup>

<sup>1</sup>งานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี

<sup>2</sup>ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต จังหวัดปทุมธานี

## บทคัดย่อ

อุบัติการณ์การดื้อยาโคลิสตินในเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacterales* ที่เพิ่มขึ้นนั้น Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) แนะนำวิธี colistin broth disk elution (CBDE) ซึ่งทำได้ง่ายและราคาไม่แพง สำหรับทดสอบการดื้อยาโคลิสตินในเชื้อ *Enterobacterales* การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาอุบัติการณ์การดื้อยาโคลิสตินของเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม carbapenem-resistant *Enterobacterales* (CRE) ที่แยกได้จากตัวอย่างผู้ป่วยในโรงพยาบาลพระปกเกล้า ช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2564 เชื้อ CRE จากผู้ป่วยไม่ซ้ำรายจำนวน 210 ไอโซเลต ถูกนำมาทดสอบการดื้อยาโคลิสตินด้วยวิธี CBDE จากการศึกษาพบเชื้อดื้อยาโคลิสติน จำนวน 37 ไอโซเลต เชื้อไวปานกลาง 173 ไอโซเลต โดยพบเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ที่ดื้อยาโคลิสติน 35 ไอโซเลต และไวปานกลาง 153 ไอโซเลต ส่วนเชื้อ *Citrobacter freundii* และ *Klesiella aerogenes* พบว่าดื้อยาโคลิสตินชนิดละหนึ่งไอโซเลต และไม่พบการดื้อยาโคลิสตินใน *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* และ *Citrobacter diversus* พบสัดส่วนเชื้อดื้อยาโคลิสตินและไวปานกลางแปรผันตรงกับช่วงอายุที่สูงขึ้นพบมากที่สุดใแผนกผู้ป่วยสามัญและกลุ่มโรคผิวหนัง และ subcutaneous tissue โดยผู้ป่วยที่ติดเชื้อ colistin-intermediate *K. pneumoniae* มีสถานะตายมากที่สุด ผลการศึกษานี้จะเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์ในการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อดื้อยาโคลิสตินและเป็นข้อมูลสนับสนุนการป้องกันและควบคุมการดื้อยาในโรงพยาบาลได้เป็นอย่างดี

คำสำคัญ: Colistin resistance, Colistin resistant detection, CBDE

\*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: sawii29naka@gmail.com

รับบทความ: 24 มิถุนายน 2565

แก้ไขบทความ: 23 สิงหาคม 2565

รับตีพิมพ์บทความ: 24 กันยายน 2565

## บทนำ

เชื้อดื้อยาปฏิชีวนะจัดเป็นปัญหาสำคัญที่กระทบทั้งในด้านสาธารณสุขและเศรษฐกิจของประเทศไทย อีกทั้งยังเป็นปัญหาสำคัญของประเทศต่าง ๆ ทั่วโลก ทำให้การรักษาและการควบคุมโรคล่าช้ากว่าที่ควรจะเป็น ทั่วโลกมีคนเสียชีวิตจากการติดเชื้อดื้อยาประมาณปีละ 7 แสนคน และหากไม่เร่งแก้ไข ปัญหา คาดการณ์ว่าในปี พ.ศ. 2593 จะมีการเสียชีวิตจากเชื้อดื้อยาสูงถึง 10 ล้านคน ในด้านผลกระทบต่อประเทศไทย จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่ามีกรณีติดเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะประมาณปีละ 88,000 ราย เสียชีวิตประมาณปีละ 38,000 ราย อยู่รักษาตัวในโรงพยาบาลนานขึ้น 3.24 ล้านวัน มูลค่าด้านจุลชีพที่ใช้รักษาคิดเป็น 2,539-6,084 ล้านบาท ความสูญเสียทางเศรษฐกิจโดยรวมไม่ต่ำกว่า 40,000 ล้านบาท หรือประมาณร้อยละ 0.6 ของผลิตภัณฑ์มวลรวมในประเทศ<sup>(1)</sup>

ปัจจุบันเชื้อดื้อยาที่สำคัญกลุ่มหนึ่งคือแบคทีเรียแกรมลบที่สร้างเอนไซม์ extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของการดื้อยาด้านจุลชีพกลุ่ม extended-spectrum beta-lactam พบว่าตั้งแต่ปี พ.ศ. 2523 มีการแพร่กระจายเชื้ออย่างกว้างขวางและกลายเป็นแบคทีเรียเฉพาะถิ่น (endemic bacteria) ในกลุ่ม *Enterobacterales* ทั้งในโรงพยาบาลและชุมชน<sup>(2)</sup> การระบาดของเชื้อ ESBL-producing strains โดยเฉพาะกลุ่ม CTX-M-type beta-lactamases พบว่ามีความชุกสูงที่สุดทั่วโลก สามารถสลายยา cefotaxime และ ceftriaxone ซึ่งอนุพันธ์ของเชื้อกลุ่มนี้ยังสามารถสลายยา meropenem ในกลุ่ม carbapenem ได้ด้วย<sup>(2)</sup> เชื้อดื้อยาในกลุ่ม ESBLs ส่งผลให้มีการรักษาโดยการให้ยาในกลุ่ม carbapenem มากขึ้น จึงนำไปสู่ปัญหาการดื้อยาชนิดใหม่ที่รุนแรงกว่าเดิมคือการดื้อยาในกลุ่ม carbapenem หรือ carbapenem-resistant *Enterobacterales* (CRE) ซึ่งพบว่ามีอัตราการดื้อยา

เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะ *K. pneumoniae* ที่ดื้อต่อยา imipenem ซึ่งเดิมในช่วงปี พ.ศ. 2543 ยังไม่มีเชื้อดื้อยานี้ ต่อมา พ.ศ. 2559 พบว่าเชื้อไวต่อยา ร้อยละ 92 และตั้งแต่ พ.ศ. 2560, 2561 และ 2562 ความไวของ *K. pneumoniae* ต่อยา imipenem ลดลงเหลือร้อยละ 89, 88 และ 87 ตามลำดับ<sup>(3)</sup> แสดงถึงอัตราการดื้อยาที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง สอดคล้องกับสถานการณ์การดื้อยาของโรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี ซึ่งเป็นโรงพยาบาลระดับตติยภูมิ (tertiary hospital) ที่พบรายงานเชื้อกลุ่ม CRE เป็นครั้งแรก ในปี พ.ศ. 2554<sup>(4)</sup> โดยพบสายพันธุ์ที่มียีนดื้อยา *bla<sub>NPM</sub>* และ *bla<sub>IMP</sub>* สูงที่สุด<sup>(5-6)</sup> ผลจากการระบาดของเชื้อดื้อยาเหล่านี้ทำให้ผู้ป่วยมีโอกาสเสียชีวิตสูง แพทย์จึงจำเป็นต้องใช้ยาโคลิสตินมาร่วมในการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อกลุ่ม CRE ด้วย

ยากกลุ่ม polymyxins (colistin และ polymyxin B) เป็นยากกลุ่มท้ายๆ ที่ใช้รักษาการติดเชื้อดื้อยาหลายขนาน ซึ่งแม้ว่าประสิทธิภาพของยาจะค่อนข้างดี แต่จากข้อมูลทางคลินิกและ pharmacokinetic-pharmacodynamic ระบุว่ายากกลุ่มนี้มีความเป็นพิษต่อไตและระบบประสาทจึงควรใช้เฉพาะกรณีใช้ยากกลุ่มอื่นไม่ได้ผล แพทย์จึงใช้ยาโคลิสตินเฉพาะในกรณีจำเป็น โดยใช้ยาในขนาดที่เหมาะสมและในระยะเวลาสั้นเท่าที่จำเป็นเท่านั้น ดังนั้นการทดสอบความไวของเชื้อดื้อยาโคลิสตินจึงมีความสำคัญต่อการตัดสินใจในการใช้ยารักษาผู้ป่วย

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาอุบัติการณ์การดื้อยาโคลิสตินของเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม CRE ด้วยวิธีมาตรฐาน CBDE โดยศึกษาจากเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างผู้ป่วยในโรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี ระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2564 เพื่อประโยชน์ในการรักษาเฝ้าระวังและป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะในโรงพยาบาลพระปกเกล้าต่อไป

## วัสดุและวิธีการ

### 1. ตัวอย่างตรวจ

งานวิจัยนี้เป็นการวิจัยแบบ cross-sectional study โดยทดสอบความไวของสารต้านจุลชีพโคลิสตินในเชื้อค็อกซ์ CRE ที่เพาะแยกเชื้อได้ระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2564 จำนวน 210 ไอโซเลต จากผู้ป่วยไม่ซ้ำราย โดยเชื้อมาจากผู้ป่วยที่ส่งตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ซึ่งได้รับการวินิจฉัยชนิดเชื้อด้วยการทดสอบทางชีวเคมีและทดสอบการดื้อต่อยากลุ่ม carbapenems ได้แก่ ertapenem, imipenem และ meropenem ด้วยวิธี Kirby-Bauer disk diffusion method และ gradient diffusion (E-tests) แล้ว การคำนวณจำนวนกลุ่มประชากรใช้ W.G. Cochran ซึ่งข้อมูลลักษณะการติดเชื้อ อายุ เพศ แผนกตรวจ และโรคนำเดิม ได้จากการดึงข้อมูลในระบบเวชระเบียนของโรงพยาบาลและจากระบบฐานข้อมูลห้องปฏิบัติการของหน่วยงาน การศึกษานี้ได้รับการรับรองจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ จากคณะกรรมการจริยธรรมวิจัยในมนุษย์จังหวัดจันทบุรี ตามหนังสืออนุมัติเลขที่ COA 037/64

### 2. การเตรียมเชื้อทดสอบ

นำตัวอย่างเชื้อ CRE จำนวน 210 ไอโซเลตมาเพาะเชือบน Mueller-Hinton agar (Becton Dickinson, USA) บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ  $35 \pm 2$  องศาเซลเซียส 18-24 ชั่วโมง

### 3. การทดสอบความไวของสารต้านจุลชีพโคลิสตินด้วยวิธีมาตรฐาน CBDE<sup>(7)</sup>

นำโคโลนีเดี่ยวมา 3-5 โคโลนีใส่ใน tryptic soy broth (TSB) บ่มที่อุณหภูมิ  $35 \pm 2$  องศาเซลเซียส 2-4 ชั่วโมง ปรับความขุ่นมาตรฐาน (turbidity standard) ทดสอบความไวของสารต้านจุลชีพโคลิสติน

โดยใช้แผ่นสารต้านจุลชีพโคลิสติน (colistin disk, 10 microgram/disk) และเตรียม cation-adjusted Mueller-Hinton broth (CAMHB) 10 มิลลิลิตร 4 หลอดทดลอง (A, B, C, D) ให้อาหารเลี้ยงเชื้อและแผ่นยาที่ทดสอบมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้องก่อนทำการทดสอบ โดยหลอดทดลอง A เป็น growth control (GC) ส่วนหลอดทดลอง B, C และ D ใส่แผ่นสารต้านจุลชีพโคลิสติน 1, 2 และ 4 แผ่น ซึ่งจะได้ความเข้มข้นของยาโคลิสตินเท่ากับ 1, 2 และ 4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องให้ยาถูกระเหย (elute) ออกมาอย่างน้อย 30 นาที แต่ต้องไม่เกิน 60 นาที คูดเชื้อที่ปรับความขุ่นแล้ว 50 ไมโครลิตรใส่ในทุกหลอดทดลองและเขย่าเบาๆ ให้เข้ากัน โดยต้องระวังอย่าให้แผ่นสารต้านจุลชีพไปติดอยู่ข้างหลอดทดลอง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 33-35 องศาเซลเซียส 16-20 ชั่วโมง ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของตัวอย่างเชื้อทดสอบโดย subculture ลง blood agar หากพบว่าหลอดทดลองที่เป็น GC ไม่ขุ่นจะไม่สามารถอ่านผลการทดสอบนั้นได้ และต้องทำการทดสอบใหม่โดยควบคุมคุณภาพการทดสอบด้วยเชื้อสายพันธุ์อ้างอิง ประกอบด้วย *E. coli* NCTC13846, *E. coli* ATCC25922 และ *P. aeruginosa* ATCC27853 โดยแปลผลการทดสอบเมื่อค่า MIC อยู่ระหว่าง  $\geq 4$ ,  $\leq 1-2$  และ  $\leq 1-4$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แปลผลความไวของเชื้อทดสอบต่อยาโคลิสตินตาม CLSI โดยแปลผลว่าไวปานกลาง (intermediate) เมื่อมีค่า MIC  $\leq 2$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และดื้อ (resistant) เมื่อมีค่า MIC  $\geq 4$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเหตุ: ค่า MIC  $\leq 2$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตาม European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) กำหนดการแปลผลเป็น ไว (susceptible)

### ผลการวิจัย

เชื้อ *Enterobacterales* ซึ่งดื้อยากลุ่ม carbapenems (CRE) จำนวน 210 ไอโซเลต จำนวน 6 สปีชีส์ ที่นำมาทดสอบเป็นเชื้อที่เพาะได้จากตัวอย่างชีวภาพจากมนุษย์ โดยเพาะแยกได้มากที่สุดจากเสมหะ ปัสสาวะ และเลือด ในอัตราร้อยละ 62.9 (132/210 ไอโซเลต), 21.4 (45/210 ไอโซเลต) และ 9 (19/210 ไอโซเลต) ตามลำดับ (Table 1) ซึ่งร้อยละ 89.5

(188/210 ไอโซเลต) ของเชื้อที่เพาะแยกได้คือ *K. pneumoniae* โดยในเสมหะพบเชื้อนี้สูงถึงร้อยละ 92.4 (122/132 ไอโซเลต) รองลงมาคือ เลือด (ร้อยละ 89.5) และปัสสาวะ (ร้อยละ 80) ตามลำดับ (Table 1) สำหรับสิ่งส่งตรวจชนิดอื่น ได้แก่ หนอง น้ำล้างไต และ สายสวน แม้ว่าพบ *K. pneumoniae* ถึงร้อยละ 100 แต่เนื่องจากสิ่งส่งตรวจที่นำมาศึกษามีจำนวนน้อยจึงไม่นำมาจัดลำดับในที่นี้

**Table 1** Distribution of carbapenem-resistant *Enterobacterales* in different clinical specimens.

specimens	carbapenem-resistant <i>Enterobacterales</i>						Total (n)
	<i>K. pneumoniae</i> (n = 188)	<i>E. cloacae</i> (n = 9)	<i>E. coli</i> (n = 6)	<i>C. freundii</i> (n = 3)	<i>K. aerogenes</i> (n = 3)	<i>C. diversus</i> (n = 1)	
sputum	122	6	1	1	2	0	132 (62.9%)
urine	36	3	4	1	0	1	45 (21.4%)
blood	17	0	0	1	1	0	19 (9.0%)
pus	7	0	0	0	0	0	7 (3.3%)
bile	2	0	1	0	0	0	3 (1.4%)
PD	2	0	0	0	0	0	2 (1%)
catheter	2	0	0	0	0	0	2 (1%)
Total (n = 210)	188 (89.5%)	9 (4.3%)	6 (2.9%)	3 (1.4%)	3 (1.4%)	1 (0.5%)	210 (100%)

การศึกษาครั้งนี้ พบเชื้อที่ดื้อยาโคลิสติน 37 ไอโซเลต แยกเป็นเชื้อ *K. pneumoniae* 35 ไอโซเลต (ร้อยละ 94.6) และเชื้อ *C. freundii* และ *K. aerogenes* อย่างละ 1 ไอโซเลต สำหรับเชื้อสปีชีส์อื่น ได้แก่ *E. coli*, *E. cloacae* และ *C. diversus* ไม่พบการดื้อยาโคลิสติน (Table 2) อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์หัตถการการดื้อยาโคลิสตินในแต่ละสปีชีส์พบว่า เชื้อ *C. freundii* และ *K. aerogenes* มีอัตราการดื้อยาโคลิสตินที่ร้อยละ 33.3 ในขณะที่ *K. pneumoniae* พบเพียงร้อยละ 18.6 (35/188 ไอโซเลต) (Table 2) อย่างไรก็ตาม แม้ว่าการพบเชื้อ CRE จาก

ผู้ป่วยที่ติดเชื้อในสถานพยาบาล (NI) เทียบกับผู้ป่วยที่ติดเชื้อจากชุมชน (CI) จะเป็นอัตราส่วนร้อยละ 80 (168/210 ไอโซเลต) ต่อร้อยละ 20 (42/210 ไอโซเลต) แต่อัตราการดื้อยาโคลิสตินในกลุ่ม CI กลับพบว่าสูงกว่ากลุ่ม NI โดยพบในอัตราร้อยละ 21.4 (9/42 ไอโซเลต) เทียบกับร้อยละ 16.7 (28/168 ไอโซเลต) ตามลำดับ (Table 3)

เมื่อพิจารณาสัดส่วนของเชื้อ CRE ที่แยกได้จากผู้ป่วยช่วงอายุต่าง ๆ พบว่าแปรผันตรงกับช่วงอายุที่มากขึ้น โดยพบเชื้อ CRE เพียงร้อยละ 0.9 (2/210 ไอโซเลต) ในกลุ่มอายุไม่เกิน 15 ปี ในขณะที่

**Table 2** Distribution of carbapenem-resistant *Enterobacterales* in colistin broth disk elution method.

carbapenem-resistant <i>Enterobacterales</i>	colistin broth disk elution	
	Resistant (n = 37)	Intermediate (n = 173)
<i>K. pneumoniae</i> (n = 188)	35 (94.6%)	153 (88.4%)
<i>E. cloacae</i> (n = 9)	0 (0%)	9 (5.2%)
<i>E. coli</i> (n = 6)	0 (0%)	6 (3.5%)
<i>C. freundii</i> (n = 3)	1 (2.7%)	2 (1.2%)
<i>K. aerogenes</i> (n = 3)	1 (2.7%)	2 (1.2%)
<i>C. diversus</i> (n = 1)	0 (0%)	1 (0.5%)
Total (n = 210)	37 (100%)	173 (100%)

**Table 3** Distribution of colistin susceptibility testing in different infectious acquirement (nosocomial infection (NI) and community infection (CI)) and ward type.

specimens number (percentage)	colistin intermediate			colistin resistant		
	infectious acquirement		comment	infectious acquirement		comment
	NI	CI		NI	CI	
sputum	101 (72.1%)	11 (33.3%)	NI; med (101) CI; med (11)	18 (64.3%)	2 (22.2%)	NI; med (13), ICU (4), sur (1) CI; med (2)
urine	19 (13.6%)	16 (48.5%)	NI; med (15), sur (2), ICU (2) CI; med (11), sur (5)	5 (17.9%)	5 (55.6%)	NI; med (4), sur (1) CI; med (4), ICU (1)
blood	13 (9.3%)	4 (12.1%)	NI; med (8), ICU (4), sur (1) CI; med (3), sur (1)	2 (7.1%)	0 (0%)	NI; med (1), ICU (1)
catheter	0 (0%)	0 (0%)		2 (7.1%)	0 (0%)	NI; ICU (2)
pus	7 (5%)	0 (0%)	NI; med (2), ICU (3), sur (2)	1 (3.6%)	1 (11.1%)	NI; sur (1) CI; med (1)
bile	0 (0%)	2 (6.1%)	CI; sur (2)	0 (0%)	1 (11.1%)	CI; med (1)
Total	140 (80.9%)	33 (19.1%)		28 (75.7%)	9 (24.3%)	

NI: Nosocomial infection, CI: Community acquired infection, med: Medicine ward, ICU: Intensive Care Unit, sur: Surgery ward

กลุ่มอายุ 60 ปีขึ้นไป พบเชื้อในสัดส่วนร้อยละ 66.2 (139/210 ไอโซเลต) เช่นเดียวกับสัดส่วนของเชื้อดื้อยาโคลิสตินที่พบสูงสุดในกลุ่มอายุ 60 ปีขึ้นไป (Table 4) สำหรับสัดส่วนของเชื้อ CRE ที่ไวยาปานกลางและดื้อต่อยาโคลิสตินในผู้ป่วยชาย พบว่ามีสัดส่วนที่ใกล้เคียงกัน (ร้อยละ 60.7 และ 67.6 ตามลำดับ)

แม้ว่าผู้ป่วยติดเชื้อ CRE ที่ไวยาปานกลางและดื้อยาโคลิสตินจะพบมากที่สุดในกลุ่มโรคทางเดินหายใจ (Table 5) ซึ่งแบ่งกลุ่มโรคนำเดิมของผู้ป่วยตาม International Classification of Disease 10<sup>th</sup> Revision version 2019 (ICD 10) ของ World Health Organization<sup>(8)</sup> แต่เมื่อวิเคราะห์สัดส่วนการพบเชื้อดื้อยาโคลิสตินเทียบกับเชื้อไวยาปานกลาง

ในแต่ละกลุ่มโรคนำเดิมพบว่า สัดส่วนของเชื้อดื้อยาโคลิสตินพบสูงสุดในกลุ่มโรคผิวหนังและ subcutaneous tissue กลุ่มโรคเลือด และกลุ่มโรคระบบประสาท ในอัตราร้อยละ 50 (1/2 ราย), 40 (2/5 ราย) และ 33.3 (3/9 ราย) ตามลำดับ ในขณะที่สัดส่วนในผู้ป่วยกลุ่มโรคทางเดินหายใจพบเพียงร้อยละ 12.9 (9/70 ราย) เท่านั้น (Table 5)

เมื่อพิจารณาสถานะของผู้ป่วยที่ติดเชื้อ carbapenem-resistant *K. pneumoniae* พบว่าผู้ป่วยที่มีผลทดสอบดื้อยามีสถานะดีขึ้นมากกว่ามีสถานะตาย ในขณะที่ผู้ป่วยที่มีผลทดสอบไวยาปานกลางมีสถานะตายมากที่สุด และในจำนวนผู้ป่วยตายทั้งหมดมีสาเหตุจากการติดเชื้อ carbapenem-resistant *K. pneumoniae* มากที่สุด (Table 6)

**Table 4** Distribution of colistin susceptibility testing in different gender and ward type.

Age range number (percentage)	colistin intermediate			colistin resistant		
	gender		comment	gender		comment
	Male	Female		Male	Female	
≤ 15	1 (1%)	0 (0%)	male; ICU (1)	0 (0%)	1 (8.3%)	female; ICU (1)
16-59	41 (39%)	19 (27.9%)	male; med (32) ICU (6), sur (3)	7 (28%)	2 (16.7%)	male; med (6), sur (1)
			female; med (13), ICU (4), sur (2)			female; med (1), ICU (1)
≥ 60	63 (60%)	49 (72.1%)	male; med (49), ICU (10), sur (4) female; med (38), ICU (8), sur (3)	18 (72%)	9 (75%)	male; med (11), ICU (6), sur (1) female; med (8), sur (1)
Total	105 (60.7%)	68 (39.3%)		25 (67.6%)	12 (32.4%)	

med: Medicine ward, ICU: intensive Care Unit, sur: Surgery ward

**Table 5** Distribution of colistin susceptibility testing in ICD 10 grouping.

<b>colistin resistant</b>	
<b>ICD 10 grouping</b>	<b>patient</b>
Disease of respiratory system	9 (24.3%)
Disease of genitourinary system	6 (16.2%)
Disease of digestive system	6 (16.2%)
Disease of circulatory system	5 (13.5%)
Disease of nervous system	3 (8.1%)
Neoplasms	3 (8.1%)
Disease of blood	2 (%)
Disease of skin and subcutaneous tissue	1 (2.7%)
Infectious	1 (2.7%)
Injury, poisoning and certain other consequences of external causes	1 (2.7%)
Total (n = 37)	37 (100%)
<b>colistin intermediate</b>	
Disease of respiratory system	61 (35.3%)
Disease of circulatory system	28 (16.2%)
Infectious	17 (9.8%)
Neoplasms	16 (9.2%)
Disease of genitourinary system	14 (8.1%)
Disease of digestive system	9 (5.2%)
Injury, poisoning and certain other consequences of external causes	7 (4%)
Disease of musculoskeletal system and connective tissue	7 (4%)
Disease of nervous system	6 (3.5%)
Disease of blood	3 (1.7%)
congenital malformations, deformations and chromosomal abnormalities	1 (0.6%)
Disease of skin and subcutaneous tissue	1 (0.6%)
Endocrine	1 (0.6%)
factors influencing health status and contact with health services	1 (0.6%)
symptoms, signs and abnormal clinical and laboratory findings not elsewhere classified	1 (0.6%)
Total (n = 173)	173 (100%)

**Table 6** Distribution of colistin susceptibility testing in patients with carbapenem-resistant *K. pneumoniae*.

Status	colistin intermediate	colistin resistant
improved	89/102 (87.3%)	24/25 (96%)
dead	60/66 (90.9%)	11/12 (91.7%)
not improve	4/5 (80%)	0

### วิจารณ์

การศึกษานี้พบว่า การทดสอบความไวของเชื้อกลุ่ม CRE ต่อสารต้านจุลชีพโคลิสตินด้วยวิธี colistin broth disk elution (CBDE) ตามข้อกำหนดใน Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing M100 ฉบับที่ 30<sup>(7)</sup> ปี พ.ศ. 2563 เป็นข้อปฏิบัติที่เป็นมาตรฐาน ซึ่ง Humphries และคณะ<sup>(9)</sup> รายงานว่าวิธี CBDE มีประสิทธิภาพดีในการทดสอบความไวของสารต้านจุลชีพ colistin ต่อเชื้อกลุ่ม Enterobacterales และ *P. aeruginosa* โดยผลการทดสอบในเชื้อกลุ่ม Enterobacterales มีค่า categorical agreement (CA หรือ correct sensitive susceptibility) ร้อยละ 98.6 มีค่า very major error (VME หรือ false intermediate susceptibility) ร้อยละ 2.5 มีค่า major error (ME หรือ false resistance) ร้อยละ 0

Simner และคณะ<sup>(10)</sup> ศึกษาประสิทธิภาพและความถูกต้องของวิธี CBDE เปรียบเทียบกับวิธี BMD ในการทดสอบ colistin MICs กับเชื้อ gram-negative bacilli พบว่าเมื่อทดสอบเชื้อตัวอย่างด้วยวิธี CBDE เทียบกับวิธีมาตรฐาน broth macrodilution (BMAD) มีค่า CA และค่า essential agreement (EA) ร้อยละ 100 คือมีประสิทธิภาพยอดเยี่ยม เมื่อเปรียบเทียบกับวิธี CBDE กับวิธี BMD ได้ค่า CA และ EA เป็นร้อยละ 98 และ 99 ตามลำดับ สรุปได้ว่าวิธี CBDE เป็นวิธี

มาตรฐานที่ทำได้ง่ายและมีประสิทธิภาพดี แต่เชื้อ CRE บางสายพันธุ์ที่ดื้อยาโคลิสตินซึ่งเกิดจาก *mcr-1* เมื่อทดสอบด้วยวิธี CBDE มีค่า MIC เท่ากับ 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ควรทดสอบยืนยันด้วยวิธี BMD และสายพันธุ์ที่มีค่า MIC มากกว่าหรือเท่ากับ 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ก็ควรทดสอบหายีน *mcr* ด้วย

การศึกษานี้พบเชื้อดื้อยาโคลิสตินในเชื้อ *K. pneumoniae* มากที่สุด ร้อยละ 94.6 (35/37 ไอโซเลต) ซึ่งข้อมูลสอดคล้องกับผลการศึกษาก่อนหน้านี้ในประเทศอินเดีย อิหร่าน และไทย<sup>(11-13)</sup> แต่ไม่สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Manohar และคณะ<sup>(14)</sup> ซึ่งพบมากที่สุดที่เชื้อ *E. coli* รองลงมาคือ *K. pneumoniae* และพบในเชื้ออื่นๆ ได้แก่ *E. cloacae*, *A. baumannii*, *K. oxytoca* การศึกษานี้พบเชื้อดื้อยาโคลิสตินในเชื้ออื่นเช่นกัน ได้แก่ *C. freundii* และ *K. aerogenes* (ชนิดละ 1/37 ไอโซเลต) ซึ่งถือเป็นจำนวนน้อยมากและไม่สะท้อนปัญหาการดื้อยาของโรงพยาบาล

การดื้อยาโคลิสตินเกิดจากหลายกลไก เช่น การถ่ายทอดผ่านพลาสมิด และการกลายพันธุ์ของยีนในโครโมโซม เชื้อ *K. pneumoniae* มีกลไกการดื้อยาโคลิสตินที่หลากหลาย เช่น การเปลี่ยนแปลงของ lipid A โดยการกลายพันธุ์ของยีน *pmrA*, *pmrB* หรือ *phoQ* ซึ่งควบคุม PhoP/PhoQ และ PmrA/PmrB systems นำไปสู่การเพิ่ม 4-amino-4-deoxy-

L-arabinose (L-Ara4N) หรือ phosphoethanolamine (PEtN) แก่ lipopolysaccharide (LPS) นอกจากนี้ การกลายพันธุ์ของยีน *mgrB* (ทำหน้าที่กวดการทำงานของ PhoPQ system) ซึ่งควบคุมโปรตีน MgrB ที่กวดการทำงานของยีน *eptB* นำไปสู่การลดการสร้างเอนไซม์ kinase ของ PhoQ และการลดการสร้าง PEtN<sup>(15)</sup> เป็นต้น

ปัจจุบันมีการนำยาโคลิสตินมาใช้ในภาคการเกษตร ทำให้เกิดการกระจายการดื้อยาผ่านชั้นส่วนพันธุกรรมทางเนื้อสัตว์ อาหาร และเข้าสู่ทางเดินอาหารของมนุษย์<sup>(16)</sup> การศึกษานี้พบการติดเชื้อจากชุมชน (CI) ในอัตราที่สูงกว่าเชื้อที่พบจากการติดเชื้อในโรงพยาบาล สะท้อนถึงแหล่งของเชื้อดื้อยาโคลิสตินที่กระจายอยู่ในชุมชน ซึ่งข้อมูลนี้จะเป็นประโยชน์ในการจัดทำมาตรการกำกับดูแลและควบคุมการใช้ยาอย่างสมเหตุผลในชุมชน

Singh และคณะ<sup>(17)</sup> ศึกษาการดื้อยาโคลิสตินของ *K. pneumoniae* ในสิ่งส่งตรวจทางคลินิก ในโรงพยาบาลระดับตติยภูมิในประเทศอินเดียทางตอนเหนือ พบสาเหตุการติดเชื้อในโรงพยาบาล (NI) ร้อยละ 4.5 (1/22 ไอโซเลต) เมื่อเทียบกับการศึกษานี้พบว่ามียัตราที่น้อยกว่า และพบมากในเพศชายเช่นกัน ในอัตราร้อยละ 81.8 (18/22 ไอโซเลต) เมื่อพิจารณาลักษณะแผนกผู้ป่วย ผู้ป่วยร้อยละ 54.5 (12/22 ราย) พบในแผนกผู้ป่วยระยะวิกฤติร้อยละ 66.7 (8/12 ราย) ต่างจากการศึกษานี้ที่พบในแผนกผู้ป่วยสามัญมากกว่าพบการติดเชื้อและเสียชีวิต โดยพบโรคเรื้อรังร่วมหลายโรคร้อยละ 86.4 (19/22 ราย) ส่วนการศึกษานี้พบมากในโรคทางเดินหายใจ โรคระบบไหลเวียนโลหิต และโรคการติดเชื้อ ตามลำดับ

เนื่องจากการถ่ายทอดยีนดื้อยาสามารถแพร่กระจายได้ง่าย การศึกษานี้จึงพบการติดเชื้อในผู้ป่วยแผนกสามัญมากที่สุด รองลงมาคือแผนกผู้ป่วยระยะวิกฤติและแผนกศัลยกรรม เนื่องจากมีการรักษาด้วย

ยาปฏิชีวนะจำนวนมาก ทำให้เกิดโอกาสสูงในการพบเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะ สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้<sup>(13,17,18)</sup> ซึ่งส่วนมากพบจากทั้งสามแผนกดังกล่าว การศึกษาของ Singh และคณะ<sup>(17)</sup> พบว่าชนิดของสิ่งส่งตรวจที่พบเชื้อดื้อยาโคลิสติน ได้แก่ endotracheal aspirate (10/22 ไอโซเลต) เลือด (6/22 ไอโซเลต) และเสมหะ (2/22 ไอโซเลต) ในขณะที่การศึกษานี้พบเชื้อดื้อยาโคลิสตินมากที่สุดจากระบบทางเดินหายใจในเสมหะ (20/37 ไอโซเลต) รองลงมาคือปัสสาวะ (10/37 ไอโซเลต) ส่วนการติดเชื้อในกระแสเลือดพบน้อย (2/37 ไอโซเลต) การศึกษาของ Paudel และคณะ<sup>(18)</sup> พบว่าจากจำนวนเชื้อดื้อยาโคลิสตินทั้ง 13 ไอโซเลต พบเพียง 2 ไอโซเลตที่มียีน *mcr-1* จากเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ซึ่งพบจากสิ่งส่งตรวจสองชนิดคือปัสสาวะและเลือดเท่านั้น แต่การศึกษานี้ไม่ได้ตรวจวิเคราะห์ชนิดยีน *mcr* จึงไม่ทราบอุบัติการณ์ของยีน *mcr* ในเชื้อดื้อยาโคลิสตินทั้ง 37 สายพันธุ์ที่ทดสอบ

## สรุป

การศึกษานี้ได้ช่วยพัฒนาคุณภาพของห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา โรงพยาบาลพระปกเกล้าให้ก้าวหน้าขึ้นอีกหนึ่งขั้น โดยได้เริ่มใช้วิธีที่ได้มาตรฐานตามข้อกำหนดใหม่ของ CLSI เพื่อทดสอบความไวของเชื้อกลุ่ม *Enterobacteriales* ดื้อยาโคลิสติน ทำให้ได้ทราบอุบัติการณ์ของเชื้อ ซึ่งนับเป็นข้อมูลใหม่ขององค์กร นอกจากนี้ยังได้วิเคราะห์ข้อมูลทางระบาดวิทยาในด้านต่าง ๆ ของเชื้อ carbapenem-resistant *Enterobacteriales* ที่ดื้อต่อยาโคลิสติน ทำให้แพทย์ได้รับผลทางห้องปฏิบัติการที่ถูกต้องได้มาตรฐาน ผู้ป่วยได้รับการรักษาอย่างรวดเร็ว อีกทั้งผลการศึกษานี้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญและเป็นการศึกษาในการเฝ้าระวังการติดเชื้อดื้อยาโคลิสตินในแผนกผู้ป่วยที่มีอุบัติการณ์การติดเชื้อสูงได้เป็นอย่างดี

และสามารถวางแผนการดูแลรักษา เฝ้าระวังและ ป้องกันกลุ่มผู้ป่วยที่มีอุบัติการณ์การติดเชื้อสูงได้อย่าง มีประสิทธิภาพ เป็นข้อมูลสนับสนุนเพื่อแพทย์และ บุคลากรทางการแพทย์ที่เกี่ยวข้องตระหนักในการ เลือกรักษาอย่างเหมาะสม (rational drug use) การจัดทำมาตรการป้องกันและควบคุมการแพร่ กระจายเชื้อในเชิงลึก ทั้งในโรงพยาบาลและชุมชน การเพิ่มการเฝ้าระวังขั้นสูงในผู้ป่วยติดเชื้อดื้อยาโคลิสติน ซึ่งถือว่าเป็นยาหลายขนาน การเพิ่มความเข้มงวด มาตรการ contact precaution ในการดูแลผู้ป่วย ติดเชื้อดื้อยาโคลิสติน การเพิ่มมาตรการ และความ ระมัดระวังในการเฝ้าดูแลระดับประคองผู้ป่วยระยะ สุดท้ายที่ติดเชื้อดื้อยาโคลิสติน และเป็นข้อมูล สนับสนุนการให้ความรู้สู่ชุมชนเรื่องเชื้อดื้อยา เพื่อ ป้องกันอุบัติการณ์ที่จะเพิ่มสูงขึ้นของการติดเชื้อดื้อยา โคลิสตินในชุมชน

### กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณกองทุนอุดหนุนการวิจัย โรงพยาบาลพระปกเกล้าประจำปี พ.ศ. 2564 ที่ได้ สนับสนุนทุนเพื่อการวิจัยนี้

### เอกสารอ้างอิง

1. Antimicrobial resistance situation in Thailand. <https://amrthailand.net/> (website on the internet). Antimicrobial Resistance: AMR (cited 2022 May 3). Available from: <https://amrthailand.net/Home/Thailand> (in Thai)
2. Castanheira M, Simner PJ, Bradford PA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: an update on their characteristics, epidemiology and detection. JAC Antimicrob Resist 2021 Jul 16; 3: dlab092. doi: 10.1093/jacamr/dlab092. PMID: 34286272; PMCID: PMC8284625.
3. [narst.dmsc.moph.go.th](http://narst.dmsc.moph.go.th) (website on the internet). NARST: National antimicrobial resistance surveillance center, Thailand; antibiograms report (cited 2022 March 22). Available from: <http://narst.dmsc.moph.go.th/antibiograms.html>
4. Thaicharuen S. Carbapenem-resistant *Escherichia coli* for the first time in Prapokklao Hospital. J Prapokklao Hosp Clin Med Educat center 2011; 28: 238-42.
5. Arsheewa W. Prevalence of carbapenemase enzyme in clinical isolates carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* from Prapokklao Hospital in 2012-2013. J Prapokklao Hosp Clin Med Educat center 2016; 33: 314-25.
6. Tunyong W, Arsheewa W, Santajit S, et al. Antibiotic resistance genes among carbapenem-resistant *Enterobacterales* (CRE) isolates of Prapokklao Hospital, Chanthaburi Province, Thailand. Infect Drug Resist 2021; 14: 3485-94.
7. Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 30<sup>th</sup> ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and laboratory standards institute; 2020.
8. International statistical classification of diseases and related health problems (ICD). <https://www.who.int/standards/classifications/classification-of-diseases> (website on the internet). ICD-10 Version: 2019 (cited 2022 May 7). Available from: <https://icd.who.int/browse10/2019/en>

9. Humphries RM, Green DA, Schuetz AN, *et al.* Multicenter evaluation of colistin broth disk elution and colistin agar test: a report from the Clinical and laboratory standards institute. *J Clin Microbiol* 2019; 57: e01269-19. doi: 10.1128/JCM.01269-19. PMID: 31511331; PMCID: PMC6813006.
10. Simner PJ, Bergman Y, Trejo M, *et al.* Two-site evaluation of the colistin broth disk elution test to determine colistin *in vitro* activity against gram-negative bacilli. *J Clin Microbiol* 2019; 57: e01163. <https://doi.org/10.1128/JCM.01163-18>
11. Das S, Roy S, Roy S, *et al.* Colistin susceptibility testing of gram-negative bacilli: better performance of Vitek2 system than e-test compared to broth microdilution method as the gold standard test. *Indian J Med Microbiol* 2020; 38: 58-65.
12. Moosavian M, Emam N. The first report of emerging mobilized colistin-resistance (*mcr*) genes and ERIC-PCR typing in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in southwest Iran. *Infect Drug Resist* 2019; 12: 1001-1010. doi: 10.2147/IDR.S192597. PMID: 31118706; PMCID: PMC6500874.
13. Wongut-sa P, Khumdee P, Samosornsuk W, Yansombat J, Samosornsuk S. Prevalence of colistin resistance among third generation cephalosporins- or carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* isolated from clinical specimens in Ratchaburi Hospital, Thailand. *J Med Tech Assoc Thailand* 2020; 48: 7240-52.
14. Manohar P, Shanthini T, Ayyanar R, *et al.* The distribution of carbapenem-and colistin-resistance in gram-negative bacteria from the Tamil Nadu region in India. *J Med Microbiol* 2017; 66: 874-83.
15. El-Sayed Ahmed MAE El-Sayed AM??, Zhong LL, Shen C, Yang Y, Doi Y, Tian GB. Colistin and its role in the era of antibiotic resistance: an extended review (2000-2019). *Emerg Microbes Infect* 2020; 9: 868-85.
16. Ye H, Li Y, Li Z, *et al.* Diversified *mcr-1*-harbouring plasmid reservoirs confer resistance to colistin in human gut microbiota. *mBio* 2016; 7: e00177. doi: 10.1128/mBio.00177-16. PMID: 27048797; PMCID: PMC4817250.
17. Singh S, Pathak A, Rahman M, *et al.* Genetic characterisation of colistin resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates from north India. *Front Cell Infect Microbiol* 2021; 11: ISSN = 2235-2988. Doi: 10.3389/fcimb.2021.666030.
18. Paudel A, Devkota SP, Shrestha A, Shah AK. Prevalence of colistin-resistant gram-negative isolates carrying the *mcr-1* gene among patients visiting a tertiary care center. *JNMA J Nepal Med Assoc* 2020; 58: 983-997. doi: 10.31729/jnma.5246. PMID: 34506394; PMCID: PMC8028535.