

บทที่ 4

ผลการวิจัย

1. การทดสอบยืนยันเชื้อ *A. baumannii*

เมื่อนำเชื้อ *A. baumannii* ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลนครปฐม จังหวัดนครปฐม ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2552 ถึงเดือนมกราคม พ.ศ. 2553 จำนวน 84 สายพันธุ์มาทดสอบยืนยันชนิดและสปีชีส์ด้วยการทดสอบทางชีวเคมี พบว่าเป็น *A. baumannii* ทุกสายพันธุ์

2. การทดสอบการดื้อยา imipenem โดยวิธี disk diffusion และวิธีอัตโนมัติ (VITEK® 2 Systems)

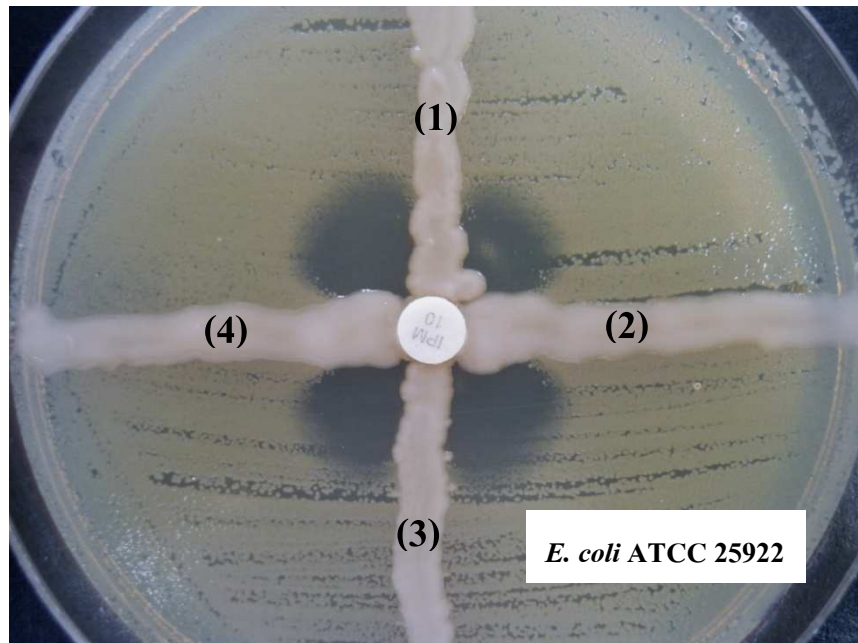
เมื่อนำเชื้อ *A. baumannii* จำนวน 84 สายพันธุ์มาทดสอบการดื้อยา imipenem ด้วยวิธี disk diffusion และยืนยันด้วยการตรวจหาค่า MIC โดยวิธีอัตโนมัติ (VITEK® 2 Systems) พบว่า *A. baumannii* ดื้อยา imipenem โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่าหรือเท่ากับ 13 มิลลิเมตร และค่า MIC มากกว่าหรือเท่ากับ 16 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ทุกสายพันธุ์

3. การทดสอบการสร้างเอนไซม์ class B and D carbapenem-hydrolysing β -lactamases ของเชื้อ imipenem-resistant *A. baumannii* โดยวิธี modified Hodge test

เมื่อนำเชื้อ *A. baumannii* ที่ดื้อยา imipenem จำนวน 84 สายพันธุ์มาทดสอบการสร้างเอนไซม์ class B and D carbapenem-hydrolysing β -lactamases โดยวิธี modified Hodge test พบว่าให้ผลบวกโดยเกิดลักษณะ cloverleaf (ภาพที่ 4.1) ทุกสายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 100 (ตารางที่ 4.1)

4. การทดสอบการสร้างเอนไซม์ metallo- β -lactamases ของเชื้อ imipenem-resistant *A. baumannii* โดยวิธี imipenem-EDTA double disk synergy test

เมื่อนำเชื้อ *A. baumannii* ที่ดื้อยา imipenem จำนวน 84 สายพันธุ์มาทดสอบการสร้างเอนไซม์ metallo- β -lactamases โดยวิธี imipenem-EDTA double disk synergy test พบว่าให้ผลลบทุกสายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 0 (ตารางที่ 4.1) ขณะที่เชื้อ *P. aeruginosa* สายพันธุ์ที่มียีน bla_{VIM-2} -type ให้ผลบวกแสดงดังภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.1 แสดงลักษณะ cloverleaf ซึ่งเป็นผลบวกของ modified Hodge test

- (1) *A. baumannii* ที่แยกได้จากผู้ป่วยสายพันธุ์ AB-01
- (2) *A. baumannii* ที่แยกได้จากผู้ป่วยสายพันธุ์ AB-02
- (3) *A. baumannii* สายพันธุ์ที่มียีน $bla_{\text{OXA-23-like}}$ (เชื้อควบคุมผลบวก)
- (4) *K. pneumoniae* สายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์ carbapenemase (KPC) และมียีน $bla_{\text{IMP-1-type}}$ (เชื้อควบคุมผลบวก)



ภาพที่ 4.2 แสดงผลบวกของการทดสอบการสร้างเอนไซม์ metallo- β -lactamases โดยวิธี imipenem-EDTA double disk synergy test ของ *P. aeruginosa* สายพันธุ์ที่มียีน $bla_{\text{VIM-2-type}}$ (เชื้อควบคุมผลบวก)

ตารางที่ 4.1 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ class B and D carbapenem-hydrolysing β -lactamases และ metallo- β -lactamases ของเชื้อ *A. baumannii* สายพันธุ์คือยา imipenem ที่แยกได้จากผู้ป่วย โรงพยาบาลนครปฐม

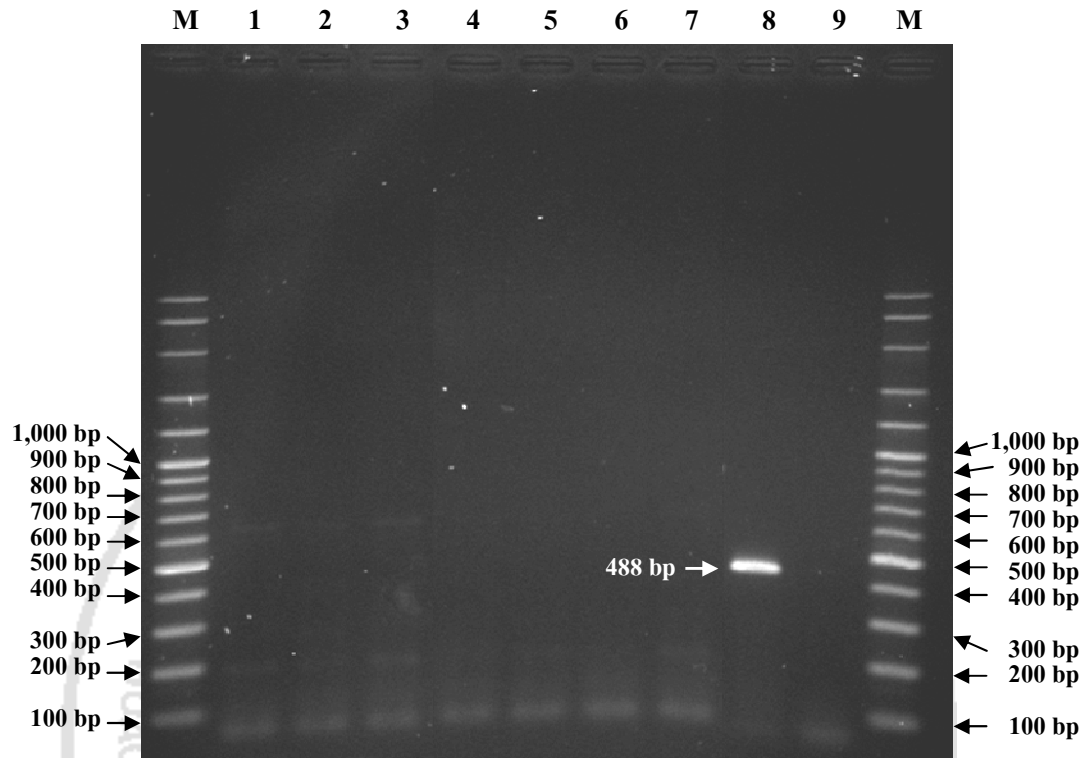
Imipenem-resistant <i>A. baumannii</i>	จำนวนสายพันธุ์ (ร้อยละ) ที่สร้างเอนไซม์ class B and D carbapenem-hydrolysing β -lactamases ^a	จำนวนสายพันธุ์ (ร้อยละ) ที่สร้างเอนไซม์ metallo- β -lactamases ^b
84 สายพันธุ์	84 (100)	0 (0)

^a ทดสอบโดยวิธี modified Hodge test

^b ทดสอบโดยวิธี imipenem-EDTA double disk synergy test

5. การตรวจหายีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาในกลุ่ม carbapenems โดยใช้เทคนิค polymerase chain reaction (PCR)

ผลการตรวจหายีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาในกลุ่ม carbapenems ได้แก่ ยีน $bla_{IMP-1-type}$, $bla_{VIM-2-type}$ และ $bla_{OXA-23-like}$ ของเชื้อ *A. baumannii* สายพันธุ์คือยา imipenem ที่แยกได้จากผู้ป่วย โรงพยาบาลนครปฐม ทั้ง 84 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิค PCR พบยีนคือยาคชนิด $bla_{OXA-23-like}$ ทุกสายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 100 และตรวจไม่พบยีนคือยาคชนิด $bla_{IMP-1-type}$ และ $bla_{VIM-2-type}$ ในเชื้อทุกสายพันธุ์ (ภาพที่ 4.3-4.5 และตารางที่ 4.2)



ภาพที่ 4.3 Agarose gel electrophoresis แสดงผล PCR amplification ของยีน $bla_{IMP-1\text{-type}}$

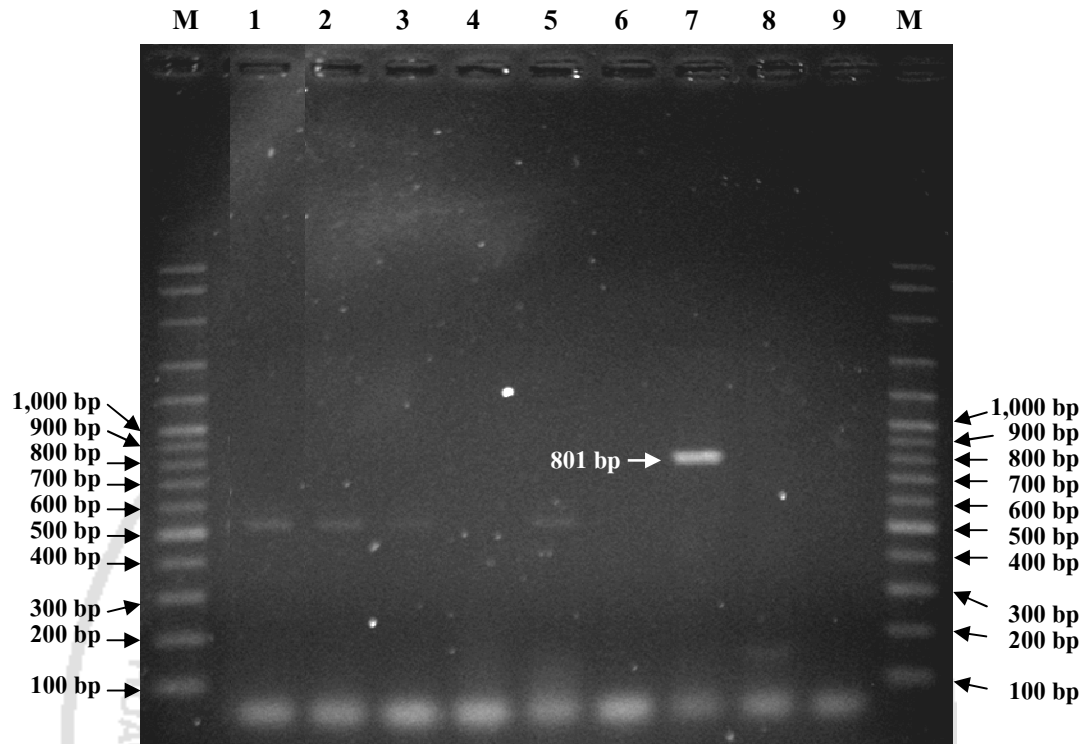
Lanes: 1-6, *A. baumannii* สายพันธุ์ AB01-AB06 ตามลำดับ;

7, *E. coli* ATCC 25922 (negative control);

8, *K. pneumoniae* สายพันธุ์มียีน $bla_{IMP-1\text{-type}}$ (positive control);

9, no DNA template (negative control)

Lane M, 100-1,500 base pair ladder DNA marker



ภาพที่ 4.4 Agarose gel electrophoresis แสดงผล PCR amplification ของยีน $bla_{VIM-2-type}$

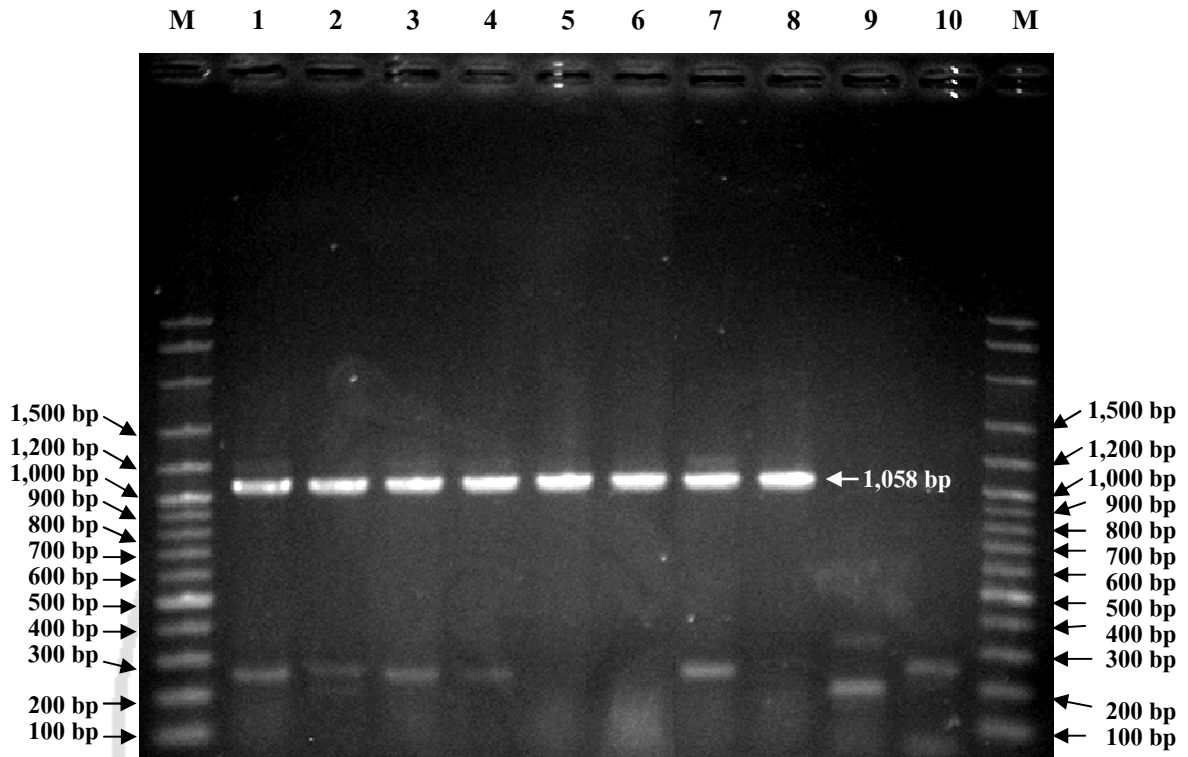
Lanes: 1-6, *A. baumannii* สายพันธุ์ AB01-AB06 ตามลำดับ;

7, *P. aeruginosa* สายพันธุ์ที่มียีน $bla_{VIM-2-type}$ (positive control);

8, *E. coli* ATCC 25922 (negative control);

9, no DNA template (negative control)

Lane M, 100-1,500 base pair ladder DNA marker



ภาพที่ 4.5 Agarose gel electrophoresis แสดงผล PCR amplification ของยีน $bla_{OXA-23-like}$

Lanes: 1-7, *A. baumannii* สายพันธุ์ AB01-AB07 ตามลำดับ;

8, *A. baumannii* สายพันธุ์ที่มียีน $bla_{OXA-23-like}$ (positive control);

9, *E. coli* ATCC 25922 (negative control);

10, no DNA template (negative control)

Lane M, 100-1,500 base pair ladder DNA marker

ตารางที่ 4.2 ลักษณะทางฟีโนไทป์และจีโนไทป์ ของเชื้อ *A. baumannii* สายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วย โรงพยาบาลนครปฐม

Isolates	Imipenem susceptibility	Imipenem MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Modified Hodge test	Imipenem-EDTA double disk synergy test	PCR detection for		
					<i>bla</i> _{IMP-1-type}	<i>bla</i> _{VIM-2-type}	<i>bla</i> _{OXA-23-like}
AB-01	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-02	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-03	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-04	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-05	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-06	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-07	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-08	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-09	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-10	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-11	R	≥ 16	+	-	-	-	+

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Isolates	Imipenem susceptibility	Imipenem MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Modified Hodge test	Imipenem-EDTA double disk synergy test	PCR detection for		
					<i>bla</i> _{IMP-1-type}	<i>bla</i> _{VIM-2-type}	<i>bla</i> _{OXA-23-like}
AB-12	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-13	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-14	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-15	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-16	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-17	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-18	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-19	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-20	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-21	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-22	R	≥ 16	+	-	-	-	+

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Isolates	Imipenem susceptibility	Imipenem MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Modified Hodge test	Imipenem-EDTA double disk synergy test	PCR detection for		
					<i>bla</i> _{IMP-1-type}	<i>bla</i> _{VIM-2-type}	<i>bla</i> _{OXA-23-like}
AB-23	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-24	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-25	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-26	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-27	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-28	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-29	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-30	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-31	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-32	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-33	R	≥ 16	+	-	-	-	+

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Isolates	Imipenem susceptibility	Imipenem MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Modified Hodge test	Imipenem-EDTA double disk synergy test	PCR detection for		
					<i>bla</i> _{IMP-1-type}	<i>bla</i> _{VIM-2-type}	<i>bla</i> _{OXA-23-like}
AB-34	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-35	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-36	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-37	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-38	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-39	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-40	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-41	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-42	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-43	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-44	R	≥ 16	+	-	-	-	+

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Isolates	Imipenem susceptibility	Imipenem MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Modified Hodge test	Imipenem-EDTA double disk synergy test	PCR detection for		
					<i>bla</i> _{IMP-1-type}	<i>bla</i> _{VIM-2-type}	<i>bla</i> _{OXA-23-like}
AB-45	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-46	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-47	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-48	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-49	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-50	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-51	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-52	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-53	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-54	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-55	R	≥ 16	+	-	-	-	+

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Isolates	Imipenem susceptibility	Imipenem MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Modified Hodge test	Imipenem-EDTA double disk synergy test	PCR detection for		
					<i>bla</i> _{IMP-1-type}	<i>bla</i> _{VIM-2-type}	<i>bla</i> _{OXA-23-like}
AB-56	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-57	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-58	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-59	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-60	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-61	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-62	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-63	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-64	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-65	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-66	R	≥ 16	+	-	-	-	+

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Isolates	Imipenem susceptibility	Imipenem MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Modified Hodge test	Imipenem-EDTA double disk synergy test	PCR detection for		
					<i>bla</i> _{IMP-1-type}	<i>bla</i> _{VIM-2-type}	<i>bla</i> _{OXA-23-like}
AB-67	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-68	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-69	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-70	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-71	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-72	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-73	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-74	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-75	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-76	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-77	R	≥ 16	+	-	-	-	+

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Isolates	Imipenem susceptibility	Imipenem MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Modified Hodge test	Imipenem-EDTA double disk synergy test	PCR detection for		
					<i>bla</i> _{IMP-1-type}	<i>bla</i> _{VIM-2-type}	<i>bla</i> _{OXA-23-like}
AB-78	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-79	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-80	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-81	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-82	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-83	R	≥ 16	+	-	-	-	+
AB-84	R	≥ 16	+	-	-	-	+

หมายเหตุ R, resistant

MIC, minimum inhibitory concentration

+, positive result

-, negative result

