



ปัจจัยที่มีผลต่อการดื้อยาในแบคทีเรียแกรมลบในลำไส้

Drug Resistance Factors among Enteric Bacteria

อรพินท์ หลีกภัย

Orapin Leekpai

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Biological Sciences

Prince of Songkla University

2541

Order Key	116829
BIB Key	149141

เลขหมู่	QR194 043 2541
เลขทะเบียน	26, 61.A. 2541

(1)

ชื่อวิทยานิพนธ์ ปัจจัยที่มีผลต่อการดื้อยาในแบคทีเรียแกรมลบในลำไส้

ผู้เขียน นางอรพินท์ หลีกภัย

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ชีวภาพ

ปีการศึกษา 2541

บทคัดย่อ

จากการศึกษาแบคทีเรียในสกุล *Shigella* ที่เพาะแยกเชื้อจากอุจจาระของผู้ป่วยโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ระหว่าง เดือนเมษายน 2537 ถึงเดือน กุมภาพันธ์ 2538 จำนวน 55 สายพันธุ์ โดยการเพาะเลี้ยงบน Salmonella-Shigella agar และ Xylose lysine deoxycholate agar และทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมีและหาซีโรไทป์ พบว่า เป็น *Shigella flexneri* จำนวน 30 สายพันธุ์ (ร้อยละ 54.6) และเป็น *Shigella sonnei* จำนวน 25 สายพันธุ์ (ร้อยละ 45.4) ไม่พบ *Shigella dysenteriae* และ *Shigella boydii* เมื่อนำ *S. flexneri* ไปตรวจหาซีโรไทป์ พบ ซีโรไทป์ 2 มากที่สุด คือ ร้อยละ 40 ส่วนซีโรไทป์ 1, 3, 5 พบร้อยละ 33.3, 16.7, 10 ตามลำดับ และไม่พบซีโรไทป์ 4 และ 6

จากการศึกษาความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ 13 ชนิด คือ ampicillin, amikacin, chloramphenicol, gentamicin, kanamycin, nalidixic acid, nitrofurantoin, norfloxacin, rifampin, streptomycin, sulfisoxazole, tetracycline และ trimethoprim โดยวิธี Disk diffusion method พบว่า *S. flexneri* ทั้ง 30 สายพันธุ์ยังมีความไวต่อยา 4 ชนิด คือ amikacin, gentamicin, nalidixic acid และ norfloxacin ในขณะที่ทุกสายพันธุ์ที่ทดสอบคือต่อยา rifampin และ streptomycin นอกจากนี้พบว่า *S. flexneri* มีแบบแผนการดื้อยา 7 แบบ โดยแต่ละแบบจะดื้อยาพร้อมกันตั้งแต่ 2 - 8 ชนิด และพบว่า ร้อยละ 73.3 ของแบคทีเรียคือยาร่วมกัน 5 ชนิด คือ ampicillin, chloramphenicol, rifampin, streptomycin และ trimethoprim นอกจากนี้ยังพบว่า ซีโรไทป์ของ *S. flexneri* ทุกซีโรไทป์ มีความสัมพันธ์กับแบบแผนการดื้อยา ส่วนผลการศึกษาความไวของเชื้อต่อยาของ *S. sonnei* จำนวน 25 สายพันธุ์ พบว่า ทุกสายพันธุ์ยังไวต่อยา 5 ชนิด คือ amikacin, gentamicin, nalidixic acid, nitrofurantoin และ norfloxacin ในขณะที่คือต่อยา 4 ชนิด คือ rifampin, streptomycin, sulfisoxazole และ trimethoprim และเมื่อศึกษาแบบแผนการดื้อยา พบว่ามี 2 แบบ โดยมีการดื้อยาพร้อมกัน 7 และ 5 ชนิด ตามลำดับ

ผลการศึกษารูปแบบพลาสมิดซึ่งสกัดโดยวิธี Alkaline Extraction และแยกแถบพลาสมิดโดยวิธี agarose gel electrophoresis พบว่า *S. flexneri* จำนวน 30 สายพันธุ์มีรูปแบบพลาสมิด 5 รูปแบบ แต่ละรูปแบบประกอบด้วยพลาสมิดตั้งแต่ 3 ถึง 8 แถบ มีขนาด 2.1 ถึง 23.1 kb ส่วน *S. sonnei* จำนวน 25 สายพันธุ์ มีรูปแบบพลาสมิด 10 รูปแบบ แต่ละรูปแบบประกอบด้วยพลาสมิด 4 ถึง 9 แถบมีขนาด 1.2 ถึง 23.1 kb นอกจากนี้ยังพบว่ารูปแบบพลาสมิดของ *S. flexneri* มีความสัมพันธ์กับซีโรทัยป์ แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับแบบแผนการคือยา ส่วนรูปแบบพลาสมิดของ *S. sonnei* พบว่า ไม่มีความสัมพันธ์กับแบบแผนการคือยา

ผลการศึกษาการถ่ายทอดยีนคือยาระหว่าง *Shigella* spp. และ *Escherichia coli* พบว่า *S. flexneri* ซีโรทัยป์ 5 จำนวน 2 สายพันธุ์ สามารถถ่ายทอดยีนที่เกี่ยวข้องกับการคือยา trimethoprim โดยวิธี conjugation ให้ *E. coli* ATCC 25922 และ *E. coli* DH5 α แต่ไม่สามารถถ่ายทอดให้ *E. coli* PSU ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่แยกจากผู้ป่วยในโรงพยาบาลเดียวกัน และไม่พบว่ามีสายพันธุ์ใดของ *S. sonnei* สามารถถ่ายทอดยีนคือยาให้ *E. coli*

จากการศึกษานี้ แสดงให้เห็นว่า อาจนำผลการตรวจหาซีโรทัยป์ แบบแผนการคือยา และรูปแบบพลาสมิดมาศึกษาติดตามการระบาดของแบคทีเรียสกุล *Shigella* ได้

Thesis Title Drug Resistance Factors among Enteric Bacteria

Author Mrs. Orapin Leekpai

Major Program Biological Sciences

Academic Year 1998

Abstract

Fifty-five strains of *Shigella* spp. were collected from stool cultures of patients in Songklanakarind Hospital from April 1994 to February 1995 by plating on Salmonella-Shigella agar and Xylose lysine deoxycholate agar and identification was performed by biochemical test and serogrouping. The results demonstrated that the most common species was *S. flexneri*, 30 strains (54.6 %), the second was *S. sonnei*, 25 strains (45.4 %). but neither *S. dysenteriae* nor *S. boydii* was isolated. The prevalent serotypes of *S. flexneri* were serotype 2 (40 %), 1(33.3 %), 3(16.7 %) and 5(10 %), respectively.

When antimicrobial susceptibility test of 13 antimicrobial agents, ampicillin, amikacin, chloramphenicol, gentamicin, kanamycin, nalidixic acid, nitrofurantoin, norfloxacin, rifampin, streptomycin, sulfisoxazole, tetracycline and trimethoprim were done by using Disk diffusion method. It was found that all of 30 strains of *S. flexneri* retained their susceptibility to amikacin, gentamicin, nalidixic acid and norfloxacin but were resistant to rifampin and streptomycin. Furthermore, analysis of antimicrobial resistance pattern of *S. flexneri* indicated that they comprised 7 patterns which each pattern was composed of 2 - 8 antimicrobial agents. Moreover, 73.3 % of *S. flexneri* were found to share their resistances to 5 antimicrobial agents, namely ampicillin, chloramphenicol, rifampin, streptomycin and trimethoprim. Serotyping was shown to be associated with antimicrobial resistance pattern of *S. flexneri*. In addition, 25 strains of *S. sonnei* were demonstrated to be susceptible to amikacin, gentamicin, nalidixic acid, nitrofurantoin and norfloxacin, but were resistant to rifampin, streptomycin, sulfisoxazole and trimethoprim. And 2 resistance patterns of 7 and 5 antimicrobial agents were presented.

Attempts were made to elucidate plasmid profile of *Shigella* spp. by agarose gel electrophoresis that 5 banding patterns of 3 - 8 plasmid bands were illustrated from 30 strains of *S. flexneri*, with sizes ranging from 2.1 - 23.1 kb while 25 strains of *S. sonnei* showed 10 banding patterns of 4 - 9 plasmid bands, with sizes ranging from 1.2 - 23.1 kb. Some degree of relations were found between banding pattern and serotyping but not antimicrobial resistance pattern of *S. flexneri*.

The results of conjugation study between *Shigella* spp. and *Escherichia coli* were shown that only 2 strains of *S. flexneri* serotype 5 could transfer their resistances against trimethoprim to *E. coli* ATCC 25922 and *E. coli* DH5 α but not to *E. coli* PSU which was isolated from the patient in the same hospital.

The results obtained from this study indicate that serotyping, antimicrobial resistance pattern and plasmid profile may be used to monitor epidemiology of *Shigella* spp.