

บทนำ

โรคติดเชื้อในโรงพยาบาล (Nosocomial Infection) เป็นปัญหาสำคัญในประเทศไทยซึ่งนับวันจะทวีความรุนแรงมากขึ้น จากข้อมูลทางระบาดวิทยาในโรงพยาบาลสงขลานครินทร์⁽¹⁾ พบว่ามีอัตราการติดเชื้อในโรงพยาบาลสูงถึง 6.3 ครั้งต่อการเข้ารับการรักษานในโรงพยาบาล 100 ครั้ง (Infection per 100 admission) โดยการติดเชื้อส่วนใหญ่เป็นการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ 32 เปอร์เซ็นต์ เชื้อที่เป็นสาเหตุสำคัญคือ *klebsiella pneumoniae* เป็นเชื้อที่อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae ลักษณะทั่วไปของเชื้อนี้คือเป็นเชื้อรูปแท่งติดสีแกรมลบ (gram negative bacilli) โดโรลินีขนาดใหญ่ (3-5 ม.ม.) เป็นเมือกเนื่องจากมีแคปซูล เจริญบน MacConkey agar ให้โคโรลินีสีชมพูแดง พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ และในลาไส้คน จัดเป็นเชื้อประเภทฉวยโอกาส ก่อให้เกิดโรคปอดบวม โรคโลหิตเป็นพิษ นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาลมีความสามารถในการดื้อยาหลายชนิด (multiple drug resistant) ทำให้เป็นปัญหาในการรักษาผู้ป่วยเพราะต้องใช้ยาที่มีราคาแพง ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับยีนดื้อยาของเชื้อดื้อยา *K. pneumoniae* จึงมีความสำคัญเพื่อที่จะนำข้อมูลที่ได้มาใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้น ในการเฝ้าระวังและควบคุมการติดเชื้อของเชื้อดื้อยา *K. pneumoniae* ในโรงพยาบาลต่อไป

วัตถุประสงค์

1. ตรวจสอบยีนดื้อยาบนพลาสมิด (R plasmid) จากเชื้อดื้อยา *Klebsiella pneumoniae* ในโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ✓
2. ทดสอบยีนดื้อยาบนพลาสมิดของเชื้อดื้อยา *Klebsiella pneumoniae* ว่ามีความสามารถถ่ายทอดได้ (Conjugative plasmid)

3.

การตรวจ เอกสาร

เชื้อ *K. pneumoniae* เป็นเชื้อใน family Enterobacteriaceae genus *Klebsiella* genusนี้มีสมาชิก 4 species คือ *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* (indole positive *K. pneumoniae*), *K. ozaenae* และ *K. rhinoscleromatis* โดยทั่วไปพบได้ในธรรมชาติและลาไส้คนจัดเป็นเชื้อประเภทฉวยโอกาสโดยเฉพาะ *K. pneumoniae* ซึ่งทำให้เกิดโรคปอดบวม โรคโลหิตเป็นพิษ โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบและโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลของระบบทางเดินปัสสาวะ

เชื้อ *K. pneumoniae* เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง (gram negative bacilli) มีลักษณะโคโลนีขนาดใหญ่ (3-5 mm) เป็นเมือกเนื่องจากมีแคปซูล เจริญบน MacConkey agar ให้โคโลนีสีชมพูแดงเนื่องจากสามารถย่อยน้ำตาล lactose ได้ ลักษณะสำคัญที่ใช้ในการแยกเชื่อว่าเป็น *K. pneumoniae* ได้แก่การทดสอบทางชีวเคมี เช่น การทดสอบ IMViC (Indole, Methyl Red, VP และ Citrate) ให้ผล ++-- การทดสอบ TSI (Triple Sugar Iron) ให้ผล A/A,G และการทดสอบการย่อยน้ำตาลกลูโคสให้ผลบวกและมีแก๊สเกิดขึ้น โดยปกติเชื้อแบคทีเรียคือยาต้านจุลชีพมักจะมียีนที่ื้อยาอยู่บน drug resistant plasmid (R plasmid)

plasmid เป็นดีเอ็นเอที่อยู่ภายนอกโครโมโซม (extrachromosomal DNA) มีรูปร่างเป็น DNA สายคู่ วงกลมปิด มีขนาดแตกต่างกันระหว่าง 1kb (kilo-base pair) -มากกว่า 200 kb สามารถแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนได้ด้วยตัวเอง (autonomous replication) โดยทั่วไป plasmid จะมี gene ที่เป็นประโยชน์ต่อการดำรงชีวิตของเชื้อแบคทีเรีย

plasmid ถูกแบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ

1. F หรือ sex หรือ fertility plasmid เป็น plasmid ที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับ การถ่ายโอน gene บนโครโมโซมจากแบคทีเรียที่มี F plasmid (F^+) ไปยังแบคทีเรียที่ไม่มี F plasmid (F^-) ได้ นอกจากนี้ F plasmid ยังสามารถสอดแทรก (integration) เข้าไปในโครโมโซมของแบคทีเรียได้ เรียกแบคทีเรียนี้ว่า Hfr cell ซึ่ง F plasmid ที่อยู่ในโครโมโซมของ Hfr cell นี้สามารถหลุดออกมาจากโครโมโซมได้ เรียกเซลล์ชนิดนี้ว่า F' cell

2. R หรือ drug-resistance plasmid เป็น plasmid ที่มียีนคือยาซึ่งทำให้เซลล์แบคทีเรียนั้นมีความสามารถในการดื้อยาได้ นอกจากนี้ R plasmid ส่วนมากยังมีความสามารถถ่ายทอดยีนคือยาจากแบคทีเรียที่มียีนคือยาไปยังแบคทีเรียที่ไม่มียีนคือยาได้

R plasmid ประกอบด้วย gene หลัก 2 gene คือ

1) RTF (resistance transfer factor) เป็น gene ที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 11×10^6 RTF ทำหน้าที่ควบคุมการแบ่งตัว (DNA replication) ควบคุมการเพิ่มจำนวนของ plasmid (copy number) และควบคุมการถ่ายทอด plasmid จากแบคทีเรียผู้ให้ไปยังแบคทีเรียผู้รับ (transfer gene)

2) r determinant เป็น gene ที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันมากในแต่ละชนิดของ R plasmid ($2-3 \times 10^6 - 100 \times 10^6$) r determinant นี้ จะประกอบด้วย gene คือยาปฏิชีวนะต่าง ๆ หลายชนิด เช่น gene คือยาชื่อ Ampicillin (AM), Chloramphenicol (Cam), Streptomycin (Str), Kanamycin (Kan) และ Sulfonamide (Sul) R plasmid หนึ่งๆ อาจจะมี gene คือยา 1 ชนิดหรือมากกว่า 1 ชนิดก็ได้

R plasmid มีความสำคัญทางการแพทย์มาก เนื่องจากความสามารถของแบคทีเรียที่สามารถถ่ายโอน R plasmid ได้ ทำให้เกิดการระบาดของแบคทีเรียทำให้เกิดโรคคิดเชื่อในโรงพยาบาล เช่น การระบาดของเชื้อ *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteriae*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขมาก

3. Col หรือ Colicinogenic factor หรือ Col plasmid เป็น plasmid ที่มียีนสร้างโปรตีนหลายชนิดที่รวมเรียกว่า colicin ซึ่ง colicin นี้สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ไม่มี col plasmid ได้ ตัวอย่าง colicin คือ bacteriocin ซึ่งเป็นโปรตีนที่สามารถยับยั้งกระบวนการ replication, transcription และ translation