

246138

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



246138

MRG5080008 ผศ.ดร. รัตนา ลาวัง



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การพัฒนาการตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Neisseria gonorrhoeae*  
ประจวบกับคุณสมบัติการดื้อยาโดยวิธีทางอณูชีววิทยา

โดย ผศ. ดร. รัตนา ลาวัง

เมษายน 2553

๖๐๐๒๕๑๔๒๐

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



สัญญาเลขที่ MRG508008

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์



โครงการ การพัฒนาการตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Neisseria gonorrhoeae*  
ประจวบกับคุณสมบัติการดื้อยาโดยวิธีทางอณูชีววิทยา

โดย ผศ. ดร. รัตนา ลาวั่ง

สังกัด ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล  
2 ถนนพหลโยธิน ซอยศิริราช บางกอกน้อย กรุงเทพฯ 10700

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย  
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

## กิตติกรรมประกาศ

ในการทำงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ ดร. วีระพงศ์ ปรัชญาสิทธิกุล ในการให้คำปรึกษา โรงพยาบาลบางรัก กรุงเทพฯ (ศูนย์โรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ของประเทศ) ในความอนุเคราะห์ ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียและตัวอย่างตรวจที่ใช้ในการทดสอบ และทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ประจำปี 2550-2551 มา ณ โอกาสนี้

## บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG508008

ชื่อโครงการ : การพัฒนาการตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Neisseria gonorrhoeae* ประจวบกับคุณสมบัติการดื้อยาโดยวิธีทางอณูชีววิทยา

ชื่อนักวิจัย : ผศ. ดร. รัตนา ลาวัง

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา : ศ. ดร. วีระพงศ์ ปรัชชญาสิทธิกุล

ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

E-mail Address : mtrlw@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 1 ธันวาคม 2549 ถึงวันที่ 1 ธันวาคม 2551

246138

เชื้อหนองในเป็นเชื้อก่อโรคที่สำคัญเนื่องด้วยการพบอุบัติการณ์ของโรคและการติดต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อสูง ดังนั้นผู้วิจัยจึงพัฒนาพัฒนาการตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Neisseria gonorrhoeae* ประจวบกับคุณสมบัติการดื้อยาโดยวิธีทางอณูชีววิทยา โดยชุดทดสอบสามารถวินิจฉัยหนองในและแยกชนิดของพลาสมิดที่ก่อให้เกิดการดื้อเพนนิซิลิน (PPNG) เตตราไซคลินในความเข้มข้นสูง (TRNG) และลดความไวต่อ ciprofloxacin โดยการ mutate ที่ serine-91 ของ gyrase A gene ของเชื้อได้ ในการศึกษาครั้งนี้ ศึกษาเชื้อที่แยกจากผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลบางรัก รวมจำนวนทั้งสิ้น 273 isolates โดยแยกได้ในช่วงเดือนมกราคมถึงมีนาคม 2543 จำนวน 31 isolates ช่วงเดือนมกราคมถึงมีนาคม 2545 จำนวน 32 isolates ช่วงเดือนตุลาคมถึงธันวาคม 2545 จำนวน 56 isolates และช่วงเดือนมกราคมถึงมีนาคม 2550 จำนวน 154 isolates พบว่า สัมพันธ์กับการศึกษาโดยวิธี phenotype เป็นอย่างดี โดยให้ผลการวินิจฉัย PPNG 100%, TRNG 98.9%, และการลดความไวต่อ ciprofloxacin 100% และพบอุบัติการณ์ของการดื้อยาหลายชนิดร่วมกันสูง โดยพบการระบาดของ Africa type ในเชื้อ PPNG และ America type ในเชื้อ TRNG นอกจากนี้ พบ mutation ที่ serine-91 ของ gyrase A gene เพิ่มขึ้นจาก 51.6% ในเชื้อที่แยกได้เดือนมกราคมถึงมีนาคม 2543 เป็น 98.4% ในเชื้อที่แยกได้เดือนมกราคมถึงมีนาคม 2550 จึงเห็นได้ว่า ชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นนี้มีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการต่อไป

**Keywords :** เชื้อหนองใน การวินิจฉัยเชื้อหนองใน การทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ

## Abstract

---

**Project Code :** MRG508008

**Project Title :** Development of molecular method for gonorrhoea diagnosis

**Investigator :** Asst. Prof. Dr. Ratana Lawung

**Mentor:** Prof. Dr. Virapong Prachayasittikul

Department of Clinical Microbiology, Faculty of Medical Technology Mahidol University

**E-mail Address :** mtrlw@mahidol.ac.th

**Project Period :** 1 December 2006 to 30 November 2008

246138

*Neisseria gonorrhoeae* is one of the most prevalent bacterial sexually transmitted pathogens and it also highly presents resistant phenotype. In Thailand, the increasing trends in the number of gonorrhea cases and an elevation in resistant strains have been reported. We aimed to validate the in-house PCR for diagnosis and multi-drug resistance detection of *N. gonorrhoeae*. The decreased susceptibility to ciprofloxacin could be identified by the mutation of serine-91. In addition, the PCR could also differentiate plasmid type in penicillin (PPNG) and tetracycline resistance isolates (TRNG). The 273 isolates of *N. gonorrhoeae* from patients attending at Bangrak hospital (National Centre of STIs), 31 isolates obtained between January-March 2000, 32 isolates obtained between January-March 2002, 56 isolates obtained between October-December 2002, and 154 isolates obtained between January-March 2007, were tested. As compared to phenotype expression, the sensitivity for detection of PPNG, TRNG, and decreased susceptible to ciprofloxacin was 100%, 98.9%, and 100%, respectively. Multiple resistance determinants were commonly existed. Our data revealed the highest prevalence of the epidemic Africa type of genomic  $\beta$ -lactamase and the America type of high level tetracycline resistance plasmid. Furthermore, serine-91 mutation was also found increasing from 51.6% during January-March 2000 to 98.4% during January-March 2007. The method can be used to detect *N. gonorrhoeae* in specimens. Thus, this multiplex PCR is benefit to apply use in the STI laboratories.

**Key words:** *Neisseria gonorrhoeae*, multiplex PCR, quinolone resistance, penicillin resistance, tetracycline resistance

## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	ข
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
สารบัญ.....	จ
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูปภาพ.....	ช
สรุปผลการดำเนินงานของโครงการ โดยย่อ	1
ผลงานวิจัย	
บทนำ.....	2
วัตถุประสงค์ของโครงการ.....	3
การดำเนินการวิจัยตามวัตถุประสงค์.....	3
ผลงานวิจัยที่ได้รับ.....	4
เอกสารอ้างอิง.....	11
ภาคผนวก.....	12

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ตารางแสดงความไวต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อหนองในจำนวน 113 isolates ที่แยกจากผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลบางรักในช่วงเดือนมกราคมถึงมีนาคม ปี 2550	5
ตารางที่ 2 ลำดับเบสของ Primers ที่ใช้ในปฏิกิริยา multiplex PCR	6
ตารางที่ 3 ขนาดของ Products ที่พบก่อนและหลังตัดด้วย <i>Hinf</i> I หลังตัดด้วยเอนไซม์ <i>Hinf</i> I	7

## สารบัญรูปภาพ

	หน้า	
รูปที่ 1	ภาพแสดงการเปรียบเทียบลำดับเบสของพลาสมิดชนิดต่างๆ ของเชื้อหนองในที่เป็น penicillin	6
รูปที่ 2	ภาพแสดง band patterns ของเชื้อหนองในคือสารต้านจุลชีพแบบต่างๆ	8