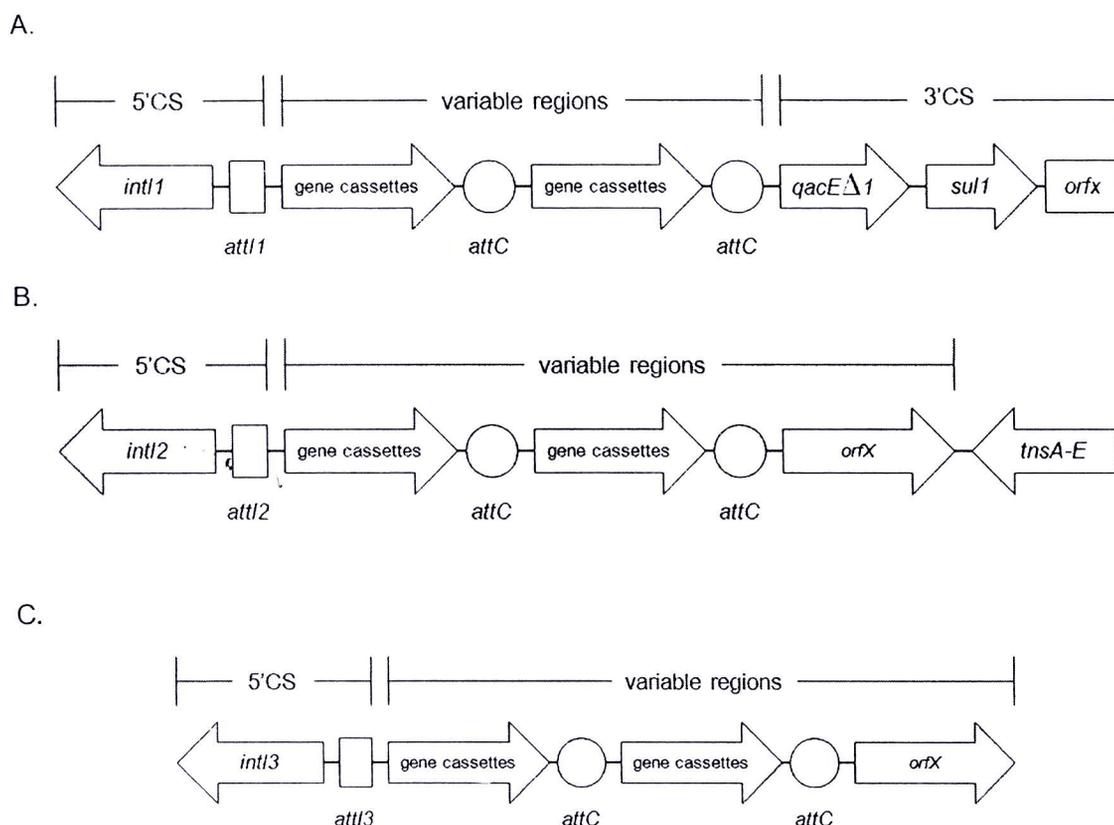


บทนำ

P. aeruginosa และ *A. baumannii* เป็นแบคทีเรียฉวยโอกาสที่เป็นสาเหตุสำคัญและพบบ่อยที่สุดของการติดเชื้อแทรกซ้อนในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล (nosocomial infections) และผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง เช่น ผู้ป่วยโรคเอดส์ โรคมะเร็งในเม็ดเลือดขาว ผู้ป่วยที่ได้รับยาสเตียรอยด์เป็นเวลานาน ผู้ที่มีแผลไฟไหม้ หรือแผลผ่าตัด เป็นต้น การติดเชื้อมีทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง รวมถึงการติดเชื้อในกระแสโลหิต แต่โดยส่วนใหญ่ มักเป็นแบบเรื้อรังและไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะหลายชนิด โดย *P. aeruginosa* และ *A. baumannii* มักดื้อต่อยาหลายชนิดพร้อมกัน (multiple drug resistance, MDR) เพราะแบคทีเรียเหล่านี้ดื้อยาโดยพันธุกรรมอยู่แล้วและยังสามารถพัฒนาการดื้อยาขึ้นได้อีกในระหว่างการรักษา ดังนั้นจึงตอบสนองต่อยาแต่ละชนิดเพียงชั่วคราวระยะเวลาหนึ่งเท่านั้น ส่งผลให้ต้องใช้ยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ได้ดีกว่าเพิ่มระยะเวลาในการรักษาและสูญเสียค่าใช้จ่ายมากขึ้น การรักษาอาจล้มเหลวและผู้ป่วยเสียชีวิตได้ในที่สุด ที่ผ่านมามีการพบอัตราการดื้อต่อยาใน *P. aeruginosa* และ *A. baumannii* ที่แยกได้จากผู้ป่วยมีแนวโน้มสูงขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ผู้ป่วยใน intensive care units (ICUs) ที่พบว่ามักดื้อต่อยาหลายกลุ่ม เช่น ceftazidime, imipenem, amikacin, gentamicin เป็นต้น (Tassios *et al.*, 1997)

integrans เป็นสารพันธุกรรมที่เคลื่อนที่ได้ (mobile genetic elements) พบมากที่สุดในแบคทีเรียแกรมลบและเป็นแหล่งสะสมของยีนดื้อยาหลายชนิด (Hall and Stokes, 1993; Partridge, *et al.*, 2009) โดยยีนดื้อยาชนิดต่างๆ สามารถบรรจุอยู่ในรูปของ gene cassettes ใน integrans (รูปที่ 1) ยีนดื้อยาเหล่านี้สามารถแลกเปลี่ยน เพิ่มจำนวน จัดเรียงตัวใหม่และเคลื่อนย้ายไปยัง integrans อื่นๆ ได้ (Vo, *et al.*, 2006) ในปัจจุบันพบว่า มี integrans มากถึง 9 รูปแบบ แต่ที่พบมากที่สุดคือ class 1 integrans ส่วนรูปแบบอื่นๆ ที่เคยมีรายงานในแบคทีเรียแกรมลบคือ class 2 และ 3 integrans ที่สำคัญคือ สามารถพบ integrans ได้ทั้งบนโครโมโซมและ conjugative plasmid โดย integrans ที่อยู่บนโครโมโซมจะมีความคงตัวไม่สูญหายไป ดังนั้นแบคทีเรียจะยังคงดื้อยาแม้ไม่มีการใช้ยาปฏิชีวนะ ส่วน integrans ที่อยู่บน conjugative plasmid จะสามารถถ่ายทอดระหว่างแบคทีเรียชนิดเดียวกันและต่างชนิดได้ (Hsu, *et al.*, 2006) ในกรณีนี้ ทั้ง *P. aeruginosa* และ *A. baumannii* ที่มี integrans-carrying plasmid จึงเป็นแหล่งสำคัญของการแพร่กระจาย



รูปที่ 1 โครงสร้างของ A. class 1, B. 2 และ C. 3 Integrons โดยรวมประกอบด้วยยีน *IntI1*, *intI2* และ *intI3* ตามลำดับ ควบคุมการผลิตโปรตีน integrase ทำหน้าที่ในการถ่ายถอดยีนดื้อยาใน gene cassette รับผิดชอบ *attI1*, *attI2* และ *attI3* เป็นตำแหน่งสำหรับการเคลื่อนที่เข้ามาของ gene cassettes ส่วน variable regions ประกอบด้วย gene cassette ที่มีขนาดต่างกันขึ้นกับชนิดและจำนวนของยีนดื้อยาที่บรรจุอยู่ *qacEΔ1* เป็นยีน multidrug efflux ที่ทำให้ดื้อต่อ quaternary ammonium compound และยาปฏิชีวนะได้ ยีน *sul1* ทำให้ดื้อต่อยา sulphonamides ทั้ง *orfX* และ *orf5* เป็น open reading frame ที่ยังไม่ทราบหน้าที่ ยีน *tnsA-E* เป็นตำแหน่งที่ให้เอนไซม์ transposase มาจับเมื่อเกิด transposition (Fluit and Schmitz, 2004; Partridge, et al., 2009)

ยีนดื้อยาไปยังแบคทีเรียก่อโรคชนิดอื่นๆ ซึ่งสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการแพร่กระจาย integrons คือ การใช้ยาปฏิชีวนะเกินความจำเป็นขาดความระมัดระวังอย่างต่อเนื่องและการใช้ยาปฏิชีวนะเพียงชนิดเดียวสามารถคัดเลือก *P. aeruginosa* และ *A. baumannii* ที่มี integrons และดื้อต่อยาหลายชนิดได้ (Fluit and Schmitz, 2004) ที่ผ่านมามีรายงานการระบาดของ *P. aeruginosa* และ *A. baumannii* ที่มี class 1 integrons พร้อมยีนดื้อยาในหลายโรงพยาบาลในต่างประเทศ เช่น จีน (Gu et al, 2007) กรีซ (Kraniotaki et al., 2006) สเปน (Sevillano et al, 2006) เกาหลี (Kim et al, 2006) ไต้หวัน (Liu et al, 2006) ส่งผลให้มีความวางมาตรการทำความสะอาดฆ่าเชื้อในโรงพยาบาลอย่างเข้มงวดและจำเป็นต้องมีการเฝ้าระวังและศึกษาการดื้อยาของเชื้อ

เหล่านี้ในระดับโมเลกุล สำหรับประเทศไทยยังไม่เคยมีรายงานการศึกษา integrons ใน *P. aeruginosa* และ *A. baumannii* ทั้งที่ในประเทศไทยมีการใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาอย่างกว้างขวางมาเป็นเวลานานและในขณะเดียวกัน *P. aeruginosa* และ *A. baumannii* เป็นสาเหตุอันดับต้นๆ ของการติดเชื้อแทรกซ้อนในผู้ป่วยและเชื้อที่แยกได้มักคือยาหลายชนิด

ดังนั้นในโครงการวิจัยครั้งนี้ จึงต้องการศึกษา integrons ซึ่งเป็นกลไกที่ทำให้ *P. aeruginosa* และ *A. baumannii* ตื้อยาหลายชนิดพร้อมกัน โดยครอบคลุมถึง (i) รูปแบบการดื้อยา (ii) ความชุกของ class 1, 2 และ 3 integrons (iii) ยีนดื้อยาใน gene cassettes และ (iv) ความสามารถในการถ่ายทอด integrons ซึ่งจะช่วยให้เข้าใจพันธุกรรมการดื้อยาของ *P. aeruginosa* และ *A. baumannii* มากขึ้นและทำให้ทราบถึงสถานการณ์จริงของการกระจายตัวของยีนดื้อยา การศึกษาความสามารถในการถ่ายตดยีนดื้อยาจะชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของ *P. aeruginosa* และ *A. baumannii* ในการเป็นแหล่งแพร่กระจายยีนดื้อยาไปยังแบคทีเรียก่อโรคชนิดอื่นๆ ข้อมูลที่ได้ยังสามารถใช้วางแผนการควบคุมและป้องกันการติดเชื้ออย่างมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์สนับสนุน รวมทั้งเป็นรากฐานสำคัญของการวิจัยต่อไป ได้แก่ ศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้สมุนไพรมีสารในการยับยั้งการถ่ายทอด plasmid และ integrons เป็นต้น

วัตถุประสงค์โครงการ

คณะผู้วิจัยได้ตั้งสมมติฐานว่า integrons เป็นกลไกสำคัญของการดื้อยาหลายชนิดพร้อมกันใน *P. aeruginosa* และ *A. baumannii* ที่แยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาล รวมทั้งเป็นแหล่งของการแพร่กระจายยีนดื้อยาไปยังแบคทีเรียก่อโรคชนิดอื่น เพื่อพิสูจน์สมมติฐานดังกล่าว คณะผู้วิจัยจึงจะทำการศึกษาพันธุกรรมการดื้อยาของ *P. aeruginosa* และ *A. baumannii* โดยมีวัตถุประสงค์ 3 ข้อคือ

1. เพื่อเก็บข้อมูลความไวต่อยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษา
2. เพื่อศึกษาการปรากฏและลักษณะของ class 1, 2 และ 3 integrons
3. เพื่อทดสอบความสามารถในการถ่ายทอด integrons และยีนดื้อยา