

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



245509



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ทุนวิจัย
กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช

รายงานวิจัย

การศึกษาอินทริกรอนส์ใน *Pseudomonas aeruginosa*
และ *Acinetobacter baumannii*

โดย

รุ่งทิพย์ ชวนชื่น
ชาญวิทย์ ตริพุทธรัตน์

มีนาคม 2554

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ทุนวิจัย
กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช

รายงานผลการวิจัย

การศึกษาอินทริกรอนส์ใน *Pseudomonas aeruginosa* และ
Acinetobacter baumannii

โดย
รุ่งทิพย์ ชวนชื่น
ชาญวิทย์ ตริพุทธรัตน์

สิงหาคม 2553



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ทุนวิจัย
กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช

รายงานวิจัย

การศึกษาอินทริกรอนส์ใน *Pseudomonas aeruginosa*
และ *Acinetobacter baumannii*

โดย

รุ่งทิพย์ ชวนชื่น
ชาญวิทย์ ตริพุทธรัตน์

มีนาคม 2554

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับอนุมัติเงินทุนวิจัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช ปีงบประมาณ 2552 คณะผู้วิจัย ขอขอบคุณ รศ.น.สพ.ดร. อลงกร อมรศิลป์ ภาควิชาสัตวแพทยสาธาณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับงานด้านอณูชีววิทยา รวมทั้งผู้ช่วยวิจัย เจ้าหน้าที่ภาควิชาสัตวแพทยสาธาณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือในห้องปฏิบัติการและจัดทำรายงานการวิจัย

บทคัดย่อภาษาไทย

ชื่อโครงการวิจัย การศึกษาอินทริกรอนส์ใน *Pseudomonas aeruginosa* และ *Acinetobacter baumannii*
 ชื่อผู้วิจัย รุ่งทิพย์ ชวนชื่น
 ชาญวิทย์ ตริพุทธรัตน์
 เดือนและปีที่ทำวิจัยเสร็จ สิงหาคม 2553

บทคัดย่อ

245509

ศึกษา class 1 integrons ในเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ($n=101$) และ *Acinetobacter baumannii* ($n=176$) ที่แยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาล พบว่า เชื้อทุกตัวคือต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิดพร้อมกัน เชื้อ *P. aeruginosa* จำนวน 96 isolates (95%) ให้ผลบวกต่อยีน *intI1* โดยในเชื้อเหล่านี้เชื้อจำนวน 70 isolates (73%) มี gene cassette จัดรูปแบบ integron profile ได้ 12 รูปแบบ ซึ่งที่พบมากที่สุดคือ *aadB-cmlA-aadA1* และมีเชื้อเพียง 1 isolate ที่สามารถถ่ายทอด class 1 integrons แบบขวางได้ ส่วน *A. baumannii* จำนวน 69 isolates (39%) ที่พบว่ามียีน *intI1* โดยเชื้อจำนวน 42 isolates (61%) มี gene cassette จัดรูปแบบ integron profile ได้ 8 รูปแบบ ซึ่งที่พบมากที่สุดคือ *dfrA1-orfC* เชื้อ *A. baumannii* จำนวน 6 isolates ที่มี class 1 integrons บน conjugative plasmid ไม่พบ class 2 และ 3 integrons ในเชื้อตัวใดเลย

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

Project title	Characterization of integrons in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> and <i>Acinetobacter baumannii</i>
Name of Investigators	Rungtip Chuanchuen Chanwit Tripuddharat
Year	August 2010

Abstract**245509**

Class 1 integrons were characterized in *Pseudomonas aeruginosa* ($n=101$) and *Acinetobacter baumannii* ($n=176$) isolated from patients in hospitals. All the bacterial isolates were multidrug resistant. Ninety-six isolates (95%) of *P. aeruginosa* were positive to the *intl1* gene. Among these isolates, seventy isolates (73%) carried gene cassettes. Integron profiles were defined into 12 patterns of which the most common one was *aadB-cmlA-aadA1*. Only one isolate could horizontally transfer its class 1 integrons. Sixty-nine isolates (39%) of *A. baumannii* harbored the *intl1* gene. Forty-two isolates (61%) were found to carry gene cassettes. They were arranged into 8 integron profiles of which the most commonly identified was *dfrA1-orfC*. Six *A. baumannii* contained class 1 integrons on conjugative plasmid. None of the strains tested carried class 2 or 3 integrons.

สารบัญ

หน้าที่

กิตติกรรมประกาศ	i
บทคัดย่อภาษาไทย	ii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	iii
สารบัญ	iv
รายการตารางประกอบ	v
รายการภาพประกอบ	vi
รายการสัญลักษณ์	vii
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	4
การสำรวจแนวความคิดและการวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
วิธีการวิจัย	7
ระยะที่ 1 เก็บตัวอย่างและแยกเชื้อ	8
ระยะที่ 2 ทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ	8
ระยะที่ 3 ศึกษาการปรากฏของ class 1, 2 และ 3 integrons	9
ระยะที่ 4 ศึกษา resistance gene cassettes ใน variable regions	10
ระยะที่ 5 ศึกษาความสามารถในการถ่ายทอด class 1 integrons	11
ผลการวิจัย	13
ความชุกของการดื้อต่อยาปฏิชีวนะและรูปแบบการดื้อยา	13
class 1 integrons	17
ความสามารถในการถ่ายทอด class 1 integrons	23
วิจารณ์ผลของการวิจัย	24
ข้อสรุปผลการวิจัย	26
ประโยชน์ในการนำไปใช้	27
เอกสารอ้างอิง	28
ภาคผนวก	31
Outputs ที่ได้จากผลงานวิจัยครั้งนี้	33

รายการตารางประกอบ

	หน้าที่
ตารางที่ 1 ชนิดและความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะและยาฆ่าเชื้อที่ใช้ในการวิจัย	9
ตารางที่ 2 Primers และ conditions ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้	10
ตารางที่ 3 ยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการคัดเลือก transconjugants	12
ตารางที่ 4 รูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะของ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=101)	14
ตารางที่ 5 รูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะของ <i>A. baumannii</i> (n=176)	16
ตารางที่ 6 Integron profiles (IPs) ของ class 1 Integrons gene cassettes ที่พบใน <i>P. aeruginosa</i>	18
ตารางที่ 7 Integron profiles (IPs) ของ class 1 Integrons gene cassettes ที่พบ ใน <i>A. baumannii</i>	21
ตารางที่ 8 class 1 integrons ใน <i>Acinetobacter</i> ที่สามารถถ่ายทอดแบบขวางไปยัง <i>E.coli</i>	23

รายการภาพประกอบ

	หน้าที่
รูปที่ 1 โครงสร้างของ A. class 1, B. 2 และ C. 3 Integrons	2
รูปที่ 2 อัตราการติดต่อยาปฏิชีวนะของ <i>P. aeruginosa</i> แยกได้จากผู้ป่วย ($n = 101$)	13
รูปที่ 3 อัตราการติดต่อยาปฏิชีวนะของ <i>A. baumannii</i> แยกได้จากผู้ป่วย ($n = 176$)	15
รูปที่ 4 Integron profiles of class 1 integrons in <i>P. aeruginosa</i>	20
รูปที่ 5 Integron profiles of class 1 integrons in <i>A. baumannii</i>	22

รายการสัญลักษณ์

A.	<i>Acinetobacter</i>
A _{540nm}	absorbance at 540 nm
A _{600nm}	absorbance at 600 nm
AMK	amikacin
AMP	ampicillin
ATM	azetronam
<i>bla</i>	β -lactamase encoding gene
bp	base pair(s)
CAR	carbenicillin
°C	degree(s) Celcius
CFP	ceftaxidime
CHP	chloramphenicol
CIP	ciprofloxacin
cm	centimeter(s)
Da	Dalton(s)
DNA	deoxyribonucleic acid(s)
dNTP	deoxyribonucleoside triphosphate(s)
<i>E.</i>	<i>Escherichia</i>
EDTA	ethylenediamine tetraacetic acid
EPI	efflux pump inhibitors
ERY	Erythromycin
GEN	gentamicin
h	hour(s)
kb	kilobase(s) or 1000 bp
kDa	kilodalton(s)
KAN	kanamycin
KEM	kanamycin
l	liter(s)
LB	Luria-Bertani medium
LBAp100	Luria-Bertani medium containing 100 μ g/ml ampicillin
Mb	megabasepairs

M	molar
mM	millimolar
MDR	multidrug resistance
mg	milligram(s)
MIC	minimal inhibitory concentrations
min	minute(s)
ml	milliliter(s)
NEO	neomycin
ng	nanogram(s)
nm	nanometer(s);
<i>P.</i>	<i>Pseudomonas</i>
PCR	polymerase chain reaction
PIP	piperacillin
r	resistance/resistant
RT	room temperature
s	sensitive/susceptible
sec	seconds
SPC	spectinomycin
STR	streptomycin
TET	tetracycline
TRI	trimethoprim
u	unit(s)
μl	microliter
μM	micromolar
μg	microgram(s)
v/v	volume by volume
WT	wild-type