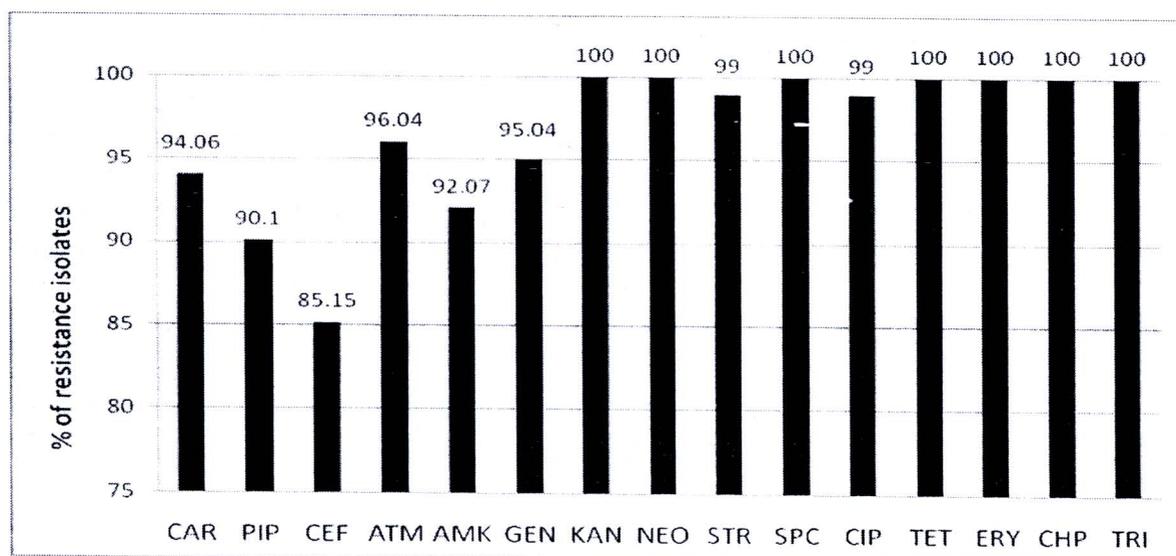




## ผลการวิจัย

### ความชุกของการดื้อยาปฏิชีวนะและรูปแบบการดื้อยา

*P. aeruginosa* จำนวน 101 isolates พบว่าเชื้อทุกตัวมีการดื้อยาปฏิชีวนะหลายชนิดพร้อมกัน (multidrug resistance, MDR) โดยเชื้อทุกตัวดื้อต่อ kanamycin, neomycin, spectinomycin, tetracycline, erythromycin, chloramphenicol และ trimethoprim (รูปที่ 2) จัดรูปแบบการดื้อยาทั้งหมด 14 รูปแบบ) ตารางที่ 4 โดยรูปแบบที่พบมากที่สุดคือ CAR, PIP, CEF, ATM, AMK, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI (78.8%) แสดงดังตารางที่ 4



รูปที่ 2 อัตราการดื้อยาปฏิชีวนะของ *P. aeruginosa* แยกได้จากผู้ป่วย ( $n=101$ ) ATM, aztreonam; AMK, amikacin; CAR, carbenicillin; PIP, piperacillin; CEF, ceftaxidime; GEN, gentamicin; KAN, kanamycin; NEO, neomycin; STR, streptomycin; SPC, spectinomycin; CIP, ciprofloxacin; TET, tetracycline; ERY, erythromycin; CHP, chloramphenicol; TRI, trimethoprim

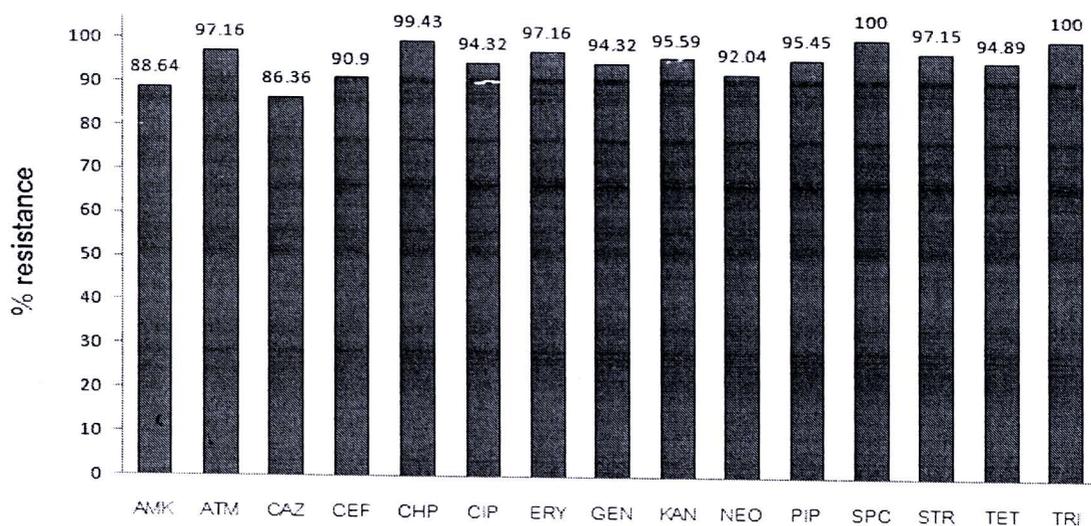


ตารางที่ 4 รูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะของ *Pseudomonas aeruginosa* (n=101)

Antibiotic resistance pattern	No. of isolates (%)
KAN, NEO, STR, SPC, TET, ERY, CHP, TRI	1 (1)
ATM, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI	1(1)
GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI	1(1)
AMK, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI	2(2)
CEF, ATM, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI	1(1)
CAR, PIP, ATM, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI	1(1)
CAR, CEF, ATM, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI	1(1)
CAR, PIP, ATM, AMK, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI	1(1)
CAR, ATM, AMK, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI	1(1)
CAR, PIP, CEF, ATM, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI	2(2)
CAR, CEF, ATM, AMK, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI	2(2)
CAR, PIP, CEF, ATM, AMK, GEN, KAN, NEO, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI	1(1)
CAR, PIP, ATM, AMK, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI	7 (7.1)
CAR, PIP, CEF, ATM, AMK, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI	78 (78.8)

CAR, carbenicillin; PIP, piperacillin; CEF, ceftaxidime; ATM, aztreonam; AMK, amikacin; GEN, gentamicin; KAN, kanamycin; NEO, neomycin; STR, streptomycin; SPC, spectinomycin; CIP, ciprofloxacin; TET, tetracycline; ERY, erythromycin; CHP, chloramphenicol; TRI, trimethoprim

ส่วน *A. baumannii* ทั้งหมด 176 isolates พบว่าทุกเชื้อมีการดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิดพร้อมกัน อัตราการดื้อยา amikacin, aztreonam, carbenicillin, ceftaxidime, chloramphenicol, ciprofloxacin, erythromycin, gentamicin, kanamycin, neomycin, piperacillin, streptomycin และ tetracycline คือ 88.64%, 97.16%, 86.36%, 90.90%, 99.43%, 94.32%, 97.16%, 94.32%, 95.59%, 92.04%, 95.45%, 97.15% และ 94.89% ตามลำดับ และมีอัตราการดื้อยา spectinomycin และ trimethoprim เท่ากับ 100% (รูปที่ 3) จัดรูปแบบการดื้อยาทั้งหมด 30 รูปแบบ (ตารางที่ 5) โดยรูปแบบที่พบมากที่สุดคือ AMK- ATM-CAR-Ce-CHP-CIP-ERY-GEN-KAN-NEO-PIP-SPC-STR-TET-TRI (81.2%)



รูปที่ 3 อัตราการดื้อต่อยาปฏิชีวนะของ *A. baumannii* แยกได้จากผู้ป่วย ( $n = 176$ ) ATM, aztreonam; AMK, amikacin; CAR, carbenicillin; PIP, piperacillin; CEF, ceftaxidime; GEN, gentamicin; KAN, kanamycin; NEO, neomycin; STR, streptomycin; SPC, spectinomycin; CIP, ciprofloxacin; TET, tetracycline; ERY, erythromycin; CHP, chloramphenicol; TRI, trimethoprim

ตารางที่ 5 รูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะของ *A. baumannii* (n=176)

Antibiotic resistance	No. of isolates (%)
ATM, CEF, CHP, SPC, TET, TRI	1 (0.57)
ATM, CHP, ERY, SPC, STR, TRI	1 (0.57)
AMK, ATM, CHP, KAN, SPC, STR, TRI	1 (0.57)
ATM, CEF, CHP, ERY, SPC, STR, TRI	1 (0.57)
ATM, CEF, CHP, CIP, ERY, KAN, SPC, TRI	1 (0.57)
ATM, CEF, CHP, CIP, ERY, SPC, STR, TRI	1 (0.57)
ATM, CHP, ERY, KAN, PIP, SPC, STR, TET, TRI	1 (0.57)
ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, PIP, SPC, STR, TET, TRI	1 (0.57)
AMK, ATM, CHP, CIP, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TRI	1 (0.57)
ATM, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, PIP, SPC, STR, TET, TRI	1 (0.57)
CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, PIP, SPC, STR, TET, TRI	1 (0.57)
CEF, CHP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI	1 (0.57)
AMK, ATM, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, TET, TRI	1 (0.57)
AMK, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, SPC, STR, TET, TRI	1 (0.57)
ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, PIP, SPC, STR, TET, TRI	1 (0.57)
ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TRI	1 (0.57)
ATM, CEF, CHP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI	3 (1.7)
CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI	1 (0.57)
AMK, ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TRI	1 (0.57)
AMK, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI	1 (0.57)
ATM, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI	1 (0.57)
ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, PIP, SPC, STR, TET, TRI	1 (0.57)
AMK, ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, PIP, SPC, STR, TET, TRI	1 (0.57)
AMK, ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, TET, TRI	1 (0.57)
AMK, ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, PIP, SPC, STR, TET, TRI	1 (0.57)
AMK, ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI	1 (0.57)
AMK, ATM, CAR, CEF, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI	1 (0.57)
AMK, ATM, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI	3 (1.7)
ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI	1 (0.57)
AMK, ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI	143 (81.2)

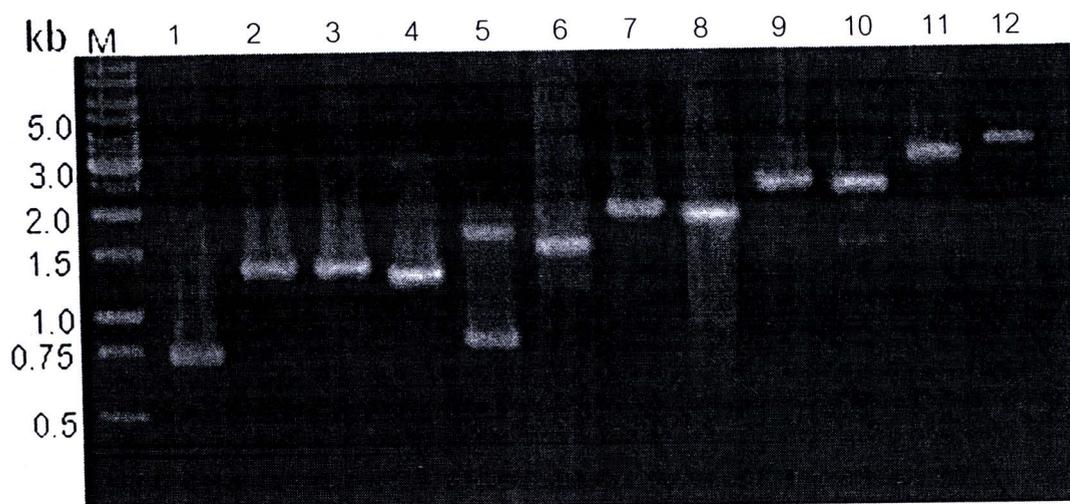
## Class 1 integrons

ใน *P. aeruginosa* พบยีน *int1* ในเชื้อจำนวน 96 isolates (95.04%) แต่ไม่พบยีน *int2* และ *int3* ซึ่งเมื่อนำเชื้อที่พบยีน *int1* มาตรวจหาส่วน 3'CS พบยีน *qacEΔ1* ต่อกับ *sul1* (*qacEΔ1-sul1* fusion gene) จำนวน 84 isolates ส่วนยีน *qacEΔ1* หรือยีน *sul1* พบในเชื้อจำนวน 8 และ 1 isolates ตามลำดับ พบเชื้อที่มี gene cassettes ใน variable region ทั้งหมด 70 isolates โดย gene cassette array ที่พบมากที่สุดคือ *aadB-cmlA-aadA1* และจัด integron profiles (IPs) ได้ 12 รูปแบบ (ตารางที่ 6) โดยใช้ขนาดของ variable regions และจำนวนของ integrons ที่ได้จากการเพิ่มจำนวนด้วยเทคนิค PCR (รูปที่ 4)

ตารางที่ 6 Integron profiles (IPs) ของ class 1 Integrons gene cassettes ที่พบใน *P. aeruginosa*

IP	Size of amplicons (kb)	Inserted gene cassettes	No. of isolates (%)	Antibiotic resistance pattern
I	0.8	<i>aacA4</i>	3 (4.3)	CEF, ATM, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI (1)
II	1.3	<i>aadA6</i>	4(5.7)	CAR, PIP, CEF, ATM, AMK, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI (1) CAR, PIP, CEF, ATM, AMK, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI (1) CAR, CEF, ATM, AMK, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI (1)
III	1.3	<i>aacA6-orfD</i>	2(2.9)	CAR, PIP, CEF, ATM, AMK, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI (3)
IV	1.3	<i>dfrA1-orfC</i>	1(1.4)	CAR, PIP, CEF, ATM, AMK, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI (2)
V	0.8, 1.8	<i>aacA4</i> , <i>aacA7-cmlA</i>	2(2.9)	CAR, PIP, CEF, ATM, AMK, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI (2)
VI	1.8	<i>bla<sub>IMP-14</sub>-aac(6')</i>	1(1.4)	CAR, PIP, CEF, ATM, AMK, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI (1)
VII	2.0	<i>bla<sub>PSE-1</sub>-aadA2</i>	7(10)	CAR, PIP, CEF, ATM, AMK, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI (7)
VIII	2.0	<i>bla<sub>IMP-15</sub>-dhfr-aac(6')</i>	1(1.4)	CAR, CEF, ATM, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI (1)
IX	2.5	<i>aadB-bla<sub>OXA-10</sub>-aadA1</i>	7(10)	CAR, PIP, ATM, AMK, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI (5) CAR, PIP, CEF, ATM, AMK, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI (2)
X	2.5	<i>aadB-arr-2-cmlA-bla<sub>OXA-10</sub>-aac(3'')-la</i>	1(1.4)	CAR, PIP, CEF, ATM, AMK, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI (1)
XI	3.0	<i>aadB-cmlA-aadA1</i>	36(51.4)	AMK, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI (1) CAR, PIP, ATM, AMK, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI (2) CAR, PIP, CEF, ATM, AMK, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI (33)
XII	3.5	<i>aadB-cmlA-bla<sub>OXA-10</sub>-aadA15</i>	5(7.1)	CAR, PIP, CEF, ATM, AMK, GEN, KAN, NEO, STR, SPC, CIP, TET, ERY, CHP, TRI (5)

*aacA4* และ *aac(6')* ความคุมการดื้อต่อยา amikacin, kanamycin และ tobramycin *aacA7* และ *aac(3'')/a* ความคุมการดื้อต่อยา gentamicin ยีน *aadA1*, *aadA2* และ *aadA6* ความคุมการดื้อต่อยา streptomycin และ spectinomycin, *aadB* ความคุมการดื้อต่อยา gentamicin, kanamycin และ tobramycin, *blaPSE-1* ความคุมการดื้อต่อยา ตุ่ม  $\beta$ -lactams, *blaOXA-10* ความคุมการดื้อต่อยา oxacillin, *bla/MIP-14* ความคุมการดื้อต่อยา imipenem และ meropenem, *cmiA* ความคุมการดื้อต่อยา chloramphenicol *dhfr* และ *dfrA1* ความคุมการดื้อต่อยา trimethoprim



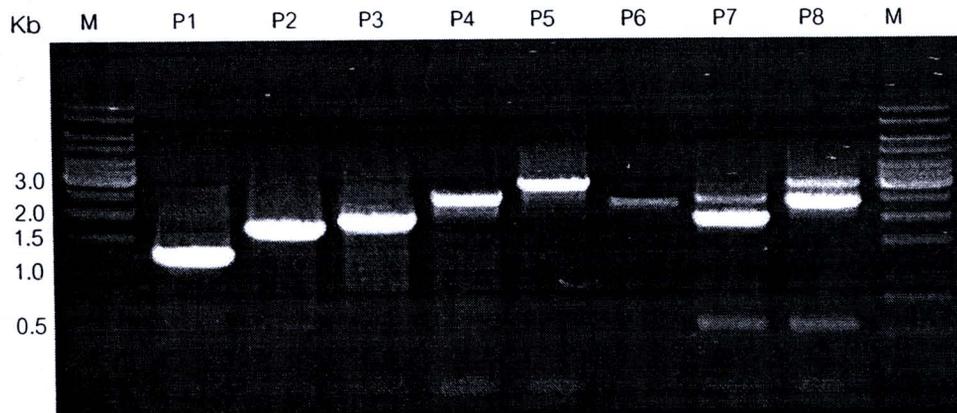
รูปที่ 4 Integrin profiles of class 1 integrons in *P.aeruginosa*  
M, molecular weight marker; lane 1-12, IPI-XII, respectively

สำหรับ *A. baumannii* พบยีน *intl1* ในเชื้อจำนวน 69 isolates (39.20%) แต่ไม่พบยีน *intl2* และ *intl3* จากเชื้อที่พบยีน *intl1* พบว่า เชื้อจำนวน 24 isolates (34.78%) มี class 1 integrons แต่ไม่มี variable regions โดยเชื้อจำนวน 34 isolates (49.27%) มี variable regions จัด integrin profiles (IPs) ตามขนาดและจำนวนของ variable regions ได้ทั้งหมด 8 รูปแบบ(ตารางที่ 7 และรูปที่ 5)

ตารางที่ 7 Integron profiles (IPs) ของ class 1 Integrons gene cassettes ที่พบใน *A. baumannii*

IP	Size(s) of amplicons (kb)	Inserted gene cassettes	No. of isolates (%)	Antibiotic resistance pattern
I	1.2	<i>dfrA1-orfC</i>	12 (28.6)	AMK, ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI (10) AMK, ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, PIP, SPC, STR, TET, TRI (2)
II	1.6	<i>aac(6)I1-aadA1</i>	6 (14.3)	AMK, ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI (6)
III	1.9	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>	1 (2.4)	AMK, ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI (1)
IV	2.5	<i>aacC1-orfX-orfY-aadA1a</i>	8 (19)	AMK, ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI (1)
V	3.0	<i>aacC1-orfX-orfY-aadA1a</i>	6 (14.3)	AMK, ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI (6)
VI	2.3	<i>aac(6)I1-aadA1-IS26-trpA-IS26-aadA1</i>	1 (2.4)	AMK, ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI (1)
VII	1.9,	<i>dfrA12-orfF-aadA2,</i>	5 (11.9)	AMK, ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI (5)
	2.5	<i>aacC1-orfX-orfY-aadA1a</i>		
VIII	2.2,	<i>aaCA4-catB8-aadA1,</i>	2 (4.8)	AMK, ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI (2)
	3.0	<i>aacC1-orfX-orfY-aadA1a</i>		

*dfrA1* และ *dfrA12* ความคุมการดื้อยา trimethoprim, *aac(6)I1* และ *aacA4* ความคุมการดื้อยา amikacin, kanamycin และ tobramycin, *aacC1* ความคุมการดื้อยา gentamicin, *aadA1* และ *aadA2* ความคุมการดื้อยา spectinomycin และ streptomycin, *catB8* ความคุมการดื้อยา chloramphenicol



รูปที่ 5 Integrin profiles of class 1 integrons in *A. baumannii*

M, molecular weight marker; lane 1-6, IPI-VI, respectively

#### ความสามารถในการถ่ายทอด class 1 integrons

ก่อนทำการทดลอง ทำการสกัด plasmid เพื่อยืนยันว่า *P. aeruginosa* จำนวน 70 isolates และ *A. baumannii* ทั้ง 42 isolates ที่มี resistance gene cassette ใน class 1 integrons มี plasmid และ *E. coli* MG1655rif<sup>2</sup> ไม่มี plasmid

ใน *P. aeruginosa* จากจำนวนเชื้อที่พบ resistance gene cassette ใน class 1 integrons ทั้งหมด 70 isolates เมื่อทำการทดสอบการถ่ายทอดพบว่า class 1 integrons สามารถถ่ายทอดไปยัง *E. coli* MG1655rif<sup>3</sup> ได้เพียงแค่ 1 isolate โดยเป็นการถ่ายทอดที่ได้ใช้ยา streptomycin ในการคัดเลือก transconjugant ที่ได้มี class 1 integrons และ gene cassette เหมือน *P. aeruginosa* ตัวให้ โดยจัดอยู่ใน IP ที่ XI *aadB-cmlA-aadA1* ซึ่งมี resistance pattern คือ CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, SPC, STR, TET, TRI

สำหรับ *A. baumannii* ในการวิจัยครั้งนี้เลือกใช้ *A. baumannii* จำนวน 42 isolates ที่มี class 1 integrons เป็นตัวให้ หลังจากการทำ conjugation แล้วพบว่า *A. baumannii* ให้ transconjugants ที่เป็น *E. coli* ที่ดื้อต่อ rifampicin และ streptomycin เมื่อทำการสกัด plasmid พบว่า transconjugants ทุกตัวมี plasmid และ พบการปรากฏของ class 1 integrons ใน transconjugants 6 ตัว ได้แก่

ตารางที่ 8 class 1 integrons ใน *Acinetobacter* ที่สามารถถ่ายทอดแบบขวางไปยัง *E.coli*

Strain ID	Class 1 integrons	Resistance pattern
AB001	<i>aacC1-orfX-orfY-aadA1</i>	AMK, ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI
AB005	<i>aacC1-orfX-orfY-aadA1</i>	AMK, ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI
AB009	<i>aacC1-orfX-orfY-aadA1</i>	AMK, ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI
AB028	<i>aacC1-orfX-orfY-aadA1</i> ; <i>aaCA4-catB8-aadA1</i>	AMK, ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI
AB050	<i>aacC1-orfX-orfY-aadA1</i> ; <i>dfrA12-orf-aadA2</i>	AMK, ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI
AB123	<i>aacC1-orfX-orfY-aadA1</i>	AMK, ATM, CAR, CEF, CHP, CIP, ERY, GEN, KAN, NEO, PIP, SPC, STR, TET, TRI