บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG5380163

ชื่อโครงการ: การหากลไกในการดื้อยา colistin จากการดัดแปลงโครง สร้าง lipid A ของเชื้อ *Acinetobacter baumannii*

ชื่อนักวิจัย อ.ดร.นพ.ไอยฤทธิ์ ไทยพิสุทธิกุล
ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

อีเมล์: iyarit.tha@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2.5 ปี

บทคัดย่อ:
การติดเชื้อ *Acinetobacter baumannii* กำลังเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญอย่างยิ่งยวดเนื่องจากเชื้อนี้มีการดื้อยาปฏิชีวนะทุกขนานที่มีใช้ในปัจจุบัน colistin เป็นหนึ่งในยาไม่กี่ขนานที่ยังคงใช้ได้ผล แต่อย่างไรก็ตามก็เริ่มมีรายงานถึงสายพันธุ์ที่มีการดื้อยามากขึ้นบ้างแล้ว ในประเทศไทยมีการใช้ยา colistin กันอย่างแพร่หลายจึงทำให้สถานการณ์การดื้อยาอยู่ในขั้นที่น่าเป็นห่วง colistin ออกฤทธิ์โดยการจับกับประจุลบของหมู่ฟอสเฟตที่โมเลกุล lipid A ซึ่งเป็นโครงสร้างของ lipopolysaccharide มีฤทธิ์เป็น endotoxin การดื้อยา colistin เกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ lipid A ทำให้มีประจุลบลดลง จึงทำให้จับกับยาได้น้อยลง เชื้อ *A. baumannii* ดื้อยา colistin ที่มีค่า MIC $\geq$ 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 14 สายพันธุ์ถูกแยกได้จากโรงพลาบาลศิริราชในปี พ.ศ.2554 ทั้งหมดได้ถูกจำแนกสายพันธุ์ด้วยวิธี random amplified polymorphic DNA (RAPD) lipid A ของเชื้อเหล่านี้ถูกสกัดและวิเคราะห์ด้วย MALDI-TOF mass spectrometry พบว่าโครงสร้างพื้นฐานของ lipid A ของเชื้อ *A. baumannii* มีกรดไขมัน 7 สาย (heptaacylated lipid A) มี *m/z* เป็น 1910 อย่างไรก็ดีพบว่า lipid A ของสายพันธุ์ที่ดื้อยานั้นมีชนิดที่มี *m/z* 2034, 2071 หรือ 2194 ซึ่งแปลผลได้ว่ามีการเติมหมู่ phosphoethanolamine, hexosamine หรือทั้งสองอย่างเข้าไปที่โมเลกุลของ lipid A ซึ่งจะมีผลทำให้โมเลกุลมีประจุลบน้อยลง ยีน *pmrCAB* เป็นยีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการเติมหมู่ phosphoethanolamine จากการตรวจสอบลำดับเบสของยีนดังกล่าวพบว่า มีการกลายพันธุ์จำนวนมากอยู่ภายในยีน *pmrB* และ *pmrC* ผลการทดลองนี้สรุปได้ว่าการดื้อยา colistin ของเชื้อในประเทศไทยนั้น เกิดจากการดัดแปลงโมเลกุล lipid A ให้มีประจุลบลดลงโดยการเติมหมู่ทางเคมีซึ่งจะนำไปสู่การลดเป้าหมายของยาลง

คำหลัก : *Acinetobacter baumannii*, colistin, lipid A, antimicrobial resistance

Abstract

Project Code: MRG5380163

Project Title: Characterization of colistin resistance mechanism of *Acinetobacter baumannii* isolated in Siriraj Hospital, Thailand

Investigator: Lecturer Dr. Iyarit Thaipisuttikul
Department of Microbiology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University

E-mail Address: iyarit.tha@mahidol.ac.th

Project Period: 2.5 years

Abstract:

Acinetobacter baumannii infection has become one of the most serious public health concerns due to its extensive resistances to all classes of antibiotics. Colistin is one of a few antibiotics that are still effective, but resistant strains have also gradually emerged. In Thailand, colistin is being used extensively therefore its resistance situation is critical. Colistin exerts its action by binding to the negative-charged phosphate moieties of lipid A, the endotoxic component of lipopolysaccharides. Colistin resistance in *A. baumannii* has been linked to the alteration in lipid A structure, that is the negative charges are negated thus eliminating the binding affinity to colistin. Fourteen colistin *A. baumannii* resistance strains with MIC $\geq$ 2 μg/ml were isolated in Siriraj Hospital during 2011. All were typed by random amplified polymorphic DNA (RAPD). The lipid A from resistance strains were extracted and subjected to the analysis using MALDI-TOF mass spectrometry which revealed that the basic structure of *A. buamannii* lipid A is the heptaacylated diphosphoryl lipid A (m/z 1910). The resistance strains exhibited the extra peaks at either m/z 2034, 2071 or 2194, which correspond to the additions of phosphoethanolamine, hexosamine or both to lipid A molecule, respectively thus eliminating the negative charges of phosphate. The *pmrCAB* operon whose gene products are responsible for the addition of phosphoethanolamine was sequenced. Multiple mutations were found in *pmrC* and *pmrB* accordingly. These results suggested that the resistance mechanism of Thai isolates was the modification by which the negative charges were eliminated by the addition of small residues and may subsequently lead to the reduction of colistin target.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, colistin, lipid A, antimicrobial resistance