วัตถุประสงค์

เพื่อทำการศึกษาให้ทราบถึงกลไกการดื้อยากลุ่ม carbapenem ของเชื้อ *A. baumannii* ที่แยกได้ในประเทศไทย ผลการศึกษาที่ได้จะนำไปสู่การประยุกต์หาเทคนิคการทำวิจัยกับเชื้อก่อโรคที่สำคัญชนิดอื่นๆในอนาคต เพื่อนำความรู้ไปพัฒนาเทคนิคการตรวจการดื้อยาทาง molecular (genotyping) ที่ทำให้ทราบผลรวดเร็วและแม่นยำกว่าวิธีดั้งเดิมที่ใช้การตรวจทาง phenotype และผลการศึกษาจะทำให้มีข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการรักษาผู้ป่วยโรคติดเชื้อดื้อยาในโรงพยาบาล

วิธีทดลอง

เชื้อ *Acinetobacter baumannii* ที่ดื้อยาต้านจุลชีพกลุ่ม carbapenem จำนวน 100 สายพันธุ์ได้ถูกเก็บจากตัวอย่างตรวจของผู้ป่วยในโรงพยาบาลในช่วงปี 2545-2546 มาทำการศึกษาการสร้าง metallo-beta-lactamase ด้วยการใช้ 2-mercaptoproprionic acid และ ceftazidime ในการการตรวจกรอง และทำการยืนยันด้วยการตรวจ Southern blot hybridization ด้วย specific probe สำหรับยีน bla_{IMP} และ bla_{VIM} ทำการตรวจการสร้าง carbapenemase จากเชื้อจำนวน 30 สายพันธุ์โดยการใช้ meropenem และทดสอบการทำลายยาโดยการตรวจทาง spectrophotometry และได้ตรวจหาการมียีน bla_{OXA-23} และ bla_{OXA-24} โดยการทำ polymerase chain reaction (PCR) มีการตรวจความใกล้ชิดทางสายพันธุ์ของเชื้อด้วยการตรวจโดยเทคนิค molecular typing 3 วิธีคือ ribotyping, randomly-amplified polymorphic DNA (RAPD), และ pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). มีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับความไวต่อยาต้านจุลชีพอื่นๆ เช่น ยา rifampin, polymyxins, และ tigecycline เพื่อประโยชน์ต่อการรักษาด้วยยาแบบใหม่

ผลการทดลอง

77.8 % ของเชื้อ *A. baumannii* สร้าง class D OXA-23 beta-lactamase ทำให้เชื้อดื้อยาต้านจุลชีพกลุ่ม carbapenem ไม่พบว่าเชื้อสร้าง metallo-beta-lactamase ในกลุ่ม bla_{IMP} และ bla_{VIM} การตรวจสายพันธุ์โดยวิธี ribotyping, RAPD, และ PFGE ให้ผลที่ไม่สัมพันธ์กัน เชื้อทั้งหมดดื้อต่อยา rifampin (38%ของเชื้อมียีน *arr-2*) แต่ทั้งหมดไวต่อยา polymyxins และ tigecycline

วิจารณ์ผลการทดลองและสรุป

เชื้อ *A. baumannii* ดื้อยา carbapenem ที่นำมาศึกษาน่าจะเป็นเชื้อที่มีความใกล้ชิดทางสายพันธุ์โดยเป็นเชื้อกลุ่มที่สร้าง class D OXA-23 beta-lactamase ไม่พบยีนดื้อยาในกลุ่ม bla_{IMP} และ bla_{VIM} การใช้ยา rifampin ร่วมกับยากลุ่ม carbapenem ตามคำแนะนำในบทความที่มีการตีพิมพ์ อาจใช้ไม่ได้ผลกับเชื้อที่แยกได้ในประเทศไทย เนื่องจาก 38% ของเชื้อ ดื้อ rifampin ในระดับสูง การใช้ยาในกลุ่ม polymyxins และ tigecycline ควรมีการควบคุมและติดตามการใช้อย่างเข้มงวด เนื่องจากเชื้ออาจกลายพันธุ์แล้วดื้อต่อยาได้หากมีการใช้ยามากเกินไป

Objectives:

To identify carbapenem resistance mechanisms in *Acinetobacter baumannii* isolated in Thailand, to apply the knowledge gained from this study to other important nosocomial pathogens, to develop rapid and reliable molecular typing techniques for use in an outbreak investigation, and to improve the infection treatment through the evidence-based approaches using the analyzed genetic data from basic research.

Materials and Methods:

One hundred clinical isolates of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* were collected during the year 2002-2003. The production of metallo-beta-lactamase has been tested by 2-mercaptoproprionic acid (2-MP), as an inhibitor, and ceftazidime, as a reporter antibiotic. The presence of metallo-beta-lactamase was tested by Southern blot hybridization using probes specific for the bla_{IMP} and bla_{VIM} genes. Thirty isolates were tested for the production of carbapenemase activity by meropenem hydrolysis using UV spectrophotometry. The presence of the class D beta-lactamase capable of carbapenem hydrolysis was also tested by polymerase chain reaction (PCR) using primers specific for the bla_{OXA-23} and bla_{OXA-24} genes. The clonal relatedness among all isolates was also tested by three molecular typing methods, i.e. 16S ribotyping, randomly-amplified polymorphic DNA (RAPD), and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). Susceptibilities to other antibiotics have also been performed, i.e. susceptibilities to rifampin, polymyxins, and newly released tigecycline.

Results:

Two third of isolates (77.8%) of carbapenem-resistant *A. baumannii* in this study were resistant to carbapenem by the production of class D OXA-23 beta-lactamase. There was no metallo-beta-lactamase genes of the bla_{IMP} and bla_{VIM} families detected. Clonal cluster analysis could not be correlated by molecular methods of ribotyping, RAPD, and PFGE. These isolates were all resistant to rifampin (with 38% carrying *arr-2* gene), but susceptible *in vitro* to polymyxins and tigecycline.

Discussion and conclusions:

Majority of carbapenem-resistant *A. baumannii* seemed to spread from a clonal expansion of OXA-23 producing strain. There was no metallo-beta-lactamase genes detected. Combination treatment using rifampin, as suggested in the literatures, would not be appropriate in Thailand. The use of polymyxins and tigecycline should be carefully clinically evaluated under stringent control and close monitoring for clinical use; otherwise these two last antibiotics may lose their curing properties too quickly. The better molecular typing standard techniques should be developed, such as those that can be a good library methods, e.g. multi-locus sequence typing (MLST) for inter-laboratory comparison and long term monitoring and surveillance.