

บทคัดย่อ

ยากลุ่ม carbapenems เป็นยาที่ใช้รักษาโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียแกรมลบรวมทั้งแบคทีเรียวงศ์ *Enterobacteriaceae* ที่ผลิตเอนไซม์ extended-spectrum β -lactamase (ESBL)- or AmpC β -lactamase (AmpC) อย่างไรก็ตามมีรายงานเชื้อวงศ์นี้ที่ดื้อต่อยากลุ่ม carbapenems โดยเชื้อผลิตเอนไซม์ carbapenemase จากทั่วโลก ในโรงพยาบาลศรีนครินทร์อัตราความชุกของเอนไซม์ ESBL ใน *Escherichia coli* และ *Klebsiella pneumoniae* สูงถึงประมาณร้อยละ 50 การใช้ยากลุ่ม carbapenems เพิ่มขึ้นทำให้มีโอกาสเกิดการคัดเลือกเชื้อที่ดื้อต่อยากลุ่ม carbapenems ได้ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจและศึกษาคุณลักษณะของเชื้อวงศ์ *Enterobacteriaceae* ที่ผลิตเอนไซม์ carbapenemase ด้วยวิธีพีโนไทป์และจีโนไทป์ โดยทำการศึกษาในเชื้อจำนวน 4,818 ตัวอย่างที่แยกได้จากผู้ป่วยโรงพยาบาลศรีนครินทร์ตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2553 ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2554 ผลการตรวจกรองเอนไซม์ carbapenemase โดยวิธี disc diffusion ด้วยยา ertapenem และ imipenem พบว่ามีเชื้อที่ให้ผลบวกจำนวน 104 ตัวอย่าง (ร้อยละ 2.2) เมื่อตรวจยืนยันเอนไซม์ carbapenemase โดยวิธี modified Hodge, phenylboronic acid- และ EDTA-carbapenem combined disc พร้อมทั้งตรวจหา ยีน *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{SPM}, *bla*_{SIM}, *bla*_{GIM}, *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM} และ *bla*_{OXA-48} ด้วยวิธี multiplex PCR และตรวจลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน พบว่ามีเชื้อ 8 ตัวอย่างที่ผลิตเอนไซม์ metallo- β -lactamase (MBL) โดยพบเอนไซม์ NDM-1 ใน *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae* และ *Escherichia coli* ชนิดละ 2 ตัวอย่าง และเอนไซม์ IMP-14a ใน *K. pneumoniae* จำนวน 2 ตัวอย่าง จากนั้นตรวจสอบสายพันธุ์ของเชื้อทั้ง 8 ตัวอย่างด้วยวิธี ERIC-PCR พบว่าเป็นเชื้อต่างสายพันธุ์กันยกเว้น *C. freundii* 2 ตัวอย่างที่เป็นเชื้อสายพันธุ์เดียวกัน ผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพต่างๆพบว่าเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ NDM-1 มีค่า MIC ต่อยากลุ่ม carbapenems สูงกว่าเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ IMP-14a และเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ MBL ทั้งหมดยังไวต่อยา colistin และ tigecycline จากการศึกษาี้แสดงให้เห็นว่าการสำรวจเอนไซม์ carbapenemase โดยเฉพาะเอนไซม์ NDM-1 ในเชื้อวงศ์ *Enterobacteriaceae* เป็นงานที่จำเป็นและเร่งด่วนสำหรับห้องปฏิบัติการเพื่อประโยชน์ในการควบคุมและป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาเหล่านี้ในประเทศไทย การตรวจกรองด้วยวิธี ertapenem disc diffusion ร่วมกับการตรวจยืนยันด้วยวิธี EDTA combined disc เป็นวิธีที่เสนอแนะสำหรับการตรวจหาเอนไซม์ MBL ในงานประจำวัน

คำรหัส: metallo- β -lactamase, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli* และ *Klebsiella pneumoniae*

Abstract

Carbapenems are recommended for treatment of serious infections caused by Gram negative bacilli including extended-spectrum β -lactamase (ESBL)- or AmpC β -lactamase (AmpC)-producing Enterobacteriaceae. However, carbapenem-resistant Enterobacteriaceae by production of carbapenemases have emerged worldwide. In Srinagarind hospital, ESBL-producing isolates have been found with high prevalence rates in 2010 (approximately 50% for *E. coli* and *K. pneumoniae*). An increasing use of carbapenems may lead to selection of carbapenem-resistant strains. Therefore, this study aimed to investigate and characterise carbapenemase-producing Enterobacteriaceae isolates from Srinagarind Hospital by both phenotypic and genotypic methods. A total of 4,818 non-repetitive Enterobacteriaceae isolates collected from patients between October 2010 and August 2011 were screened for the presence of carbapenemases by ertapenem and imipenem disc diffusion test. Of the 4,818 isolates, 104 (2.2%) were carbapenemase screening-positive. Confirmatory tests for carbapenemase production by modified Hodge test, phenylboronic acid- and EDTA-carbapenems combined disc tests followed by two multiplex PCR of *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{SPM}, *bla*_{SIM} and *bla*_{GIM}, and of *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM} and *bla*_{OXA-48} and nucleotide sequencing revealed that 8 of the 104 isolates produced metallo- β -lactamases (MBLs); NDM-1 in two isolates of each *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* and IMP-14a in other two isolates of *K. pneumoniae*. Strain typing by ERIC-PCR showed that all MBL-producing isolates were of different strains except clonal strains of *C. freundii*. Antimicrobial susceptibility testing revealed that the carbapenem MICs for the NDM-1 producers were higher than those for the IMP-14a producers. In addition, all MBL-producing isolates were susceptible to colistin and tigecycline. Laboratory-based surveillance of these carbapenemases particularly NDM-1 in Enterobacteriaceae is urgently needed to control and prevent the spread of these resistance determinants in our country. The ertapenem disc screening test together with the EDTA-carbapenem combined disc test are recommended for MBL detection in routine laboratory.

Keywords: metallo- β -lactamase, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*