228623

การดื้อยากลุ่ม macrolides ในเชื้อ *Streptococcus pneumoniae* เป็นปัญหาที่พบเพิ่มสูงขึ้นทั่วโลก กลไกสำคัญที่มีผลต่อการดื้อยากลุ่ม macrolides มี 2 กลไกหลัก คือ การขับยาออกนอกเซลล์ซึ่งควบคุมโดยยีน *mefA* และ การเกิด methylation ที่ตำแหน่งที่เป็นเป้าหมายของยา ซึ่งควบคุมโดยยีน *ermB* กลไกอื่นได้แก่การกลายพันธุ์ที่ 23S rRNA และ ribosomal protein L4 และ L22 การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาความชุกและกลไกการดื้อยาในระดับโมเลกุลของยากลุ่ม macrolides ของเชื้อ *Streptococcus pneumoniae* จำนวน 100 สายพันธุ์ ซึ่งเพาะแยกได้จากสิ่งส่งตรวจจาก sterile sites ทำการหาค่า MIC ต่อยา erythromycin, clarithromycin และ penicillin โดยวิธี agar dilution และ E-test การเพิ่มจำนวนยีน *mefA, ermB,* 23SrRNA, ribosomal protein L4 และ L22 โดยวิธี PCR และทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ribosomal genes สำหรับการศึกษาแบบแผนทางพันธุกรรมของเชื้อที่ดื้อต่อยาในกลุ่ม macrolides ใช้วิธี Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) ผลการศึกษาพบว่าอัตราการดื้อต่อยา erythromycin, clarithromycin และ penicillin ในเชื้อ *Streptococcus pneumoniae* คือ 36%, 34% และ 16% ตามลำดับ อัตราการดื้อยา erythromycin ในเชื้อ *Streptococcus pneumoniae* ที่ไวต่อยา penicillin คือ 5.7%(3/53) และ พบเป็น 64.5%(20/31) และ 81.2%(13/16) ในเชื้อที่ให้ผล intermediate resistant และดื้อต่อยา penicillin ตามลำดับ ในเชื้อที่ดื้อยา erythromycin ทั้งหมด 36 สายพันธุ์ พบยีน *mefA* 12(33.3%) สายพันธุ์ และยีน *ermB* 24 (66.7%) สายพันธุ์ เมื่อทำการวิเคราะห์การกลายพันธุ์ใน ribosomal gene ในสายพันธุ์ที่ดื้อยากลุ่ม macrolides พบว่ามีการเปลี่ยนกรดอะมิโนที่ตำแหน่งที่ 20 จาก serine เป็น asparagine ใน ribosomal protein L4 จำนวน 13 (36.1%) สายพันธุ์ ไม่พบการกลายพันธุ์ใน ribosomal protein L22 และ 23S rRNA ทั้ง 4 copies ผลการวิเคราะห์ PFGE pattern พบ 24 profiles ไม่พบว่ามี clone ที่จำเพาะของเชื้อ *S. pneumoniae* แพร่กระจายในเชื้อที่ดื้อยากลุ่ม macrolides จากการศึกษานี้พบว่าการดื้อยากลุ่ม macrolides ในเชื้อ *S. pneumoniae* ที่เพาะแยกได้จากผู้ป่วยไทยเพิ่มสูงขึ้นและกลไกการดื้อยากลุ่ม macrolides ที่สำคัญคือการเกิด methylation ซึ่งควบคุมโดยยีน *ermB*

228623

Macrolide resistance in *Streptococcus pneumoniae* is an increasing problem worldwide. Two main mechanisms of macrolide resistance are active efflux, encoded by *mefA* gene and methylation of antibiotic target site, encoded by *ermB* gene. Other mechanisms of resistance include mutations in 23SrRNA and ribosomal proteins L4 and L22. We investigated the prevalence and molecular mechanisms of macrolide resistance in 100 *S. pneumoniae* clinical isolates from sterile sites. The minimal inhibitory concentrations (MICs) of erythromycin, clarithromycin and penicillin were examined by agar dilution and Etest. The *mefA*, *ermB*, 23S rRNA gene and ribosomal protein L4 and L22 genes were amplified by PCR and ribosomal genes were sequenced. Molecular typing was determined by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). Of the 100 invasive *S. pneumoniae*, 36 (36%) were resistant to 36 erythromycin-resistant isolates, *mefA* was present in 12 isolates (33.3%) and *ermB* was present in 24 isolates (66.7%). Erythromycin resistance rate was 5.7% (3 of 53) among penicillin-susceptible isolates and was 64.5% (20 of 31) and 81.2% (13 of 16) among penicillin–intermediate and penicillin-resistant isolates, respectively. Mutations in ribosomal genes were analyzed in all macrolide-resistant isolates. Alteration in ribosomal protein L4 at Ser20 to Asn was found in 13 isolates (36.1%). Mutations in ribosomal protein L22 and all 4 copies of 23S rRNA were not detected. PFGE analysis demonstrated 24 unique PFGE profiles. No specific clone was widespread in macrolide-resistant *S. pneumoniae* isolates. This study showed that macrolide resistance has been increasing in *S. pneumoniae* isolated from Thai patients and the dominant macrolide resistance machanism was mediated by methylase, encoding by *ermB* gene.