การศึกษากลไกการดื้อยาแบบ
เมทัลโลเบต้าแลคเตมเมส
ในเชื้อ
ซูโดโมแนส แอรูจิโนซาที่ดื้อต่อยาหลายขนาน

นางสาวภัทราพร ลีลายุทธชัย
นางสาววรัชญา เอื้อวัฒนะสกุล

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2555

STUDY ON METALLO-β-LACTAMASE RESISTANCE MECHANISM IN MULTIDRUG RESISTANT *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

MISS PATTRAPORN LEELAYUTTACHAI
MISS WARATCHAYA UAWATTANASAKUL

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE BACHELOR DEGREE OF SCIENCE IN PHARMACY
FACULTY OF PHARMACY
MAHIDOL UNIVERSITY
2012

โครงการพิเศษ
เรื่อง การศึกษากลไกการดื้อยาแบบเมทัลโลเบต้าแลคแตมเมสในเชื้อ
ซูโดโมแนส แอรูจิโนซาที่ดื้อต่อยาหลายขนาน

.....

(นางสาวภัทราพร ลีลายุทธชัย)

.....

(นางสาววรัชญา เอื้อวัฒนะสกุล)

.....

(อ.ดร. กฤษณ์ ถิรพันธุ์เมธี)
อาจารย์ที่ปรึกษา

.....

(รศ. รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล)
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

.....

(อ.ดร. นิศารัตน์ ศิริวัฒนาเมธานนท์)
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

.....

(ผศ.ดร. มัลลิกา ชมนาวัง)
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ
การศึกษากลไกการดื้อยาแบบเมทัลโลเบต้าแลคแตมเมส ในเชื้อซูโดโมแนส แอรูจิโนซาที่ดื้อต่อยาหลายขนาน

ภัทราพร ลีลายุทธชัย , วรัชญา เอื้อวัฒนะสกุล

อาจารย์ที่ปรึกษา : กฤษณ์ ถิรพันธุ์เมธี *, รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล**, นิศารัตน์ ศิริวัฒนาเมธานนท์ **, มัลลิกา ชมนาวัง *

* ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

** ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

คำสำคัญ : การดื้อยาหลายขนาน , เมทัลโลเบต้าแลคแตมเมส, ซูโดโมแนส แอรูจิโนซา

อุบัติการณ์การดื้อต่อยาต้านจุลชีพของแบคทีเรียก่อโรค เป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญ อันเป็นผลเนื่องมาจากการให้ยาต้านจุลชีพอย่างไม่เหมาะสม ซึ่งในปัจจุบันพบว่าแบคทีเรียก่อโรคที่พบได้อย่างกว้างขวาง และเป็นเชื้อฉวยโอกาสที่สำคัญในโรงพยาบาลชนิดหนึ่ง คือ *Pseudomonas aeruginosa* เนื่องจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า แบคทีเรียชนิดนี้มีความสามารถในการดื้อต่อยาต้านจุลชีพได้หลายชนิด ยกตัวอย่างเช่น ยากลุ่มเบต้าแลคแตม อะมิโนกลัยโคซายด์ ฟลูออโรควิโนโลน ฟอสโฟมัยซินและโคลิสติน โดยในการศึกษาทดลองครั้งนี้ได้ทำการศึกษากลไกการดื้อต่อยาแบบเมทัลโลเบต้าแลคแตมเมส ซึ่งเป็นหนึ่งในกลไกการดื้อต่อยาต้านจุลชีพที่สำคัญของ *P. aeruginosa* โดยวิธี Double disc synergy และทำการตรวจสอบ การปรากฏของยีน *imp* และ ยีน *vim* ซึ่งเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับกลไกการดื้อต่อยาต้านจุลชีพด้วยเอมไซม์เมทัลโลเบต้าแลคแตมเมส โดยใช้วิธี Polymerase Chain reaction (PCR) ซึ่งจากการทดลองพบว่าจากเชื้อตัวอย่าง *P. aeruginosa* ที่ดื้อต่อยาหลายขนานจำนวน 99 ตัวที่นำมาทดสอบ พบว่าเชื้อตัวอย่าง 17 ตัวมีกลไกการดื้อต่อยาโดยการสร้างเอมไซม์เมทัลโลเบต้าแลคแตมเมส และเมื่อทำการตรวจสอบยีนที่เกี่ยวข้องกับกลไกการดื้อต่อยา พบว่าทั้ง 18 ตัวมีการแสดงออกของ ยีน *imp* เพียงอย่างเดียว จึงอาจสรุปได้ว่าการแสดงออกของยีน *imp* มีผลเกี่ยวข้องกับการดื้อต่อยาแบบเมทัลโลเบต้าแลคแตมเมสในเชื้อตัวอย่าง ซึ่งในการศึกษานี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้น เพื่อเป็นแนวทางหนึ่งในการศึกษาถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการดื้อต่อยาแบบเมทัลโลเบต้าแลคแตมเมส และเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการเลือกใช้ยาต้านจุลชีพสำหรับการรักษาผู้ป่วยต่อไป

Abstract

Study On Metallo-β-Lactamase Resistance Mechanism In Multidrug Resistant *Pseudomonas aeruginosa*

Pattraporn Leelayuttachai , Waratchaya Uawattanasakul

Project advisors : Krit Thirapanmethee*, Rungravi Temsiririrkkul**,
Nisaratana Siriwatanamethanon**, Mullika (Traidej) Chomnawang *

*Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

**Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

Keyword : Mulitidrug resistance, *Pseudomonas aeruginosa*, Metallo beta lactamase

The prevalence of antimicrobial drug resistance is an important public health problem resulting from the inappropriate antimicrobial medication. Nowadays, the pathogenic bacteria which have been well known as an important opportunistic pathogen is *Pseudomonas aeruginosa*. In the previous studies indicated that this bacteria could resistant to various antimicrobial drugs such as the β-lactam antibiotics, aminoglycosides, fluoroquinolones, fosfomycin, and colistin. In present study, metallo-β-lactamase production, one of the important drug resistance mechanisms, was evaluated by double-disc synergy test. Moreover, polymerase chain reaction (PCR) method was used for determine the presence of *imp* and *vim* genes which were associated with this mechanism.The result demonstrated that 18 from 99 samples of MDR-*P. aeruginosa* could produce metallo-β-lactamase and all of them had the expression of *imp* gene only. In conclusion, *imp* gene may be related to β-lactam drug resistance in these samples.This study is the one of the approaches to find out the factors that influence β-lactam drug resistance.