



การศึกษาลักษณะการดื้อยาปฏิชีวนะและจีโนมไพบ์ของเชื้อ *Acinetobacter baumannii* จาก  
โรงพยาบาลตติยภูมิในประเทศไทย



เจษฎาภรณ์ รอดกำเนิด

วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร  
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาจุลชีววิทยา  
ปีการศึกษา 2566  
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

การศึกษาลักษณะการดื้อยาปฏิชีวนะและจีโนมไทป์ของเชื้อ *Acinetobacter baumannii* จาก  
โรงพยาบาลตติยภูมิในประเทศไทย



วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร  
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาจุลชีววิทยา  
ปีการศึกษา 2566  
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

วิทยานิพนธ์ เรื่อง "การศึกษาลักษณะการดื้อยาปฏิชีวนะและจีโนมไทป์ของเชื้อ *Acinetobacter baumannii* จากโรงพยาบาลตติยภูมิในประเทศไทย"  
ของ เจษฎาภรณ์ รอดกำเนิด  
ได้รับการพิจารณาให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา

### คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์  
(รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.ภัทรรัฐ จันท์ฉาย  
ทอง)

..... ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์  
(ดร.ระพี ธรรมมีภักดิ์)

..... กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์  
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุทธิรัตน์ สิทธิศักดิ์)

..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน  
(ดร.อัญชลี ฐานวิสัย)

..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภาพร ล้ำเลิศธน)

### อนุมัติ

.....  
(รองศาสตราจารย์ ดร.กรรองกาญจน์ ชูทิพย์)  
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง	การศึกษาลักษณะการดื้อยาปฏิชีวนะและจีโนมไทป์ของเชื้อ <i>Acinetobacter baumannii</i> จากโรงพยาบาลตติยภูมิในประเทศไทย
ผู้วิจัย	เจษฎาภรณ์ รอดกำเนิด
ประธานที่ปรึกษา	ดร.ระพี ธรรมมีภักดิ์
กรรมการที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.สุทธิรัตน์ สิทธิศักดิ์
ประเภทสารนิพนธ์	วิทยานิพนธ์ วท.ม. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2566
คำสำคัญ	อะซิเนโทแบคทีเรียดื้อยา เทคนิค PCR-based Trilocus Typing

### บทคัดย่อ

*A. baumannii* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีความสำคัญทางการแพทย์โดยเชื้อสามารถดื้อยาปฏิชีวนะได้หลายขนานและมีแนวโน้มสูงขึ้น ซึ่งเป็นปัญหาต่อการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *A. baumannii* เชื้อชนิดนี้สามารถพบได้จากสิ่งแวดล้อมต่างๆ ภายในโรงพยาบาล โดยสายพันธุ์ที่มีความสำคัญและมีการแพร่กระจายไปทั่วโลก ถูกจัดเป็น International clones (ICs) เช่น IC1 IC2 และ IC3 ดังนั้นการศึกษารังนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *A. baumannii* รวมถึงตรวจหายีน carbapenemase ที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาในกลุ่ม carbapenems ของเชื้อ *A. baumannii* และระบุ ICs ของเชื้อ *A. baumannii* ที่แยกได้จากตัวอย่างทางคลินิกของผู้ป่วย ในการศึกษาครั้งนี้เก็บเชื้อ *Acinetobacter* spp. จำนวน 200 ไอโซเลตจากโรงพยาบาลตติยภูมิ ระหว่างปี ค.ศ 2020-2021 การระบุชนิดด้วยวิธีการตรวจหา Species-specific gene (*bla*<sub>OXA-51</sub>) ด้วยเทคนิค PCR พบว่า ร้อยละ 95 (190/200 ไอโซเลต) จัดเป็น *A. baumannii* ซึ่งส่วนใหญ่แยกได้จากตัวอย่างเสมหะร้อยละ 74.21 (141/190 ไอโซเลต) เลือด (Blood hemoculture) ร้อยละ 7.36 (14/190 ไอโซเลต) หนอง (PUS) ร้อยละ 7.36 (14/190 ไอโซเลต) เป็นต้น จากการศึกษาการดื้อยาปฏิชีวนะด้วยเทคนิค disc diffusion method และนำมาจัดรูปแบบการดื้อยาพบว่า non-multidrug resistance *A. baumannii* (non-MDRAB) ร้อยละ 8.94 (17/190 ไอโซเลต) MDRAB ร้อยละ 90.05 (173/190 ไอโซเลต) XDRAB ร้อยละ 74.21 (141/190 ไอโซเลต) และ CRAB ร้อยละ 90.52 (172/190 ไอโซเลต) นอกจากนั้นแล้วการศึกษา Minimum Inhibitory Concentration (MICs) ด้วยวิธี Broth micro-dilution ยังพบว่าเชื้อดื้อยา colistin ร้อยละ 14.21 มากไปกว่านั้น ในการศึกษาครั้งนี้พบหนึ่งไอโซเลตที่ดื้อทั้ง colistin และ tigecycline จากนั้นตรวจหายีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยา carbapenems ด้วยเทคนิค PCR พบว่าเชื้อมีรูปแบบของยีน 6 รูปแบบคือ *bla*<sub>OXA-23</sub> ร้อยละ 84.73 *bla*<sub>OXA-58</sub> ร้อยละ 0.53 *bla*<sub>NDM</sub> ร้อยละ 0.53 *bla*<sub>OXA-23</sub> ร่วมกับ *bla*<sub>OXA-58</sub> ร้อยละ

1.57 *bla*<sub>OXA-23</sub> ร่วมกับ *bla*<sub>NDM</sub> ร้อยละ 2.63 และรูปแบบสุดท้ายคือ *bla*<sub>OXA-58</sub> ร่วมกับ *bla*<sub>NDM</sub> ร้อยละ 1.05 และไอโซเลตที่ไม่มียีนร้อยละ 8.95 จากการศึกษาเชิงระบาดวิทยา โดยการระบุ ICs ด้วยเทคนิค PCR-based Trilocus Typing ในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบ ICs ระบาดในโรงพยาบาลแห่งนี้ แต่พบว่าเชื้อจัดเป็น non-ICs ซึ่งจัดเป็น sequence groups (SGs) เช่น SG4 SG5 SG7 SG15 SG16 และ SG17 โดยพบ SG15 ในสัดส่วนสูงที่สุดร้อยละ 35.79 ตามด้วย SG16 ร้อยละ 16.32 และ SG5 ร้อยละ 8.94 จากการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ทราบว่าเชื้อ *A. baumannii* จากโรงพยาบาลแห่งนี้มีอุบัติการณ์ดื้อยาปฏิชีวนะในรูปแบบ MDRAB และ CRAB มากถึงร้อยละ 90 โดยพบว่ายีน *bla*<sub>OXA-23</sub> เป็นยีนที่มีความชุกสูงสุดและสัมพันธ์กับการดื้อยาในกลุ่ม carbapenems นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อที่ระบาดในโรงพยาบาลแห่งนี้มีความหลากหลายทางจีโนมไพบ์โดยพบ SG15 เป็นหลัก โดยเชื้อดื้อยาส่วนมากยังมีความไวต่อยา colistin และ tigecycline แต่อย่างไรก็ตามยังพบอุบัติการณ์การดื้อยาดังกล่าว ซึ่งจำเป็นต้องศึกษาเชิงลึกในระดับอนุชีววิทยาเพื่อให้ทราบกลไกการดื้อยาและป้องกันการกระจายของเชื่อดังกล่าวต่อไป



<b>Title</b>	ANTIBIOTIC RESISTANCE AND GENOTYPIC CHARACTERIZATION OF <i>ACINETOBACTER BAUMANNII</i> ISOLATED FROM A TERTIARY HOSPITAL IN THAILAND
<b>Author</b>	Jadsadaporn Redkimned
<b>Advisor</b>	Rapee Thammeeepak, Ph.D.
<b>Co-Advisor</b>	Associate Professor Sutthirat Sitthisak, Ph.D.
<b>Academic Paper</b>	M.Sc. Thesis in Microbiology, Naresuan University, 2023
<b>Keywords</b>	Acinetobacter baumannii Antimicrobial PCR-based Trilocus Typing

### ABSTRACT

*A. baumannii* is a clinically important bacterium that can resist to multiple antibiotics with an increasing trend. This is a major problem for treatments of patients infected by *A. baumannii*. The majority of globally-distributed *A. baumannii* strains are classified to International Clones (ICs) including IC1, IC2 and IC3. Therefore, this study aims to characterize patterns of antibiotic resistance, detect carbapenemase genes and identify ICs of clinical *A. baumannii* isolates obtained from a tertiary hospital in Thailand. In this study, 200 isolates of *Acinetobacter* spp. were collected between 2021 and 2022. By *bla*<sub>OXA-51</sub> detection, 190 of 200 isolates were identified as *A. baumannii* (95%). Most of the isolates identified as *A. baumannii* were isolated from sputum (74.21%) followed by blood (7.36%) and other (18.42%). Characterization of antibiotic resistance patterns by a disc diffusion method showed 4 patterns including multidrug-resistant *A. baumannii* (MDRAB: 91.05%), carbapenem-resistant *A. baumannii* (CRAB: 90.52%), extensively drug-resistant *A. baumannii* (XDRAB: 74.21%), and non-MDR (8.94%). Moreover, determinations of minimum inhibitory concentrations of colistin and tigecycline revealed that the prevalence of colistin resistance among all isolates was 14.21% and we found one isolate can resist to both colistin and tigecycline. PCR-detections of carbapenemase genes demonstrated that a major gene was *bla*<sub>OXA-23</sub> (84.73%) which related to carbapenem resistance. By PCR-based trilocus typing, the

epidemiological study revealed that no ICs were detected in studied hospital. Strains distributed in this hospital were classified as non-ICs comprised of 6 sequence groups (SGs). The most prevalent SGs were SG18 (36.31%), SG19 (16.32%), and SG5 (8.95%). In conclusion, this study showed that high prevalence of MDRAB and CRAB was found and carbapenems resistance was associated with the presence of the *bla*<sub>OXA-23</sub>. Some antibiotic resistant isolates were resistant to colistin. However, most antibiotic resistant isolates were susceptible to colistin High genetic diversity was detected among isolates distributed in a studied hospital. Further research and in-depth molecular analysis of antibiotic resistance mechanisms are need.



## ประกาศคุณูปการ

การดำเนินงานวิจัย และการดำเนินวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้เสร็จสมบูรณ์ และบรรลุวัตถุประสงค์ ได้ด้วยความกรุณาอย่างสูงจาก ดร. ระพี ธรรมมีภักดิ์ ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งได้ให้คำแนะนำ ตลอดจนการดูแลเอาใจใส่ตลอดระยะเวลาการดำเนินงานวิจัยและการดำเนินวิทยานิพนธ์ของ ข้าพเจ้า กราบขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์อันประกอบด้วย รองศาสตราจารย์ น.สพ.ดร. ภัทรรัฐ จันทน์ฉายทอง ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.สุทธิรัตน์ สิทธิศักดิ์ กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ดร.อัญชลี ฐานวิสัย และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภาพร ล้ำเลิศน กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน ที่ได้กรุณาในคำแนะนำ ตลอดจนการแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ ด้วยความเอาใจใส่

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ สถาบันการด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ ตลอดจน เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา ที่อนุเคราะห์เครื่องมือ ตลอดจนอุปกรณ์ ต่าง ๆ ที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับงานวิจัยนี้ทั้ง ผู้ที่เกี่ยวข้องโดยตรง และโดยอ้อม และขอขอบคุณครอบครัว ตลอดจนเพื่อน ๆ ที่คอยให้ความช่วยเหลือ แนะนำ และให้กำลังใจเสมอมา

คุณค่าและคุณประโยชน์ซึ่งอันเกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบและอุทิศแต่ผู้มี พระคุณทุกท่าน ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจต่อการศึกษา รวมถึง การประยุกต์ใช้ข้อมูลเพื่อเป็นแนวทางในการรักษาได้ในอนาคต

เจษฎาภรณ์ รอดกำเนิด

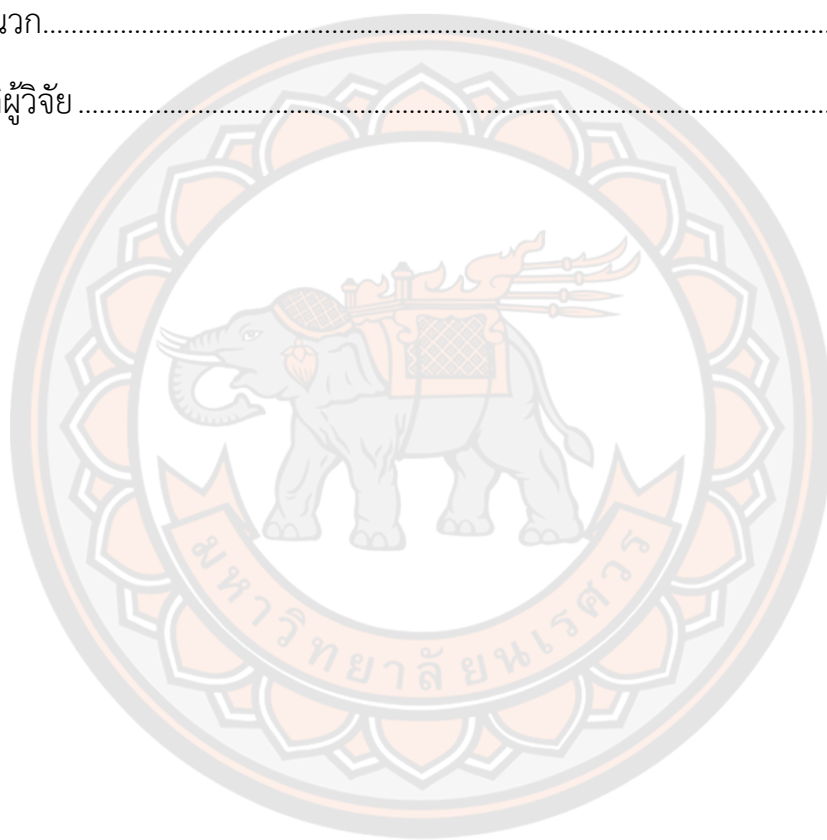


## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
ประกาศคุุณูปการ .....	ช
สารบัญ .....	ซ
สารบัญตาราง .....	ฅ
สารบัญภาพ .....	ฐ
บทที่ 1 บทนำ .....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
ขอบเขตการวิจัย.....	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
จุลชีววิทยาของเชื้อ <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	5
ปัจจัยก่อโรคของเชื้อ <i>A. baumannii</i> .....	6
การระบาดของเชื้อ <i>A. baumannii</i> .....	10
ยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อจาก <i>A. baumannii</i> .....	12
การดื้อยาของเชื้อ <i>A. baumannii</i> .....	17
ปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อ <i>A. baumannii</i> .....	21
การศึกษาลักษณะทางจีโนมไทป์ของเชื้อ <i>A. baumannii</i> .....	22
การศึกษาที่ผ่านมาที่มีการระบุ International clones ของ <i>A. baumannii</i> .....	26

บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	30
สายพันธุ์แบคทีเรีย.....	30
Primer (ไพรเมอร์).....	30
การระบุเชื้อ <i>A. baumannii</i> โดยเทคนิค Polymerase chain reaction (PCR).....	34
การทดสอบฤทธิ์ดื้อยาโดยวิธี Broth microdilution.....	34
การทดสอบฤทธิ์ดื้อยาโดยวิธี Disc diffusion.....	34
การตรวจหายีน carbapenemase ด้วยเทคนิค PCR.....	37
การตรวจหายีน <i>mcr-1</i> ถึง <i>mcr-5</i> ของเชื้อ <i>A. baumannii</i> .....	37
การระบุ sequence group ของเชื้อ <i>A. baumannii</i> โดยวิธี PCR-based Trilocus sequence Typing (3LST).....	38
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	38
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	41
ชนิดของตัวอย่างทางคลินิก และการระบุสปีชีส์ของ <i>A. baumannii</i> .....	41
การทดสอบการดื้อยาของเชื้อ <i>A. baumannii</i> โดยวิธี Broth microdilution.....	43
การทดสอบการดื้อยาของเชื้อ <i>A. baumannii</i> โดยวิธี Disc diffusion.....	43
การกระจายการดื้อยาในแต่ละแผนก และชนิดของตัวอย่างทางคลินิก.....	45
การตรวจหายีน carbapenemase โดยใช้เทคนิค PCR.....	47
การตรวจหายีน <i>mcr-1</i> ถึง <i>mcr-5</i> ในเชื้อ <i>A. baumannii</i> ที่ดื้อยา colistin.....	47
ความสัมพันธ์ของการดื้อยาปฏิชีวนะ imipenem และรูปแบบของยีน carbapenemases ของเชื้อ <i>A. baumannii</i> .....	49
การจัดกลุ่ม Sequence groups ของเชื้อ <i>A. baumannii</i> โดย PCR-based Trilocus sequence Typing (3LST).....	49

บทที่ 5 บทสรุป.....	52
สรุปผลการวิจัย.....	52
อภิปรายผลการทดลอง.....	52
ข้อเสนอแนะ .....	58
บรรณานุกรม.....	59
ภาคผนวก.....	81
ประวัติผู้วิจัย .....	121



## สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 แสดงการศึกษาทางการระบาดของเชื้อ <i>A. baumannii</i> โดยวิธีทางอณูชีววิทยา	29
ตาราง 2 แสดงไพรเมอร์สำหรับการตรวจหายีน carbapenemase และการจัดกลุ่ม sequence groups ของ <i>A. baumannii</i>	32
ตาราง 3 แสดงไพรเมอร์สำหรับการตรวจหายีน <i>mcr-1</i> ถึง <i>mcr-5</i> ของ <i>A. baumannii</i>	33
ตาราง 4 แสดงยาปฏิชีวนะและการแปลผลการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ	36
ตาราง 5 แสดงการระบุ sequence groups ของเชื้อ <i>A. baumannii</i> จากการทำ 3LST	40
ตาราง 6 แสดงข้อมูลทางคลินิกของเชื้อ <i>A. baumannii</i> จากโรงพยาบาลร้อยเอ็ด	42
ตาราง 7 แสดงการดื้อยาปฏิชีวนะแต่ละกลุ่มของเชื้อ <i>A. baumannii</i>	46
ตาราง 8 แสดงการเปรียบเทียบทางสถิติของเชื้อ <i>A. baumannii</i> ที่จัดอยู่ในกลุ่ม extensively-drug resistant <i>A. baumannii</i> (XDRAB) แต่ละแผนกภายในโรงพยาบาลร้อยเอ็ด	46
ตาราง 9 แสดงการแปลผล sequence groups (SGs) ที่พบในการศึกษาครั้งนี้ จากการทำ 3LST	51
ตาราง 10 แสดงการระบาดของ sequence groups ของเชื้อ <i>A. baumannii</i> แต่ละแผนก และการดื้อยา carbapenems และ colistin	51
ตาราง 11 แสดงแหล่งที่มาของเชื้อ <i>A. baumannii</i> 190 ไอโซเลต จากโรงพยาบาลร้อยเอ็ด	82
ตาราง 12 แสดงรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะ imipenem colistin และ tigecycline และ จีโนไทป์ของเชื้อ <i>A. baumannii</i>	83
ตาราง 13 แสดงรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะทั้ง 11 ชนิด โดยวิธี Disc diffusion ของเชื้อ <i>A. baumannii</i>	91

ตาราง 14 ความสัมพันธ์การดื้อยาปฏิชีวนะ imipenem และรูปแบบของยีน carbapenemases ของเชื้อ <i>A. baumannii</i> .....	100
---	-----



## สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพ 1 ลักษณะเซลล์ของ <i>A. baumannii</i> ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด .....	6
ภาพ 2 ปัจจัยก่อโรคที่สำคัญของเชื้อ <i>A. baumannii</i> .....	10
ภาพ 3 โครงสร้างของ carbapenem.....	14
ภาพ 4 โครงสร้างของ tigecycline.....	15
ภาพ 5 โครงสร้างของ Polymyxin E (Colistin).....	16
ภาพ 6 การดื้อยา tetracycline โดย ribosome protection .....	20
ภาพ 7 ลักษณะการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ <i>A. baumannii</i> โดยวิธี Broth microdilution .	44
ภาพ 8 การดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ <i>A. baumannii</i> โดยวิธี Disc diffusion .....	44
ภาพ 9 แสดงยีนดื้อยาปฏิชีวนะจากการศึกษาทางจีโนมไทป์ของเชื้อ <i>A. baumannii</i> โดย Multiplex PCR ในกลุ่ม Oxacillinases (OXA) และ metallo- $\beta$ -lactamases.....	48
ภาพ 10 แสดงไอโซเลตที่พบยีน <i>bla</i> <sub>NDM</sub> ของเชื้อ <i>A. baumannii</i> .....	48

# บทที่ 1

## บทนำ

### ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

*Acinetobacter baumannii* เป็นแบคทีเรียก่อโรคในโรงพยาบาลที่มีความสำคัญทางการแพทย์ เนื่องจากเชื้อสามารถทนต่อสภาพแวดล้อม และสามารถพบเชื้อเจริญอยู่ในบริเวณหออภิบาลผู้ป่วย เช่น อ่างล้างมือ พื้นห้อง เตียงผู้ป่วย ทำให้เกิดการสะสมของเชื้ออยู่ในสิ่งแวดล้อมในโรงพยาบาล และก่อให้เกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาล (Leungtongkam et al., 2018; วิชัย สันติ มาลีวรกุล, 2009) โดยเฉพาะหออภิบาลผู้ป่วย รวมทั้งผู้ป่วยที่พักใน Intensive Care Units (ICU) ซึ่งที่ผ่านมาพบอัตราการเสียชีวิตจากการติดเชื้อ *A. baumannii* มากถึงร้อยละ 60 (Bialvae et al., 2015; Blanchard et al., 2014) ผู้ป่วยโรคปอดบวม (Karageorgopoulos & Falagas, 2008) โรคในระบบทางเดินหายใจ รวมทั้งผู้ป่วยที่ติดเชื้อในกระแสเลือด หรือการมีบาดแผลที่ผิวหนัง การใส่สายสวนเข้าที่หลอดเลือดดำ (Peripherally Inserted Catheter) หรือปัสสาวะ (Catheter-associated urinary tract infection) และการผ่าตัด (Nocera et al., 2021) โรคปอดอักเสบในผู้ป่วยที่ได้รับการใส่เครื่องช่วยหายใจของโรงพยาบาลนครนายก พบผู้ป่วยโรคปอดอักเสบโดยมีสาเหตุมาจากการติดเชื้อ *A. baumannii* ถึง ร้อยละ 60 ของผู้ป่วยทั้ง 155 รายที่ได้รับการใส่เครื่องช่วยหายใจ (เพ็ญศรี ละออ, 2010) และยังมีรายงานจากโรงพยาบาลนพรัตนราชธานี พบเกิดภาวะปอดอักเสบจาก *A. baumannii* multidrug-resistant (MDR) ร้อยละ 25 ของผู้ป่วย 919 รายที่เข้ารับการรักษา (Attapornkusol et al., 2021) มากไปกว่านั้นเชื้อชนิดนี้ยังมีความสามารถในการดื้อยาปฏิชีวนะหลายขนาน โดยเฉพาะการดื้อยาในกลุ่ม carbapenems ซึ่งเป็นกลุ่มยาทางเลือกอันดับแรกมีความสำคัญในการรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (drug of choice) ด้วยอุบัติการณ์ของการดื้อต่อยากลุ่ม carbapenems ที่สูงขึ้นอย่างต่อเนื่องทางองค์การอนามัยโลก (World Health Organization: WHO) จึงได้จัดให้เชื้อ *A. baumannii* ที่ดื้อต่อยากลุ่ม carbapenems เป็นเชื้อโรคที่มีความสำคัญอันดับแรกที่เป็นภัยคุกคามอย่างรุนแรงต่อสุขภาพของมนุษย์ และจำเป็นต้องศึกษาหา ยาปฏิชีวนะชนิดใหม่เพื่อใช้ในการรักษา (World health organization, 2019)

ในปัจจุบันพบว่าเชื้อ *A. baumannii* กำลังเป็นปัญหาสำคัญในการรักษา เนื่องจากเชื้อสามารถดื้อยาปฏิชีวนะหลายชนิดและมีกลไกที่ก่อให้เกิดการดื้อยาได้หลากหลายรูปแบบ ส่งผลให้ผู้ป่วยที่ติดเชื้อนี้มีอัตราการเสียชีวิตที่สูงขึ้น โดยการศึกษาในในเมืองไทย ประเทศได้หวั่นปี 2018 ได้มีการศึกษาผู้ป่วยติดเชื้อในกระแสเลือดจำนวน 825 ราย และพบว่า 31 รายเกิดจากการติดเชื้อ

*Acinetobacter* โดยที่ 18 รายมีเชื้อ *A. baumannii* เป็นสาเหตุหลักของการติดเชื้อ (Chung-Ting et al., 2018) ส่วนในประเทศไทยมีรายงานการติดเชื้อในโรงพยาบาลที่เกิดจากเชื้อ *A. baumannii* เป็นสาเหตุเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 2 เป็นร้อยละ 30 ซึ่งส่วนใหญ่พบว่าเป็นการติดเชื้อในหออภิบาลผู้ป่วยหนัก (Saelao & Utiswannakul, 2008) นอกจากนั้นยังมีการรายงานว่าพบการติดเชื้อภายในโรงพยาบาลตติยภูมิใน 12 แห่งทั่วประเทศไทย โดยพบผู้ป่วย 198 รายในผู้ป่วยโรคปอดติดเชื้อมีสาเหตุการติดเชื้อจาก *A. baumannii* หรือคิดเป็นร้อยละ 30 ของการติดเชื้อทั้ง 12 โรงพยาบาลที่ทำการศึกษาในประเทศไทย (Werarak et al., 2012) โดย *A. baumannii* มีกลไกการดื้อยาหลากหลายกลไกคล้ายกับเชื้อแกรมลบอื่น ๆ เช่น การลดการนำเข้ายา การขับยาออกนอกเซลล์ การเปลี่ยนแปลงเป้าหมายในการจับยา รวมไปถึงการสร้างเอนไซม์ทำลายปฏิชีวนะ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลไกสุดท้ายที่เป็นกลไกหลักที่ทำให้ *A. baumannii* สามารถดื้อต่อยากลุ่ม carbapenems ได้ ในปี 2017 มีรายงานการดื้อยา carbapenems ของ *A. baumannii* ในโรงพยาบาล MacKay Memorial ในไต้หวันจากตัวอย่างเลือด 108 ตัวอย่างตั้งแต่ มกราคม 2012-ธันวาคม 2013 พบว่าไอโซเลตทั้งหมดมียีน  $bla_{OXA-51-like}$  และยังพบยีน  $bla_{OXA-23}$   $bla_{OXA-24}$  และ  $bla_{IMP}$  ร้อยละ 93.5 ร้อยละ 4.6 และร้อยละ 0.9 ตามลำดับ (Hu, 2017) นอกจากนี้ในช่วงเดือนธันวาคม-พฤษภาคม ปี 2018 ยังพบยีน  $bla_{IPM}$  ร้อยละ 87.5  $bla_{NDM}$  ร้อยละ 62.5  $bla_{OXA-23}$  ร้อยละ 59.4  $bla_{VIM}$  ร้อยละ 9.3 และ  $bla_{OXA-40}$  ร้อยละ 3.1 ในเชื้อที่ดื้อต่อยา carbapenem ซึ่งเป็น carbapenem-resistant *A. baumannii* (CRAB) 32 ไอโซเลต จากโรงพยาบาลแห่งหนึ่งในเมืองทากีฟ ประเทศซาอุดีอาระเบีย (Badawy et al., 2019) ประเทศไทยมีรายงานการศึกษาเชื้อ *A. baumannii* จากโรงพยาบาลสี่แห่งในช่วงปี 2013-2015 พบว่าร้อยละ 84.9 จัดเป็นสายพันธุ์ CRAB และพบยีน  $bla_{OXA-23}$  ร้อยละ 82.6  $bla_{OXA-24}$  ร้อยละ 0.3 และ  $bla_{OXA-58}$  ร้อยละ 6.5 (Leungtongkam et al., 2018) นอกจากนี้การดื้อยา colistin ซึ่งเป็นยาทางเลือกกลุ่มสุดท้ายในการรักษาโรคติดเชื้อ *A. baumannii* โดยการดื้อยา colistin มักเกี่ยวข้องกับกลไกการเปลี่ยนแปลง lipid A ที่ลดหรือจำกัดการเกิดปฏิกิริยาต่อประจุระหว่างผนังเซลล์ของแบคทีเรียกับ colistin หรือการเปลี่ยนแปลงเยื่อหุ้มเซลล์ที่เกิดจากการเติม cationic Phosphoethanolamine (PetN) ทำให้ประจุลบบนพื้นผิวของแบคทีเรียลดลง ทำให้ *A. baumannii* สามารถดื้อ colistin ได้ (Gogry et al., 2021) ประเทศไทยมีรายงานการดื้อยา colistin ของ *A. baumannii* ในผู้ป่วยโรคปอดบวม ร้อยละ 35-44 (Lertsrisatit & Traipattanakul, 2017; Thet, 2020) ในปี 2021 มีการศึกษาการติดเชื้อ *A. baumannii* ในโรงพยาบาล 11 แห่ง 5 ภูมิภาคของไทยพบการดื้อยา colistin ร้อยละ 14.81 (Khuntayaporn, 2021)



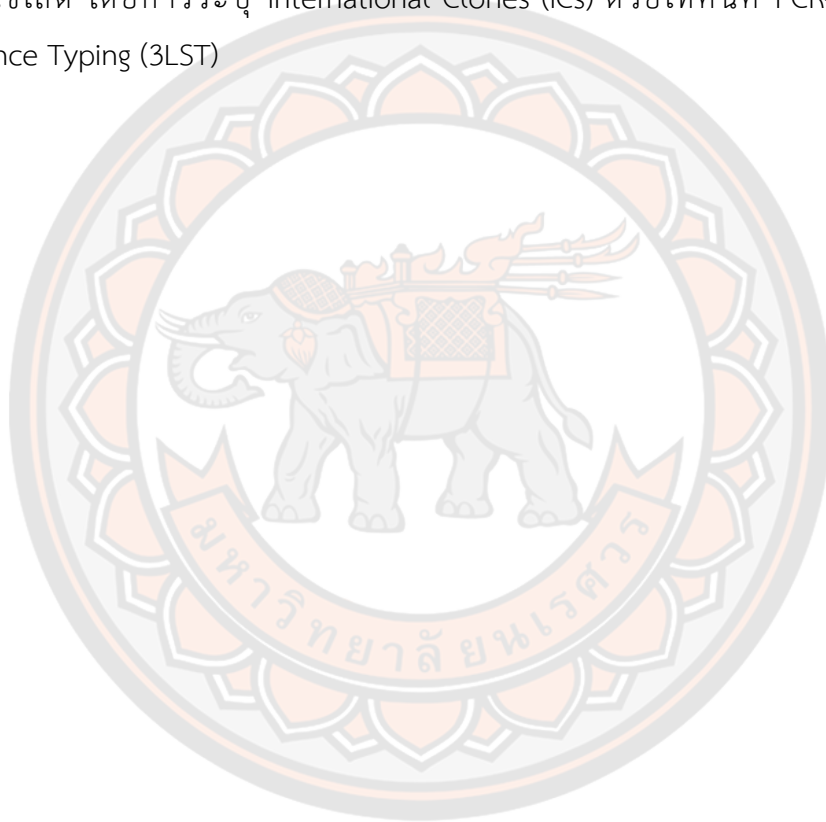
การศึกษาระบาดวิทยาในระดับอนุชีววิทยาของเชื้อ *A. baumannii* ที่แยกได้จากตัวอย่างผู้ป่วยจากทั่วโลก ได้จัดสายพันธุ์ *A. baumannii* ที่ระบาดเป็นส่วนใหญ่ออกเป็นหลายโคลน (International Clones: ICs) โดยพบว่าโคลนที่ระบาดมากที่สุดในยุโรปคือ IC II การศึกษาในประเทศเปรู พบสายพันธุ์ *A. baumannii* ที่แยกได้จากตัวอย่างผู้ป่วยจัดเป็น IC II ร้อยละ 63.8 IC V ร้อยละ 16.3 และ IC อื่น ๆ ร้อยละ 19.9 (Blitchtein et al., 2018) ส่วนในประเทศแถบเอเชียมีการศึกษาระหว่างปี 2013-2018 โดยพบว่า *A. baumannii* ที่แยกได้จากผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในห้อง ICU จำนวน 105 ไอโซเลต (CRAB) ของโรงพยาบาลแห่งหนึ่งในประเทศเกาหลีใต้ พบโคลนที่มีการแพร่กระจายมากที่สุด คือ IC I ร้อยละ 48.3 IC II ร้อยละ 20 และ IC III ร้อยละ 16.2 (Zhang, 2020) การศึกษาของสาธารณรัฐอิสลามอิหร่าน/เปอร์เซีย พบ IC II ในทุกไอโซเลตที่เป็น extensively drug-resistant *A. baumannii* (XDRAB) (Abbaszadeh et al., 2021) ส่วนในประเทศไทยพบ IC II ร้อยละ 65.19 จากโรงพยาบาล 11 แห่ง ใน 5 ภูมิภาคของประเทศไทย ได้แก่ ภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคใต้ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือในระหว่างปี 2016-2017 (Khuntayaporn, 2021) ส่วนการศึกษาอื่นในภาคใต้ของประเทศไทย พบการระบาดของ *A. baumannii* ที่แยกได้ทั้งหมดจำนวน 197 ไอโซเลต ในช่วงเดือนมกราคม 2010-ธันวาคม 2011 และพบเป็น IC II ในทุกไอโซเลต (Chusri et al., 2017) จากที่กล่าวมาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าเชื้อ *A. baumannii* เป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อที่เกิดขึ้นในโรงพยาบาล และคาดว่าจะมีอุบัติการณ์เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ การศึกษาลักษณะการดื้อยาปฏิชีวนะประกอบกับการศึกษาเชิงระบาดวิทยาจึงมีประโยชน์ในเชิงการวิจัยและศึกษาด้านจุลชีววิทยาที่จะทำให้ทราบถึงกลไกการดื้อยาปฏิชีวนะและโคลนต่าง ๆ ที่ระบาดในประเทศไทย จึงเป็นที่มาของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ที่มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะการดื้อยาทั้งในระดับฟีโนไทป์ (phenotype) และ จีโนไทป์ (genotype) รวมถึงการระบุ ICs ของ *A. baumannii* ที่แยกได้จากตัวอย่างผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาล

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษารูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *A. baumannii* ที่แยกได้จากตัวอย่างทางคลินิกของผู้ป่วย
2. เพื่อตรวจหายีนสร้างเอนไซม์ ที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยา carbapenems ของเชื้อ *A. baumannii*
3. เพื่อระบุกลุ่มสายพันธุ์ของเชื้อ *A. baumannii* ที่แยกได้จากตัวอย่างทางคลินิกของผู้ป่วย

### ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *A. baumannii* จำนวน 200 ไอโซเลต ที่แยกได้จากตัวอย่างทางคลินิกของผู้ป่วย ที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาลตติยภูมิในประเทศไทย ระหว่างปี 2020-2021 โดยศึกษารูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะ 11 ชนิด ด้วยวิธี Disc diffusion และคัดเลือกสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยากลุ่ม carbapenems มาศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยา imipenem ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *A. baumannii* ด้วยวิธี Broth microdilution จากนั้นจึงตรวจหายีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเอนไซม์ carbapenemase ด้วยเทคนิค PCR และศึกษาเชิงระบาดวิทยาของทุกไอโซเลต โดยการระบุ International Clones (ICs) ด้วยเทคนิค PCR-based Trilocus sequence Typing (3LST)

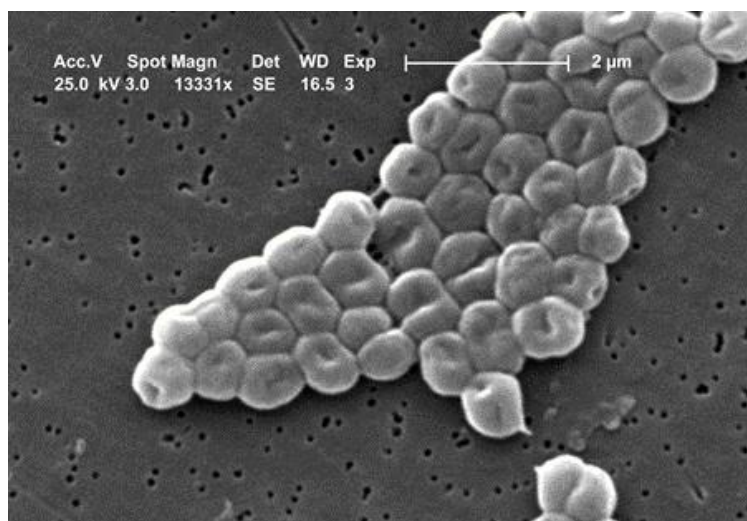


## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### จุลชีววิทยาของเชื้อ *Acinetobacter baumannii*

*Acinetobacter* เป็นสกุล (genus) ที่จัดอยู่ในตระกูล *Moraxellaceae* เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างกลม (coccobacilli) (ภาพ 1) ไม่เคลื่อนที่ (non-motile) สร้างแคปซูล ส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยการเจริญบนอาหาร Blood agar โคโลนีจะมีลักษณะกลม นูน ขนาดประมาณ 2-3 มิลลิเมตร บางสายพันธุ์มีการผลิต Hemolysin ซึ่งเป็นสารพิษที่แบคทีเรียสร้างขึ้น ทำให้เกิดรู (pore-forming) บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์หลายชนิด และหากเพาะเลี้ยงบนอาหาร MacConkey agar จะมีโคโลนีสีชมพูอ่อนจากการหมักน้ำตาลแล็กโตส เจริญเติบโตแบบอาศัยออกซิเจน มีขนาดประมาณ 1.0-1.5 x 1.5 ไมโครเมตร มีดีเอ็นเอที่เป็นเบส G + เบส C ประมาณร้อยละ 39-47 (Howard et al., 2012) สามารถพบเชื้อชนิดนี้ได้ในพื้นที่สิ่งแวดล้อมทั่วไป เช่น ดิน น้ำ และสามารถเจริญได้ในร่างกายรวมถึงผิวหนัง การศึกษาในระดับอนุชีววิทยาโดยอาศัยเทคนิค DNA-DNA hybridization สามารถจัดแบ่งเชื้อในจีนัส *Acinetobacter* ออกเป็น 12 กลุ่มดีเอ็นเอหรือ genospecies ซึ่งบางส่วนได้รับการตั้งชื่ออย่างเป็นทางการ เช่น *A. baumannii* (Genospecies 2) *A. calcoaceticus* (Genospecies 1) *A. haemolyticus* (genospecies 4) *A. johnsonii* (genospecies 7) *A. junii* (genospecies 5) และ *A. lwoffii* (genospecies 8/9) (Bouvet & Grimont, 1987; Guardabassi et al., 1999) การสำรวจของ Vijayakumar และคณะ ในปี 2019 มีการรายงาน *A. baumannii-calcoaceticus* complex (ABC complex) ซึ่งประกอบด้วย 4 สปีชีส์ ได้แก่ *A. calcoaceticus* *A. baumannii* *A. pittii* (genomic species 3) และ *A. nosocomialis* (genomic species 13TU) ซึ่งเชื้อใน ABC complex มีลักษณะทางฟีโนไทป์ที่เหมือนกันและยากต่อการจำแนกออกจากกัน นอกจากนี้ยังมีการรวมอีก 2 สปีชีส์ ได้แก่ *A. seifertii* และ *A. dijkshoorniae* ไว้ใน ABC complex ที่เกี่ยวข้องกับการก่อโรคในมนุษย์ (Cosgaya et al., 2016; Nemeč et al., 2004) โดย *Acinetobacter* ที่เป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อของผู้ป่วยในโรงพยาบาลคือ *A. baumannii* เนื่องจากทนต่อสภาพแวดล้อมได้นาน เช่น อ่างล้างมือ พื้นห้องเตียงผู้ป่วย ทำให้เกิดการสะสมของเชื้ออยู่ในสิ่งแวดล้อม และก่อให้เกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาล (วิจัย สันติมาสิวรกุล, 2009) โดยเฉพาะหอบหืดผู้ป่วยหนัก โดยการติดเชื้อที่พบบ่อย ได้แก่ การติดเชื้อที่ผิวหนัง ทางเดินปัสสาวะ ทางเดินหายใจ (Ventilator-associated pneumonia) ปอดอักเสบ เยื่อช่องท้องอักเสบ และแผลผ่าตัด เป็นต้น (พรพนิกา ฤตวิรุฬห์, 2020)



ภาพ 1 ลักษณะเซลล์ของ *A. baumannii* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

ที่มา: Angusmclellan, 2007

### ปัจจัยก่อโรคของเชื้อ *A. baumannii*

*A. baumannii* เป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาล โดยมีปัจจัยส่งเสริมให้เชื้อสามารถก่อโรค และสามารถปรับตัวเพื่อให้สามารถเจริญได้ในร่างกายมนุษย์ (Sahl et al., 2011) โดยปัจจัยการก่อโรคของเชื้อแบคทีเรีย *A. baumannii* ประกอบด้วยปัจจัยที่สำคัญดังแสดงในภาพ 2

**Outer membrane protein A หรือ OmpA** เป็นโปรตีนบนเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกของแบคทีเรียแกรมลบที่อยู่บนผิวเซลล์ และเป็นส่วนสำคัญที่ก่อให้เกิดโรค ซึ่งเป็นโปรตีนที่ถูกควบคุมการสร้างโดยยีน *ompA* ทำหน้าที่เป็น protease และ hemolysin เป็นกลไกที่เชื้อใช้ป้องกันการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของร่างกายโดย OmpA สามารถเคลื่อนเข้าไปและจับกับไมโทคอนเดรีย (Mitochondria) ทำให้ไม่สามารถทำหน้าที่ได้จึงก่อให้เกิดการบวม ทำให้เกิดการบาดเจ็บของเซลล์บริเวณทางเดินหายใจในระหว่างการติดเชื้อ (Choi et al., 2009; Choi et al., 2008) และมีการหลั่งสาร เช่น cytochrome chem protein ทำให้เซลล์โฮสต์ตาย (Howard et al., 2012) นอกจากนี้ยังมีโปรตีน Omp 33-36-kDa ซึ่งทำหน้าที่เป็นช่องทางการผ่านของน้ำและเป็นส่วนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยา carbapenems โดยโปรตีนตัวนี้จะถูกปล่อยเข้าไปในเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันและเซลล์ที่เกี่ยวข้องส่งผลให้เซลล์ตาย โดยปิดกั้นระบบการรักษาตัวเองของเซลล์ จึงทำให้เชื้ออยู่ภายในเซลล์และพัฒนาตัวเองให้เป็นพิษต่อเซลล์ได้ภายหลัง และยังมีบทบาทสำคัญต่อความรุนแรงและความแข็งแรงของเชื้อ *A. baumannii* (Rumbo et al., 2014) นอกจากนี้ยังมี Omp 33-36 CarO

ที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาปฏิชีวนะ carbapenems โดยที่ CarO ทำให้ยาปฏิชีวนะแทรกซึมเข้าสู่ นิวโทรฟิลในปอดต่ำลง โดยเข้าไปลดการตอบสนองของ Proinflammatory ในหลอดลมและปอด ทำให้แบคทีเรียกระจายทั่วส่งผลให้เกิดโรคปอดบวมอย่างรุนแรง (Sato et al., 2017)

**พอลิแซ็กคาไรด์บนผิวเซลล์ (Surface polysaccharide) *A. baumannii*** มีพอลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งเป็นโครงสร้างที่อยู่บนผิวเซลล์ ได้แก่ แคปซูล (capsule) poly- $\beta$ -(1-6)-*N*-acetyl glucosamine (PNAG) และ lipopolysaccharide (LPS) โดยโครงสร้างเหล่านี้เป็นส่วนสำคัญที่สามารถทำให้ *A. baumannii* เจริญเติบโต และอยู่รอดในร่างกาย โดยที่ *A. baumannii* มียีนที่เรียกว่า Protein tyrosine kinase (*ptk*) ซึ่งเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างแคปซูลจากการทำหน้าที่ต่อหน่วยย่อยของ แคปซูล (Capsule polymerization) และมียีน Polysaccharide export outer membrane protein (*epsA*) เพื่อช่วยประกอบร่างและส่งแคปซูลออกสู่บริเวณผิวเซลล์ และทำให้ *A. baumannii* สามารถเจริญได้ดีในซีรัมของมนุษย์ ทั้งยังช่วยให้เกิดการต้านทานต่อโปรตีนคอมพลีเมนต์ (Complement) ในเลือดได้ (Russo et al., 2010) *A. baumannii* มี LPS ซึ่งฝังอยู่บริเวณชั้น บนของ Lipid bi-layer ของเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก โดยประกอบด้วยส่วนสำคัญ 3 ส่วน คือ Lipid A อยู่ที่เยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก Core และ O-antigen ที่ยื่นออกนอกเซลล์ โดย LPS มีด้วยกัน 2 ชนิด ได้แก่ Rough (R-) type ที่มีส่วนประกอบหลักครบทั้ง 3 ส่วนและ Smooth (S-) type ซึ่งเป็นชนิดที่ไม่มี O-antigen หรือตั้งแต่บางส่วนของ Core โดยใน *A. baumannii* สามารถสร้าง LPS ได้ทั้ง 2 ชนิด ทำให้เชื่อนี้สามารถเกิด Endotoxin จากการกระตุ้นการส่งสัญญาณการอักเสบ (Inflammatory signaling pathway) (Erridge et al., 2007) เพื่อกำจัดเชื้อและควบคุมการอักเสบ ที่มากเกินไปผ่านการจับกับเซลล์ภูมิคุ้มกันของมนุษย์ที่มี Toll-like receptor 4-Myeloid differentiation factor 2 complex (TLR 4-MD2 complex) และ CD14 บนผิวเซลล์ (Needham & Trent, 2013)

**ไบโอฟิล์ม (Biofilm)** เป็นการรวมตัวของจุลินทรีย์และสร้างสารต่าง ๆ แล้วหลั่งออก ภายนอกเซลล์ เพื่อให้จุลินทรีย์ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ ซึ่งนับเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่มีความรุนแรงและเป็นคุณสมบัติสำคัญในการก่อโรคของเชื้อ *A. baumannii* ทำให้เชื้อแบคทีเรีย สามารถดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิด นอกจากนี้ไบโอฟิล์มยังเป็นสื่อกลางของเชื้อโรคและโฮสต์ ซึ่ง *A. baumannii* มีระบบ chaperon/usher pilus หรือเรียกว่า Csu pili ซึ่งถูกควบคุมโดยระบบ BfmRS two-component (TC) (Greene et al., 2016) ที่เป็นตัวควบคุมการแสดงออกของยีน ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างและก่อไบโอฟิล์ม ทำให้เชื้อสามารถสร้างแคปซูลเพื่อตอบสนองต่อยาปฏิชีวนะ และยังเป็นสื่อกลางการสร้าง Pili เพื่อยึดเกาะกับเซลล์ นอกจากนี้ยังมีระบบ TC อีกระบบหนึ่ง ได้แก่ GacS โดยมียีน *gacSA* ที่ควบคุมยีนที่ก่อให้เกิดไบโอฟิล์มที่อาจส่งผลทางอ้อมต่อการแสดงออกของ ยีน *Csu* ในการผลิตไบโอฟิล์ม (Tomaras et al., 2008)

*A. baumannii* มีลักษณะเฉพาะในการผลิตโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับไบโอฟิล์ม (BapAb) ที่มีความคล้ายกับโปรตีน Bap ของเชื้อ *Staphylococcus aureus* แต่อย่างไรก็ตามโปรตีนที่มีลักษณะคล้าย Bap BLP1 และ BLP2 อาจพบใน *A. baumannii* บางสายพันธุ์ และนอกจากการผลิตไบโอฟิล์มแล้วอาจมีการผลิต PNAG เพื่อช่วยในการยึดเกาะ โดย PNAG ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นจากยีน *pgaABCD* ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ช่วยในการยึดเกาะกับพื้นผิวของวัตถุ และยังช่วยป้องกันแบคทีเรียจากการถูกทำลายโดยระบบภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด (Innate immunity) ของร่างกาย ซึ่ง PNAG ยังมีส่วนช่วยให้ไบโอฟิล์มมีความแข็งแรงและสมบูรณ์ (Choi et al., 2009)

ระบบ Quorum sensing มีบทบาทสำคัญในการสร้างไบโอฟิล์ม ซึ่งเป็นรูปแบบของกลไกการสื่อสารกันระหว่างแบคทีเรียเพื่อรักษาความหนาแน่นของประชากร ซึ่งปกติแล้วจะเกิดจาก autoinducer (Whiteley et al., 2017) ที่เป็นสารประกอบคล้ายฮอโมน เช่น acyl homoserine lactones (ALHs) มีหน้าที่เป็นตัวควบคุมการผลิตไบโอฟิล์ม โดยจะผลิตบนพื้นผิวของสิ่งต่าง ๆ เช่น แก้ว เครื่องมือ อุปกรณ์ที่ใช้ในหอผู้ป่วย หรือเยื่อในร่างกาย การสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อพบบนสายสวนปัสสาวะของผู้ป่วย ทำให้ผู้ป่วยติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ ทำให้ยาปฏิชีวนะไม่สามารถซึมผ่านไบโอฟิล์มและออกฤทธิ์ทำลายเชื้อที่อยู่ในไบโอฟิล์มได้ (McConnell et al., 2013) นอกจากนี้การสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อสามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อที่ผิวหนังและเนื้อเยื่ออ่อนจากการสร้างไบโอฟิล์มบนบาดแผล (Dallo & Weitao, 2010)

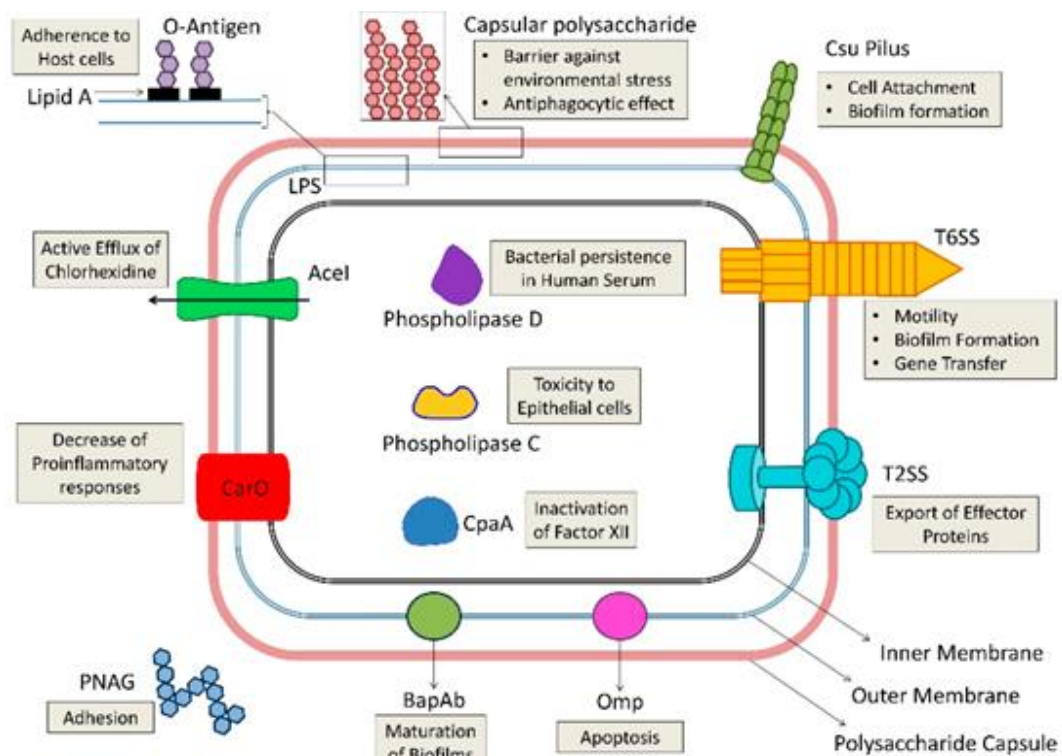
**Motility** การเคลื่อนที่ของแบคทีเรียมีผลต่อการติดเชื้อและเพิ่มความรุนแรงได้ในแบคทีเรียบางชนิดใน *A. baumannii* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ เนื่องจากไม่มีแฟลกเจลลาแต่เชื้อนี้สามารถอยู่รอดได้ในระหว่างการติดเชื้อและสามารถแพร่กระจายบนพื้นผิวต่าง ๆ ได้โดยใช้การเคลื่อนที่แบบกระตุก (twitching motility) (Harding et al., 2013) ที่เกิดจากการยึดหดของพิล (pili) ชนิดที่ 4 (type IV pili assembly system) (Clemmer et al., 2011) รวมถึงการสังเคราะห์ โพลีแซ็กคาไรด์ออกนอกเซลล์ที่ด้านหลังของแบคทีเรีย ส่งผลให้เกิดการผลึกแบคทีเรียเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (McQueary et al., 2012) ทั้งนี้พิลชนิดที่ 4 ยังถูกใช้ในการทรานส์เฟอร์เมชันตามธรรมชาติ (Nature transformation) และใช้ยึดเกาะกับพื้นผิวของวัตถุ (Abiotic surface) นอกจากนี้ *A. baumannii* ยังมี T6SS ซึ่งเป็นทางผ่านของโปรตีนเพื่อเข้าสู่เซลล์ยูคาริโอต และเกี่ยวข้องกับการยับยั้ง phagocytosis (Ma et al., 2009) และการชักนำของ apoptosis (Suarez et al., 2010)

**Micronutrient Acquisition system** เชื้อ *A. baumannii* สามารถอยู่รอดได้ในสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ในโรงพยาบาล รวมถึงในร่างกายมนุษย์ได้ เนื่องจากสามารถหลั่งสาร siderophore ซึ่งเป็นสารที่สามารถจับกับธาตุเหล็ก (Iron chelator) ภายในร่างกายได้ โดยการแย่งจับกับธาตุเหล็กจากโปรตีน transferrin ในเลือด หรือ lactoferrin ในสารคัดหลั่งได้ (Dorsey et al.,

2003) จึงทำให้ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมที่มีโลหะอย่างจำกัดได้ ซึ่งยีนที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งและกระบวนการชีวสังเคราะห์ของ *A. baumannii* ได้แก่ ยีน *bauA* และ *basD* (Zimblet et al., 2009) ใน *A. baumannii* ใช้ Iron-regulated outer membrane protein system (IROMP) ในการควบคุมการขนย้าย Siderophore ที่จับกับธาตุเหล็ก (Vallenet et al., 2008) ซึ่ง IROMP มีส่วนประกอบที่จำเพาะกับโปรตีน ได้แก่ ตัวรับบนเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก โปรตีนใน Periplasmic space และโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นใน (Dorsey et al., 2003)

**Protein secretion** *A. baumannii* มีการหลั่งโปรตีนหรือสารจากโครงสร้างของผิวเซลล์ที่มีระบบการหลั่งโปรตีนประเภทที่ 2 (T2SS) เพื่อส่งออกโปรตีนหลายชนิด โดยใช้โปรตีนที่มีสัญญาณการหลั่ง N-terminal ผ่านเยื่อหุ้มชั้นใน และหลั่งโปรตีนออกนอกเซลล์ ซึ่งโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการหลั่งสารใน T2SS ได้แก่ CpaA ซึ่งเป็น metallo-endopeptidase มีหน้าที่ในการย่อย fibrinogen ทำให้ส่งผลต่อการแข็งตัวของพลาสมา (Sandkvist, 2001) รวมถึง LipA และ LipH ซึ่งเป็นไลเปสที่จำเป็นต่อการใช้ไขมันจากภายนอกเซลล์ (Tilley et al., 2014)

**Enzyme** เอนไซม์ที่เชื้อสร้างขึ้นมีบทบาทสำคัญต่อความรุนแรงของการติดเชื้อใน *A. baumannii* มีการสร้างเอนไซม์ Phospholipase ซึ่งเป็นเอนไซม์ hydrolytic ที่สามารถสลายไขมันและ phospholipid ของเยื่อหุ้มเซลล์ได้ โดยเอนไซม์ phospholipase มี 2 ชนิด ได้แก่ phospholipase D ที่เกิดจากยีน *pld* ช่วยให้เชื้อสามารถอยู่ในซีรัมของมนุษย์ (Jacobs et al., 2010) และ phospholipase C ที่เกิดจากยีน *plc1* ทำให้เซลล์เยื่อหุ้มเป็นพิษซึ่งการสลายเซลล์เยื่อหุ้มอาจทำให้เกิดการติดเชื้อที่เซลล์เยื่อหุ้มได้ (Camarena et al., 2010) นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์ Protease เช่น CpaA ที่เป็นลักษณะเฉพาะของไกแคน และสามารถยับยั้งการแข็งตัวของเลือดโดยลดการก่อตัวของลิ่มเลือด (Thrombus) ในหลอดเลือด เป็นต้น (Waack et al., 2018)



ภาพ 2 ปัจจัยก่อโรคที่สำคัญของเชื้อ *A. baumannii*

ที่มา: Moubareck, & Dalal, 2020

### การระบาดของเชื้อ *A. baumannii*

โรคติดเชื้อแบคทีเรียในปัจจุบันเป็นปัญหาสำคัญ โดยเฉพาะการติดเชื้อที่เกิดขึ้นภายในโรงพยาบาลที่มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย ที่สำคัญ ได้แก่ *Enterococcus faecium* *S. aureus* *Klebsiella pneumoniae* *A. baumannii* *Pseudomonas aeruginosa* และ *Enterobacter* spp. โดยเรียกแบคทีเรียกลุ่มนี้ว่า ESKAPE โดยเฉพาะเชื้อ *A. baumannii* ทางองค์การอนามัยโลก (World health organization; WHO) ได้จัดให้เชื้อ *A. baumannii* เป็นเชื้อโรคที่มีความสำคัญที่เป็นภัยคุกคามอย่างรุนแรงต่อสุขภาพของมนุษย์ โรงพยาบาล สถานพยาบาล และกลุ่มผู้ป่วยที่จำเป็นต้องใส่อุปกรณ์ทางการแพทย์โดยเฉพาะเครื่องช่วยหายใจและสายสวน รวมถึงผู้ป่วยที่จำเป็นต้องการใช้ยาปฏิชีวนะส่งผลให้มีความจำเป็นต่อการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างเร่งด่วน เนื่องจากเชื้อนี้สามารถดื้อต่อยาปฏิชีวนะได้หลายชนิด (World health organization, 2019) ส่งผลให้การรักษาโรคติดเชื้อจาก *A. baumannii* ในปัจจุบันได้รับผลกระทบอย่างหนักจากการดื้อยา (Wong et al., 2017)



ในหลายประเทศทั่วโลก รวมถึงประเทศไทยพบว่าเชื้อ *A. baumannii* กำลังเป็นปัญหาสำคัญที่ต้องเผชิญเนื่องจากเชื้อนี้สามารถดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิดและมีกลไกการดื้อยาหลายรูปแบบทำให้ผู้ป่วยที่ติดเชื้อนี้มีอัตราการเสียชีวิตสูง โดยพบว่าประเทศสเปนพบผู้ป่วยติดเชื้อจากการใส่เครื่องช่วยหายใจโดยมีเชื้อ *A. baumannii* เป็นสาเหตุของการติดเชื้อเป็นลำดับสามโดยมีอัตราการติดเชื้อเพิ่มขึ้นร้อยละ 8.3 ในปี 2003 เป็นร้อยละ 8.8 ในปี 2005 (Álvarez-Lerma et al., 2003) ในเมืองไทเป ประเทศไต้หวันปี 2018 ได้มีการศึกษาผู้ป่วยติดเชื้อในกระแสเลือดจำนวน 825 ราย และพบว่า 31 รายเกิดจากการติดเชื้อ *Acinetobacter* โดยที่ 18 รายมีเชื้อ *A. baumannii* เป็นสาเหตุหลักของการติดเชื้อ (Chung-Ting et al., 2018) ทั้งในประเทศจีนปี 2018 พบผู้ป่วยติดเชื้อจากการใส่เครื่องช่วยหายใจโดยมีเชื้อ *A. baumannii* เป็นสาเหตุโดยพบว่าผู้ป่วยร้อยละ 37.2 มีการเสียชีวิตหลังการติดเชื้อ 30 วัน (Ju et al., 2018) ในประเทศไทยพบการติดเชื้อ *A. baumannii* ในโรงพยาบาลเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 2 เป็นร้อยละ 30 ซึ่งส่วนใหญ่พบในหออภิบาลผู้ป่วย (Saelao & Utiswannakul, 2008) และจากข้อมูลการติดเชื้อภายในโรงพยาบาลตติยภูมิทั่วประเทศในผู้ป่วยโรคปอดติดเชื้อ 198 ราย พบว่ามีสาเหตุหลักมาจากเชื้อ *A. baumannii* ประมาณร้อยละ 30 ของผู้ป่วยโรคปอดติดเชื้อของทั้ง 12 โรงพยาบาลในประเทศไทย (Werarak et al., 2012) ในช่วงเดือนกรกฎาคมถึงสิงหาคม ปี 2012 ได้มีการสำรวจโรคปอดติดเชื้อจากการใส่เครื่องช่วยหายใจ โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ พบว่าร้อยละ 55 เกิดจากเชื้อ *A. baumannii* และทั้งหมดเป็น imipenem-resistance *A. baumannii* *P. aeruginosa* และ *S. maltophilia* (วีรพงศ์ วัฒนาวนิช, 2013) เชื้อ *A. baumannii* มีการดื้อยาหลายรูปแบบซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นการสร้างเอนไซม์ carbapenemases เช่น ยีน *bla<sub>OXA-23</sub>* *bla<sub>OXA-24</sub>* *bla<sub>OXA-51</sub>* และ *bla<sub>OXA-58</sub>* ซึ่งมีรายงานการศึกษาเชื้อ *A. baumannii* จากโรงพยาบาลตติยภูมิ 4 แห่งในประเทศไทยในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2013-กุมภาพันธ์ 2015 พบว่าร้อยละ 84.9 เป็นสายพันธุ์ของเชื้อ *A. baumannii* (Carbapenem resistant *A. baumannii*; CRAB) ที่ดื้อต่อยา carbapenems และพบยีน *bla<sub>OXA-23</sub>* ร้อยละ 82.6 *bla<sub>OXA-24</sub>* ร้อยละ 0.3 และ *bla<sub>OXA-58</sub>* ร้อยละ 6.5 (Leungtongkam et al., 2018) ในปี 2020 มีรายงานการศึกษา CRAB จากโรงพยาบาล 11 แห่งในประเทศไทยพบทุกไอโซเลตมียีน *bla<sub>OXA-51</sub>* และ *bla<sub>OXA-23</sub>* ร้อยละ 68.31 *bla<sub>OXA-24/40</sub>* ร้อยละ 4.92 และ *bla<sub>OXA-58</sub>* ร้อยละ 1.09 (Thirapanmethee et al., 2020) ต่อมาในปี 2021 มีรายงานการศึกษา *A. baumannii* จากโรงพยาบาล 11 แห่งใน 5 ภูมิภาคของประเทศไทย ได้แก่ เมืองหลวง ภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคใต้ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยพบทุกไอโซเลตดื้อต่อยา carbapenems และพบยีน *bla<sub>OXA-23</sub>* มากถึงร้อยละ 92.59 *bla<sub>OXA-24/40</sub>* ร้อยละ 14.81 และ *bla<sub>OXA-58</sub>* ร้อยละ 1.48 (Khuntayaporn, 2021) ปัจจุบันมีการศึกษาการดื้อยาปฏิชีวนะของ *A. baumannii* (CRAB) จากโรงพยาบาลมหาราชนครศรีธรรมราช โดยพบยีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยา carbapenems มากที่สุดคือ *bla<sub>OXA23-like</sub>*

ร้อยละ 93.60  $bla_{VIM}$  ร้อยละ 79.65  $bla_{NDM}$  ร้อยละ 12.21 และ  $bla_{IMP}$  ร้อยละ 0.58 (Santajit, 2023)

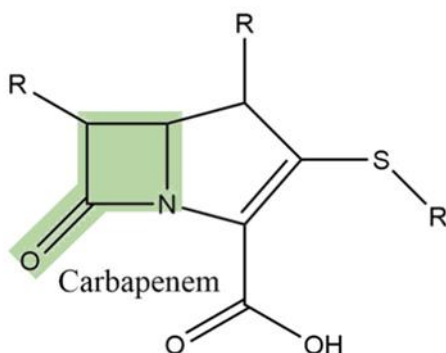
## ยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อจาก *A. baumannii*

### Beta-lactam ( $\beta$ -lactam)

เป็นยาปฏิชีวนะที่มีประสิทธิภาพสูงสามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียได้หลายสปีชีส์ Beta-lactam มีหลายชนิด เช่น penicillins cephalosporins monobactams และ carbapenems โดยแต่ละชนิดจะยับยั้งโปรตีนที่จับกับเพนิซิลลินของแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ ที่จำเป็นสำหรับการสังเคราะห์และเพิ่มจำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย ซึ่งยาปฏิชีวนะกลุ่ม Beta-lactam ทั้งหมดจะมีวงแหวน Beta-lactam เหมือนกัน แต่มีสายโซ่ด้านข้าง (side chains) ที่แตกต่างกัน ซึ่งยาปฏิชีวนะ penicillins และ monobactams เช่น aztreonam มี side chain R1 เท่านั้น ในขณะที่ beta-lactams อื่น ๆ เช่น cephalosporins มีทั้ง R1 และ R2 side chain (Pichichero, 2014) โดยโครงสร้างวงแหวน Beta-lactam เรียกว่า Beta-lactam ring ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายกับ D-ala-D-ala ในสายเปปไทโดไกลแคนทำให้ Beta-lactam เข้าแย่งจับกับเอนไซม์ PBP เช่น transpeptidase และ carboxypeptidases ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทในกระบวนการ cross-linking หรือ transpeptidation ระหว่างสายเปปไทด์ของแกนโพลีแซคคาไรด์ ส่งผลให้ผนังเซลล์ของแบคทีเรียไม่แข็งแรง และตายในที่สุด (ทิพวรรณ หมิ่นหนู, 2011) นอกจากนี้ beta-lactam ring และ side chain มีศักยภาพในการสร้างภูมิคุ้มกัน เมื่อให้ยาแล้ว beta-lactams จะสลายตัวตามธรรมชาติเนื่องจากความไม่เสถียรทางเคมีของ beta-lactam ring (Ellen, 2021)

carbapenems เป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่ม Beta-lactam (ภาพ 3) ที่มีความนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายเนื่องจากมีประสิทธิภาพสูงเมื่อเทียบกับยาในกลุ่ม Beta-lactam ชนิดอื่น ๆ มีโครงสร้างของวงแหวน Beta-lactam เชื่อมต่อกับ 5-membered ring ซึ่ง carbapenems สามารถยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ที่เป็นส่วนสำคัญต่อโครงสร้างของผนังเซลล์แบคทีเรีย โดยการยับยั้งการยึดติดกันระหว่างเพปไทโดไกลแคน ส่งผลให้เกิดการสลายตัวของเซลล์ และ carbapenem ยังสามารถเข้าสู่เซลล์แบคทีเรียโดยอาศัย outer membrane protein (OMP) (Armstrong, 2021) ในประเทศไทยมีการจดทะเบียนยาในกลุ่มนี้ไว้ 4 ชนิด ได้แก่ imipenem meropenem doripenem และ ertapenem (ทิพวรรณ หมิ่นหนู, 2011) โดยสามารถนำมาใช้รักษาโรคติดเชื้อได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ โดยเฉพาะ *A. baumannii* ซึ่งยาปฏิชีวนะ imipenem สามารถจับกับ PBP ได้ดี และทนต่อการถูกทำลายโดยเอนไซม์ Beta-lactamase class A C และ D (พรรณนิกา ฤตวิรุฬห์, 2020) แต่ในปัจจุบันเชื้อ *A. baumannii* สามารถต้านทานต่อยาในกลุ่มนี้ (กำธร มาลาธรรม, 2015)

*A. baumannii* สามารถสร้างเอนไซม์เพื่อใช้ในการทำลายโครงสร้างของยาปฏิชีวนะ โดยเฉพาะในกลุ่มยาปฏิชีวนะ carbapenem โดยหลัก ๆ แล้วคือการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -lactamases หรือเรียกว่า carbapenemase ซึ่งทำให้ยาปฏิชีวนะหยุดทำงานก่อนที่จะกระตุ้นให้เกิดการรักษา จะประกอบด้วยคลาส A B C และ D ซึ่งแต่ละคลาสจะมีชื่อเรียก และคุณสมบัติที่ต่างกันโดยคลาส A ( $\beta$ -lactamases หรือ Penicillinase) และคลาส D เป็นเอนไซม์ที่ขึ้นอยู่กับกรดอะมิโน serine (Armstrong, 2021) โดยคลาส A สามารถไฮโดรไลซ์ penicillins และ cephalosporins ส่วนคลาส B หรือ metallo- $\beta$ -lactamases (MBL) สามารถสลายสารตั้งต้นได้หลากหลาย (Broad substrate specificity) โดยอาศัยธาตุสังกะสีในการทำปฏิกิริยาจึงทำให้สามารถไฮโดรไลซ์ยาในกลุ่ม  $\beta$ -lactams ทั้งหมดซึ่งรวมถึง carbapenems แต่สามารถถูกยับยั้งการทำงานโดยสารพวกคีเลต (metal chelators) เช่น Edetate Disodium (EDTD) และกรด Di-picolinic (Hammoudi et al., 2014) โดยเอนไซม์ในกลุ่ม metallo- $\beta$ -lactamases ส่วนใหญ่แล้วถูกควบคุมด้วยยีน เช่น *bla<sub>NDM</sub>* (Chen et al., 2011) หรือ IMP (imipenemase) เป็นชื่อเอนไซม์ที่มาจากความสามารถในการสลายยา imipenem โดยสลายสารตั้งต้นของยาในกลุ่ม cephalosporins และ carbapenems เป็นต้น โดยยีน *bla<sub>NDM</sub>* ถูกพบครั้งแรกในเชื้อ *K. pneumoniae* และ *E. coli* จากนักท่องเที่ยวชาวสวีเดนที่กลับจากเมืองนิวเดลี (New Delhi) ประเทศอินเดีย (Yong, 2009) เอนไซม์คลาส C (cephalosporinase) หรือ *Acinetobacter*-derived cephalosporinases (ADCs) ที่ถูกควบคุมด้วย cephalosporinases ด้วยยีน *bla<sub>ampC</sub>* ซึ่งอยู่บนโครโมโซมของเชื้อ *A. baumannii* และสามารถสลายยาในกลุ่ม penicillin cephalosporin ที่มีฤทธิ์ขยาย (Extended-spectrum cephalosporin) (Heritier et al., 2006) และคลาส D หรือ oxacillinases (OXA) เป็นเอนไซม์ที่ต้องการกรดอะมิโน serine ที่ตำแหน่งการออกฤทธิ์ของเอนไซม์ และสามารถสลายยาในกลุ่ม carbapenems อย่าง imipenem และ meropenem ยกเว้น cephalosporin และ aztreonam และโดยทั่วไปสามารถไฮโดรไลซ์ Oxacillin ได้เร็วกว่า benzylpenicillin ทำให้เรียกเอนไซม์นี้ว่า Carbapenem-hydrolyzing class D  $\beta$ -lactamase (CHDL) (Heritier et al., 2006) ซึ่ง OXA ของ *A. baumannii* แบ่งออกเป็น 5 กลุ่มย่อยโดยใช้ Phylogenetics ได้แก่ กลุ่มที่มีลำดับกรดอะมิโนคล้ายกับ OXA-51/69 ซึ่งมีอยู่บนโครโมโซมและสามารถพบได้ทั่วไปตามธรรมชาติของเชื้อ *A. baumannii* กลุ่มที่มีลำดับกรดอะมิโนคล้าย OXA-23 OXA-24/40 และ OXA-58 ซึ่ง OXA-58 พบได้เฉพาะใน *Acinetobacter* spp. เท่านั้น โดยกลุ่มนี้สามารถพบได้ทั้งบนโครโมโซมและพลาสมิด และกลุ่มที่มีลำดับกรดอะมิโนคล้าย OXA-143 ซึ่งพบบนพลาสมิดเท่านั้น

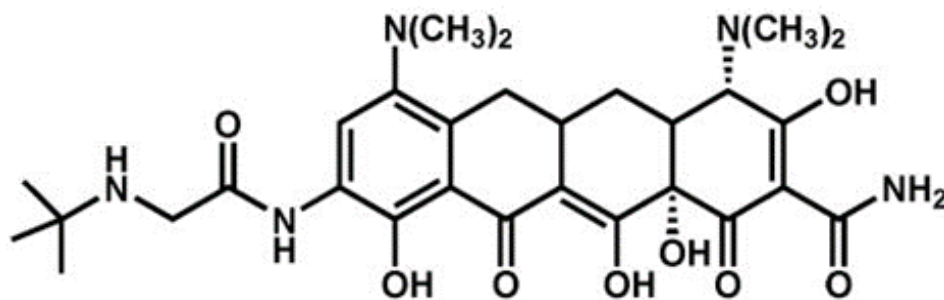


ภาพ 3 โครงสร้างของ carbapenem

ที่มา: Vrancianu, 2020

**tetracycline** เป็นยาปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์กว้างในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียมีโครงสร้างเป็น 4-fused cyclic six-membered ring ออกฤทธิ์โดยการจับที่บริเวณ 16S rRNA ของ 30S ไรโบโซม และขัดขวาง aminoacyl-tRNA ที่จะเข้ามาบริเวณ A site ของ 30S ribosome-mRNA ส่งผลให้โปรตีนหยุดชะงัก (พรรณนิภา ฤตวิรุฬห์, 2020) ยาในกลุ่มนี้ เช่น chlortetracycline oxytetracycline และ tigecycline

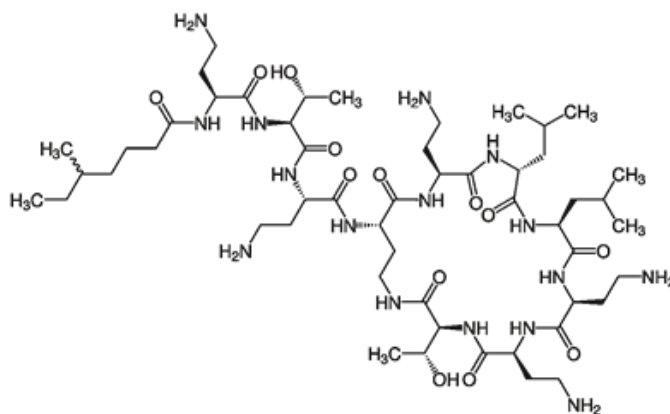
tigecycline เป็นยาปฏิชีวนะกึ่งสังเคราะห์กลุ่มใหม่ที่มีการพัฒนามาจากยากลุ่ม tetracycline (ภาพ 4) ที่มีการรับรองเพื่อใช้รักษาอาการติดเชื้อจาก MDR *A. baumannii* (Giamarellou & Poulakou, 2009) มีการเพิ่มโครงสร้างส่วนที่เป็น Glycylamido เข้าไปที่ ring-D ที่ติดกับตำแหน่ง C-9 ทำให้โครงสร้างมีขนาดใหญ่ขึ้น ทนต่อการถูกขับออกจากเซลล์ (Efflux pump) และยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนของแบคทีเรียโดยเพิ่มความสามารถในการจับกับไรโบโซมที่ 16S rRNA แบบย้อนกลับและป้องกันการถอดรหัส mRNA เพื่อขัดขวางโมเลกุลของ aminoacyl tRNA ไม่ให้เข้าสู่บริเวณ A site ของไรโบโซม โดย tigecycline เป็นหนึ่งในวิธีการรักษาขั้นสุดท้ายสำหรับผู้ป่วยที่ติดเชื้อที่เกิดจากสายพันธุ์ *A. baumannii* ที่ดื้อต่อยา carbapenems และได้รับการระบุว่ามีความสำคัญสูงสุดในการวิจัยสำหรับการพัฒนาการรักษาแบบใหม่โดยองค์การอนามัยโลกและศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคแห่งสหรัฐอเมริกา (CDC, 2019) ทั้งยังเป็นยาทางเลือกในการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อดื้อยาหลายชนิด ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ เช่น *A. baumannii* ยกเว้นเชื้อ *P. aeruginosa* เชื้อ atypical bacteria และเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน (Dilokpattanamongkol, 2013)



ภาพ 4 โครงสร้างของ tigecycline

ที่มา: Olson et al., 2006

**polymyxin** เป็นยาปฏิชีวนะจากแบคทีเรีย *Paenibacillus polymyxa* มีโครงสร้างแบบ lipopeptide ขนาดเล็ก ประกอบด้วย polycationic peptide ring เชื่อมอยู่กับ fatty acid tail มีฤทธิ์ทำลายเชื้อแบคทีเรียโดยจะเข้าไปรวมตัวกับ phospholipid ของเซลล์เมมเบรน ส่งผลให้เซลล์และเมมเบรนเสียสภาพ รวมทั้งสูญเสียเมตาบอลิซึมในไซโตพลาสซึมทำให้ส่วนประกอบภายในไหลออกมาออกเซลล์ polymyxin สามารถแบ่งออกเป็น 5 ชนิด A-E โดยส่วนใหญ่จะใช้กันอยู่ 2 ชนิด คือ polymyxin B และ polymyxin E (colistin) (ภาพ 5) (พรรณนิภา ฤตวิรุฬห์, 2020) colistin เป็นยาปฏิชีวนะประเภท polypeptide cationic ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ มีกรดอะมิโน 3 ชนิด ประกอบเป็นโครงสร้างโมเลกุล ได้แก่ leucine threonine และ Diaminobutyric acid ยา colistin มีฤทธิ์ทำลายเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ดี เช่น *A. baumannii* *Salmonella* spp. และ *Escherichia coli* เป็นต้น โดย colistin เมื่ออยู่ในเซลล์แบคทีเรียจะจับกับผนังเซลล์ของแบคทีเรีย โดยการจับ แคลเซียม และแมกนีเซียมที่ผนังเซลล์ออก ทำให้ผนังของเซลล์แบคทีเรียรั่ว และตายในที่สุด (พวงทอง พวงแก้ว, 2012) ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์ของยา colistin ส่วนใหญ่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์จึงทำให้แบคทีเรียมีโอกาสดื้อต่อยาได้น้อย (วิชญ์ ธรรมลิขิตกุล, 2008) โดยยานี้ออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียโดยการจับกับ LPS ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการแพร่ผ่านของ สารชนิดต่าง ๆ ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก ทำให้เซลล์แบคทีเรียตาย (Sitaruno & Santimaleeworagun, 2018) ทั้งนี้การใช้ยา colistin อาจทำให้เกิดผลข้างเคียงโดยมีพิษต่อไตทำให้เกิด acute tubular necrosis และพิษต่อระบบประสาททำให้เกิดอาการเวียนศีรษะ ชาที่ใบหน้า สับสน เดินเซ การมองเห็นผิดปกติและกล้ามเนื้ออ่อนแรงจนหยุดหายใจได้ (วิชญ์ ธรรมลิขิตกุล, 2008)



ภาพ 5 โครงสร้างของ Polymyxin E (Colistin)

ที่มา: Loyo, 2010

**aminoglycoside** เป็นยาปฏิชีวนะที่สร้างจากแบคทีเรียในดิน ซึ่งมีโครงสร้างที่ประกอบด้วย trisaccharide ที่มีหมู่อะมิโน ( $-NH_2$ ) โดยยาในกลุ่มนี้ เช่น streptomycin neomycin kanamycin และ gentamycin ซึ่งยาจะออกฤทธิ์โดยการจับที่ 16S rRNA ของ 30S ไรโบโซม ส่งผลให้โครงสร้างของ 30S เปลี่ยนแปลงมีผลให้การแปลรหัสของ Codon ผิด และนำกรดอะมิโนที่ไม่ถูกต้องเข้าไปในสายโพลีเปปไทด์ ส่งผลให้โปรตีนที่ได้ทำงานผิดปกติ และทำให้เซลล์ตาย (Krause et al., 2016) ยาปฏิชีวนะ aminoglycoside มีฤทธิ์ทำลายแบคทีเรียในวงกว้าง ทั้งแบคทีเรียแกรมลบได้หลายชนิดรวมถึง *A. baumannii* และแบคทีเรียแกรมบวก แต่มีขีดจำกัดต่อการใช้นี้ เนื่องจากมีผลข้างเคียงสูง เช่น การสูญเสียการได้ยิน การทำงานของไตผิดปกติ เป็นต้น (พรรณนิภา ฤตวิรุฬห์, 2020)

ในปี 2011 มีรายงานถึงนิยามของรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะ สำหรับใช้ในการจำแนกกลุ่มของแบคทีเรีย โดยแบ่งเป็น 3 รูปแบบ จากการดื้อยาปฏิชีวนะใน 9 กลุ่มยาประกอบด้วย aminoglycosides carbapenems antipseudomonal penicillins +  $\beta$ -lactamase inhibitors extended-spectrum cephalosporins folate pathway inhibitors penicillins +  $\beta$ -lactamase inhibitors polymyxins และ tetracyclines ได้แก่ non-MDR MDR XDR และ PDR กลุ่มของแบคทีเรียที่ไม่ดื้อยา หรือดื้อยาไม่เกิน 2 กลุ่ม จัดเป็น non-MDR โดยเชื้อที่ถูกจัดอยู่ในรูปแบบ MDR จะแสดงการดื้อยาปฏิชีวนะชนิดที่สำคัญอย่างน้อยหนึ่งชนิดในแต่ละกลุ่มยาตั้งแต่สามกลุ่มขึ้นไป ส่วนเชื้อที่แสดงการดื้อยาปฏิชีวนะหลายชนิดและดื้อยาเกือบทุกกลุ่มยาจะถูกจัดเป็นรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะแบบ XDR ทั้งนี้หากเชื้อแสดงการดื้อยาปฏิชีวนะในทุกชนิด และทุกกลุ่มยาปฏิชีวนะจะจัดรูปแบบของการดื้อยาปฏิชีวนะแบบ PDR (Magiorakos et al., 2011) นอกจากนี้ยังมี

การนิยามเชื้อที่ดื้อยาปฏิชีวนะ carbapenems (Carbapenem-resistant *A. baumannii*; CRAB) เป็นแบคทีเรียที่ดื้อต่อยากลุ่ม carbapenems อย่างน้อยหนึ่งชนิด

### การดื้อยาของเชื้อ *A. baumannii*

ในปัจจุบันมีการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรียดื้อยาอย่างรวดเร็ว ซึ่งเป็นสิ่งที่ทั่วโลก รวมถึงประเทศไทยกำลังเผชิญอยู่และมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากการดื้อยาในแบคทีเรียสามารถพบได้ทั้งในแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ โดยเกิดขึ้นภายหลังการให้ยาปฏิชีวนะซึ่งการดื้อยาจะอาศัยกลไกหลัก 4 กลไก ได้แก่ กลไกการสร้างเอนไซม์ทำลายยา (Enzymatic inactivation or modification of antibiotic) กลไกการลดการนำยาเข้าสู่เซลล์ (Limiting access of antibiotic) กลไกการขับยาออกจากเซลล์ (Expression of efflux pump) และกลไกการเปลี่ยนเป้าหมายในการจับยา (Alteration of antibiotic target) กลไกเหล่านี้อาจเกิดเพียงกลไกเดียวหรืออาจเกิดขึ้นพร้อมกันหลาย ๆ กลไกก็ได้ ซึ่งเชื้อ *A. baumannii* มีความสามารถในการทนทานสารต่าง ๆ จำนวนมาก รวมถึงยาปฏิชีวนะหลากหลาย และสามารถปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงตามสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้อย่างรวดเร็ว (Peleg et al., 2008) ส่งผลให้การรักษาโรคติดเชื้อจาก *A. baumannii* ในปัจจุบันได้รับผลกระทบอย่างหนักจากการดื้อยา (Wong et al., 2017)

**การดื้อยากลุ่ม carbapenems** โดยเป็นกลุ่มยาที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายเนื่องจากมีประสิทธิภาพสูง ซึ่งประกอบด้วยยา 4 ชนิด ได้แก่ imipenem meropenem doripenem และ ertapenem เชื้อ *A. baumannii* ดื้อยากลุ่มนี้ โดยส่วนมากใช้กลไกการสร้างเอนไซม์ทำลายยา ซึ่งมีเอ็นไซม์ที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ เช่น เอนไซม์ในกลุ่ม metallo- $\beta$ -lactamases เช่น  $bla_{NDM}$  ที่พบได้บนโครโมโซมและพลาสมิด เอนไซม์ในกลุ่ม  $\beta$ -lactamase class D หรือ Oxacillinase (OXAs) เช่น  $bla_{OXA-51}$   $bla_{OXA-23}$   $bla_{OXA-24}$  และ  $bla_{OXA-58}$  โดยเอ็นไซม์เหล่านี้จะแปรรหัสเป็นเอนไซม์ carbapenemase (Heritier et al., 2006) ออกมาทำลายโครงสร้างของยาบริเวณ Beta-lactam ring ตำแหน่ง C-N bond ส่งผลให้ยาไม่สามารถออกฤทธิ์ได้ ซึ่งในแบคทีเรียแกรมลบจะอยู่บริเวณ periplasm โดยเอนไซม์กลุ่ม Oxacillinase (carbapenem-hydrolyzing class D beta-lactam; CHDL) มีส่วนสำคัญต่อการดื้อยากลุ่ม carbapenems และสามารถแบ่งได้ 5 ชนิด ได้แก่ OXA-3 และ OXA-23 variant (OXA-27 OXA-49 OXA-105 OXA-133 และ OXA-75) OXA-24/40 และ OXA-24 variant (OXA-24 OXA-25 OXA-26 และ OXA-72) OXA-51 และ OXA-51 OXA-58 และ OXA-58 variant OXA-143 และ OXA-143 variant (OXA-143 และ OXA-231) (พรธรรณิกา ฤตวิรุฬห์, 2020)

เอ็นไซม์  $bla_{OXA-51}$  กำหนดการแสดงออกโดยจะพบอยู่บนโครโมโซมของเชื้อ *A. baumannii* และปกติจะพบอยู่ใกล้กับ *ISAbc1* ที่อยู่บริเวณเหนือยีนและทำหน้าที่เป็นโปรโมเตอร์หรือส่งเสริมการ

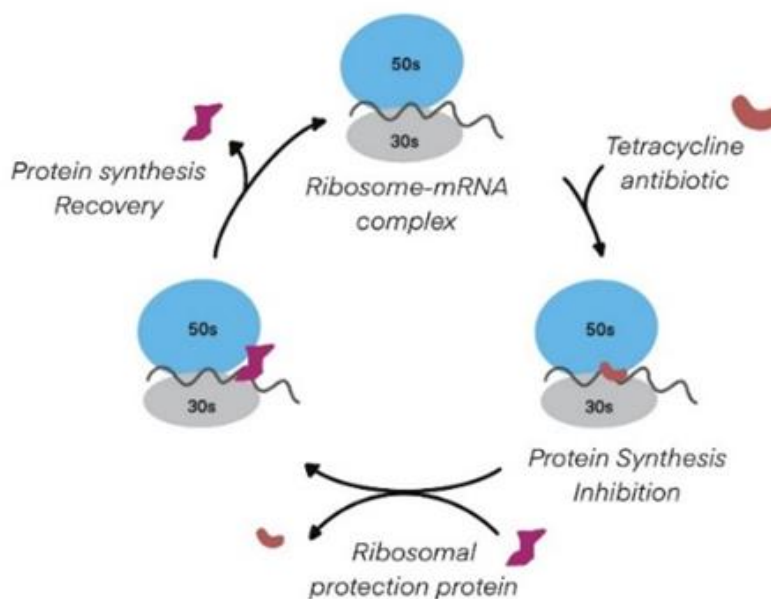
แสดงออกของยีน *bla*<sub>OXA-51</sub> ส่งผลให้เกิดการดื้อยา carbapenems (Turton et al., 2006) ส่วน *bla*<sub>OXA-23</sub> ส่วนใหญ่พบอยู่บนพลาสมิดหรือโครโมโซมของ *A. baumannii* ใน transposons และพบอยู่ใกล้กับ IS เช่น IS*Aba1* (2 ตำแหน่งภายใน Tn2006 และ Tn2009; 1 ตำแหน่งภายใน Tn2008) และ IS*Aba4* (1 ตำแหน่งภายใน Tn2007) (Nigro & Hall, 2016) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อสามารถใช้ระบบ efflux pump เช่น ชนิด AdeABC (Acinetobacter drug efflux) เพื่อขับยาในกลุ่ม carbapenems ออกจากเซลล์ซึ่ง AdeABC จัดอยู่ในระบบ resistance-nodulation-cell division (RND) superfamily transporters ประกอบด้วย 3 ส่วน ได้แก่ cytoplasmic pump membrane fusion protein และ outer membrane channel protein (ทิพวรรณ หมื่นหนู, 2011) โดยมีโปรตีน AdeB และ AdeC อยู่ที่บริเวณเซลล์เมมเบรน และผนังเซลล์ชั้นนอก ตามลำดับ ส่วน AdeA เป็น membrane fusion protein บริเวณ periplasm ซึ่งทำหน้าที่เชื่อมต่อกันระหว่างโปรตีน AdeB และ AdeC หากมีการนำยาเข้าไปภายในเซลล์โปรตีน AdeB จะจับกับยาในไซโตพลาสซึม ส่งออกภายนอกเซลล์ทาง AdeC ผ่าน AdeA ส่งผลให้เชื้อ *A. baumannii* สามารถใช้ระบบ effect pump ขับยาปฏิชีวนะออกจากเซลล์ และเกิดการดื้อยาแบบไม่จำเพาะ หรือดื้อยาปฏิชีวนะได้พร้อมกันหลายกลุ่มได้ (Bonomo & Szabo, 2006)

การมีโปรตีน Porin ที่มีชื่อว่า carbapenem resistance-associated outer membrane protein (CarO) ที่เป็นช่องทางของการผ่านเข้าเซลล์ของยาปฏิชีวนะ carbapenems โดยเข้าไปเปลี่ยนแปลงโปรตีน CarO จากการแทรกตัวของ Insertion sequence (IS) เข้าในยีน *carO* โดยขัดขวางการแสดงออกของยีน *carO* ของโครโมโซมและนำไปสู่การสูญเสีย CarO ส่งผลให้เซลล์แบคทีเรียดื้อยาได้ (Khorsi et al., 2018; Yangsoon et al., 2011) นอกจากนี้การกลายพันธุ์ของยีน CarO สามารถทำให้เกิดการปรับเปลี่ยนโครงสร้างที่สำคัญใน CarO และทำให้ลดการซึมผ่านของเยื่อหุ้มชั้นนอกและทำให้เกิดการดื้อยา หรือการดื้อยาในรูปแบบของการขาดหรือการลดการแสดงออกของ โปรตีน OMP บางชนิด (22-23kDa 33-36kDa 37kDa 43kDa 44kDa 47kDa และ Heat-modifiable HMP-AB) โดยที่ OmpA เป็นโปรตีนเยื่อหุ้มชั้นนอกที่มีการซึมผ่านต่ำ และเป็น porin ที่ไม่จำเพาะใน *A. baumannii* ทั้งยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการขนส่งยาปฏิชีวนะออกจาก periplasm (Smani et al., 2014) Penicillin-binding proteins (PBPs) เป็นเอนไซม์ที่กระตุ้นการเกิดพอลิเมอร์ไรเซชันของ peptidoglycan และมีหน้าที่ในการแทรกเข้าไปในผนังเซลล์ (Sauvage et al., 2008) ซึ่ง  $\beta$ -lactams จะจับกับ PBPs เนื่องจากสามารถเลียนแบบซับสเตรตของเชื้อนี้ได้ โดยการยับยั้ง PBPs โดย beta-lactams ทำให้เกิดความไม่สมดุลในการเผาผลาญของผนังเซลล์และส่งผลให้เซลล์ตาย (Zapun et al., 2008)

**การดื้อยากลุ่ม tetracycline และ tigecycline** เชื้อ *A. baumannii* สามารถดื้อต่อยา tetracycline และ tigecycline ซึ่งส่วนใหญ่การดื้อยาเกิดโดยอาศัยกลไกการขับยาออกจากเซลล์โดย



ระบบโปรตีน efflux pump ซึ่งเป็นโปรตีนบริเวณผิวเซลล์ที่สามารถขับสารต่าง ๆ รวมถึงยาปฏิชีวนะออกจากบริเวณไซโตพลาสซึมของแบคทีเรีย ส่งผลให้ปริมาณของยาปฏิชีวนะในไซโต พลาสซึมมีปริมาณต่ำทำให้ไม่สามารถออกฤทธิ์ได้ tetracycline efflux pump ของเชื้อ *A. baumannii* สามารถแบ่งออกเป็นสองประเภท ได้แก่ RND pump และ Tet efflux pump โดยที่ RND pump มีลักษณะไม่จำเพาะที่ประกอบด้วย AdeA AdeB และ AdeC ที่ทำหน้าที่สัมพันธ์กัน โดยโปรตีน AdeB และ AdeC อยู่ที่บริเวณเซลล์เมมเบรน และผนังเซลล์ชั้นนอก ตามลำดับ ส่วน AdeA เป็น membrane fusion protein บริเวณ periplasm ซึ่งทำหน้าที่เชื่อมต่อกันระหว่างโปรตีน AdeB และ AdeC หากมีการนำยาเข้าไปภายในเซลล์ โปรตีน AdeB จะจับกับยาในไซโตพลาสซึมส่งออกภายนอกเซลล์ทาง AdeC ผ่าน AdeA ส่งผลให้ระบบ RND pump สามารถขับยาในกลุ่ม tetracycline ได้ (Damier-Piolle et al., 2008) ส่วน efflux pump TetA มีส่วนทำให้เกิดการต้านทานต่อยาปฏิชีวนะ tigecycline โดย efflux pump TetA ช่วยในการขนส่ง tigecycline จากไซโตพลาสซึมไปยัง periplasm จากตำแหน่งเดิมของยาจากนั้น efflux pump AdeABC และ AdeIJK จะทำการขับยาออกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก (Foong et al., 2020) ในหลายประเทศได้ทำการศึกษาการแสดงออกของระบบ Efflux pump AdeABC และ AcrAB-TolC efflux ที่ได้รับจากไอโซเลทที่ทนต่อ tigecycline ทางคลินิก (Costello et al., 2016; Livermore, 2005; Savari et al., 2017) ทำให้ส่งผลต่อการใช้ยา tetracycline รวมถึงการดื้อยา tigecycline นอกจากนี้เชื้อยังสามารถใช้กลไกการเปลี่ยนเป้าหมายในการจับยา โดยการเปลี่ยนแปลงที่บริเวณ 16S rRNA ซึ่งเป็นองค์ประกอบของ 30S ไรโบโซมทำให้เกิดการกลายพันธุ์ที่ 16S rRNA (ภาพ 6) ส่งผลให้ยาเข้ามาจับได้น้อยลง ทำให้เชื้อเกิดการดื้อต่อยา tetracycline และ tigecycline (Grossman, 2016) หรือเชื้อมีการสร้างโปรตีน ribosomal protection protein (RPP) เช่น TetM และ TetO โดยเข้าแย่งจับกับไรโบโซมทำให้ยา tetracycline หลุดออกจากไรโบโซมส่งผลให้ไม่สามารถออกฤทธิ์ได้ (Grossman, 2016; พรรณนิกา ฤตวิรุฬห์, 2020) นอกจากนี้ *A. baumannii* ยังมีปัจจัยที่ทำให้ดื้อต่อ tigecycline คือ TetX ซึ่งเป็น flavin-dependent monooxygenase ที่สามารถดื้อต่อยา tigecycline โดย TetX สามารถรับ tigecycline เป็นสารตั้งต้น ซึ่งแบคทีเรียที่มียีน *tetX* (*tetX3 tetX4* และ *tetX5*) จึงมีความทนทานต่อยาปฏิชีวนะ tigecycline สูง (He et al., 2019; Volkerts et al., 2011; Yang et al., 2004)



ภาพ 6 การดื้อยา tetracycline โดย ribosome protection

ที่มา: Markley, 2018

การดื้อยาในกลุ่ม **polymyxins** เชื้อ *A. baumannii* สามารถดื้อต่อยาในกลุ่ม polymyxins ได้ เช่น polymyxin E หรือ colistin โดยมักเกี่ยวข้องกับการเกิดการกลายพันธุ์ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ lipopolysaccharides (LPS) จนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป้าหมายในการจับยาโดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ LPS Lipid A จากการกลายพันธุ์ของยีนที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์ไขมัน ซึ่งส่งผลให้สูญเสียการแสดงออกของโปรตีนที่บริเวณภายนอกเยื่อหุ้มเซลล์ และทำให้การสังเคราะห์ LPS บกพร่อง (Lima et al., 2018) polymyxins เป็นสารประกอบแอมฟิพาติกที่มีประจุบวกและทำปฏิกิริยากับไขมันที่มีประจุลบที่เป็นส่วนประกอบของ LPS เช่น Phosphoethanolamine (PetN) เป็น LPS จะช่วยลดประจุลบบนพื้นผิวของแบคทีเรีย (Moffatt et al., 2019) การดื้อยา colistin ในเชื้อ *A. baumannii* มีความสัมพันธ์ต่อการเปลี่ยนแปลง *pmrCAB* operon ซึ่งถูกควบคุมโดยยีน *pmrC* เพื่อถ่ายโอน PetN *pmrA* และ *pmrB* ทำให้เกิดการแสดงออกของยีน *pmrC* มากเกินไป ส่งผลให้การเปลี่ยน lipid A มีความต้านทานต่อ PetN และ colistin (Trebosc et al., 2019) *A. baumannii* มี Insertion sequence (IS) ที่เกี่ยวข้องกับการลดหรือเพิ่มนิวคลีโอไทด์ และการแทรกตัวของ IS *Abla11* ที่อยู่ในยีนของการสังเคราะห์ Lipid A *lpxA* *lpxC* และ *lpxD* ทำให้เกิดการสูญเสีย LPS ส่งผลให้ดื้อยา colistin (Moffatt et al., 2011; Moffatt et al., 2010) PetN transferase หรือเอนไซม์ MCR ที่ถูกควบคุมด้วยยีน Mobilized Colistin Resistance (*mcr*)

โดยเปลี่ยน lipid A ของ LPS ผ่านการเติม PEA ทำให้ความสามารถในการจับยากับ lipid A ลดลง และเกิดการดื้อต่อยา colistin ได้ (Wang et al., 2018)

**การดื้อยากลุ่ม aminoglycoside** *A. baumannii* มีความสามารถในการดื้อต่อยากลุ่ม aminoglycoside โดยใช้กลไกการผลิตเอนไซม์ที่สามารถดัดแปลงเอนไซม์ aminoglycoside (AMEs) โดยแบ่งประเภทตามการออกฤทธิ์ทางเคมี ได้แก่ acetyl transferase adenylyl transferase และ phosphotransferase (Yamane et al., 2005) โดย AME เหล่านี้จะเปลี่ยนแปลงระบบการทำงานที่เกี่ยวข้องกับ aminoglycoside ส่งผลให้ลดความสามารถในการจับตัวของยาปฏิชีวนะของ ไรโบโซม และยังมีผลต่อโมเลกุลของ aminoglycoside หลายชนิดรวมถึง amikacin gentamycin และ tobramycin ไม่ทำงาน นอกจากนี้เชื้อ *A. baumannii* ยังมีกลไกการต่อต้าน aminoglycoside โดยใช้การสร้างยีน 16S rRNA methylase ซึ่งยีน *armA rmtA rmtB rmtC* และ *rmtD* จะเปลี่ยนเป้าหมายของ aminoglycoside ในหน่วยย่อยของไรโบโซม 30S (Zhu et al., 2009)

### ปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อ *A. baumannii*

สาเหตุของการติดเชื้อ *A. baumannii* สามารถเกิดได้จากหลายปัจจัย ไม่ว่าจะเป็นระยะเวลาของการรักษาตัวของผู้ป่วย การมีภูมิคุ้มกันบกพร่อง การทำหัตถการต่าง ๆ เพื่อช่วยชีวิต เช่น การใส่เครื่องช่วยหายใจ การใส่สายสวนปัสสาวะ การใส่สายสวนเข้าหลอดเลือดส่วนกลาง การใส่สายยางให้อาหารทางจมูก (Surasarang et al., (2007) นอกจากนี้ยังอาจมีปัจจัยอื่น ๆ อีก เช่น อายุ และการบาดเจ็บจากอุบัติเหตุ เป็นต้น

การพักรักษาตัวของผู้ป่วยในโรงพยาบาลเป็นเวลานานกว่า 20 วันนับเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อได้ จากรายงานในปี 2021 พบว่า ผู้ป่วยที่พักรักษาตัวอยู่ในโรงพยาบาลเป็นเวลานานกว่า 4 สัปดาห์ มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ CRE มากกว่าผู้ป่วยที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาลน้อยกว่า 2 สัปดาห์ เนื่องจากผู้ป่วยที่พักรักษาตัวเป็นเวลานานส่วนใหญ่เป็นผู้ป่วยที่อยู่ในชั้นรุนแรงหรือชั้นวิกฤต อีกทั้งผู้ป่วยยังใส่อุปกรณ์ต่าง ๆ ทางกายภาพเพื่อช่วยชีวิต จึงทำให้เชื้อมีช่องทางเพื่อเข้าสู่ร่างกายมากขึ้น และมีโอกาสได้รับเชื้อจากสิ่งแวดล้อมภายในโรงพยาบาลมากขึ้นโดยเฉพาะจากหอผู้ป่วย หรือผู้ป่วยรายอื่นที่มีการติดเชื้อ ดังนั้นผู้ป่วยที่พักรักษาตัวเป็นเวลานานจึงมีโอกาสในการติดเชื้อได้ง่ายกว่าผู้ป่วยที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาลเป็นเวลาน้อยกว่า 2 สัปดาห์ (Boonlum, 2021)

การทำหัตถการจากการใส่อุปกรณ์ทางการแพทย์เป็นเวลานานกว่า 7 วัน มีผลทำให้ผู้ป่วยเสี่ยงต่อการดื้อยา MDR *A. baumannii* เช่น การใส่เครื่องช่วยหายใจ การใส่สายสวนปัสสาวะ การให้อาหารทางสายยาง ซึ่งการทำหัตถการเหล่านี้ล้วนเป็นปัจจัยสำคัญต่อการติดเชื้อ (Cisneros et al., 2005; Wisplinghoff et al., 2000) เนื่องจากเชื้อ *A. baumannii* สามารถเกาะติดกับพื้นผิว

ของสายสวนต่าง ๆ เช่น ทางเดินปัสสาวะ ท่อช่วยหายใจ และท่อทางเดินปัสสาวะ โดยการสร้างไบโอฟิล์มที่สามารถเข้าไปยังพื้นผิวภายในของอุปกรณ์เซลล์เยื่อหุ้ม (Trottier et al., 2007) ที่อาจทำให้เกิดการติดเชื้อ ไบโอฟิล์มของ *A. baumannii* สามารถก่อตัวได้อย่างรวดเร็วโดยเฉพาะอย่างยิ่งในท่อช่วยหายใจ (Lorente et al., 2002) ซึ่งที่ผ่านมา มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับโรคปอดบวมที่เกิดจากการใส่เครื่องช่วยหายใจ (Ventilator - Associated Pneumonia: VAP) โดยเกิดจาก MDR *A. baumannii* มีอัตราการเสียชีวิตสูงในผู้ป่วยวิกฤต (Jaruratanasirikul et al., 2019) คิดเป็นร้อยละ 8 ถึงร้อยละ 14 ของ VAP ในสหรัฐอเมริกาและยุโรป (Lynch III et al., 2017) นอกจากนี้ยังมีการสำรวจ MDR *A. baumannii* เป็นเวลากว่า 7 ปี พบว่า มีการติดเชื้อในศูนย์ดูแลตติยภูมิในเลบานอนโดยบริเวณที่มีการติดเชื้อมากที่สุด คือ การติดเชื้อทางเดินหายใจคิดเป็นร้อยละ 51 แผลผ่าตัดร้อยละ 18.8 เลือดร้อยละ 15.6 และปัสสาวะร้อยละ 10.2 ตามลำดับ (Kanafani et al., 2018)

การมีบาดแผลจากอุบัติเหตุหรือการบาดเจ็บ *A. baumannii* จะเข้าทำลายผิวหนังสามารถเกาะติดกับพื้นผิวและมีเป้าหมายเฉพาะที่เนื้อเยื่อ เช่น เยื่อเมือกหรือผิวหนังที่สัมผัสเนื่องจากอุบัติเหตุหรือการบาดเจ็บ (Howard et al., 2012; Wisplinghoff et al., 2004) โดย *A. baumannii* แพร่กระจายบนผิวหนังและเข้าสู่เนื้อเยื่อภายในหรือกระแสเลือด และมีการสร้างไบโอฟิล์มบนบาดแผลที่ (Dallo & Weitao, 2010) อาจส่งผลให้ผู้ป่วยเกิดการติดเชื้อได้

นอกจากนี้ยังมีปัจจัยเสี่ยงอื่น ๆ ที่อาจทำให้เกิดการติดเชื้อ เช่น อายุของผู้ป่วยที่เป็นอีกหนึ่งปัจจัยเสี่ยงที่มีส่วนให้เกิดการติดเชื้อ *A. baumannii* จากรายงานการศึกษาถึงปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อดื้อยาในไอซียูศัลยกรรม 2 ของโรงพยาบาลสุราษฎร์ธานี พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาในไอซียูสัมพันธ์กับการติดเชื้อดื้อยา โดยผู้ป่วยที่มีอายุตั้งแต่ 60 มีแนวโน้มเกิดการดื้อยา เนื่องจากผู้ป่วยมีอายุมาก ร่างกายมีการเปลี่ยนแปลงส่งผลให้ประสิทธิภาพการทำงานของระบบต่าง ๆ ลดลง มีความไวในการรับเชื้อเพิ่มขึ้น ความต้านทานโรคลดลง ความยืดหยุ่นของผิวหนังลดลง ทำให้ระบบการไหลเวียนเลือดไม่ดีเมื่อมีบาดแผล ส่งผลให้ผู้ป่วยเสี่ยงต่อการติดเชื้อได้ง่ายกว่าผู้ป่วยที่มีอายุน้อย (Boonlum, 2021; Nakonchai, 2018)

### การศึกษาลักษณะทางจีโนมไทป์ของเชื้อ *A. baumannii*

#### 1. Multilocus sequence typing (MLST)

เป็นวิธีที่ใช้ในการจำแนกสายพันธุ์ของแบคทีเรียจากการเทียบลำดับดีเอ็นเอของยีนต่าง ๆ โดย MLST อาศัยความแตกต่างกันของลำดับนิวคลีโอไทด์บนสายดีเอ็นเอที่มีบทบาทสำคัญในการดำรงอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ (housekeeping gene) เช่น ยีนที่ทำหน้าที่สร้างเอนไซม์ หรือยีนที่เกี่ยวข้องกับกลไกการสร้างพลังงาน เช่น Fructose-bisphosphate Aldolase Class 2 (*fbaA*) ยีน

ที่ใช้ในกระบวนการซ่อมแซมสารพันธุกรรม เช่น Recombinase A (*recA*) ยีนที่ช่วยในการพับโปรตีน หลังการ translation และการประกอบ protein complex เช่น 60 KDa chaperonin protein (*cpn 60*) หรือยีนที่เกี่ยวข้องกับการจำลองตัวเองของดีเอ็นเอ เช่น Glutamate dehydrogenase (*gdhB*) เป็นต้น (ชนม์ชนก ธิตะแก้ว, 2017) เทคนิคนี้มีความแม่นยำ และมีความเป็นไปได้ในการเปรียบเทียบผลลัพธ์ระหว่างห้องปฏิบัติการ จึงทำให้เทคนิคนี้เป็นเทคนิคที่มีความเหมาะสมต่อการศึกษาทางระบาดวิทยา (Bartual et al., 2005; Hamouda et al., 2010) สำหรับเชื้อ *A. baumannii* มี MLST 2 Scheme ได้แก่ Oxford scheme และ Pasteur scheme ซึ่งทั้ง 2 scheme ใช้ housekeeping gene ที่มีขนาดประมาณ 450-500 คู่เบส จำนวน 7 ยีน โดยที่ MLST แบบ Oxford Scheme ประกอบด้วยยีน *gltA recA cpn60 gyrB gdhB gpi* และ *rpoD* (Bartual et al., 2005) ส่วนแบบที่สองประกอบด้วยยีนที่แตกต่างจากแบบแรกสี่ยีน คือ *fusA pyrG rpoB* และ *rplB* (Diancourt et al., 2010) แต่เนื่องจากยีน *gdhB* ที่เป็นหนึ่งในเจ็ดยีนของ Oxford scheme มีมากกว่าหนึ่งสำเนาในจีโนม และยีน *gpi* ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของ capsular operon ที่อาจส่งผลต่อการระบาดของแบคทีเรีย (Hamouda et al., 2010; Kenyon & Hall, 2013) ทำให้ปัจจุบันนิยมใช้ MLST ของ Pasteur scheme (Gaiarsa et al., 2019)

โดยการวิเคราะห์ MLST จากการดูที่ลำดับสารพันธุกรรมของยีนทั้ง 7 ยีน และนำมาเรียงต่อกัน รวมทั้งใช้เพื่อกำหนดตัวเลขเพื่อแสดงความจำเพาะของรหัสพันธุกรรมของแต่ละยีน (Allele profile) ซึ่งแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์จะมี Allele profile ที่จำเพาะและไม่ซ้ำกับรหัสพันธุกรรมของยีนอื่นในสายพันธุ์อื่น และมีตัวเลขที่จำเพาะ (Allele Number) รวมทั้งมีลำดับนิวคลีโอไทด์ต่างกันชัดเจนในแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ซึ่งเมื่อนำยีนที่กำหนด Allele number แล้วมียีนที่มีรหัสพันธุกรรมซ้ำจะมี Allele Number ที่เหมือนกันกับยีนนั้น โดยในแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย MLST จะประกอบด้วย 7 Allele numbers ที่จำเพาะกับยีนทั้ง 7 ยีน หรือ Allele Profile โดย Allele Profile ที่ได้จะถูกนำมาจัด Sequence type (ST) ซึ่งการมีลำดับสารพันธุกรรมทุกตัวเหมือนกันจะจัดเป็น ST เดียวกัน แต่หากบางเชื้อที่นำมาวิเคราะห์บางส่วนต่างกันจะถูกจัดอยู่ใน ST ที่ต่างกัน ทั้งนี้แบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์จะมี ST ที่มีความจำเพาะของสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน (ชนม์ชนก ธิตะแก้ว, 2017) เมื่อประมวลผลของยีนรวมครบทั้ง 7 ยีนแล้วโปรแกรมจะทำการจัดกลุ่มของเชื้อ และสามารถนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์บนฐานข้อมูลออนไลน์ใน PubMLST (<http://pubmlst.org/abaumannii/>) ทั้งนี้ ST ที่ระบุได้สามารถนำมาใช้ในการระบุ Clonal complex (CC) จากการนำ 4 ใน 7 ได้แก่ *fusA pyrG rpoB* and *rplB* ซึ่งการระบุว่าเป็น CC ใดโดยดูจาก ST ที่มีความเหมือนกันของ Allele อย่างน้อย 6 ใน 7 Allele ของยีนทั้ง 7 ยีน จากการวิเคราะห์ด้วย MLST และ CC ที่ระบุได้ เช่น CC1 CC2 CC3 ถูกจัดให้เป็น IC I IC II IC III ตามลำดับ เป็นต้น (Karah et al., 2012) ในช่วงตุลาคม 2012-มีนาคม 2013 ประเทศในแถบเอเชีย

อย่างเช่น ญี่ปุ่น ได้ทำการศึกษาการกระจาย และลักษณะทางโมเลกุลของ *A. baumannii* จากการจัดจำแนกตาม Oxford scheme โดยพบ STs ที่แพร่กระจายไปทั่วโลกคือ ST208 ตามด้วย ST219 โดยทั้ง ST208 และ ST219 จัดเป็น IC II ร้อยละ 28.3 ของทั้งหมดที่มีการระบุเป็น *A. baumannii* (Matsui et al., 2018) ในขณะเดียวกันประเทศปากีสถาน พบ ST2 มีการกระจายมากที่สุด 36 ไอโซเลต ซึ่งจัดเป็น IC II (Karah et al., 2020) สอดคล้องกับการศึกษาในประเทศไทย ที่พบ *A. baumannii* Ac146 จัดอยู่ใน ST2 และ IC II ซึ่งเป็นสายพันธุ์หลักในประเทศไทย (Thadtapong et al., 2021)

## 2. Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)

เป็นวิธีการศึกษาสายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เป็นมาตรฐานเพื่อใช้ในการตรวจหาและจัดกลุ่มสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรีย รวมถึงการศึกษาการระบาดระดับโมเลกุลของเชื้อก่อโรคต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นโรคติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อดื้อยา เช่น *S. aureus vancomycin-resistant Enterococci* และ *A. baumannii* โดยเทคนิค PFGE เป็นวิธีที่ใช้กระแสไฟฟ้าในการแยกดีเอ็นเอขนาดใหญ่ โดยการสลับสนามไฟฟ้าเป็น 3 ทิศทาง หากสนามไฟฟ้าด้านหนึ่งทำงานอีกด้านจะหยุด ซึ่งดีเอ็นเอจะวิ่งขนานไปกับทิศทางของกระแสไฟฟ้า จากนั้นจะมีการสลับทิศทางทำให้กระแสไฟฟ้าอีกทิศทางทำให้ดีเอ็นเอเปลี่ยนทิศทางวิ่ง การวิ่งของดีเอ็นเอที่ผ่านรูของเจลที่เป็นตัวกลางเป็นรูปกลับไปมา ในลักษณะซิกแซก โดยดีเอ็นเอที่มีขนาดเล็กจะสามารถเปลี่ยนทิศทางวิ่งได้ดี และรวดเร็วกว่าดีเอ็นเอที่มีขนาดใหญ่ ทำให้วิธีนี้สามารถแยกดีเอ็นเอหลังจากตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (Restriction enzyme) โดยสามารถแยกดีเอ็นเอที่มีขนาดตั้งแต่ 100-12,000 kb และสามารถนำไปใช้ตรวจหาความสัมพันธ์เชิงพันธุกรรมของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ (Selim et al., 2022) ในประเทศจีนปี 2015 ได้มีการศึกษาถึงเชื้อ *A. baumannii* ที่ดื้อยาของโรงพยาบาลในภาคตะวันออกของประเทศจีน โดยเทคนิค PFGE เพื่อดูรูปแบบการดื้อยาของเชื้อ *A. baumannii* พบว่าสามารถจัดได้ 14 กลุ่มโคลน (A-N) โดยโคลนที่มีการกระจายมากที่สุดได้แก่ โคลน A พบร้อยละ 50 (A1 พบ 19 ไอโซเลต A2 พบ 6 ไอโซเลต) รองลงมาคือ โคลน C และโคลน B (Zhao et al., 2015) จากนั้นในปี 2018 มีการศึกษาเชื้อ *A. baumannii* ที่ดื้อต่อ Carbapenem จากอากาศ และผู้ป่วยหนักที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลใน 4 หน่วยดูแล เพื่อดูรูปแบบความสัมพันธ์ของโคลน *A. baumannii* ด้วยการให้ PFGE ที่มีการตัดด้วยเอนไซม์ *Apal* เพื่อกำหนดคลัสเตอร์โคลนที่มีความเกี่ยวข้องทางพันธุกรรมของ *A. baumannii* โดยใช้ซอฟต์แวร์ BioNumerics (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Belgium) ที่มีความคล้ายคลึงกันที่ร้อยละ 85 และพบว่าสามารถจัดกลุ่มเป็น PFGE ได้ทั้งหมดแปดประเภทที่กำหนดชื่อกลุ่มเป็น A-H (Jiang et al., 2018) ส่วนประเทศไทยก็ได้มีการศึกษาถึง *A. baumannii* ที่ดื้อต่อยา carbapenems โดยใช้เทคนิค PFGE ที่ผ่านการตัดด้วยเอนไซม์ *Apal* พบว่ามี 8 ไอโซเลตที่ให้รูปแบบของ PFGE 4 รูปแบบที่แตกต่างกัน (Hammerum et al., 2015)

### 3. Repetitive element PCR fingerprinting (REP-PCR)

Polymerase chain reaction (PCR) เป็นการเพิ่มปริมาณยีนโดยไพรมเมอร์ จะเข้าจับบริเวณที่มีเบสซ้ำกัน และเปรียบเทียบรูปแบบของลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprint) หากเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์เดียวกันจะมีความเหมือนของช่วงที่เป็นลำดับเบสซ้ำ (Repeat sequence) ที่บริเวณ non-coding region (Ben-Darif et al., 2010) จากนั้นจึงนำมาเปรียบเทียบ และจัดกลุ่มเพื่อดูรูปแบบการระบาดของแบคทีเรีย อย่างเช่นในประเทศอียิปต์ได้มีการนำเทคนิค REP-PCR มาแยกความแตกต่าง และจัดคลัสเตอร์ของเชื้อ *A. baumannii* ที่แยกได้จากผู้ป่วย ICU ที่เป็นโรคปอดบวม โดยพบคลัสเตอร์จากการทำ REP-PCR ที่โดดเด่นสี่กลุ่ม (A-D) และพบไอโซเลท ที่เป็น singleton สองคลัสเตอร์ (Khalil et al., 2021) หรือ ในปี 2022 มีการศึกษาเกี่ยวกับกลุ่มยีน ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ carbapenem ของเชื้อ *A. baumannii* ที่แยกได้จากผู้ป่วยนอกของโรงพยาบาล ในประเทศซาอุดีอาระเบียโดยระบุประเภทของ REP จากการวิเคราะห์แบบ REP-PCR พบว่าสามารถ ระบุ *A. baumannii* ที่ดื้อต่อ imipenem มีการแพร่กระจายในห้าคลัสเตอร์ได้แก่ A B C D และ E โดยมีอัตราการกระจายที่ร้อยละ 45.5 ร้อยละ 26 ร้อยละ 19.5 ร้อยละ 5.2 และ ร้อยละ 3.9 ตามลำดับ (Selim et al., 2022) สอดคล้องกับการศึกษาหนึ่งในประเทศไทยเพื่อระบุถึงเชื้อ *A. baumannii* ที่ดื้อต่อยา carbapenem ที่แยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาลหัวหิน พบว่าสามารถ ระบุได้ทั้งหมด 4 โคลน (A-D) โดยโคลน A เป็นโคลนที่พบมากที่สุดตามด้วยโคลน B C และ D (Santimaleeworagun et al., 2014)

### 4. The *bla*<sub>OXA-51</sub> sequence-based typing

เป็นเทคนิคจากการใช้เทคนิค PCR เพื่อเพิ่มปริมาณยีนที่สนใจเพียงยีนเดียว ได้แก่ *bla*<sub>OXA-51</sub> ซึ่งเป็น intrinsic ใน *A. baumannii* (Ahmed & Alp, 2015) และนำมาทำ sequencing เพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *bla*<sub>OXA-51</sub> จากนั้นจึงแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์เป็นลำดับกรดอะมิโน ของโปรตีน OXA-51 และเปรียบเทียบลำดับของกรดอะมิโนกับฐานข้อมูลเพื่อจัดกลุ่มเชื้อ ซึ่งหากมี ลำดับของกรดอะมิโนโปรตีน OXA-51 เหมือนกันจะถูกจัดอยู่ใน subgroup ของโปรตีนกลุ่มเดียวกัน โดย OXA-51 มี 12 subtype ได้แก่ OXA-64 OXA-65 OXA-66 OXA-68/ OXA-69 OXA-70 OXA-71 OXA-78 OXA-79/OXA-80 OXA-82 OXA-83 OXA-508 และ OXA-104 (Evans et al., 2007; Gao et al., 2019; Songsri et al., 2017) การศึกษาในประเทศไทยในปี 2021 โดยทำการศึกษาในเชื้อ *A. baumannii* ที่มีรูปแบบการดื้อยาแบบ XDRAB พบ OXA-83 ซึ่งเป็น subtype ของ OXA-51 มากที่สุด โดยพบ 24/27 ไอโซเลต และยังพบ OXA-64 OXA-104 และ OXA-508 อย่างละ 1 ไอโซเลต (Kongthai et al., 2021)

### 5. PCR-based Trilocus sequence Typing (3LST)

เป็นวิธีที่เกิดจากการประยุกต์ใช้ MLST โดยมีการพัฒนาเพื่อระบุไอโซเลตของเป้าหมายได้อย่างรวดเร็วและดูความแตกต่างของอัลลีล (Allele) ของ 3 ยีนได้แก่ *ompA* (outer membrane protein A) *csuE* (ส่วนหนึ่งของระบบประกอบ pilus ที่จำเป็นสำหรับการสร้างไบโอฟิล์ม) และ *bla<sub>OXA-51-like</sub>* (ยีน carbapenemase ที่แท้จริงใน *A. baumannii*) ซึ่งวิธี 3LST เป็น alternative method หรือเป็นวิธีทางเลือกที่สามารถใช้ระบุ International clones (ICs) จากการคิดค้นของ Turton และคณะ ในปี 2007 โดยการเปรียบเทียบลำดับของยีนที่เป็นตัวแทนของสายพันธุ์การระบาดโดยการ PFGE จากนั้นจึงนำมาวิเคราะห์ด้วย Beckman Coulter CEQ Dye Terminator Cycle Sequencer จนได้ความแตกต่างของลำดับจึงนำมาจัดเรียงโดยใช้ซอฟต์แวร์ Gene Bulder และนำไปเทียบกับฐานข้อมูลใน GenBank หลังจากนั้นจึงนำสายพันธุ์ที่เป็นตัวแทนการระบาดนั้นมาวิเคราะห์ต่อด้วย alternative method หรือ 3LST ซึ่งพบว่า สายพันธุ์ที่เป็นตัวแทนของสายพันธุ์การระบาดของ Clone I/European clone III Clone II/ European clone II และ Clone III/ European clone III เทียบตรงกับ sequence group (SG) 2 SG1 และ SG 3 ตามลำดับ โดยการทำ multiplex PCR ของยีนสามยีนซึ่งประกอบไปด้วย 2 multiplex ซึ่งมีการออกแบบไพรเมอร์ให้จำเพาะต่อบริเวณที่มีความแตกต่างของอัลลีล จากนั้นก็จะนำรูปแบบที่ได้จากการทำ 2 multiplex มาแปลผลเป็น Sequence Groups (SG) ตัวอย่างเช่น SG1 (IC II) SG2 (IC I) และ SG3 (IC III) (Turton et al., 2007) ซึ่งแต่ละโปรไฟล์จะมีความเหมือน หรือต่างกันของยีนทั้ง 3 ยีน ทำให้สามารถเปรียบเทียบสายพันธุ์การระบาดของเชื้อ *A. baumannii* จากโรงพยาบาลในยุโรปที่มีการแพร่กระจายทางภูมิศาสตร์ส่งผลให้เกิดการแพร่กระจายของกลุ่มสายพันธุ์ หรือเรียกว่า European Clone I-III (Dessel et al., 2004; Dijkshoorn et al., 1996) ซึ่งโคลนจากยุโรปที่ได้รับการจัดจำแนกแล้วถูกเปลี่ยนชื่อเป็นโคลนสากล หรือ International clone (Diancourt et al., 2010)

#### การศึกษาที่ผ่านมาที่มีการระบุ International clones ของ *A. baumannii*

*A. baumannii* มีกลุ่มของ clonal complex ที่มีการกระจายทางภูมิศาสตร์และพบ 104/496 ไอโซเลต ที่มีกระจายอย่างกว้างขวางใน 34 ประเทศ ได้แก่ อิตาลี สเปน เยอรมนี สหราชอาณาจักร กรีซ เนเธอร์แลนด์ เดนมาร์ก สาธารณรัฐเช็ก ฝรั่งเศส โปแลนด์ ตุรกี นอร์เวย์ สวีเดน โปรตุเกส ไอร์แลนด์ เบลเยียม โรมาเนีย ญี่ปุ่น จีน เกาหลี ไทย อินเดีย มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ ไต้หวัน สิงคโปร์ เวียดนาม เลบานอน บราซิล แอฟริกาใต้ เรอูเนียน ตาฮิติ นิวแคลิโดเนีย สหรัฐอเมริกา และ ออสเตรเลีย หรือเรียกกลุ่มโคลนจากการกระจายเหล่านี้ว่า CC92/CC2 (Karah et al., 2012) ซึ่งทั้ง CC92/CC2 ถูกจัดอยู่ใน IC II และจากการศึกษาในปี 2008 และ 2010 ยืนยันว่า CC92/CC2 มีความ



เชื่อมโยงกับกลุ่ม IC II และ OXA-66 (*bla*<sub>OXA-66</sub> *bla*<sub>OXA-69</sub> *bla*<sub>OXA-82</sub> *bla*<sub>OXA-83</sub> และ *bla*<sub>OXA-109</sub>) ที่เป็นยีนคล้าย *bla*<sub>OXA-51</sub> (Evans et al., 2008; Hamouda et al., 2010) นอกจากนี้ยังพบ CC109/CC1 ใน 59/496 ไอโซเลต และพบมีการกระจายใน 31 ประเทศ ได้แก่ เยอรมนี อิตาลี นอร์เวย์ บัลแกเรีย สหราชอาณาจักร โปแลนด์ สโลวีเนีย โครเอเชีย สาธารณรัฐเช็ก ไอร์แลนด์ เบลเยียม สวิตเซอร์แลนด์ สเปน ฝรั่งเศส กรีซ เนเธอร์แลนด์ โรมาเนีย ตุรกี อินเดีย จีน ญี่ปุ่น เกาหลี แอฟริกาใต้ สิงคโปร์ ลิเบีย แอลจีเรีย เลบานอน สหรัฐอาหรับ เอมิเรตส์ บาร์เรน อาร์เจนตินา สหรัฐอเมริกา และออสเตรเลีย ในปี 2012 มีรายงานการแยก CC1 จากประเทศอิรักพบว่ามีลักษณะคล้ายกับ CC92/CC2 CC109/CC1 ที่มีการระบาด และแยก *A. baumannii* ที่เป็น MDR โดยพบยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเอนไซม์ carbapenemase เช่น ยีน *bla*<sub>VIM4</sub> *bla*<sub>OXA-23-like</sub> และ *bla*<sub>OXA-58-like</sub> แต่ไม่พบไอโซเลตของโคลน CC109/CC1 ที่ผลิตเอนไซม์ *bla*<sub>OXA-24 like</sub> (Huang et al., 2012) และเชื่อมโยงกับ IC I และ OXA-69 (*bla*<sub>OXA-69</sub> *bla*<sub>OXA-107</sub> *bla*<sub>OXA-110</sub> และ *bla*<sub>OXA-112</sub>) ซึ่งคล้ายกับ *bla*<sub>OXA-51</sub> (Evans et al., 2008; Hamouda et al., 2010)

จากฐานข้อมูล PubMed ได้มีข้อมูลการศึกษาทางระบาดวิทยาของเชื้อ *A. baumannii* ในหลายประเทศทั่วโลกรวมถึงประเทศไทย (ตาราง 1) ด้วยเทคนิคต่าง ๆ เช่น MLST และ Whole genome sequencing และยังมีวิธีที่ alternative method เช่น 3LST ซึ่งที่ผ่านมามีรายงานของ Paul G. Higgins และคณะ ในปี 2010 ได้ศึกษาการระบาดวิทยาในระดับโมเลกุล รวมทั้งการกระจายของยีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยา carbapenem ชนิด imipenem ในเชื้อ *A. baumannii* 492 ไอโซเลตทั่วโลก จากการวิเคราะห์โดย multiplex PCR พบการมีอยู่ของยีน *bla*<sub>OXA-51-like</sub> ในทุกไอโซเลต และมียีน *bla*<sub>OXA-23-like</sub> มากกว่าร้อยละ 60 และพบยีน *bla*<sub>OXA-40-like</sub> หรือ *bla*<sub>OXA-58-like</sub> น้อยกว่าร้อยละ 1 และจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของกลุ่มโคลนด้วย Rep-PCR พบว่าสามารถแบ่งออกได้ทั้งหมด 8 กลุ่มที่แตกต่างกัน ได้แก่ European clone I II และ III ซึ่ง European clone II เป็นกลุ่มที่มีการแพร่กระจายมากที่สุดในหลายประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา ยุโรป อิสราเอล เอเชีย ออสเตรเลีย และแอฟริกาใต้ (Higgins et al., 2010) ในปาเลสไตน์พบยีน *bla*<sub>OXA-23-like</sub> มากกว่าร้อยละ 80 รองลงมาคือ *bla*<sub>OXA-24-like</sub> และยังพบ *bla*<sub>NDM</sub> มากกว่าร้อยละ 5 ซึ่งการดื้อต่อยา carbapenems ส่วนใหญ่เกิดขึ้นจากการมียีน *bla*<sub>OXA</sub> ที่สร้างเอนไซม์ carbapenem-hydrolyzing enzyme โดย *A. baumannii* ทั้ง 13 ไอโซเลต ที่วิเคราะห์ด้วย MLST ของยีนทั้ง 7 ยีน (housekeeping gene) เทียบกับ PubMLST สามารถจัด ST ได้ทั้งหมด 4 ST ได้แก่ ST208 ST218 ST231 และ ST348 ซึ่ง ST208 เป็น ST หลักที่มีการแพร่กระจายมากที่สุดตั้งแต่ 2008-2014 และจัดเป็น International clone II (IC II) (Handal et al., 2017)

การศึกษากการแพร่กระจายของ *A. baumannii* (CRAB) ที่ดื้อต่อ carbapenem ที่ผ่านมาของ Chang-Hua Chen ในปี 2017 จากอาสาสมัครที่เป็นโรคปอดบวม โดยใช้เทคนิค Rep-PCR

และ MLST เพื่อวิเคราะห์การมีอยู่ของยีน *bla*<sub>OXA</sub> โดยพบการมีอยู่ของยีนที่มีการแพร่กระจายมากที่สุดคือ *bla*<sub>OXA-23-like</sub> และ *bla*<sub>OXA-24-like</sub> โดยพบมากกว่าร้อยละ 80 และ ร้อยละ 10 ตามลำดับ ในขณะที่ *bla*<sub>OXA-51</sub> พบในทุกไอโซเลต และพบว่าไอโซเลตที่มียีน *bla*<sub>OXA-23-like</sub> และ *bla*<sub>OXA-51-like</sub> จัดอยู่ใน ST473 ซึ่งจัดเป็น clonal complex 92 (International clone II) ที่มีการแพร่กระจายมากที่สุด (Chen et al., 2018) การศึกษาของ Wasfi และคณะในปี 2021 ที่มีการใช้ PCR ในการทดสอบการมีอยู่ของยีน *bla*<sub>NDM</sub> พบว่ามีมากกว่าร้อยละ 60 *bla*<sub>OXA-23-like</sub> มากกว่าร้อยละ 50 และ *bla*<sub>KPC</sub> ร้อยละ 50 ซึ่งทั้ง 34 ไอโซเลตที่มีการจัดกลุ่มด้วย ERIC-PCR และแบ่งได้ทั้งหมด 9 กลุ่มที่มีความเหมือนกันมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 80 และพบ 6 ไอโซเลตที่เหมือนกันร้อยละ 100 มาวิเคราะห์ด้วย MLST จึงพบว่า ST286 มีการแพร่กระจายมากที่สุดและทุกไอโซเลตจัดอยู่ใน IC II (Wasfi et al., 2021)

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงการแพร่กระจายของเชื้อ *A. baumannii* โดยใช้ PCR-based Trilocus sequence Typing (3LST) ซึ่งเป็น Alternative technique โดยการวิเคราะห์ยีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาปฏิชีวนะ เช่น *ompA* *csuE* รวมทั้งยีน *bla*<sub>OXA-51</sub> ที่ส่วนใหญ่พบใน *A. baumannii* อย่างเช่น การศึกษาของ Towner และคณะพบ 81 ไอโซเลต จัดเป็น SG1 และ SG2 และสามารถจัดได้เป็น International clone II และ I ตามลำดับ (Towner et al., 2008) ในปี 2012 มีการศึกษาชะบาดวิทยาระดับโมเลกุลของ *A. baumannii* ที่แยกได้ระหว่างการแพร่ระบาดที่เกิดขึ้นในห้อง ICU 2 แห่งของโรงพยาบาลในเมืองเนเปิลส์โดยพบ 14 ไอโซเลต ถูกระบุเป็น SG1 และจัดได้เป็น ST2 ซึ่งมีความสอดคล้องกับ international clone II (Giannouli et al., 2010) ในปี 2015 พบว่ามียีน *bla*<sub>OXA-23</sub> มากกว่าร้อยละ 60 ตามด้วย *bla*<sub>OXA-58</sub> มากกว่าร้อยละ 10 โดยที่การวิเคราะห์ด้วย 3LST พบว่ามี ST101 ST106 และ ST201 ซึ่งจัดอยู่ใน IC II (Mavroidi et al., 2015) กรุงเทพมหานคร ประเทศอิหร่าน มีรายงานการศึกษาเชิงระบาดวิทยาของ *A. baumannii* จากผู้ป่วยติดเชื้อแผลไฟไหม้ด้วยเทคนิค 3LST พบร้อยละ 36 และร้อยละ 19 จัดเป็น SG1 (IC II) และ SG2 (IC I) ตามลำดับ และยังพบ SG6 SG9 SG10 และ SG15-SG17 และพบไอโซเลตส่วนใหญ่มียีน *bla*<sub>OXA-23-like</sub> โดยพบร้อยละ 88 (Farshadzadeh et al., 2015) ทั้งนี้ยังมีพบยีน *bla*<sub>OXA-23</sub> และ *bla*<sub>VIM</sub> มากกว่าร้อยละ 30 และร้อยละ 70 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าจัดอยู่ใน IC II มากกว่าร้อยละ 30 (Bansal et al., 2020) นอกจากนี้ยังพบ *bla*<sub>OXA-23</sub> ร้อยละ 90 และพบว่าทุกไอโซเลตเป็นของ IC II (Abbaszadeh et al., 2021)

ตาราง 1 แสดงการศึกษาทางการระบาดของเชื้อ *A. baumannii* โดยวิธีทางอณูชีววิทยา

No. of <i>A. baumannii</i>	Prevalent of IC (method used)	Acquired carbapenemase genes (ร้อยละ)	References
492 isolates	IC I : ร้อยละ 8.9 IC II : ร้อยละ 50 IC II : ร้อยละ 4.6 (Rep-PCR และ Multiplex-PCR)	<i>bla</i> <sub>OXA-23-like</sub> (60.9) <i>bla</i> <sub>OXA-40-like</sub> or <i>bla</i> <sub>OXA-58-like</sub> (0.93)	(Higgins et al., 2010)
42 isolates	IC II : ร้อยละ 100 (3LST)	<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub> (66.6) <i>bla</i> <sub>OXA-58</sub> (16.6)	(Mavroidi et al., 2015)
197 isolates	IC II : ร้อยละ 100 (MLST)	<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub> (94.9) <i>bla</i> <sub>OXA-58</sub> (1.4)	(Chusri et al., 2017)
69 isolates	ICII (MLST)	<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub> (82.6) <i>bla</i> <sub>OXA-24</sub> (14.5) <i>bla</i> <sub>OXA-58</sub> (3) และ <i>bla</i> <sub>NDM</sub> (5.8)	(Handal et al., 2017)
21 CRAB isolates	ICII (Rep-PCR และ MLST)	<i>bla</i> <sub>OXA-23-like</sub> (85.70) และ <i>bla</i> <sub>OXA-24-like</sub> (14.3)	(Chen et al., 2018)
147 CRAB isolates	IC II (MLST)	<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub> (100)	(Jeon et al., 2018)
80 isolates	IC II : ร้อยละ 63.8 IC V : ร้อยละ 16.3 Others: ร้อยละ 19.9 (MLST)	<i>bla</i> <sub>OXA-24-like</sub> (81.3) <i>bla</i> <sub>OXA-23-like</sub> (13.8) และ <i>bla</i> <sub>OXA-143-like</sub> (2.5)	(Blitchtein et al., 2018)
28 clinical isolates	IC II : ร้อยละ 36 (3LST)	<i>bla</i> <sub>OXA-23-like</sub> (36) และ <i>bla</i> <sub>VIM</sub> (71)	(Bansal et al., 2020)
34 CRAB isolates	IC II : ร้อยละ 100 (MLST)	<i>bla</i> <sub>NDM</sub> (67.7) <i>bla</i> <sub>OXA-23-like</sub> (55.9) และ <i>bla</i> <sub>KPC</sub> (50)	(Wasfi et al., 2021)
30 XDRAB isolates	ICII : ร้อยละ 100 (3LST)	<i>bla</i> <sub>OXA-23-like</sub> (90)	(Abbaszadeh et al., 2021)
135 MDRAB isolates	IC II: ร้อยละ 65.19 (MLST)	<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub> (92.59) <i>bla</i> <sub>OXA-24</sub> (14.81) และ <i>bla</i> <sub>OXA-58</sub> (1.48)	(Khuntayaporn, 2021)

### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินงานวิจัย

##### สายพันธุ์แบคทีเรีย

เชื้อแบคทีเรีย *Acinetobacter* spp. ที่แยกได้จากตัวอย่างผู้ป่วยจากโรงพยาบาลร้อยเอ็ด ในช่วง ปีค.ศ. 2020-2021 จำนวน 200 ไอโซเลต จากนั้นนำแบคทีเรียมาทำการยีนย่นลงบนอาหาร Leeds *Acinetobacter* Agar Base (LAM) (Himedia, India) และนำ colony สีชมพูมาทำ simple cross streak บนอาหาร Luria Bertani agar (LBA) (Himedia, India) จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเก็บเซลล์ที่ได้ลงใน stock glycerol ที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ -40 องศาเซลเซียส

##### การเตรียมดีเอ็นเอจากเซลล์แบคทีเรีย

นำเชื้อ *Acinetobacter* spp. เลี้ยงบนอาหาร LAM และบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นนำ 1 โคโลนี มาทำ simple cross streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton agar (MHA) บ่มเพาะเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเก็บเซลล์แบคทีเรียที่เจริญบนอาหาร MHA ใส่หลอด microtube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร และเติมร้อยละ 0.85 NaCl 400 ไมโครลิตร จึงนำไปเขย่าให้กระจายตัว และนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12000 x g เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นใช้ปิเปตดูดส่วนใสที่อยู่ด้านบนทิ้ง และเติม TE buffer ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ลงในเซลล์ตะกอนของแบคทีเรียผสมให้เข้ากัน เพื่อนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12000 x g เป็นเวลา 3 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

##### Primer (ไพรเมอร์)

ไพรเมอร์สำหรับการตรวจหายีน *bla*<sub>OXA-51</sub> เพื่อยืนยันสายพันธุ์ของเชื้อ *A. baumannii* จะใช้คู่ไพรเมอร์ OXA51-353F (353 bp) และ OXA51-353R (353 bp) การตรวจหายีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเอนไซม์ carbapenemase เช่น *bla*<sub>OXA-23</sub> *bla*<sub>OXA-24</sub> *bla*<sub>OXA-58</sub> *bla*<sub>OXA-51</sub> และ *bla*<sub>NDM</sub> ได้แก่ โดยใช้ไพรเมอร์ 8 คู่ ได้แก่ OXA23-501F OXA23-501R (501 bp) OXA24-249F OXA24-249R (249 bp) OXA51-353F OXA51-353R (353 bp) และ OXA58-599F OXA58-599R (599 bp) และ NDM (621 bp) ไพรเมอร์ 5 คู่ สำหรับการระบุ *mcr-1* ถึง *mcr-5* ได้แก่ *mcr-1F* *mcr-1R* (320 bp) *mcr-2F* *mcr-2R* (715 bp) *mcr-3F* *mcr-3R* (929 bp) *mcr-4F* *mcr-4R* (1100 bp)

และ mcr-5F mcr-5R (1644 bp) รวมทั้งไพรเมอร์สำหรับใช้ระบุ International clones ของเชื้อ *A. baumannii* ได้แก่ชุดที่ 1 *ompA* (355 bp) *csuE* (702 bp) และ *bla*<sub>OXA-51</sub> subtype OXA66 (559 bp) และชุดที่ 2 ได้แก่ *ompA* (343 bp) *csuE* (580 bp) และ *bla*<sub>OXA-51</sub> subtype OXA69 (162 bp) ไพรเมอร์สำหรับ (ตาราง 2)



ตาราง 2 แสดงไพรเมอร์สำหรับการตรวจหา ยีน carbapenemase และการจัดกลุ่ม sequence groups ของ *A. baumannii*

Target gene	Amplicon size (bp)	Primer name	primer (5'-3')	References
<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	501	OXA23-501F	GATCGGATTG-GAGAACCAGA	
		OXA23-501R	ATTTCTGA-CCGCATTTCCAT	
<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	249	OXA24-249F	TTCCCCTAACATGAATTTGT	(Turton et al., 2006)
		OXA24-249R	GTACTAATCAAAGTTGTGAA	
<i>bla</i> <sub>OXA-51</sub>	353	OXA51-353F	TAATGCTTTGATCGGCCTTG	
		OXA51-353R	TGGATTGCACTTCATCTTGG	
<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>	599	OXA58-599F	TGGCACGCAT-TTAGACCG	
		OXA58-599R	AAACCCACAT-ACCAACCC	
<i>ompA</i>	355	ompA-355F	GATGGCGTAAATCGTGGTA	
		ompA-355R	CAACTTTAGCGATTTCTGG	
<i>csuE</i>	702	csuE-702F	CTTTAGCAAACATGACCTACC	
		csuE-702R	TACACCCGGGTTAATCGT	
<i>OXA66</i>	559	OXA66-559F	GCGCTTCAAATCTGATGTA	(Turton et al., 2007)
		OXA66-559R	GCGTATATTTGTTTCCATTC	
<i>ompA</i>	343	ompA-343F	GACCTTTCTTATCACAACGA	
		ompA-343R	CAACTTTAGCGATTTCTGG	
<i>csuE</i>	580	csuE-580F	GGCGAACATGACCTATTT	
		csuE-580R	CTTCATGGCTCGTTGGTT	
<i>OXA69</i>	162	OXA69-162F	CATCAAGGTCAAACCTCAA	
		OXA69-162R	TAGCCTTTTTTCCCATC	
<i>bla</i> <sub>NDM</sub>	621	NDM-1 621F	GGTTTGGCGATCTGGTTTTTC	(Poirel et al., 2011)
		NDM-1 621R	CGGAATGGCTCATCACGATC	

ตาราง 3 แสดงไพรเมอร์สำหรับการตรวจหา ยีน *mcr-1* ถึง *mcr-5* ของ *A. baumannii*

Target gene	Amplicon size (bp)	Primer name	primer (5'- 3')	References
<i>mcr-1</i>	320	mcr-1F	AGTCCGTTTGTCTTGTTGGC	
		mcr-1R	AGATCCTTGGTCTCGGCTTG	
<i>mcr-2</i>	715	mcr-2F	CAAGTGTGTTGGTCGCAGTT	(Rebelo et al., 2018)
		mcr-2R	TCTAGCCCGACAAGCATAACC	
<i>mcr-3</i>	929	mcr-3F	AAATAAAAATTGTTCCGTTTTT	
		mcr-3R	AATGGAGATCCCCGTTTTT	
<i>mcr-4</i>	1100	mcr-4F	TCACTTTCATCACTGCGTTG	
		mcr-4R	TTGTCCATGACTACCAATG	
<i>mcr-5</i>	1644	mcr-5F	ATGCGGTTGTCTGCATTTATC	(Borowiak et al., 2017)
		mcr-5R	TCATTGTGGTTGCCTTTTCTG	

### การระบุเชื้อ *A. baumannii* โดยเทคนิค Polymerase chain reaction (PCR)

นำ DNA ของ *A. baumannii* มายืนยันด้วยการตรวจหายีน *bla*<sub>OXA-51</sub> ซึ่งเป็นยีนที่มีการศึกษาแล้วว่าสามารถเป็นยีนที่จำเพาะต่อเชื้อ *A. baumannii* โดยใช้คู่ไพรเมอร์ OXA51-353F (353 bp) และ OXA51-353R (353 bp) (ตาราง 2) โดยในหลอดปฏิกิริยาประกอบด้วย ดีเอ็นเอของตัวอย่าง 2 µl 10x PCR buffer 2.5 µl 10 mM dNTPs 0.5 µl 5 U/µl of Taq DNA polymerase 0.25 µl primers 25 pmol 0.25 µl และเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 20 µl โดยกระบวนการทำ PCR ประกอบด้วย denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วินาที annealing ที่อุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 วินาที extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วินาที และ final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 นาที (Turton et al., 2006)

### การทดสอบฤทธิ์ดื้อยาโดยวิธี Broth microdilution

การหาค่าความเข้มข้นของยาที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Inhibitory Concentration: MIC) ด้วยวิธี Broth microdilution สำหรับแบคทีเรียอ้างอิงที่ใช้ในการทดสอบนี้ ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922 โดยเฉพาะเลี้ยงจุลินทรีย์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ LBA บ่ม 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำโคโลนีเดี่ยวมาเพาะเลี้ยงต่อในอาหาร Mueller Hinton broth (MHB) บ่มเพาะเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะวัด OD ที่ 600 นาโนเมตร (nm) ได้ 0.1-0.08 (ซึ่งค่าที่ได้ในช่วง 0.1-0.08 จะเทียบได้กับ MC 0.5 ซึ่งจะมีปริมาณ cell ประมาณ  $10^8$  CFU/ml) จากนั้นนำมาทำ dilution จนได้เซลล์ประมาณ  $10^5$  CFU/ml และนำมาศึกษาหาค่า MIC ของ imipenem colistin และ tigecycline โดยการทำให้ 2-fold serial dilutions ในช่วงความเข้มข้นของยาระหว่าง 2-64 µg/ml 1-32 µg/ml และ 1-32 µg/ml จากนั้นบ่มเพาะเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นทำการแปลผลการทดสอบของ imipenem เป็น susceptibility (MIC  $\leq 2$  µg/ml) intermediate (MIC 4 µg/ml) และ resistant (MIC  $\geq 8$  µg/ml) Colistin เป็น intermediate (MIC  $\leq 2$  µg/ml) และ resistant (MIC  $\geq 4$  µg/ml) และ tigecycline เป็น susceptibility (MIC  $\leq 2$  µg/ml) intermediate (MIC 4 µg/ml) และ resistant (MIC  $\geq 8$  µg/ml) ตามลำดับ โดยดูจากการเจริญเติบโตของเชื้อตามมาตรฐาน CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2021)

### การทดสอบฤทธิ์ดื้อยาโดยวิธี Disc diffusion

เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *A. baumannii* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton agar (MHA) (Himedia, India) แล้วนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำโคโลนี



ที่เจริญบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อมาปรับความหนาแน่นของเชื้อในสารละลายที่มีร้อยละ 0.85 NaCl ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ให้ได้ความความหนาแน่นเทียบเท่ากับ 0.5 Mcfarland ซึ่งจะมีปริมาณ เซลล์ ประมาณ  $10^8$  CFU/ml โดยใช้เครื่องวัดความหนาแน่น (McFarland densitometer: SiaBiosan, Latvia) นำไม้ปั่นสำลีที่ปราศจากเชื้อจุ่มลงในเชื้อที่ปรับความหนาแน่นแล้วทำให้หมดบริเวณข้าง หลอดทดลอง จากนั้นนำเชื้อป้าย (swab) บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA 3 ระบายให้ทั่วบริเวณ ผิวหน้าจานอาหาร เชื้อละ 3 จานจากนั้นรอให้เชื้อที่ป้ายบนอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง แล้วจึงนำยา ปฏิชีวนะทั้ง 11 ชนิด ได้แก่ carbapenems (imipenem 10 µg/ml meropenem 10 µg/ml) cepheims (cefotaxime 30 µg/ ml ceftriaxone 30 µg/ ml cefepime 30 µg/ ml) aminoglycosides (amikacin 30 µg/ ml) fluoroquinolones (ciprofloxacin 5 µg/ ml levofloxacin 5 µg/ml) folate pathway antagonists (trimethoprim/sulfamethoxazole 25 µg/ml) tetracyclines (tetracycline 30 µg/ml)  $\beta$ -lactam combination agent (piperacillin/ tazobactam 110 µg/ml) วางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ที่ทำการป้ายเชื้อทดสอบแล้ว โดยใช้ เทคนิคปราศจากเชื้อ จากนั้นนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Hudzicki, 2009) บันทึกผลการทดสอบความไวต่อปฏิชีวนะโดยการวัด zone of inhibition (mm) ตามมาตรฐานของ CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2021) (ตาราง 4)

ตาราง 4 แสดงยาปฏิชีวนะและการแปลผลการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ

Antimicrobial Agent	Disc content ( $\mu\text{g/ml}$ )	Categories and Zone Dimeter Breakpoint nearest whole (mm.)		
		S	I	R
imipenem	10	$\geq 22$	19-21	$\leq 18$
meropenem	10	$\geq 18$	15-17	$\leq 14$
cefotaxime	30	$\geq 23$	15-22	$\leq 14$
ceftriaxone	30	$\geq 21$	14-20	$\leq 13$
cefepime	30	$\geq 18$	15-17	$\leq 14$
amikacin	30	$\geq 15$	12-14	$\leq 11$
ciprofloxacin	5	$\geq 21$	16-20	$\leq 15$
levofloxacin	5	$\geq 17$	14-16	$\leq 13$
trimethoprim/Sulfamethoxazole	1.25	$\geq 16$	11-15	$\leq 10$
tetracycline	10	$\geq 15$	12-14	$\leq 11$
Piperacillin/tazobactam	100	$\geq 21$	18-20	$\leq 17$

หมายเหตุ: Susceptibility (S) Intermediate (I) และ Resistance (R)

ที่มา: CLSI 2021 (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2021)

### การตรวจหายีน carbapenemase ด้วยเทคนิค PCR

ตรวจหายีน carbapenemase ในคลาส D  $\beta$ -lactamase เช่น ยีน *bla*<sub>OXA-23</sub> *bla*<sub>OXA-24</sub> และ *bla*<sub>OXA-58</sub> ด้วยเทคนิค multiplex PCR โดยในหลอดปฏิกิริยาประกอบด้วยดีเอ็นเอของตัวอย่าง 2  $\mu$ l 10x PCR buffer 2.5  $\mu$ l 10 mM dNTPs 0.5  $\mu$ l Taq DNA polymerase 0.25  $\mu$ l primers 25 pmol 0.25  $\mu$ l ของไพรเมอร์แต่ละตัว ได้แก่ OXA23-501F OXA23-501R (501 bp) OXA24-249F OXA24-249R (249 bp) และ OXA58-599F OXA58-599R (599 bp) (ตาราง 2) และเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 20  $\mu$ l กระบวนการทำ PCR ประกอบด้วย denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที annealing ที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที และ final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 นาที จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR มาวิเคราะห์ขนาดของดีเอ็นเอโดยการทำ agarose gel electrophoresis ในร้อยละ 2 agarose gel ที่ 95 โวลต์ เป็นเวลา 35 นาที

ตรวจหายีน carbapenemase ในคลาส B metallo- $\beta$ -lactamase เช่น *bla*<sub>NDM</sub> ด้วยเทคนิค PCR โดยในหลอดปฏิกิริยาประกอบด้วยดีเอ็นเอของตัวอย่าง 2  $\mu$ l 10x PCR buffer 2.5  $\mu$ l 10 mM dNTPs 0.5  $\mu$ l Taq DNA polymerase 0.5  $\mu$ l primers 25 pmol 0.05  $\mu$ l ของไพรเมอร์ NDM-1F (621 bp) และ NDM-1R (621 bp) (ตาราง 2) และเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 20  $\mu$ l กระบวนการทำ PCR ประกอบด้วย Initial denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที annealing ที่ 52 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 วินาที extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที และ final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที (Poirel et al., 2011) จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR มาวิเคราะห์ขนาดของดีเอ็นเอโดยการทำ agarose gel electrophoresis ในร้อยละ 2 agarose gel ที่ 95 โวลต์ เป็นเวลา 35 นาที

### การตรวจหายีน *mcr-1* ถึง *mcr-5* ของเชื้อ *A. baumannii*

นำ 27 ไอโซเลตที่แสดงการดื้อยาปฏิชีวนะ colistin จากการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะโดยวิธี broth microdilution มาตรวจหายีน *mcr* ด้วยเทคนิค multiplex PCR โดยในหลอดปฏิกิริยาประกอบด้วยดีเอ็นเอของตัวอย่าง 2  $\mu$ l 10x buffer 2  $\mu$ l 2.5mM dNTP 2  $\mu$ l Taq DNA polymerase 0.15  $\mu$ l primers 25 pmol 0.15  $\mu$ l ของไพรเมอร์ *mcr-1F* (320 bp) *mcr-1R* (320bp) *mcr-2F* (715 bp) *mcr-2R* (715bp) *mcr-3F* (929 bp) *mcr-3R* (929 bp) *mcr-4F* (1116 bp) *mcr-4R* (1116 bp) *mcr-5F* (1644 bp) และ *mcr-5R* (1644 bp) (ตาราง 3) และเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 20  $\mu$ l กระบวนการทำ PCR ประกอบด้วย

Initial denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที denaturation ที่ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที annealing ที่อุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 วินาที extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 วินาที และ final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที (Rebelo et al., 2018) จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR มาวิเคราะห์ขนาดของดีเอ็นเอเพื่อดูการมีอยู่ของยีนโดยการทำ agarose gel electrophoresis ในร้อยละ 2 agarose gel ที่ 95 โวลต์ เป็นเวลา 35 นาที

### การระบุ sequence group ของเชื้อ *A. baumannii* โดยวิธี PCR-based Trilocus sequence Typing (3LST)

ระบุ International clones ด้วยเทคนิค multiplex PCR โดยประกอบไปด้วย 2 multiplexes ซึ่งอาศัยความจำเพาะของไพรเมอร์ในการแยกความแตกต่างของอัลลีลของยีนทั้งสามยีน คือ *ompA* *csuE* และ *bla*<sub>OXA-51</sub> โดยที่ multiplex 1 ประกอบไปด้วยไพรเมอร์ที่ตรวจหายีน *ompA* (355 bp) *csuE* (702 bp) และ *bla*<sub>OXA-51</sub> subtype OXA66 (559 bp) ในขณะที่ multiplex 2 ประกอบไปด้วยไพรเมอร์ที่ตรวจหายีน *ompA* 343 bp *csuE* (580 bp) และ *bla*<sub>OXA-51</sub> subtype OXA69 (162 bp) (ตาราง 2) และใช้ *A. baumannii* ATCC 19606 เป็นสายพันธุ์อ้างอิง (Bansal et al., 2020) โดยในแต่ละหลอดปฏิกิริยาประกอบด้วยดีเอ็นเอของตัวอย่าง 2 µl 10x PCR buffer 2.5 µl 10 mM dNTPs 0.5 µl 5U/µl Taq DNA polymerase 0.5 µl primers 25 pmol 0.25 µl และเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 20 µl โดยกระบวนการทำ PCR มีขั้นตอนดังนี้ initial denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที 30 cycles annealing ที่อุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที และ final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที (Turton et al., 2007) โดยแต่ละไอโซเลทจะถูกกำหนดให้เป็น Sequence Groups ต่าง ๆ และ ICs ต่าง ๆ ตามเกณฑ์ (ตาราง 5) (Martins et al., 2016) จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR มาวิเคราะห์ขนาดของดีเอ็นเอเพื่อดูการมีอยู่ของยีนโดยการทำ agarose gel electrophoresis ในร้อยละ 2 agarose gel ที่ 95 โวลต์ เป็นเวลา 37 นาที

### การวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้โปรแกรม StataE เวอร์ชัน 12.0 สำหรับวิเคราะห์ข้อมูล ในการแสดงข้อมูลอธิบายลักษณะทั่วไปของผู้ป่วย เชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าเฉลี่ย ร้อยละ และการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *A. baumannii* ที่มีรูปแบบการดื้อยาแบบ XDRAB กับจำนวนไอโซเลทของแต่ละ

แผนกในโรงพยาบาลร้อยเอ็ด ด้วยการใช้สถิติแบบไคสแควร์ (Chi square) และการวิเคราะห์ที่ง  
นัยสำคัญด้วยสถิติ Chi square หรือ Fisher's exact test จากนั้นทำการวิเคราะห์ค่า Odds ratio  
(OR) สำหรับดูความแตกต่างของกลุ่มตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์โดยทำการเปรียบเทียบทีละคู่ และใช้  
กลุ่มตัวอย่างที่พบมากที่สุดเป็นกลุ่มเปรียบเทียบ ในการวิเคราะห์ค่า OR และค่าช่วงความเชื่อมั่นที่ร้อย  
ละ 95 (95% Confidence interval) และค่า p-value โดยกำหนดระดับ นัยสำคัญ ที่  
 $p\text{-value} < 0.05$



ตาราง 5 แสดงการระบุ sequence groups ของเชื้อ *A. baumannii* จากการทำ 3LST

Sequence group (SGs)	PCR Multiplex 1			Multiplex PCR 2			References
	<i>csuE</i> (702 bp)	<i>bla<sub>OXA-51</sub></i> (599 bp)	<i>ompA</i> (355 bp)	<i>csuE</i> (580 bp)	<i>bla<sub>OXA-51</sub></i> (162 bp)	<i>ompA</i> (343 bp)	
SG1 (IC II)	+	+	+	-	-	-	(Abbaszadeh et al., 2021)
SG2 (IC I)	-	-	-	+	+	+	(Turton et al., 2007)
SG3 (IC III)	+	+	-	-	+	-	(Turton et al., 2007)
SG4	-	+	+	-	-	-	(Towner et al., 2008)
SG5	-	-	+	-	-	-	
SG6	+	-	-	-	+	+	
SG7	-	-	+	+	-	-	(Giannouli et al., 2010)
SG8	-	+	+	+	-	-	
SG9	-	-	+	+	-	+	(Karah et al., 2012)
SG10	-	+	-	+	+	-	(Grosso et al., 2011)
SG11	-	-	-	-	+	+	
SG12	-	+	-	-	-	-	(Karah et al., 2012)
SG13	+	-	+	-	-	-	
SG14	+	+	-	-	-	-	(Bonnin et al., 2011)
SG15	+	-	-	-	+	-	(Farshadzadeh Z et al., 2015)
SG16	-	+	-	+	-	-	
SG17	+	-	+	-	-	+	

## บทที่ 4 ผลการวิจัย

### ชนิดของตัวอย่างทางคลินิก และการระบุยีนของ *A. baumannii*

ในการศึกษาครั้งนี้ได้นำเชื้อ *Acinetobacter* spp. ทั้งหมด 200 ไอโซเลตจากโรงพยาบาล ร้อยเอ็ด มาระบุยีนโดยการตรวจหายีน *bla*<sub>OXA-51</sub> ด้วยเทคนิค PCR โดยพบ 190 ไอโซเลต จัดเป็นสปีชีส์ *A. baumannii* คิดเป็นร้อยละ 95 โดยเชื้อประกอบด้วยตัวอย่างจากเพศชายร้อยละ 71.05 และ เพศหญิงร้อยละ 28.95 โดยมีอายุรวม (<1-90 ปี) เฉลี่ยเท่ากับ 61.00 ปี และพบว่าอายุของผู้ป่วยส่วนใหญ่ ร้อยละ 36.84 (70/190 ไอโซเลต) มาจากผู้ที่มีอายุในช่วง 61-75 ปี รองลงมาคือผู้ป่วยที่มีอายุในช่วง 76-90 ปี ร้อยละ 23.26 (44/190 ไอโซเลต) ตามด้วย ผู้ป่วยที่มีอายุในช่วง 46-60 ปี ร้อยละ 22.86 (43/190 ไอโซเลต) ซึ่งตัวอย่างทางคลินิกส่วนใหญ่ร้อยละ 75.26 (143/190 ไอโซเลต) คือเสมหะ (sputum) และตัวอย่างอื่น ๆ ร้อยละ 24.74 (47/190 ไอโซเลต) ได้แก่ หนอง (PUS) ร้อยละ 7.36 (14/190 ไอโซเลต) เลือด (Blood hemoculture) ร้อยละ 8.42 (16/190 ไอโซเลต) ปัสสาวะ (Urine) ร้อยละ 5.78 (11/190 ไอโซเลต) การล้างไตทางช่องท้อง (Peritoneal Dialysis-PD) ร้อยละ 1.05 (2/190 ไอโซเลต) เนื้อเยื่อ (Tissue) ร้อยละ 0.53 (1/190 ไอโซเลต) Ascitic fluid ร้อยละ 0.53 (1/190 ไอโซเลต) pleural fluid ร้อยละ 0.53 (1/190 ไอโซเลต) และ ของเหลวในร่างกาย (Body fluid) ร้อยละ 0.53 (1/190 ไอโซเลต) (ตาราง 6 และ ภาคผนวกตาราง 11)

ตาราง 6 แสดงข้อมูลทางคลินิกของเชื้อ *A. baumannii* จากโรงพยาบาลร้อยเอ็ด

ข้อมูลทางคลินิก	ร้อยละ (จำนวนไอโซเลต)
<b>อายุ</b>	
น้อยกว่า 1-15 ปี	4.47 (9/190 ไอโซเลต)
16-30 ปี	4.47 (9/190 ไอโซเลต)
31-45 ปี	7.89 (15/190 ไอโซเลต)
46-60 ปี	22.86 (43/190 ไอโซเลต)
61-75 ปี	36.84 (70/190 ไอโซเลต)
76-90 ปี	23.26 (44/190 ไอโซเลต)
<b>เพศ</b>	
ชาย	71.05 (135/190 ไอโซเลต)
หญิง	28.95 (55/190 ไอโซเลต)
<b>แผนก (wards)</b>	
ICU	33.16 (63/190 ไอโซเลต)
ศัลยกรรม	11.58 (22/190 ไอโซเลต)
อายุรกรรม	44.21 (84/190 ไอโซเลต)
อื่น ๆ	11.05 (21/190 ไอโซเลต)
<b>ชนิดตัวอย่าง</b>	
เสมหะ	75.26 (143/190 ไอโซเลต)
อื่นๆ	24.74 (47/190 ไอโซเลต)
หนอง	7.36 (14/190 ไอโซเลต)
เลือด	8.42 (16/190 ไอโซเลต )
ปัสสาวะ	5.78 (11/190 ไอโซเลต)
การล้างไตช่องท้อง	1.05 (2/190 ไอโซเลต)
เนื้อเยื่อ	0.53 (1/190 ไอโซเลต)
Ascitic fluid	0.53 (1/190 ไอโซเลต)
pleural fluid	0.53 (1/190 ไอโซเลต)
ของเหลวในร่างกาย	0.53 (1/190 ไอโซเลต)

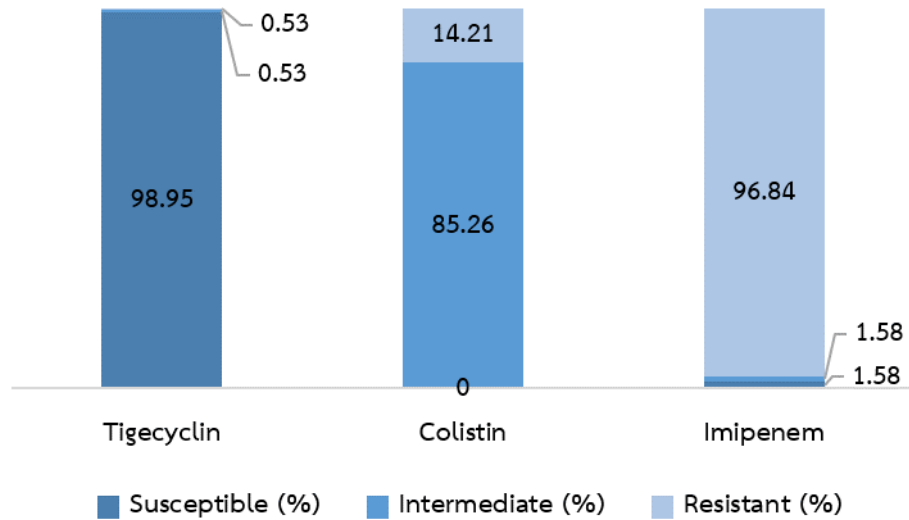


### การทดสอบการดื้อยาของเชื้อ *A. baumannii* โดยวิธี Broth microdilution

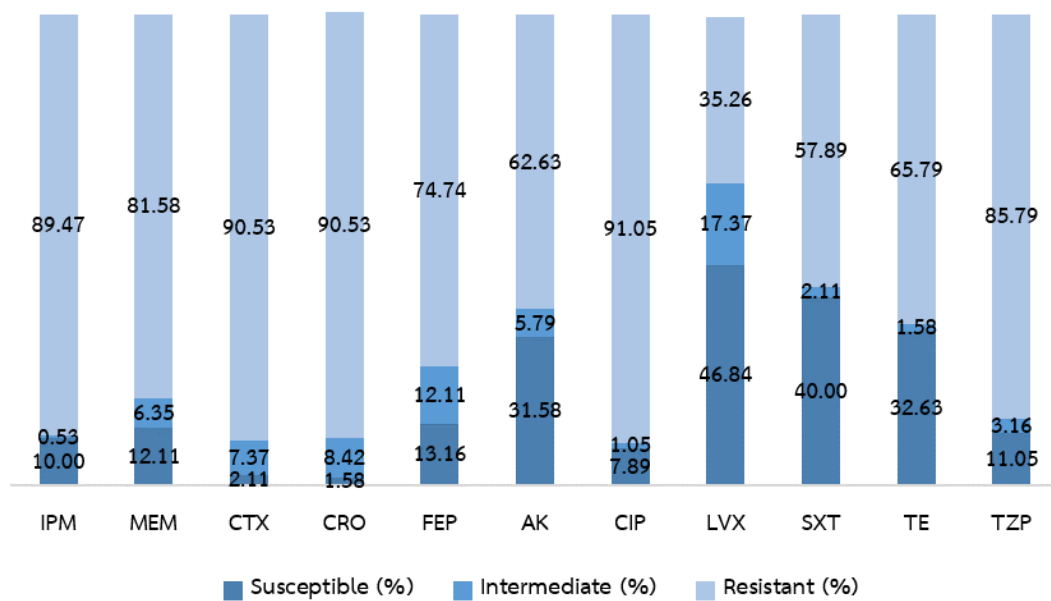
*A. baumannii* จากการยืนยันด้วยยีน *bla*<sub>OXA-51</sub> ทั้ง 190 ไอโซเลตถูกนำมาทดสอบการดื้อยาปฏิชีวนะ tigecycline colistin และ imipenem จากการศึกษาพบว่าเชื้อ *A. baumannii* ทั้ง 190 ไอโซเลต ดื้อต่อยา imipenem และ colistin ร้อยละ 96.84 (184/190 ไอโซเลต) และ ร้อยละ 14.21% (27/190 ไอโซเลต) ตามลำดับ และพบว่าเชื้อ *A. baumannii* มีความไวต่อยาปฏิชีวนะ tigecycline สูงถึงร้อยละ 98.95 (188/190 ไอโซเลต) นอกจากนี้ยังพบว่ามี 1 ไอโซเลตที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะทั้ง tigecycline (8 µg/ml) colistin (16 µg/ml) และ imipenem (≥64 µg/ml) ได้แก่ เชื้อที่มีรหัส 1783 (ภาพ 7 และภาคผนวกตาราง 12)

### การทดสอบการดื้อยาของเชื้อ *A. baumannii* โดยวิธี Disc diffusion

การทดสอบการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *A. baumannii* ทั้ง 11 ชนิด พบว่า *A. baumannii* ดื้อต่อยา ciprofloxacin ร้อยละ 91.05 (173/190 ไอโซเลต) รองลงมาคือ cefotaxime ร้อยละ 90.53 (172/190 ไอโซเลต) ceftriaxone ร้อยละ 90.53 (172/190 ไอโซเลต) ตามด้วย imipenem ร้อยละ 89.47 (170/190 ไอโซเลต) piperacillin/tazobactam ร้อยละ 85.79 (163/190 ไอโซเลต) meropenem ร้อยละ 81.58 (155/190 ไอโซเลต) cefepime ร้อยละ 74.74 (142/190 ไอโซเลต) tetracycline ร้อยละ 65.79 (125/190 ไอโซเลต) amikacin ร้อยละ 62.63 (119/190 ไอโซเลต) trimethoprim/sulfamethoxazole ร้อยละ 57.89 (110/190 ไอโซเลต) และ levofloxacin ร้อยละ 35.26 (67/190 ไอโซเลต) ตามลำดับ (ภาพ 8 ตาราง 7 และภาคผนวกตาราง 13)



ภาพ 7 ลักษณะการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *A. baumannii* โดยวิธี Broth microdilution



ภาพ 8 การดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *A. baumannii* โดยวิธี Disc diffusion

หมายเหตุ: imipenem (IPM); meropenem (MEM); cefotaxime (CTX); ceftriaxone (CRO); cefepime (FEP); amikacin (AK); ciprofloxacin (CIP); levofloxacin (LVX); trimethoprim/ sulfamethoxazole (SXT); tetracycline (TE); piperacillin/ tazobactam (TZP)

### การกระจายการดื้อยาในแต่ละแผนก และชนิดของตัวอย่างทางคลินิก

จากการทดสอบการดื้อยาปฏิชีวนะโดยวิธี Broth microdilution และ Disc diffusion พบเชื้อดื้อยาทั้งหมด 3 แบบ โดยการศึกษาครั้งนี้พบ *A. baumannii* จัดเป็น non-multidrug-resistant (non-MDRAB) ร้อยละ 9.47 (17/190 ไอโซเลต) multidrug-resistant *A. baumannii* (MDRAB) ร้อยละ 91.05 (173/190 ไอโซเลต) และ extensively drug-resistant *A. baumannii* (XDRAB) ร้อยละ 74.21 (141/190 ไอโซเลต) โดย *A. baumannii* ในกลุ่ม XDRAB และ MDRAB ส่วนใหญ่แยกได้จากเสมหะของผู้ป่วย และมาจากแผนกที่แตกต่างกันภายในโรงพยาบาลร้อยเอ็ด เมื่อนำแต่ละแผนกมาทำการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงสถิติเทียบกับการเป็นเชื้อที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่ม XDRAB และไม่จัดอยู่ในกลุ่ม XDRAB พบว่า แผนกไอซียู (ICU) มีไอโซเลตที่จัดเป็น XDRAB มากที่สุด ร้อยละ 80.95 ตามด้วยแผนกอายุรกรรม ร้อยละ 66.7 แผนกศัลยกรรม ร้อยละ 77.3 และแผนกอื่น ๆ ร้อยละ 80.95 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการเป็น XDRAB ของเชื้อ *A. baumannii* ในแต่ละแผนกไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p$ -value > 0.05) (ตาราง 8) ทั้งนี้ยังพบว่าไอโซเลตกลุ่ม XDRAB ส่วนใหญ่มาจากตัวอย่างทางคลินิกจากเสมหะเป็นส่วนใหญ่ (104/141 ไอโซเลต) และมาจากตัวอย่างที่ไม่ใช่เสมหะ (Non-Sputum) 37/141 ไอโซเลต และเมื่อนำมาเทียบกับกลุ่มที่ไม่จัดใน XDRAB พบว่าตัวอย่างทางคลินิกส่วนใหญ่มาจากเสมหะ เช่นกัน (37/49 ไอโซเลต) และ Non-Sputum (12/49 ไอโซเลต) แสดงให้เห็นถึงตัวอย่างทางคลินิกไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p$ -value > 0.05)

จากการศึกษาพบ *A. baumannii* ทั้ง 190 ไอโซเลตที่จัดเป็น carbapenem-resistant *A. baumannii* (CRAB) ร้อยละ 90.52 (172/190 ไอโซเลต) โดยพบดื้อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม carbapenems ทั้งสองชนิดที่ทำการศึกษาประกอบด้วยยาปฏิชีวนะ imipenem และ meropenem ร้อยละ 80.05 (153/190 ไอโซเลต) พบดื้อต่อยาปฏิชีวนะ imipenem แต่ยังคงไวต่อยาปฏิชีวนะ meropenem ร้อยละ 2.63 (5/190 ไอโซเลต) และพบดื้อต่อยาปฏิชีวนะ imipenem แต่ดื้อยาปฏิชีวนะ meropenem ในระดับปานกลาง ร้อยละ 6.31 (12/190 ไอโซเลต) นอกจากนี้พบว่ามีร้อยละ 1.05 (2/190 ไอโซเลต) ที่ไวต่อยาปฏิชีวนะ imipenem แต่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ meropenem ทั้งนี้พบ non-CRAB ร้อยละ 9.74 โดยการดื้อยาปฏิชีวนะ carbapenems โดยรวม พบดื้อยา imipenem ร้อยละ 89.47 และ meropenem ร้อยละ 81.58 แสดงให้เห็นถึง *A. baumannii* มีอุบัติการณ์การดื้อยาในกลุ่ม carbapenems ในอัตราที่สูงขึ้น และในอนาคตอาจไม่สามารถใช้ยาเหล่านี้ในการรักษาการติดเชื้อดื้อยาที่เกิดจาก *A. baumannii*

ตาราง 7 แสดงการดื้อยาปฏิชีวนะแต่ละกลุ่มของเชื้อ *A. baumannii*

Group	Antimicrobial	Susceptible No.(%)	Resistance No.(%)
carbapenems	imipenem	20 (10.53)	170 (89.47)
	meropenem	35 (18.42)	155 (81.58)
	cefotaxime	18 (9.47)	172 (90.53)
cephems	ceftriaxone	18 (9.47)	172 (90.53)
	cefepime	48 (25.26)	142 (74.74)
aminoglycosides	amikacin	71 (37.37)	119 (62.63)
fluoroquinolones	ciprofloxacin	17 (8.95)	173 (91.05)
	levofloxacin	123 (64.74)	67 (35.26)
folate pathway antagonists	trimethoprim/sulfamethoxazole	80 (42.11)	110 (57.89)
tetracyclines	tetracycline	65 (34.21)	125 (65.79)
	tigecycline	188 (98.95)	1 (0.53)
$\beta$ -lactam combination agent	piperacillin/tazobactam	27 (14.21)	163 (85.79)
polymyxin E	colistin	163 (85.79)	27 (14.21)

ตาราง 8 แสดงการเปรียบเทียบทางสถิติของเชื้อ *A. baumannii* ที่จัดอยู่ในกลุ่ม extensively-drug resistant *A. baumannii* (XDRAB) แต่ละแผนกภายในโรงพยาบาลร้อยเอ็ด

Wards	Isolates	XDRAB (%)	OR	95%CI	p-value
อายุรกรรม	84/190	66.7	1	1	0.223
ICU	63/190	80.95	0.5	0.1 ถึง 1.0	
ศัลยกรรม	22/190	77.3	0.6	0.2 ถึง 1.7	
Wards อื่นๆ	21/190	80.95	0.5	0.6 ถึง 1.5	

หมายเหตุ: Odds ratio; OR เป็นการคำนวณหาความแตกต่างระหว่างจำนวนผู้ป่วยแต่ละแผนก

### การตรวจหายีน carbapenemase โดยใช้เทคนิค PCR

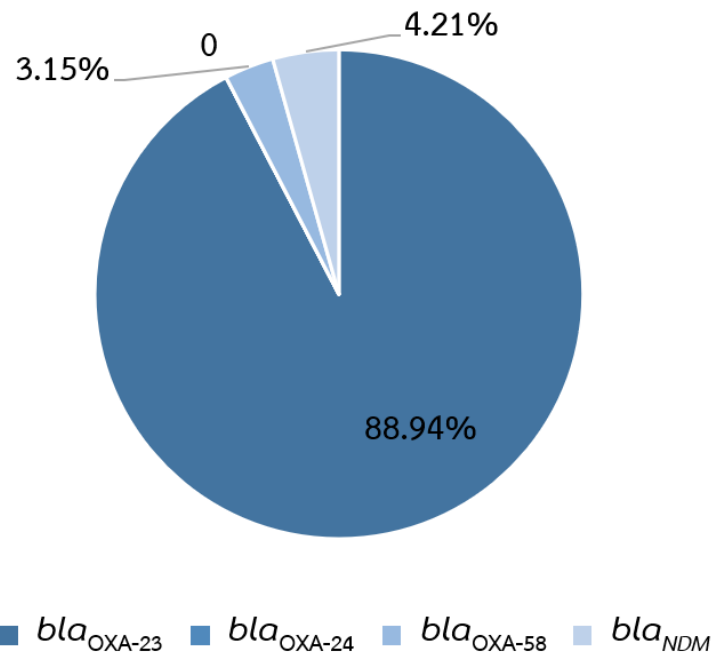
การทดสอบทางจีโนมของเชื้อ *A. baumannii* เพื่อศึกษาการมีอยู่ของยีนดื้อยาปฏิชีวนะ ซึ่งมีความสำคัญต่อกลไกการดื้อยาปฏิชีวนะโดยเฉพาะ carbapenem คลาส D  $\beta$ -lactamases โดยในการศึกษานี้ได้นำทั้ง 190 ไอโซเลตที่เป็นเชื้อ *A. baumannii* (ผลบวก  $bla_{OXA-51}$ ) มาทดสอบ ซึ่งจากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการมีอยู่ของยีนดื้อยาของเชื้อ *A. baumannii* ในประเทศไทย ที่พบมากที่สุดคือ  $bla_{OXA-23}$  คิดเป็นร้อยละ 88.94 (169/190 ไอโซเลต) และ  $bla_{OXA-58}$  ร้อยละ 3.15 (6/190 ไอโซเลต) แต่ไม่พบยีน  $bla_{OXA-24}$  ในทุกไอโซเลต (ภาพ 9 (ภาคผนวกตาราง 13))

นอกจากทำการศึกษายีนในคลาส D  $\beta$ -lactamases แล้วการทดสอบการมีอยู่ของยีน  $bla_{NDM}$  ทั้ง 190 ไอโซเลต พบยีน  $bla_{NDM}$  ร้อยละ 4.21 (8/190 ไอโซเลต) (ภาพ 10) เมื่อนำมาจัดรูปแบบยีนดื้อยาปฏิชีวนะสามารถแบ่งได้เป็น  $bla_{OXA-23}$  ร้อยละ 84.73  $bla_{OXA-58}$  ร้อยละ 0.53  $bla_{NDM}$  ร้อยละ 0.53  $bla_{OXA-23}$  และ  $bla_{OXA-58}$  ร้อยละ 1.57  $bla_{OXA-23}$  และ  $bla_{NDM}$  ร้อยละ 2.63 และ  $bla_{OXA-58}$  และ  $bla_{NDM}$  ร้อยละ 1.05 นอกจากนี้ยังพบไอโซเลตที่ไม่มียีนร้อยละ 8.95 (ภาคผนวกตาราง 13)

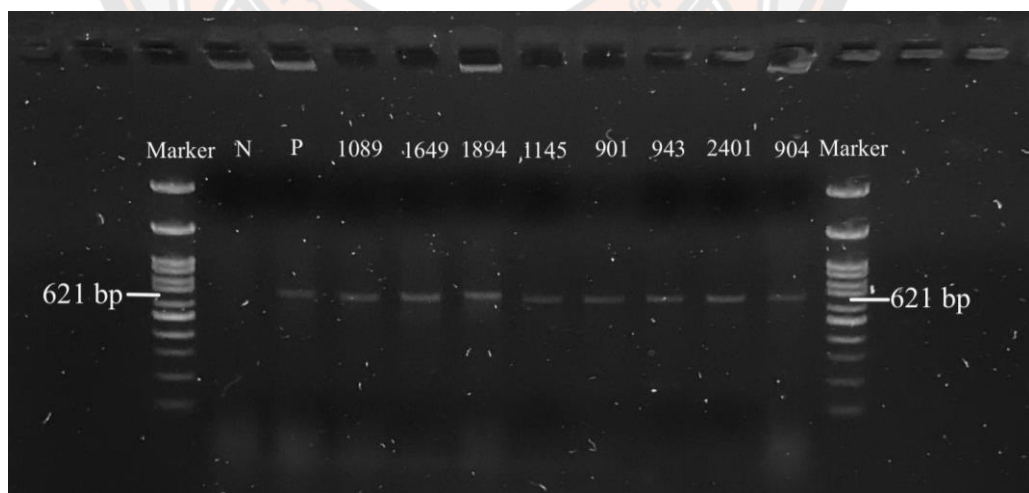
การพบยีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *A. baumannii* ในการศึกษาในส่วนนี้พบ  $bla_{OXA-23}$  ซึ่งถูกพบมากในสิ่งส่งตรวจที่ได้จากเสมหะ ร้อยละ 40.52 รองลงมาคือ เสมหะ (สาย) ร้อยละ 25.78 ตามด้วยสิ่งส่งตรวจอื่น ๆ ได้แก่ เลือดร้อยละ 6.31 หนอง ร้อยละ 6.31 และปัสสาวะร้อยละ 5.78 ตามลำดับ ส่วน  $bla_{OXA-58}$  พบในเสมหะร้อยละ 1.05 ปัสสาวะร้อยละ 1.05 เสมหะ(สาย) ร้อยละ 0.53% และหนองร้อยละ 0.53 และยีน  $bla_{NDM}$  ส่วนใหญ่พบใน เสมหะ คิดเป็น ร้อยละ 3.15 และเสมหะ (สาย) ร้อยละ 1.05 ซึ่งตัวอย่างทางคลินิกเหล่านี้ได้มาจากแผนกที่ต่างกัน โดยส่วนใหญ่ (เสมหะ) มาจากแผนกอายุรกรรม

### การตรวจหายีน *mcr-1* ถึง *mcr-5* ในเชื้อ *A. baumannii* ที่ดื้อยา colistin

จากการทดสอบการดื้อยาปฏิชีวนะ colistin ของเชื้อ *A. baumannii* พบร้อยละ 14.21 ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ colistin จึงนำทั้ง 27 ไอโซเลตที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ colistin มาทำการทดสอบการมีอยู่ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ โดยการระบุยีน *mcr-1* ถึง *mcr-5* พบว่าทั้ง 27 ไอโซเลตไม่มียีน *mcr-1* ถึง *mcr-5*



ภาพ 9 แสดงยีนดื้อยาปฏิชีวนะจากการศึกษาทางจีโนมไทป์ของเชื้อ *A. baumannii* โดย Multiplex PCR ในกลุ่ม Oxacillinases (OXA) และ metallo- $\beta$ -lactamases (*bla*<sub>NDM</sub>)



ภาพ 10 แสดงไอโซเลตที่พบยีน *bla*<sub>NDM</sub> ของเชื้อ *A. baumannii*

หมายเหตุ: Negative (N), Positive (P), marker; 100bp DNA Ladder H3 RTU, *bla*<sub>NDM</sub> ขนาด 621 bp

### ความสัมพันธ์ของการดื้อยาปฏิชีวนะ imipenem และรูปแบบของยีน carbapenemases ของเชื้อ *A. baumannii*

การทดสอบการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *A. baumannii* ทั้งสองวิธี ได้แก่ การทดสอบการดื้อยาปฏิชีวนะโดย Broth microdilution (MIC) ที่ช่วงความเข้มข้นของยาระหว่าง 1 - 64 µg/ml และ Disc diffusion พบการดื้อยาปฏิชีวนะ imipenem ร้อยละ 96.84 และร้อยละ 89.47 ตามลำดับ และมีการทดสอบการมีอยู่ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาปฏิชีวนะ carbapenems ของเชื้อ *A. baumannii* โดยใช้เทคนิค PCR พบ *bla*<sub>OXA-23</sub> ร้อยละ 89.47 *bla*<sub>OXA-58</sub> ร้อยละ 3.15 และ *bla*<sub>NDM</sub> ร้อยละ 4.21 ซึ่งจากผลการทดสอบจึงมีการนำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของการดื้อยาปฏิชีวนะ imipenem และรูปแบบของยีน carbapenemases ของเชื้อ *A. baumannii* โดยพบว่าไอโซเลตส่วนใหญ่ที่แสดงการดื้อยาปฏิชีวนะ imipenem จากการทดสอบการดื้อยาปฏิชีวนะทั้งสองวิธีมีการแสดงออกของยีนในกลุ่ม carbapenemases ทั้งนี้พบว่ามีร้อยละ 3.16 (6/190 ไอโซเลต) และร้อยละ 10.52 (20/190 ไอโซเลต) จากการทำ MIC และ Disc diffusion ตามลำดับ ไม่แสดงการดื้อยาปฏิชีวนะ imipenem แต่พบว่ามียีนในกลุ่ม carbapenemases ร้อยละ 53.85 และไม่มียีนร้อยละ 46.15 นอกจากนี้เชื้อที่จัดเป็น CRAB (172/190 ไอโซเลต) สัมพันธ์กับการมียีนในกลุ่ม carbapenemases ร้อยละ 96.51 (166/172 ไอโซเลต) แต่อย่างไรก็ตามพบว่ามีเชื้อ CRAB ร้อยละ 3.61 (6/166 ไอโซเลต) ไม่มียีน carbapenemase (ภาคผนวกตาราง 14) และเชื้อที่จัดเป็น non-MDRAB (17/190 ไอโซเลต) พบยีน carbapenemase ร้อยละ 29.41 (5/17 ไอโซเลต) และไม่มียีนร้อยละ 70.59 (12/17 ไอโซเลต)

### การจัดกลุ่ม Sequence groups ของเชื้อ *A. baumannii* โดย PCR-based Trilocus sequence Typing (3LST)

จากการระบุ international clones (ICs) โดยใช้เทคนิค 3LST เพื่อศึกษาการระบาดของเชื้อ *A. baumannii* ทั้ง 190 ไอโซเลต ในการศึกษาครั้งนี้พบ sequence groups (SGs) จำนวน 6 SGs โดยที่พบมากที่สุดได้แก่ SG18 คิดเป็นร้อยละ 36.31 รองลงมาคือ SG19 ร้อยละ 16.32 ตามด้วย SG5 ร้อยละ 8.95 SG4 ร้อยละ 8.42 SG20 ร้อยละ 6.32 และ SG7 ร้อยละ 0.53 ตามลำดับ โดยการแปลผล SG18 SG19 และ SG20 แสดงในตาราง 9 โดยในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบการระบาดของ IC I (SG2) II (SG1) และ III (SG3) ในทุกไอโซเลต

ความสัมพันธ์ของ SG ต่าง ๆ และรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะแบบ XDRAB ร้อยละ 63.16 และ CRAB ร้อยละ 71.05 ซึ่ง SG18 ที่พบมากที่สุดในการศึกษาครั้งนี้ จัดรูปแบบเป็น CRAB มากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 34.21 และ SG ที่พบในการศึกษานี้มียีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาปฏิชีวนะ carbapenems โดยพบ *bla*<sub>OXA-23</sub> มากที่สุดโดย SG4 พบ *bla*<sub>OXA-23</sub> ร้อยละ 18.94 SG5 พบ

*bla*<sub>OXA-23</sub> ร้อยละ 6.31 SG7 ร้อยละ 0.53 SG18 ร้อยละ 33.16 SG19 ร้อยละ 15.79 และ SG20 ร้อยละ 6.31 นอกจากนี้ยังพบว่าทั้ง 6 SG มีความสอดคล้องกับการดื้อยาปฏิชีวนะ colistin โดยพบ SG4 ดื้อยาปฏิชีวนะ colistin ร้อยละ 22.22 (6/27 ไอโซเลต) ตามด้วย SG5 ร้อยละ 18.51 (4/27 ไอโซเลต) SG18 ร้อยละ 18.51 (4/27 ไอโซเลต) SG7 ร้อยละ 3.70 (1/27 ไอโซเลต) SG19 ร้อยละ 3.70 (1/27 ไอโซเลต) SG20 ร้อยละ 3.70 (4/27 ไอโซเลต) ตามลำดับ (ตาราง 10 ภาคผนวกตาราง 14)

การกระจายของ SGs ตามแต่ละแผนกพบว่า การระบาดตามแผนกต่าง ๆ ภายในโรงพยาบาลโดย Sequence Group 18 (SG18) ที่พบการระบาดมากที่สุด ส่วนใหญ่พบการระบาดในแผนกอายุรกรรม แผนก ICU ตามด้วยแผนกศัลยกรรม และแผนกอื่น ๆ ตามลำดับ ซึ่งแต่ละกลุ่มที่พบในการศึกษานี้มีการกระจายในทุกแผนก ยกเว้น Group 7 (SG7) ซึ่งพบในแผนก ICU เท่านั้น (ตาราง 10)





ตาราง 9 แสดงการแปลผล sequence groups (SGs) ที่พบในการศึกษาครั้งนี้ จากการทำ 3LST

SGs ที่พบ	PCR multiplex 1			PCR multiplex 2		
	<i>csuE</i>	<i>bla<sub>OXA-51</sub></i>	<i>ompA</i>	<i>csuE</i>	<i>bla<sub>OXA-51</sub></i>	<i>ompA</i>
	702 bp	599 bp	355 bp	580 bp	162 bp	343 bp
4	-	+	+	-	-	-
5	-	-	+	-	-	-
7	-	-	+	+	-	-
18	-	-	+	-	+	-
19	-	+	+	-	+	-
20	-	-	-	-	+	-

ตาราง 10 แสดงการระบาดของ sequence groups ของเชื้อ *A. baumannii* แต่ละแผนก และการดื้อยา carbapenems และ colistin

Sequence Groups (SG)	จำนวนไอโซเลตในแผนกต่าง ๆ (ร้อยละ)				Resistant profile (ร้อยละ)	Colistin (R) (n=27)
	ICU (n=63)	ศัลยกรรม (n=22)	อายุรกรรม (n=84)	อื่นๆ (n=21)	CRAB (n=190)	
	SG4	5 (7.94)	1 (4.55)	7 (8.33)	3 (14.29)	16 (8.42)
SG5	4 (6.35)	1 (4.55)	9 (10.71)	3 (14.29)	11 (5.78)	4 (18.51)
SG7	1 (1.59)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (3.70)
SG18	23 (36.51)	10 (45.45)	30 (35.71)	6 (28.57)	65 (34.21)	4 (18.51)
SG19	16 (25.40)	3 (13.64)	7 (8.33)	5 (23.81)	31 (16.31)	1 (3.70)
SG20	2 (3.17)	2 (9.09)	7 (8.33)	1 (4.76)	12 (6.31)	1 (3.70)
UN	12 (19.05)	5 (22.73)	24 (28.57)	3 (14.29)	37 (19.47)	10 (37.04)

หมายเหตุ: จำนวนไอโซเลต (n), Unclassified (UN), Resistance (R), Carbapenem-resistant *A. baumannii* (CRAB)

## บทที่ 5

### บทสรุป

#### สรุปผลการวิจัย

การศึกษาลักษณะการดื้อยาปฏิชีวนะ และจีโนมไทป์ของเชื้อ *Acinetobacter baumannii* ทั้ง 190 ไอโซเลตที่แยกได้จากตัวอย่างทางคลินิกของโรงพยาบาลร้อยเอ็ด แสดงให้เห็นถึงเชื้อ *A. baumannii* ดื้อต่อยาปฏิชีวนะทั้ง 11 ชนิดใน 7 กลุ่มยา ซึ่งเชื้อ *A. baumannii* ดื้อต่อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม cephem carbapenems และ  $\beta$ -lactam combination agent มากกว่าร้อยละ 70 และมีร้อยละ 14.27 ที่แสดงการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ colistin ทั้งนี้เมื่อจัดรูปแบบการการดื้อต่อยาปฏิชีวนะสามารถจัดเป็น MDRAB และ CRAB มากกว่าร้อยละ 90 ในการศึกษาครั้งนี้ยังแสดงให้เห็นถึงยีนที่มีความเกี่ยวข้องกับการดื้อต่อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม carbapenems โดยพบยีน *bla<sub>OXA-23</sub>* *bla<sub>OXA-58</sub>* และ *bla<sub>NDM</sub>* และจากการศึกษาการระบาดในระดับอนุชีววิทยาของเชื้อ *A. baumannii* ไม่พบการระบาดของสายพันธุ์ที่เป็น IC I IC II และ IC III ในทุกไอโซเลต โดยจัดเป็น non-ICs (SG4 SG5 SG7 SG18 SG19 และ SG20) ซึ่ง Sequence group ที่พบมากที่สุดได้แก่ SG18

#### อภิปรายผลการทดลอง

การติดเชื้อ *A. baumannii* สามารถติดเชื้อได้จากปัจจัยเสี่ยงต่าง ๆ ทั้งด้านระยะเวลาการรักษาตัว การทำหัตถการเพื่อการช่วยชีวิต รวมถึงการมีภูมิคุ้มกันบกพร่อง และอายุของผู้ป่วย เป็นต้น ซึ่ง *A. baumannii* ที่ระบุได้ 190 ไอโซเลตจากโรงพยาบาลร้อยเอ็ดถูกนำมาจากตัวอย่างทางคลินิก ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเพศชาย และมีอายุโดยเฉลี่ยทั้งชายและหญิงเท่ากับ 61.00 ปี โดยช่วงอายุที่พบมากเป็นส่วนใหญ่อยู่ระหว่าง 46-90 ปี และตัวอย่างทางคลินิกส่วนใหญ่มาจากแผนกอายุรกรรม และแผนก ICU ที่มาจากสิ่งส่งตรวจจากเสมหะ ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยที่มีอายุตั้งแต่ 60 ปีขึ้นไป อาจมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ *A. baumannii* สอดคล้องกับรายงานในปี 2018 ซึ่งพบผู้ป่วยเพศชายอายุระหว่าง 45-60 ปี มีแนวโน้มติดเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะ มากกว่าผู้ป่วยที่มีอายุน้อยกว่า 45 ปี (Nakonchai, 2018) ตามรายงานการศึกษาในปี ค.ศ. 2018 พบปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญต่อการติดเชื้อ *A. baumannii* สัมพันธ์กับการใส่ท่อช่วยหายใจ และอายุของผู้ป่วย โดยผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่า 65 ปี และใส่ท่อช่วยหายใจเป็นเวลานานกว่า 7 วัน มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ *A. baumannii* (ณัฐวิธร์ นิตยสุภาภรณ์, 2018) และการศึกษาในปี 2021 พบผู้ป่วยที่มีอายุตั้งแต่ 60 ปีขึ้นไป และรักษาตัวอยู่ในห้อง ICU มีแนวโน้มเกิดการดื้อยาปฏิชีวนะ ทั้งนี้อาจเนื่องจากร่างกายมีการเปลี่ยนแปลง ส่งผลให้การทำงานของระบบต่าง ๆ ในร่างกายมีประสิทธิภาพต่อการทำงานลดลง และอาจมีความไวต่อการรับเชื้อเพิ่มขึ้น (Boonlum, 2021; Nakonchai, 2018)

การจำแนกชนิด *A. baumannii* ได้มีการใช้เทคนิค PCR จากการระบุยีน *bla*<sub>OXA-51</sub> เนื่องจาก *bla*<sub>OXA-51</sub> เป็น intrinsic ใน *A. baumannii* โดยในการจำแนกสปีชีส์จากตัวอย่างทางคลินิกของ *Acinetobacter* spp. ทั้ง 200 ไอโซเลต พบว่ามีอัตราส่วนที่สามารถระบุได้ว่าเป็นเชื้อ *A. baumannii* ร้อยละ 95 โดยที่เหลืออีกร้อยละ 5 อาจระบุได้เป็นสปีชีส์อื่น เช่น *A. calcoaceticus* *A. lwoffii* *A. haemolyticus* เป็นต้น เช่นเดียวกับการศึกษาก่อนหน้าที่พบ พบ *A. baumannii* ร้อยละ 97.5 (Correa et al., 2018) ร้อยละ 98.90 (Li et al., 2019) และร้อยละ 99 (Lowings et al., 2015) ตามลำดับ

*Acinetobacter* spp. 10 ไอโซเลต ซึ่งพบว่าให้ผลเป็นลบกับ *bla*<sub>OXA-51</sub> จึงไม่สามารถระบุได้แน่ชัดว่าเป็น *A. baumannii* แต่อาจเป็นสปีชีส์อื่นตามการศึกษาก่อนหน้าได้ทำการศึกษา *Acinetobacter* spp. 128 ไอโซเลต สามารถระบุเป็น *A. baumannii* 108 ไอโซเลต และ 10 ไอโซเลตถูกระบุเป็น *A. calcoaceticus* 10 ไอโซเลต *A. lwoffii* 5 ไอโซเลต และ *A. haemolyticus* 5 ไอโซเลต (Feizabadi et al., 2008) ในปี 2012 พบว่า *Acinetobacter* spp. 60 ไอโซเลต จัดเป็น *A. baumannii* 48 ไอโซเลต *A. lwoffii* 6 ไอโซเลต และ *Acinetobacter* genomic species อื่น ๆ 6 ไอโซเลต (Farahani et al., 2013) ดังนั้นการศึกษานี้ยังไม่ดำเนินงานในส่วนของ การระบุระดับสปีชีส์ของไอโซเลตที่ให้ผลเป็นลบจากการระบุด้วยยีน *bla*<sub>OXA-51</sub> อย่างไรก็ตามเชื้อ *Acinetobacter* spp. ทั้ง 10 ไอโซเลตที่ไม่ปรากฏยีน *bla*<sub>OXA-51</sub> อาจเป็นหรือไม่เป็น *A. baumannii* ซึ่งจากการศึกษาของ Biglari และคณะ พบว่าเชื้อในบางไอโซเลตไม่ปรากฏยีน *bla*<sub>OXA-51</sub> จึงนำไปวิเคราะห์ด้วยการทำ Sequencing ด้วยยีน *rpoB* หรือ *gyrB* พบว่าเป็น *A. baumannii* (Biglari et al., 2015) ดังนั้นอาจบอกได้ว่ายังมี *A. baumannii* ส่วนน้อยที่ยังไม่สามารถถูกระบุได้ด้วยการมีหรือไม่มียีน *bla*<sub>OXA-51</sub> อย่างเช่นการศึกษาของ Wang และคณะ พบว่าทุกไอโซเลตมียีน *bla*<sub>OXA-51</sub> แต่มีเพียง 1 ไอโซเลตที่พบว่ายีน *bla*<sub>OXA-51</sub> ถูกแทรกที่กลางยีนด้วย IS*Aba19* (Wang et al., 2014)

อย่างไรก็ตามการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการจัดจำแนก *A. baumannii* ในอนาคต อาจต้องใช้เทคนิค PCR พร้อมกับการทำ Sequencing จากการใช้ Housekeeping genes ร่วมด้วย เช่น *gyrB* หรือ *rpoB* อย่างเช่นการศึกษาของ Daniel De Vos และคณะซึ่งศึกษาการจำแนกเชื้อ *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* Complex โดยใช้เทคนิค repetitive sequence-based PCR (rep-PCR) จากนั้นจึงจำแนกด้วย multiplex PCR โดยใช้ยีน *rpoB* สามารถจำแนกเป็น *A. baumannii* 13 ชนิด *A. pittii* 10 ชนิด และ *A. nosocomialis* 3 ชนิด (De Vos et al., 2016)

การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของยาปฏิชีวนะ Imipenem พบเชื้อ *A. baumannii* ทั้ง 190 ไอโซเลต ตี้อย่า Imipenem ร้อยละ 96.84

(Resistance; MIC  $\geq$  8  $\mu$ l/ml) สอดคล้องกับการทดสอบโดยวิธี Disc diffusion ที่พบการดื้อยาปฏิชีวนะ Imipenem ร้อยละ 89.47 โดยทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) โดยในปี 2015-2021 มีรายงานสถานการณ์เชื้อดื้อยาปฏิชีวนะ ของศูนย์เฝ้าระวังการติดเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่รายงานสถานการณ์การดื้อยา imipenem และ meropenem ตั้งแต่ปี 2015-2021 โดยพบการดื้อยา imipenem เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 44.5 เป็น 74.3 ในปี 2021 และ meropenem เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 45.4 เป็นร้อยละ 74.2 ในปี 2021 (ศูนย์เฝ้าระวังการติดเชื้อดื้อยาด้านจุลชีพแห่งชาติ (NARST), 2021) และการศึกษาครั้งนี้พบร้อยละ 89.47 และร้อยละ 81.58 ที่แสดงการดื้อยา imipenem และ meropenem ตามลำดับ ซึ่งอาจแสดงให้เห็นถึงอุบัติการณ์การดื้อ imipenem ของเชื้อ *A. baumannii* เพิ่มสูงขึ้น และในอนาคตความสามารถในการใช้ยาตัวนี้รักษาผู้ป่วยที่มีสาเหตุการติดเชื้อดื้อยาจาก *A. baumannii* เป็นไปได้ยากมากขึ้น

ในช่วงหลายปีที่ผ่านมา มีการแพร่กระจายของการดื้อยาปฏิชีวนะจากเชื้อ *A. baumannii* เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งจากการทดสอบการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *A. baumannii* โดยวิธี Disc diffusion ของยาปฏิชีวนะทั้ง 11 ชนิดใน 7 กลุ่มยา พบว่า *A. baumannii* ดื้อต่อยา ciprofloxacin cefotaxime ceftriaxone imipenem piperacillin/tazobactam meropenem มากกว่าร้อยละ 80 เมื่อนำมาจัดรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะพบว่า *A. baumannii* จัดอยู่ในกลุ่ม MDRAB ร้อยละ 91.05 XDRAB ร้อยละ 74.21 และ CRAB ร้อยละ 90.52 ทั้งนี้กลไกการดื้อยาของเชื้อ *A. baumannii* ที่สำคัญอย่างหนึ่งและเป็นกลไกหลักที่ก่อให้เกิดการดื้อยาปฏิชีวนะได้ คือ การผลิต class D  $\beta$ -lactamases (oxacillinase; OXA) ซึ่งเอนไซม์กลุ่มนี้สามารถไฮโดรไลซ์ออกซาซิลลิน (Oxacillin) และ cephalosporin รุ่นที่ 3 ได้ แต่มีฤทธิ์ที่อ่อนต่อ carbapenems (Heritier et al., 2006) สอดคล้องกับ ข้อมูลของศูนย์เฝ้าระวัง National Antimicrobial Resistant Surveillance Center, Thailand (NARST) ซึ่งรายงานถึงประเทศไทยที่มีการแพร่กระจายของการดื้อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม carbapenems เพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่ปี 2000-2021 โดยในปี 2000 มีการเพิ่มขึ้นของการดื้อยาปฏิชีวนะ imipenem ที่ร้อยละ 14.4 ปี 2007 ร้อยละ 50.4 ปี 2011 ร้อยละ 63.6 และ ปี 2020 เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 70.1 ตามลำดับ และจากการวิเคราะห์ล่าสุดในปี 2021 มีการเพิ่มขึ้นของการดื้อยาปฏิชีวนะไปถึงร้อยละ 71.3 (ศูนย์เฝ้าระวังการติดเชื้อดื้อยาด้านจุลชีพแห่งชาติ (NARST), 2021) และการศึกษาในประเทศไทยที่ผ่านมา ยังพบว่ามี การดื้อยาปฏิชีวนะกลุ่ม carbapenems เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 81.8 ในปี 2012 เป็นร้อยละ 99 ในปี 2021 จากการศึกษาการดื้อยาปฏิชีวนะ carbapenems ของ *A. baumannii* ใน 5 ภูมิภาคของประเทศไทย และในปี 2023 มีรายงานการศึกษาของโรงพยาบาลนครศรีธรรมราชที่พบการดื้อยาปฏิชีวนะ carbapenems ร้อยละ

100 เช่นกัน (Santajit, 2023; Werarak et al., 2012) แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *A. baumannii* ที่แยกได้จากโรงพยาบาลในประเทศไทยในปัจจุบันมีการแพร่กระจายของการดื้อยาปฏิชีวนะเป็นจำนวนมาก ส่งผลให้จำเป็นต้องตระหนักถึงการใช้อยาปฏิชีวนะต่อการรักษาโรคติดเชื้ออย่างเหมาะสม เพื่อช่วยป้องกันหรือลดการเกิดการแพร่กระจายของการดื้อยาปฏิชีวนะในอนาคต

*A. baumannii* เป็นแบคทีเรียก่อโรคในโรงพยาบาลที่มีความสำคัญทางการแพทย์ โดยเชื้อสามารถทนทานต่อสภาพแวดล้อมภายในโรงพยาบาล อย่างเช่น อ่างล้างมือ พื้นห้อง เติงผู้ป่วย จึงทำให้เกิดการสะสมของเชื้อ และก่อให้เกิดการติดเชื้อภายในโรงพยาบาล โดยเฉพาะหออภิบาลผู้ป่วย รวมทั้งผู้ป่วยที่พักรักษาใน Intensive Care Units (ICU) และในปัจจุบัน *A. baumannii* ยังเป็นปัญหาสำคัญต่อการรักษา เนื่องจากเชื้อสามารถดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิดโดยเฉพาะยาในกลุ่ม carbapenems และมีกลไกการดื้อยาหลายรูปแบบ โดยกลไกหลักที่ *A. baumannii* สามารถดื้อต่อยากลุ่ม carbapenems ได้แก่ กลไกการสร้างเอนไซม์ทำลายยาปฏิชีวนะ ซึ่งเอนไซม์ที่สร้างขึ้นจะถูกควบคุมด้วยยีนที่มีชื่อเรียกแตกต่างกันตามชื่อของเอนไซม์

โดยในการศึกษานี้ได้ศึกษาถึงยีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม carbapenems ในคลาส B และ D ซึ่งคลาส B มียีนที่สามารถควบคุมการสร้างเอนไซม์ เช่น  $bla_{NDM}$  ส่วนคลาส D ได้แก่  $bla_{OXA-51}$   $bla_{OXA-23}$   $bla_{OXA-24}$  และ  $bla_{OXA-58}$  โดยพบยีนที่มีการแพร่กระจายมากที่สุดคือ  $bla_{OXA-23}$  ร้อยละ 88.94 และ  $bla_{OXA-58}$  ร้อยละ 3.15 ซึ่ง  $bla_{OXA-51}$  พบในทุกไอโซเลต สอดคล้องกับการศึกษาในปี 2018 ประเทศไต้หวัน พบว่ายีนที่มีการแพร่กระจายมากที่สุดคือ  $bla_{OXA-23}$  โดยพบร้อยละ 85.70 และพบ  $bla_{OXA-51}$  ในทุกไอโซเลต เนื่องจาก  $bla_{OXA-51}$  เป็นยีนที่ส่วนมากพบใน *A. baumannii* ทุกตัว (Chen et al., 2018) และการศึกษาที่ปาเลสไตน์ พบ  $bla_{OXA-23}$  ร้อยละ 82.6 และ  $bla_{OXA-58}$  ร้อยละ 3 (Handal et al., 2017) ต่อมาในปี 2021 Faeze และคณะ พบไอโซเลตที่มียีน  $bla_{OXA-23}$  มากถึงร้อยละ 90 (Abbaszadeh et al., 2021) และในปีเดียวกันยังพบการศึกษาในประเทศไทยซึ่งพบ  $bla_{OXA-23}$  และ  $bla_{OXA-58}$  เท่ากับร้อยละ 92.5 และ ร้อยละ 1.48 ตามลำดับ (Khuntayaporn, 2021)

ทั้งนี้การศึกษานี้พบไอโซเลตที่มีรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะ imipenem แต่ไม่พบยีน  $bla_{OXA}$  ในบางไอโซเลต อาจเนื่องมาจากเชื้อ *A. baumannii* มีกลไกการดื้อยาหลายรูปแบบ เช่น การมีโปรตีน porin หรือที่รู้จักในชื่อ carbapenem resistance-associated outer membrane protein (CarO) ซึ่งเป็นช่องทางสำหรับการผ่านเข้าเซลล์ของยาปฏิชีวนะ carbapenems หรือการมีโปรตีน OmpA ซึ่งเป็นโปรตีนเยื่อหุ้มชั้นนอกบนผิวของเซลล์แบคทีเรียทำหน้าที่ช่วยปรับการซึมผ่านของยาปฏิชีวนะโดยลดการแพร่กระจายของยาปฏิชีวนะ  $\beta$ -lactam ที่มีประจุลบ หรือการมี efflux pump ชนิด AdeABC ขับยาปฏิชีวนะ carbapenems ออกจากเซลล์ เป็นต้น จากกลไกการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *A. baumannii* ที่กล่าวนี้ อาจแสดงให้เห็นว่าการตรวจไม่พบยีนกลุ่ม

carbapenemase อาจเนื่องมาจากเชื้อ *A. baumannii* ใช้กลไกดังกล่าวก่อให้เกิดการดื้อยาปฏิชีวนะได้ หรือการมี Insertion sequence (IS) ซึ่งเป็นลำดับดีเอ็นเอสายสั้น ๆ โดยสามารถเคลื่อนย้ายยีนด้านทานได้ การมีอยู่ของ IS เช่น IS *Aba-1* IS *Aba-4* และ IS *Aba1-25* ที่เข้ารหัส transposases ที่ตำแหน่งเหนือยีน *bla<sub>OXA</sub>* และสามารถปรับเปลี่ยนการแสดงออกและการเปลี่ยนแปลงของยีน *bla<sub>OXA</sub>* (Tafreshi et al., 2019) มีรายงานการศึกษา IS *Aba-1* ในสายพันธุ์ *Acinetobacter* ที่พบอยู่บริเวณเหนือยีน *bla<sub>OXA-51</sub>* *bla<sub>OXA-23</sub>* และ *bla<sub>OXA-58</sub>* แสดงความต้านทานต่อ carbapenems ถูกเหนี่ยวนำโดยยีน *bla<sub>OXA</sub>* ซึ่งถูกควบคุมจากการมีอยู่ของลำดับ IS *Aba-1* ที่ตำแหน่งเหนือยีน (Al-Sheboul et al., 2022)

การตรวจหายีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาปฏิชีวนะในคลาส B จากทั้ง 190 ไอโซเลต พบว่ามีเพียงร้อยละ 4.21 ซึ่งยีน *bla<sub>NDM</sub>* ถูกพบครั้งแรกในปี 2009 ประเทศสวีเดนในเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* และ *Escherichia coli* ในทางเดินปัสสาวะจากผู้ป่วยที่มีประวัติการรักษาในประเทศอินเดีย (Yong, 2009) และมีการแพร่กระจายไปยังหลายประเทศ เช่น แคนาดา ปากีสถาน บังกลาเทศ อังกฤษ (Kumarasamy et al., 2010) โมร็อกโก (Hafa et al., 2019) แทนซาเนีย (Moyo et al., 2021) ไทย (Khuntayaporn, 2021) บราซิล (Lopes et al., 2022) เป็นต้น โดยการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้า ในปี 2017 พบ *bla<sub>NDM</sub>* เพียงร้อยละ 5.8 จากการศึกษาทั้ง 69 ไอโซเลต (Handal et al., 2017) แต่ไม่สอดคล้องกับการศึกษาในปี 2021 ซึ่งพบ *bla<sub>NDM</sub>* มากถึงร้อยละ 67.7 (Wasfi et al., 2021) ประเทศจีน ซึ่งพบยีน *bla<sub>NDM</sub>* เพียง 4 ไอโซเลต โดยทั้ง 4 ไอโซเลตนี้มาจากส่งตรวจที่ต่างกัน ได้แก่ เสมหะ 2 ไอโซเลต เลือด 1 ไอโซเลต และสารคัดหลั่ง 1 ไอโซเลต (Chen et al., 2011) และสอดคล้องกับการศึกษาในประเทศไทยที่พบ *bla<sub>NDM</sub>* ร้อยละ 4.44 (6/135 ไอโซเลต) (Khuntayaporn, 2021) ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงการแพร่กระจายของยีน *bla<sub>NDM</sub>* ซึ่งการที่การศึกษานี้พบยีน *bla<sub>NDM</sub>* เพียง 8 ไอโซเลตจากทั้งหมด 190 ไอโซเลต อาจเนื่องมาจากการแพร่กระจายของเชื้อ *A. baumannii* ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ carbapenems และมียีน *bla<sub>NDM</sub>* ในโรงพยาบาลแห่งนี้ยังอยู่ในระดับต่ำ แต่อย่างไรก็ตามการพบยีน *bla<sub>NDM</sub>* อาจใช้เป็นแนวทางในการป้องกันการแพร่กระจายของยีน *bla<sub>NDM</sub>* ในอนาคตต่อไป

จากการทดสอบการดื้อยาปฏิชีวนะ colistin ของเชื้อ *A. baumannii* โดย Broth microdilution พบดื้อยาปฏิชีวนะ colistin ถึงร้อยละ 14.21 แต่ไม่พบยีน *mcr-1* ถึง *mcr-5* ซึ่งเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาปฏิชีวนะ colistin สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้าซึ่งพบ 20/135 ไอโซเลต แสดงการดื้อยาปฏิชีวนะ colistin แต่ไม่พบยีน *mcr* เช่นกัน (Khuntayaporn, 2021) ทั้งนี้ ไอโซเลตที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ colistin แต่ไม่ปรากฏยีน *mcr* อาจเนื่องมาจากเชื้อ *A. baumannii* มีกลไกการดื้อต่อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม polymyxin หลายกลไก โดยส่วนมากเกี่ยวข้องกับการกลายพันธุ์ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ LPS จนนำไปสู่ความบกพร่องของการสังเคราะห์ LPS

(Lima et al., 2018) นอกจากนี้ *A. baumannii* ยังสามารถเปลี่ยนแปลง *pmrCAB* operon ซึ่งถูกควบคุมด้วยยีน *pmrC* ทำให้เกิดการแสดงออกของ *pmrC* มากเกินไปส่งผลให้ lipid ด้านทานต่อ Phosphoethanolamine (PetN) และ colistin (Trebosc et al., 2019) จากที่กล่าวมาทำให้เมื่อตรวจการมีอยู่ของยีน *mcr* ไม่พบ

การศึกษาการระบาดของเชื้อ *A. baumannii* โดยเทคนิค PCR-based Trilocus sequence Typing ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้สำหรับการศึกษาการแพร่กระจายของเชื้อ *A. baumannii* โดยที่ผ่านมามีการแพร่กระจายของ International clones (IC) โดยเฉพาะ IC II ในหลายประเทศ โดยเทคนิค 3LST หรือ alternative technique เป็นการตรวจวิเคราะห์ยีนที่มีความเกี่ยวข้องกับการดื้อยาของเชื้อ *A. baumannii* จากการทำ multiplex PCR ของยีน *csuE* และ *ompA* รวมทั้ง *bla<sub>OXA-51</sub>* โดยการทำให้เป็น 2 multiplex แต่มีขนาดของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่แตกต่างกันใน multiplex 1 และ multiplex 2

การศึกษาการแพร่กระจายของกลุ่ม International clones (ICs) ในครั้งนี้ไม่พบ ICs ระบาดในโรงพยาบาลตติยภูมิแห่งนี้ แต่พบ non-ICs ซึ่งจัดเป็น sequence groups (SGs) เช่น SG18 SG19 SG20 SG4 SG5 และ SG7 โดยการพบ SG4 SG5 และ SG7 ของการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Towner และคณะ โดยพบ Sequence group G4 G5 และ G7 เช่นกัน (14 ไอโซเลต) จากการศึกษาการระบาดของ International clone ในโรงพยาบาลแถบทวีปยุโรป (Towner et al., 2008) แต่การศึกษานี้ไม่พบ IC I (SG2) II (SG1) และ III (SG3) ในทุกไอโซเลต โดยกลุ่มที่พบการแพร่กระจายมากที่สุด ได้แก่ กลุ่ม SG18 และ SG19 ซึ่งจากการศึกษานี้ไม่สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ อย่างเช่น ในปี 2015 พบการแพร่กระจายของ International clone II ในทุกไอโซเลต โดยยีนส่วนใหญ่ที่พบคือ *bla<sub>OXA-23-like</sub>* มากกว่าร้อยละ 60 (Mavroidi et al., 2015) และ Somayeh พบ IC I และ IC II ในอัตราที่เท่ากัน ร้อยละ 48.6 (Somayeh et al., 2015) ต่อมาในปี 2020 พบ IC II มากกว่าร้อยละ 30 (Bansal et al., 2020) นอกจากนี้ในการศึกษาของในปี 2021 ยังพบไอโซเลตที่มียีน *bla<sub>OXA-23</sub>* ร้อยละ 90 และถูกจัดเป็น IC II ทุกไอโซเลต ซึ่งในการศึกษานี้ไม่พบ IC II ในทุกไอโซเลต (Abbaszadeh et al., 2021)

SG18 ซึ่งพบเป็นส่วนมาก และมีรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะรูปแบบ CRAB เป็นส่วนใหญ่ นอกจาก SG18 แสดงการดื้อยา imipenem แล้วยังแสดงการดื้อยา colistin ซึ่งเป็นทางเลือกสุดท้ายสำหรับการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อดื้อยา *A. baumannii* ทั้งนี้อาจแสดงให้เห็นถึงความรุนแรงของอุบัติการณ์การดื้อยาปฏิชีวนะ และมีการแพร่กระจายในทุกแผนกอาจแสดงถึงความสามารถของสายพันธุ์การระบาดแบบ Predominant clone ซึ่งมีความโดดเด่นกว่า SG อื่น ๆ และยังมียีน *bla<sub>OXA-23</sub>* ซึ่งเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาปฏิชีวนะ carbapenems โดยแบคทีเรียที่มียีนดื้อยาที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ เช่น เอนไซม์กลุ่ม OXA-23 OXA-51 OXA-58 และ OXA-24 เป็นต้น สามารถ

ถ่ายทอดยีนดื้อยาไปยังแบคทีเรียอื่น ๆ ได้โดยผ่านทางโครโมโซม พลาสมิด หรือ Mobile Element ทำให้เกิดการแพร่กระจายและมีการเพิ่มจำนวนของเชื้อดื้อยามากขึ้น (Songsri et al., 2017)

การพบ Sequence groups ของการศึกษาในครั้งนี้ อาจแสดงให้เห็นถึงการเกิดขึ้นของการแพร่กระจายของ non-International clones ในประเทศไทย ดังนั้นจึงควรตระหนักถึงการเฝ้าระวังการเกิดขึ้นของ Sequence groups เหล่านี้อย่างเหมาะสม เพื่อป้องกันการแพร่กระจายในอนาคต

### ข้อเสนอแนะ

การศึกษาในครั้งนี้แสดงผลของรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะและจีโนไทป์ ของเชื้อ *A. baumannii* แสดงให้เห็นว่าการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *A. baumannii* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *A. baumannii* ทำได้ยากขึ้น และมีอัตราการเสียชีวิตจากการติดเชื้อนี้สูง รวมทั้งการพบยีนในกลุ่ม Class D  $\beta$ -lactamase ในอัตราที่สูง ทั้งยังเริ่มพบยีน *bla<sub>NDM</sub>* ในโรงพยาบาลตติยภูมิแห่งนี้ อาจแสดงให้เห็นว่าในอนาคตทั้งสองยีนนี้อาจเพิ่มการแพร่กระจายในวงกว้างได้ และอาจส่งผลกระทบต่อรักษาได้ เนื่องจากยาปฏิชีวนะ colistin เป็นยาปฏิชีวนะทางเลือกให้กับแพทย์กรณีผู้ป่วยติดเชื้อดื้อยากลุ่ม carbapenems จาก *A. baumannii* ทั้งนี้การศึกษาทางระบาดวิทยาของ Sequence group จากการใช้เทคนิคซึ่งเป็นทางเลือก คือ 3LST ของการศึกษานี้แสดงการระบาดของ SG18 ในอัตราที่สูง ซึ่งอาจส่งผลให้ในอนาคตอาจมีการแพร่กระจายของ SG18 เพิ่มขึ้นได้ อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ได้ทำการศึกษาในขั้นต้น เพื่อใช้เป็นแนวทางที่เป็นประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อช่วยลด หรือป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อ *A. baumannii* ทั้งในและต่างประเทศ ดังนั้นในอนาคตจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในทางระบาดวิทยาต่อไป



# บรรณานุกรม



## บรรณานุกรม

- กำธร มาลาธรรม. (2015). หลักการใช้ยาปฏิชีวนะในเวชปฏิบัติทั่วไป. หน่วยก่อโรค, 1-17.
- ชนม์ชนก ถีถะแก้ว. (2017). Multilocus sequence typing (MLST): เทคนิคระดับโมเลกุลเพื่อติดตามความปลอดภัยในอาหาร. *Thai Journal of Public Health*, 47(1), 91-104.
- ณัฐวรวิษฐ์ นิตยสุภาภรณ์. (2018). อุบัติการณ์และปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อ *Acinetobacter baumannii* ต่อด้านจุลชีพ ในโรงพยาบาลชลบุรี มหาวิทยาลัยบูรพา.
- ทิพวรรณ หมิ่นหนู. (2011). ศึกษาเอนไซม์ OXA-type Carbapenemase และ integrons ในเชื้อ *Acinetobacter baumannii* ต่อด้านหลายชนิดในสถาบันบำราศนราดูร จังหวัดนนทบุรี ประเทศไทย.
- พรรณนิภา ฤตวิรุฬห์. (2020). แบททีเรียดื้อยา (มหาวิทยาลัยนเรศวร, Ed. 1 ed.).
- พวงทอง พวงแก้ว. (2012). การหาปริมาณโคลิสติน ซัลเฟตในอาหารสัตว์ โดยเทคนิคคลิควิตโครมาโตกราฟี ประสิทธิภาพสูง มหาวิทยาลัย ศิลปากร.
- เพ็ญศรี ละอ. (2010). อุบัติการณ์และผลกระทบของการเกิดปอดอักเสบของผู้ป่วยที่ใช้เครื่องช่วยหายใจ โรงพยาบาลนครนายก. *วิจัยทางวิทยาศาสตร์สุขภาพ*, 4, 1.
- วิชัย สันติมาลีวรกุล. (2009). สถานการณ์การติดเชื้อ และกลไกการดื้อยาโดยเชื้อ *Acinetobacter baumannii*. *วารสารไทยเภสัชนิพนธ์*, 4.
- วิษณุ ธรรมลิขิตกุล. (2008). โคลิสติน: ยาต้านจุลชีพ สำหรับรักษาโรคติดเชื้อ แบททีเรียแกรมลบดื้อยา. *Siriraj Medical Bulletin*, 1(3), 152-158.
- วีรพงศ์ วัฒนาวนิช. (2013). การติดเชื้ออะซิโนแบคเตอร์ในผู้ป่วยที่รับไว้รักษาที่หออภิบาล. *สงขลา นครินทร์เวชสาร*, 31(2).
- ศูนย์เฝ้าระวังการติดเชื้อดื้อยาด้านจุลชีพแห่งชาติ (NARST). (2021). สถานการณ์การดื้อยาด้านจุลชีพ. In (pp. 11-12): สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.
- Abbaszadeh, F., Hasani, A., Rezaee, M. A., Sadeghi, J., Hasani, A., Oskouee, M. A., & Vahhabi, A. (2021). Genetic characterization of extensive drug resistant *Acinetobacter baumannii*: an appalling impediment. *Folia Medica*, 63(5), 726-737.
- Ahmed, S. S., & Alp, E. (2015). Genotyping methods for monitoring the epidemic evolution of *A. baumannii* strains. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 9(04), 347-354.

- Al-Sheboul, S. A., Al-Moghrabi, S. Z., Shboul, Y., Atawneh, F., Sharie, A. H., & Nimri, L. F. (2022). Molecular characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care unit patients in Jordanian hospitals. *Antibiotics*, *11*(7), 835.
- Álvarez-Lerma, F., Palomar, M., Olaechea, P., Insausti, J., Bermejo, B., & Cerdá, E. (2003). Estudio nacional de vigilancia de infección nosocomial en unidades de cuidados intensivos. Informe del año 2001. *Medicina intensiva*, *27*(1), 13-23.
- Angusmclellan. (2007). *Acinetobacter baumannii*. In A. b. JPG (Ed.), *CDC's Public Health Image Library* (Vol. 2,835 × 1,927 pixels). Wikimedia Commons.
- Armstrong, T., Fenn, S. J., & Hardie, K. R. (2021). JMM Profile: Carbapenems: a broad-spectrum antibiotic. *Journal of medical microbiology*, *70*, 001462.
- Attapornkusol, P., Rattnaphun, N., Wongsasom, W., Thongthip, C., Muangbamrung, N., Intakool, P., & Kesseekeao, M. (2021). The Epidemiology Prevalence Rate and Surveillance Performance of Hospital-acquired Infections in Medical Department at Nopparat Rajathanee Hospital. *Journal of The Department of Medical Services*, *46*(1), 80-88.
- Badawy, M. F., Abdelwahab, S. F., Alghamdi, S. A., & Shohayeb, M. M. (2019). Characterization of phenotypic and genotypic traits of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates recovered from a tertiary care hospital in Taif, Saudi Arabia. *Infection and Drug Resistance*.
- Bansal, G., Allen-McFarlane, R., & Eribo, B. (2020). Antibiotic susceptibility, clonality, and molecular characterization of carbapenem-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from Washington DC. *International journal of microbiology*, 2020.
- Bartual, S. G., Seifert, H., Hippler, C., Luzon, M. A. D. n., Wisplinghoff, H., & Rodríguez-Valera, F. (2005). Development of a multilocus sequence typing scheme for characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of clinical microbiology*, *43*(9), 4382-4390.

- Ben-Darif, E., Pinna, E. D., Threlfall, E. J., Bolton, F. J., Upton, M., & Fox, A. J. (2010). Comparison of a semi-automated rep-PCR system and multilocus sequence typing for differentiation of *Salmonella enterica* isolates. *Journal of microbiological methods*, 81(1), 11-16.
- Bialvae, A. Z., Kafil, H. S., Leylabadlo, H. E., Asgharzadeh, M., & Aghazadeh, M. (2015). Dissemination of carbapenemases producing Gram negative bacteria in the Middle East. *Microbiol*, 7, 226-246.
- Biglari, S., Alfizah, H., Ramliza, R., & Rahman, M. M. (2015). Molecular characterization of carbapenemase and cephalosporinase genes among clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* in a tertiary medical centre in Malaysia. *Journal of medical microbiology*, 64(1), 53-58.
- Blanchard, C., Barnett, P., Perlmutter, J., & Dunman, P. M. (2014). Identification of *Acinetobacter baumannii* serum-associated antibiotic efflux pump inhibitors. *Antimicrob. Agents Chemother*, 58, 6360-6370.
- Blichtein, S. L., Roca, I., Rebata, S. P., Taboada, W. V., Pomar, V., Muñoz, L., & Vila, J. (2018). Emergence and spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* international clones II and III in Lima, Peru. *Emerging Microbes & Infections*, 7, 119.
- Bonnin, R., Poirel, L., Licker, M., & Nordmann, P. (2011). Genetic diversity of carbapenem-hydrolysing  $\beta$ -lactamases in *Acinetobacter baumannii* from Romanian hospitals. *Clinical microbiology and infection*, 17(10), 1524-1528.
- Bonomo, R. A., & Szabo, D. (2006). Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical infectious diseases*, 43(Supplement\_2), S49-S56.
- Boonlum, S. (2021). Risk Factors of Multidrug-resistant Microorganism Infection in Surgical Intensive Care Unit II at Suratthani Hospital. *Journal of Health Sciences and Pedagogy*, 1(1), 28-39.

- Borowiak, M., Fischer, J., Hammerl, J. A., Hendriksen, R. S., Szabo, I., & Malorny, B. (2017). Identification of a novel transposon-associated phosphoethanolamine transferase gene, *mcr-5*, conferring colistin resistance in d-tartrate fermenting *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Paratyphi B. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *72*(12), 3317-3324.
- Bouvet, P. J. M., & Grimont, P. A. D. (1987). Identification and bio typing of clinical isolates of *Acinetobacter*. *Ann. Inst. Pasteur Microbio*, *138*, 569-578.
- Camarena, L., Bruno, V., Euskirchen, G., Poggio, S., & Snyder, M. (2010). Molecular mechanisms of ethanol-induced pathogenesis revealed by RNA-sequencing. *PLoS pathogens*, *6*(4), e1000834.
- CDC. (2019). *Antibiotic Resistance Threats in the United States*. Washington, DC: US Department of Health and Human Service.
- Chen, C.-H., Kuo, H.-Y., Hsu, P.-J., Chang, C.-M., Chen, J.-Y., Lu, H. H.-S., Chen, H.-Y., & Liou, M.-L. (2018). Clonal spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* across a community hospital and its affiliated long-term care facilities: a cross sectional study. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, *51*(3), 377-384.
- Chen, Y., Zhou, Z., Jiang, Y., & Yu, Y. (2011). Emergence of *NDM-1*-producing *Acinetobacter baumannii* in China. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *66*(6), 1255-1259.
- Choi, A. H., Slamti, L., Avci, F. Y., Pier, G. B., & Maira-Litrán, T. (2009). The *pgaABCD* locus of *Acinetobacter baumannii* encodes the production of poly- $\beta$ -1-6-N-acetylglucosamine, which is critical for biofilm formation. *Journal of bacteriology*, *191*(19), 5953-5963.
- Choi, C. H., Lee, J. S., Lee, Y. C., Park, T. I., & Lee, J. C. (2008). *Acinetobacter baumannii* invades epithelial cells and outer membrane protein A mediates interactions with epithelial cells. *BMC microbiology*, *8*(1), 1-11.
- Chung-Ting, C., Yung-Chih, W., Shu-Chen, K., Fang-Huy, S., Te-Li, C., Chong-Kuang, H., Ya-Sung, Y., & Yi-Tzu, L. (2018). Community-acquired bloodstream infections caused by *Acinetobacter baumannii*: A matched case-control study. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, *51*(5), 629-635.

- Chusri, S., Chongsuvivatwong, V., Rivera, J., Silpapojakul, K., Singkhamanan, K., McNeil, E., & Doi, Y. (2017). Molecular epidemiology and spatiotemporal analysis of hospital-acquired *Acinetobacter baumannii* infection in a tertiary care hospital in southern Thailand. *Journal of Hospital Infection*, *95*(1), 53-58.
- Cisneros, J., Rodriguez-Bano, J., Fernández-Cuenca, F., Ribera, A., Vila, J., Pascual, A., Martinez-Martinez, L., Bou, G., & Pachon, J. (2005). Risk-factors for the acquisition of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Spain: a nationwide study. *Clinical microbiology and infection*, *11*(11), 874-879.
- Clemmer, K. M., Bonomo, R. A., & Rather, P. N. (2011). Genetic analysis of surface motility in *Acinetobacter baumannii*. *Microbiology*, *157*(Pt 9), 2534.
- Clinical and Laboratory Standards Institute, C. (2021). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 31st ed. CLSI supplement M100*.
- Correa, A., Del Campo, R., Escandón-Vargas, K., Perenguez, M., Rodríguez-Baños, M., Hernández-Gómez, C., Pallares, C., Perez, F., Arias, C. A., & Cantón, R. (2018). Distinct genetic diversity of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from Colombian hospitals. *Microbial Drug Resistance*, *24*(1), 48-54.
- Cosgaya, C., Mari-Almirall, M., Van, A. A., Fernández-Orth, D., Mosqueda, N., Telli M., & Vila, J. (2016). *Acinetobacter dijkschoorniae* sp. nov., a new member of the *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* complex mainly recovered from clinical samples in different countries. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2016.
- Costello, S. E., Gales, A. C., Morfin-Otero, R., Jones, R. N., & Castanheira, M. (2016). Mechanisms of resistance, clonal expansion, and increasing prevalence of *Acinetobacter baumannii* strains displaying elevated tigecycline MIC values in Latin America. *Microbial Drug Resistance*, *22*(4), 253-258.
- Dallo, S. F., & Weitao, T. (2010). Insights into acinetobacter war-wound infections, biofilms, and control. *Advances in skin & wound care*, *23*(4), 169-174.
- Damier-Piolle, L., Magnet, S., Brémont, S., Lambert, T., & Courvalin, P. (2008). AdelJK, a resistance-nodulation-cell division pump effluxing multiple antibiotics in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *52*(2), 557-562.

- De Vos, D., Pirnay, J.-P., Bilocq, F., Jennes, S., Verbeken, G., Rose, T., Keersebilck, E., Bosmans, P., Pieters, T., & Hing, M. (2016). Molecular epidemiology and clinical impact of *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex in a Belgian burn wound center. *PloS one*, *11*(5), e0156237.
- Dessel, V. H., Dijkshoorn, L., van der Reijden, T., Bakker, N., Paauw, A., van den Broek, P., Verhoef, J., & Brisse, S. (2004). Identification of a new geographically widespread multiresistant *Acinetobacter baumannii* clone from European hospitals. *Research in microbiology*, *155*(2), 105-112.
- Diancourt, L., Passet, V., Nemec, A., Dijkshoorn, L., & Brisse, S. (2010). The population structure of *Acinetobacter baumannii*: expanding multiresistant clones from an ancestral susceptible genetic pool. *PloS one*, *5*(4), e10034.
- Dijkshoorn, L., Aucken, H., Gerner-Smidt, P., Janssen, P., Kaufmann, M., Garaizar, J., Ursing, J., & Pitt, T. (1996). Comparison of outbreak and nonoutbreak *Acinetobacter baumannii* strains by genotypic and phenotypic methods. *Journal of clinical microbiology*, *34*(6), 1519-1525.
- Dilokpattanamongkol, P. (2013). *Tigecycline: Focusing on current status of ventilation-associated Pneumonia* (N. J. Wichai Santimaleeworakul, Preecha Monthakantikul, Ed.).
- Dorsey, C. W., Tolmasky, M. E., Crosa, J. H., & Actis, L. A. (2003). Genetic organization of an *Acinetobacter baumannii* chromosomal region harbouring genes related to siderophore biosynthesis and transport. *Microbiology*, *149*(5), 1227-1238.
- Ellen, M., Phillips, E. J., & Norton A (2021). Immediate and Delayed Hypersensitivity Reactions to Beta-Lactam Antibiotics. . *Clinical Reviews in Allergy & Immunology* *62*, 449-462.
- Erridge, C., Moncayo-Nieto, O. L., Morgan, R., Young, M., & Poxton, I. R. (2007). *Acinetobacter baumannii* lipopolysaccharides are potent stimulators of human monocyte activation via Toll-like receptor 4 signalling. *Journal of medical microbiology*, *56*(2), 165-171.

- Evans, B., Brown, S., Hamouda, A., Findlay, J., & Amyes, S. (2007). Eleven novel OXA-51-like enzymes from clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Clinical microbiology and infection*, *13*(11), 1137-1138.
- Evans, B., Hamouda, A., Towner, K., & Amyes, S. (2008). OXA-51-like  $\beta$ -lactamases and their association with particular epidemic lineages of *Acinetobacter baumannii*. *Clinical microbiology and infection*, *14*(3), 268-275.
- Farahani, R., Moniri, R., & Farahani, K. D. (2013). Multi-drug resistant *Acinetobacter*-derived cephalosporinase and OXA set C genes in clinical specimens of *Acinetobacter* spp. isolated from teaching hospital. *Jundishapur Journal of Microbiology*, *6*(2), 181-185.
- Farshadzadeh, Z., Hashemi, F. B., Rahimi, S., Pourakbari, B., Esmaeili, D., Haghighi, M. A., Majidpour, A., Shojaa, S., Rahmani, M., & Gharesi, S. (2015). Wide distribution of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* in burns patients in Iran. *Frontiers in microbiology*, *6*, 1146.
- Feizabadi, M. M. F., B, Taherikalani, M., Rasoolinejad, M., Sadeghifard, N., Aligholi, M., Soroush, S., & Mohammadi-Yegane, S. (2008). Antimicrobial susceptibility patterns and distribution of blaOXA genes among *Acinetobacter* spp. Isolated from patients at Tehran hospitals. *Japanese journal of infectious diseases*, *61*(4), 274-278.
- Foong, W. E., Wilhelm, J., Tam, H.-K., & Pos, K. M. (2020). Tigecycline efflux in *Acinetobacter baumannii* is mediated by TetA in synergy with RND-type efflux transporters. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *75*(5), 1135-1139.
- Gaiarsa, S., Biffignandi, B. G., Esposito, E. P., Castelli, M., Jolley, K. A., Brisse, S., Sasser, D., & Zarrilli, R. (2019). Comparative analysis of the two *Acinetobacter baumannii* multilocus sequence typing (MLST) schemes. *Frontiers in microbiology*, *10*, 930.
- Gao, Q., Meng, X., Gu, H., Chen, X., Yang, H., Qiao, Y., & Guo, X. (2019). Two phenotype-differentiated *Acinetobacter baumannii* mutants that survived in a meropenem selection display large differences in their transcription profiles. *Frontiers in microbiology*, *10*, 2308.



- Giamarellou, H., & Poulakou, G. (2009). Multidrug-resistant gram-negative infections. *Drugs*, 69(14), 1879-1901.
- Giannouli, M., Cuccurullo, S., Crivaro, V., Di Popolo, A., Bernardo, M., Tomasone, F., Amato, G., Brisse, S., Triassi, M., & Utili, R. (2010). Molecular epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a tertiary care hospital in Naples, Italy, shows the emergence of a novel epidemic clone. *Journal of clinical microbiology*, 48(4), 1223-1230.
- Gogry, F. A., Siddiqui, M. T., Sultan, I., & Haq, Q. M. R. (2021). Current update on intrinsic and acquired colistin resistance mechanisms in bacteria. *Frontiers in medicine*, 8, 677720.
- Greene, C., Wu, J., Rickard, A. H., & Xi, C. (2016). Evaluation of the ability of *Acinetobacter baumannii* to form biofilms on six different biomedical relevant surfaces. *Letters in applied microbiology*, 63(4), 233-239.
- Grossman, T. H. (2016). Tetracycline antibiotics and resistance. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 6(4), a025387.
- Grosso, F., Quinteira, S., & Peixe, L. (2011). Understanding the dynamics of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* lineages within Portugal. *Clinical microbiology and infection*, 17(8), 1275-1279.
- Guardabassi, L., Dalsgaard, A., & Olsen, J. (1999). Phenotypic characterization and antibiotic resistance of *Acinetobacter* spp. isolated from aquatic sources. *Journal of applied microbiology*, 87(5), 659-667.
- Hafa, H. E., Nayme, K., El Hamzaoui, N., Maroui, I., Sbiti, M., Zerouali, K., Timinouni, M., & Belhaj, A. (2019). Dissemination of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains carrying the bla<sub>GES</sub>, bla<sub>NDM</sub> and bla<sub>OXA23</sub> in Morocco. *Germs*, 9(3), 133.
- Hammerum, A. M., Hansen, F., Skov, M. N., Stegger, M., Andersen, P. S., Holm, A., Jakobsen, L., & Justesen, U. S. (2015). Investigation of a possible outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Odense, Denmark using PFGE, MLST and whole-genome-based SNPs. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(7), 1965-1968.

- Hammoudi, D., Moubareck, C. A., & Sarkis, D. K. (2014). How to detect carbapenemase producers A literature review of phenotypic and molecular methods. *Journal of microbiological methods*, *107*, 106-118.
- Hamouda, A., Evans, B. A., Towner, K. J., & Amyes, S. G. (2010). Characterization of epidemiologically unrelated *Acinetobacter baumannii* isolates from four continents by use of multilocus sequence typing, pulsed-field gel electrophoresis, and sequence-based typing of *bla*<sub>OXA-51-like</sub> genes. *Journal of clinical microbiology*, *48*(7), 2476-2483.
- Handal, R., Qunibi, L., Sahouri, I., Juhari, M., Dawodi, R., Marzouqa, H., & Hindiyeh, M. (2017). Characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains isolated from hospitalized patients in Palestine. *International journal of microbiology*, 2017.
- Harding, C. M., Tracy, E. N., Carruthers, M. D., Rather, P. N., Actis, L. A., & Munson Jr, R. S. (2013). *Acinetobacter baumannii* strain M2 produces type IV pili which play a role in natural transformation and twitching motility but not surface-associated motility. *MBio*, *4*(4), e00360-00313.
- He, T., Wang, R., Liu, D., Walsh, T. R., Zhang, R., Lv, Y., Ke, Y., Ji, Q., Wei, R., Liu, Z., & expand, A. (2019). Emergence of plasmid-mediated high-level tigecycline resistance genes in animals and humans. *Nature microbiology*, *4*(9), 1450-1456.
- Heritier, C., Poirel, L., & Nordmann, P. (2006). Cephalosporinase over-expression resulting from insertion of ISAbal in *Acinetobacter baumannii*. *Clinical microbiology and infection*, *12*(2), 123-130.
- Higgins, P. G., Dammhayn, C., Hackel, M., & Seifert, H. (2010). Global spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *65*(2), 233-238.
- Howard, A., O'Donoghue, M., Feeney, A., & Sleator, R. D. (2012). *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. *Virulence*, *3*(3), 243-250.
- Hu, Y.-F., Hou, C. J.-Y., Kuo, C.-F., Wang, N.-Y., Wu, A. Y.-J., Leung, C.-H. . (2017). Emergence of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* ST787 in

- clinical isolates from blood in a tertiary teaching hospital in Northern Taiwan. *Microbiology, Immunology and Infection* 50, 640-645.
- Huang, X.-Z., Chahine, M. A., Frye, J. G., Cash, D. M., Lesho, E. P., Craft, D. W., Lindler, L. E., & Nikolich, M. P. (2012). Molecular analysis of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from US service members wounded in Iraq, 2003-2008. *Epidemiol. Infect* (140), 2302-2307.
- Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. *American society for microbiology*, 15, 55-63.
- Jacobs, A. C., Hood, I., Boyd, K. L., Olson, P. D., Morrison, J. M., Carson, S., Sayood, K., Iwen, P. C., Skaar, E. P., & Dunman, P. M. (2010). Inactivation of phospholipase D diminishes *Acinetobacter baumannii* pathogenesis. *Infection and immunity*, 78(5), 1952-1962.
- Jaruratanasirikul, S., Nitchot, W., Wongpoowarak, W., Samaeng, M., & Nawakitransan, M. (2019). Population pharmacokinetics and Monte Carlo simulations of sulbactam to optimize dosage regimens in patients with ventilator-associated pneumonia caused by *Acinetobacter baumannii*. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 136, 104940.
- Jeon, H., Kim, S., Kim, M. H., Kim, S. Y., Nam, D., Park, S. C., Park, S.-H., Bae, H., Lee, H.-J., & Cho, J. H. (2018). Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from a Korean hospital that carry *bla*<sub>OXA-23</sub>. *Infection, Genetics and Evolution*, 58, 232-236.
- Jiang, M., Mu, Y., Li, N., Zhang, Z., & Han, S. (2018). Carbapenem-resistant from Air and Patients of Intensive Care Units. *Polish Journal of Microbiology*, 67(3), 333-338.
- Ju, M., Hou, D., Chen, S., Wang, Y., Tang, X., Liu, J., Chen, C., Song, Y., & Li, H. (2018). Risk factors for mortality in ICU patients with *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia: impact of bacterial cytotoxicity. *Journal of Thoracic Disease*, 10(5), 2608.
- Kanafani, Z. A., Zahreddine, N., Tayyar, R., Sfeir, J., Araj, G. F., Matar, G. M., & Kanj, S. S. (2018). Multi-drug resistant *Acinetobacter* species: a seven-year experience

- from a tertiary care center in Lebanon. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 7(1), 1-8.
- Karageorgopoulos, D. E., & Falagas, M. E. (2008). Current control and treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *The Lancet infectious diseases*, 8(12), 751-762.
- Karah, N., Khalid, F., Wai, S. N., Uhlin, B. E., & Ahmad, I. (2020). Molecular epidemiology and antimicrobial resistance features of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Pakistan. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 19(1), 1-13.
- Karah, N., Sundsfjord, A., Towner, K., & Samuelsen, r. (2012). Insights into the global molecular epidemiology of carbapenem non-susceptible clones of *Acinetobacter baumannii*. *Drug Resistance Updates*, 15(4), 237-247.
- Kenyon, J. J., & Hall, R. M. (2013). Variation in the complex carbohydrate biosynthesis loci of *Acinetobacter baumannii* genomes. *PloS one*, 8(4), e62160.
- Khalil, M. A., Ahmed, F. A., Elkhateeb, A. F., Mahmoud, E. E., Ahmed, M. I., Ahmed, R. I., Hosni, A., Alghamdi, S., Kabrah, A., & Dabloul, A. S. (2021). Virulence characteristics of biofilm-forming *Acinetobacter baumannii* in clinical isolates using a *Galleria Mellonella* Model. *Microorganisms*, 9(11), 2365.
- Khorsi, K., Messai, Y., Ammari, H., Hamidi, M., & Bakour, R. (2018). ISAba36 inserted into the outer membrane protein gene *carO* and associated with the carbapenemase gene *bla<sub>OXA-24-like</sub>* in *Acinetobacter baumannii*. *Journal of global antimicrobial resistance*, 15, 107-108.
- Khuntayaporn, P., Kanathum, P., Houngsaitong, J., Montakantikul, P., hirapanmethee, K. T., & Chomnawang, M. T. (2021). Predominance of international clone 2 multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Thailand: a nationwide study. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*.
- Kongthai, P., Thummeepak, R., Leungtongkam, U., Pooarlai, R., Kittit, T., Thanwisai, A., Chantratita, N., Millard, A. D., & Sitthisak, S. (2021). Insight into molecular epidemiology, antimicrobial resistance, and virulence genes of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* in Thailand. *Microbial Drug Resistance*, 27(3), 350-359.

- Krause, K. M., Serio, A. W., Kane, T. R., & Connolly, L. E. (2016). Aminoglycosides: an overview. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 6(6), a027029.
- Kumarasamy, K. K., Toleman, M. A., Walsh, T. R., Bagaria, J., Butt, F. a., & Balakrishnan, R. (2010). Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological and epidemiological study. *Lancet Infect Dis*, 10, 597-602.
- Lertsrisatit, Y., Santimaleeworagun, W., Thunyaharn, S, & Traipattanakul, J. (2017). In vitro activity of colistin mono- and combination therapy against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*, mechanism of resistance, and clinical outcomes of patients infected with colistin-resistant *A. baumannii* at a Thai university hospital. *Infect. Drug. Resist*, 10, 437-443.
- Leungtongkam, U., Thummeepak, R., Wongprachan, S., Thongsuk, P., Kittit, T., Ketwong, K., Runcharoen, C., Chantratita, N., & Sitthisak, S. (2018). Dissemination of *bla*<sub>OXA-23</sub>, *bla*<sub>OXA-24</sub>, *bla*<sub>OXA-58</sub>, and *bla*<sub>NDM-1</sub> Genes of *Acinetobacter baumannii* Isolates from Four Tertiary Hospitals in Thailand. *Microbial Drug Resistance*, 24(1), 55-62.
- Leyo. (2010). Structure of colistin. In Colistin.svg (Ed.), (Vol. 1,111 × 678 pixels).
- Li, S., Duan, X., Peng, Y., & Rui, Y. (2019). Molecular characteristics of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. from clinical infection samples and fecal survey samples in Southern China. *BMC infectious diseases*, 19(1), 1-12.
- Lima, W. G., Alves, M. C., Cruz, W. S., & Paiva, M. C. (2018). Chromosomally encoded and plasmid-mediated polymyxins resistance in *Acinetobacter baumannii*: a huge public health threat. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 37(6), 1009-1019.
- Livermore, D. M. (2005). Tigecycline: what is it, and where should it be used. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56(4), 611-614.
- Lopes, M. C. S., Évora, B. H. S. R., de Oliveira, C. B. S., de Oliveira, E. S., & de Melo, M. C. N. (2022). Co-production of *bla*<sub>NDM-1</sub> and *bla*<sub>OXA-23</sub> in multiresistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from Brazil. *Research, Society and Development*, 11(9), e6511931253-e6511931253.

- Lorente, C., Del, C. Y., & Rello, J. (2002). Prevention of infection in the intensive care unit: current advances and opportunities for the future. *Current Opinion in Critical Care*, 8(5), 461-464.
- Lowings, M., Ehlers, M. M., Dreyer, A. W., & Kock, M. M. (2015). High prevalence of oxacillinases in clinical multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from the Tshwane region, South Africa—an update. *BMC infectious diseases*, 15(1), 1-10.
- Lynch III, J. P., Zhanel, G. G., & Clark, N. M. (2017). Infections due to *Acinetobacter baumannii* in the ICU: treatment options. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*,
- Ma, A. T., McAuley, S., Pukatzki, S., & Mekalanos, J. J. (2009). Translocation of a *Vibrio cholerae* type VI secretion effector requires bacterial endocytosis by host cells. *Cell host & microbe*, 5(3), 234-243.
- Magiorakos, A.-P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M., Giske, C., Grundmann, H., Harbarth, S., Hindler, J., & Kahlmeter, G. (2011). Multidrug-resistant (MDR), extensively drug-resistant (XDR) and pandrug-1 resistant (PDR) bacteria in healthcare settings. Expert proposal for a 2 standardized international terminology 3. In.
- Markley, J. L., & Wencewicz, A. (2018). Tetracycline-inactivating enzyme. 9.
- Martins, N., Picão, R. C., Cerqueira-Alves, M., Uehara, A., Barbosa, L. C., Riley, L. W., & Moreira, B. M. (2016). A new tri locus sequence-based multiplex-PCR to detect major *Acinetobacter baumannii* clones. *Infection, Genetics and Evolution*, 42, 41-45.
- Matsui, M., Suzuki, M., Suzuki, M., Yatsuyanagi, J., Watahiki, M., Hiraki, Y., Kawano, F., Tsutsui, A., Shibayama, K., & Suzuki, S. (2018). Distribution and molecular characterization of *Acinetobacter baumannii* international clone II lineage in Japan. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 62(2), e02190-02117.
- Mavroidi, A., Likousi, S., Palla, E., Katsiari, M., Roussou, Z., Maguina, A., & Platsouka, E. D. (2015). Molecular identification of tigecycline-and colistin-resistant carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* from a Greek hospital from 2011 to 2013. *Journal of medical microbiology*, 64(9), 993-997.

- McConnell, M. J., Actis, L., & Pachón, J. (2013). *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. *FEMS microbiology reviews*, 37(2), 130-155.
- McQueary, C. N., Kirkup, B. C., Si, Y., Barlow, M., Actis, L. A., Craft, D. W., & Zurawski, D. V. (2012). Extracellular stress and lipopolysaccharide modulate *Acinetobacter baumannii* surface-associated motility. *Journal of microbiology*, 50(3), 434-443.
- Moffatt, J. H., Harper, M., Adler, B., Nation, R. L., Li, J., & Boyce, J. D. (2011). Insertion sequence IS Aba11 is involved in colistin resistance and loss of lipopolysaccharide in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55(6), 3022-3024.
- Moffatt, J. H., Harper, M., & Boyce, J. D. (2019). Mechanisms of polymyxin resistance. *Polymyxin Antibiotics: From Laboratory Bench to Bedside*, 55-71.
- Moffatt, J. H., Harper, M., Harrison, P., Hale, J. D., Vinogradov, E., Seemann, T., Henry, R., Crane, B., St. Michael, F., & Cox, A. D. (2010). Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(12), 4971-4977.
- Moubareck, A. C., & Dalal, H. H. (2020). Insights into *Acinetobacter baumannii*: a review of microbiological, virulence, and resistance traits in a threatening nosocomial pathogen. *Antibiotics*, 9(3), 119.
- Moyo, S. J., Manyahi, J., Hubbard, A. T., Byrne, R. L., Masoud, N. S., Aboud, S., Manji, K., Blomberg, B., Langeland, N., & Roberts, A. P. (2021). Molecular characterisation of the first New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase 1-producing *Acinetobacter baumannii* from Tanzania. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 115(9), 1080-1085.
- Nakonchai, T. (2018). Factors Associated with Multi-Drug Resistant Infections among Patients of Udonthani Cancer Hospital *Nursing, Health, and Education Journal*, 1(1), 23-30.

- Needham, B. D., & Trent, M. S. (2013). Fortifying the barrier: the impact of lipid A remodelling on bacterial pathogenesis. *Nature Reviews Microbiology*, *11*(7), 467-481.
- Nemec, A., Dolzani, L., Brisse, S., van den Broek, P., & Dijkshoorn, L. (2004). Diversity of aminoglycoside-resistance genes and their association with class 1 integrons among strains of pan-European *Acinetobacter baumannii* clones. *Journal of medical microbiology*, *53*(12), 1233-1240.
- Nigro, S. J., & Hall, R. M. (2016). Structure and context of *Acinetobacter* transposons carrying the *oxa23* carbapenemase gene. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *71*(5), 1135-1147.
- Nocera, F. P., Attili, A.-R., & Martino, L. D. (2021). *Acinetobacter baumannii*: Its Clinical Significance in Human and Veterinary Medicine. *Pathogen*.
- Olson, M. W., Ruzin, A., Feyfant, E., Rush III, T. S., O'Connell, J., & Bradford, P. A. (2006). Functional, biophysical, and structural bases for antibacterial activity of tigecycline. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *50*(6), 2156-2166.
- Peleg, A. Y., Seifert, H., & Paterson, D. L. (2008). *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clinical microbiology reviews*, *21*(3), 538-582.
- Pichichero, M. E., & Zagursky, R. (2014). Penicillin and cephalosporin allergy *Ann Allergy Asthma Immunol* *112*(5), 404-412.
- Poirel, L., Walsh, T. R., Cuvillier, V., & Nordmann, P. (2011). Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, *70*(1), 119-123.
- Rebelo, A. R., Bortolaia, V., Kjeldgaard, J. S., Pedersen, S. K., Leekitcharoenphon, P., Hansen, I. M., Guerra, B., Malorny, B., Borowiak, M., & Hammerl, J. A. (2018). Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated colistin resistance determinants, *mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* and *mcr-5* for surveillance purposes. *Eurosurveillance*, *23*(6), 17-00672.
- Rumbo, C., Tomás, M., Fernandez Moreira, E., Soares, N. C., Carvajal, M., Santillana, E., Beceiro, A., Romero, A., & Bou, G. (2014). The *Acinetobacter baumannii* Omp33-36 porin is a virulence factor that induces apoptosis and modulates autophagy in human cells. *Infection and immunity*, *82*(11), 4666-4680.



- Russo, T. A., Luke, N. R., Beanan, J. M., Olson, R., Sauberan, S. L., MacDonald, U., Schultz, L. W., Umland, T. C., & Campagnari, A. A. (2010). The K1 capsular polysaccharide of *Acinetobacter baumannii* strain 307-0294 is a major virulence factor. *Infection and immunity*, *78*(9), 3993-4000.
- Saelao, S., & Utiswannakul, A. (2008). Therapy for patient with multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Health Research*, *22*, 131-136.
- Sahl, J. W., Johnson, J. K., Harris, A. D., Phillippy, A. M., Hsiao, W. W., Thom, K. A., & Rasko, D. A. (2011). Genomic comparison of multi-drug resistant invasive and colonizing *Acinetobacter baumannii* isolated from diverse human body sites reveals genomic plasticity. *BMC genomics*, *12*(1), 1-12.
- Sandkvist, M. (2001). Type II secretion and pathogenesis. *Infection and immunity*, *69*(6), 3523-3535.
- Santajit, S., Bhoopong, P., Ngoen, T. K., Tunyong, W., Horpet, D., Paehoh-ele, W., Zahedeng, T., Pumira, P., Sookrung, N., Hinthong, W., & Indrawattana, N. (2023). Phenotypic and Genotypic Investigation of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* in Maharaj Nakhon Si Thammarat Hospital Thailand. *Antibiotics*, *12*, 580.
- Santimaleeworagun, W., Thathong, A., Samret, W., Preechachuawong, P., Sae-lim, W., & Jitwasinkul, T. (2014). Identification and characterization of carbapenemase genes in clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from a general hospital in thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, *45*(4), 874.
- Sato, Y., Unno, Y., Kawakami, S., Ubagai, T., & Ono, Y. (2017). Virulence characteristics of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates vary with the expression levels of omps. *Journal of medical microbiology*, *66*(2), 203-212.
- Sauvage, E., Kerff, F., Terrak, M., Ayala, J. A., & Charlier, P. (2008). The penicillin-binding proteins: structure and role in peptidoglycan biosynthesis. *FEMS microbiology reviews*, *32*(2), 234-258.
- Savari, M., Ekrami, A., Shoja, S., & Bahador, A. (2017). Plasmid borne Carbapenem-Hydrolyzing Class D  $\beta$ -Lactamases (CHDLs) and AdeABC efflux pump

- conferring carbapenem-tigecycline resistance among *Acinetobacter baumannii* isolates harboring TnAbaRs. *Microbial pathogenesis*, 104, 310-317.
- Selim, S., Faried, O. A., Almuhayawi, M. S., Mohammed, O. A., Saleh, F. M., & Warrad, M. (2022). Dynamic Gene Clusters Mediating Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates. *Antibiotics*, 11(2), 168.
- Sitaruno, S., & Santimaleeworagun, W. (2018). Efficacy and Safety of Colistin in Clinical Practice. *Thai journal of Phamacy Practice*, 10(2).
- Smani, Y., Fàbrega, A., Roca, I., Sánchez-Encinales, V., Vila, J., & Pachón, J. (2014). Role of OmpA in the multidrug resistance phenotype of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58(3), 1806-1808.
- Somayeh, M., Nourkhoda, S., Iraj, P., Fatemeh, G., Setareh, S., Lila, A., Abdolaziz, R. L., Maria, G., & Morovat, T. (2015). *Acinetobacter baumannii* clonal lineages I and II harboring different carbapenem-hydrolyzing-beta-lactamase genes are widespread among hospitalized burn patients in Tehran.
- Songsri, J., Klakong, S., Paduka, W., Ha-ma, A., & Orachorn, P. (2017). Detection of Oxacillinase Genes in *Acinetobacterbaumannii* Isolated from the Maharaj Nakhon Si Thammarat Hospital. *ASEAN Journal of Scientific and Technological Reports*, 20(3), 168-175.
- Suarez, G., Sierra, J., Erova, T., Sha, J., Horneman, A., & Chopra, A. (2010). A type VI secretion system effector protein, VgrG1, from *Aeromonas hydrophila* that induces host cell toxicity by ADP ribosylation of actin. *Journal of bacteriology*, 192(1), 155-168.
- Surasarang, K., Narksawat, K., Danchaivijitr, S., Siripanichgon, K., Sujirarat, D., Rongrungrueng, Y., & Kiratisin, P. ((2007). Risk factors for Multi-Drug Resistant *Acinetobacter baumanii* Nosocomial infection. *Journal of the Medical Association of Thailand*, 90(8), 1633-1639.
- Tafreshi, N., Babaeekhou, L., & Ghane, M. (2019). Antibiotic resistance pattern of *Acinetobacter baumannii* from burns patients: increase in prevalence of *bla*<sub>OXA-24-like</sub> and *bla*<sub>OXA-58-like</sub> genes. *Iranian Journal of Microbiology*, 11(6), 502.

- Thadtapong, N., Chaturongakul, S., Soodvilai, S., & Dubbs, P. (2021). Colistin and carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* Aci46 in Thailand: Genome analysis and antibiotic resistance profiling. *Antibiotics*, *10*(9), 1054.
- Thet, K. T., Lunha, K., Srisrattakarn, A., Lulitanond, A., Tavichakorntrakool, R., Kuwatjanakul, W., Charoensri, N., & Chanawong, A. (2020). Colistin heteroresistance in carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from a Thai university hospital. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *36*, 102.
- Thirapanmethee, K., Srisiri-A-Nun, T., Houngsaitong, J., Montakantikul, P., Khuntayaporn, P., & Chomnawang, M. T. (2020). Prevalence of OXA-type  $\beta$ -lactamase genes among carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Thailand. *Antibiotics*, *9*(12), 864.
- Tilley, D., Law, R., Warren, S., Samis, J. A., & Kumar, A. (2014). CpaA a novel protease from *Acinetobacter baumannii* clinical isolates deregulates blood coagulation. *FEMS microbiology letters*, *356*(1), 53-61.
- Tomaras, A. P., Flagler, M. J., Dorsey, C. W., Gaddy, J. A., & Actis, L. A. (2008). Characterization of a two-component regulatory system from *Acinetobacter baumannii* that controls biofilm formation and cellular morphology. *Microbiology*, *154*(11), 3398-3409.
- Towner, K. J., Levi, K., Vlassiadi, M., & Group, A. S. (2008). Genetic diversity of carbapenem-resistant isolates of *Acinetobacter baumannii* in Europe. *Clinical microbiology and infection*, *14*(2), 161-167.
- Trebosc, V., Gartenmann, S., Tötzl, M., Lucchini, V., Schellhorn, B., Pieren, M., Lociuoro, S., Gitzinger, M., Tigges, M., & Bumann, D. (2019). Dissecting colistin resistance mechanisms in extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *MBio*, *10*(4), e01083-01019.
- Trottier, V., Namias, N., Pust, D. G., Nuwayhid, Z., Manning, R., Marttos, J., Antonio C, Dunham, M. B., Schulman, C. I., & McKenney, M. G. (2007). Outcomes of *Acinetobacter baumannii* infection in critically ill surgical patients. *Surgical infections*, *8*(4), 437-444.

- Turton, J., Gabriel, S., Valderrey, C., Kaufmann, M., & Pitt, T. (2007). Use of sequence-based typing and multiplex PCR to identify clonal lineages of outbreak strains of *Acinetobacter baumannii*. *Clinical microbiology and infection*, *13*(8), 807-815.
- Turton, J. F., Ward, M. E., Woodford, N., Kaufmann, M. E., Pike, R., Livermore, D. M., & Pitt, T. L. (2006). The role of IS Aba1 in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. *FEMS microbiology letters*, *258*(1), 72-77.
- Vallenet, D., Nordmann, P., Barbe, V., Poirel, L., Mangenot, S., Bataille, E., Dossat, C., Gas, S., Kreimeyer, A., & Lenoble, P. (2008). Comparative analysis of *Acinetobacters*: three genomes for three lifestyles. *PLoS one*, *3*(3), e1805.
- Volkers, G., Palm, G. J., Weiss, M. S., Wright, G. D., & Hinrichs, W. (2011). Structural basis for a new tetracycline resistance mechanism relying on the TetX monooxygenase. *FEBS Letters* *585*, 1061-1066.
- Vrancianu, C. O., Gheorghe, I., Dobre, E.-G., Barbu, I. C., Cristian, R. E., Popa, M., Lee, S. H., Limban, C., Vlad, I. M., & Chifiriuc, M. C (2020). Emerging Strategies to Combat  $\beta$ -Lactamase Producing ESKAPE Pathogens. *Int. J. Mol. Sci*, *21*, 8527.
- Waack, U., Warnock, M., Yee, A., Huttinger, Z., Smith, S., Kumar, A., Deroux, A., Ginsburg, D., Mobley, H. L., & Lawrence, D. A. (2018). CpaA is a glycan-specific adamalysin-like protease secreted by *Acinetobacter baumannii* that inactivates coagulation factor XII. *MBio*, *9*(6), e01606-01618.
- Wang, J., Ruan, Z., Feng, Y., Fu, Y., Jiang, Y., Wang, H., & Yu, Y. (2014). Species distribution of clinical *Acinetobacter* isolates revealed by different identification techniques. *PLoS one*, *9*(8), e104882.
- Wang, R., van Dorp, L., Shaw, L. P., Bradley, P., Wang, Q., Wang, X., Jin, L., Zhang, Q., Liu, Y., & Rieux, A. (2018). The global distribution and spread of the mobilized colistin resistance gene *mcr-1*. *Nature communications*, *9*(1), 1-9.
- Wasfi, R., Rasslan, F., Hassan, S. S., Ashour, H. M., El-Rahman, A., & Ola, A. (2021). Co-existence of carbapenemase-encoding genes in *Acinetobacter baumannii* from cancer patients. *Infectious Diseases and Therapy*, *10*(1), 291-305.

- Werarak, P., Waiwarawut, J., Tharavichitkul, P., Pothirat, C., Rungruanghiranya, S., Geater, S. L., Chongthaleong, A., Sittipunt, C., Horsin, P., & Chalermkulrat, W. (2012). *Acinetobacter baumannii* nosocomial pneumonia in tertiary care hospitals in Thailand. *J Med Assoc Thai*, *95*(Suppl 2), S23-S33.
- Whiteley, M., Diggle, S. P., & Greenberg, E. P. (2017). Progress in and promise of bacterial quorum sensing research. *Nature*, *551*(7680), 313-320.
- Wisplinghoff, H., Bischoff, T., Tallent, S. M., Seifert, H., Wenzel, R. P., & Edmond, M. B. (2004). Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clinical infectious diseases*, *39*(3), 309-317.
- Wisplinghoff, H., Edmond, M. B., Pfaller, M. A., Jones, R. N., Wenzel, R. P., & Seifert, H. (2000). Nosocomial bloodstream infections caused by *Acinetobacter* species in United States hospitals: clinical features, molecular epidemiology, and antimicrobial susceptibility. *Clinical infectious diseases*, *31*(3), 690-697.
- Wong, D., Nielsen, T. B., Bonomo, R. A., Pantapalangkoor, P., Luna, B., & Spellberg, B. (2017). Clinical and pathophysiological overview of *Acinetobacter* infections: a century of challenges. *Clinical microbiology reviews*, *30*(1), 409-447.
- World health organization, W. (2019). *WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed* <https://doi.org/https://www.who.int/news-room/>
- Yamane, K., Wachino, J.-i., Doi, Y., Kurokawa, H., & Arakawa, Y. (2005). Global spread of multiple aminoglycoside resistance genes. *Emerging infectious diseases*, *11*(6), 951.
- Yang, W., Moore, I. F., Koteva, K. P., Bareich, D. C., Hughes, D. W., & Wright, G. D. (2004). TetX is a flavin-dependent monooxygenase conferring resistance to tetracycline antibiotics. *Journal of Biological Chemistry*, *279*(50), 52346-52352.
- Yangsoon, L., Kim, C.-K., Lee, H., Jeong, S. H., Yong, D., & Lee, K. (2011). A Novel Insertion Sequence, IS*Aba10*, Inserted into IS*Aba1* Adjacent to the *bla*<sub>oxa-23</sub> Gene and Disrupting the Outer Membrane Protein Gene *carO* in

*Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55(1), 361-363.

- Yong, D., Toleman, M. A., Giske, C. G., Cho, H. S., Sundman, K., Lee, K., & Walsh, T. R. (2009). Characterization of a New Metallo- $\beta$ -Lactamase Gene, *bla*<sub>NDM-1</sub>, and a Novel Erythromycin Esterase Gene Carried on a Unique Genetic Structure in *Klebsiella pneumoniae* Sequence Type 14 from India. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53(2), 15046-15054.
- Zapun, A., Contreras-Martel, C., & Vernet, T. (2008). Penicillin-binding proteins and  $\beta$ -lactam resistance. *FEMS microbiology reviews*, 32(2), 361-385.
- Zhang, X., Li, F., Awan, F., Jiang, H., Zeng, Z., & Lv, W. (2020). Molecular Epidemiology and Clone Transmission of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* in ICU Rooms. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*.
- Zhao, S.-y., Jiang, D.-y., Xu, P.-c., Zhang, Y.-k., Shi, H.-f., Cao, H.-l., & Wu, Q. (2015). An investigation of drug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in a comprehensive hospital of East China. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 14(1), 1-8.
- Zhu, J., Wang, C., Wu, J., Jiang, R., Mi, Z., & Huang, Z. (2009). A novel aminoglycoside-modifying enzyme gene *aac* (6')-Ib in a pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strain. *Journal of Hospital Infection*, 73(2), 184-185.
- Zimble, D. L., Penwell, W. F., Gaddy, J. A., Menke, S. M., Tomaras, A. P., Connerly, P. L., & Actis, L. A. (2009). Iron acquisition functions expressed by the human pathogen *Acinetobacter baumannii*. *Biometals*, 22(1), 23-32.



ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยนครพนม

## ภาคผนวก ก

ตาราง 11 แสดงแหล่งที่มาของเชื้อ *A. baumannii* 190 ไอโซเลต จากโรงพยาบาลร้อยเอ็ด

Wards	Specimens											
	Sputum	Sputum (สาย)	PUS	urine (MSU , Void)	blood-hemoculture <sup>1</sup>	blood	PD	Tracheal suction	pleural fluid	Tissue	ascitic fluid	body fluid
ICU	22	26	0	3	7	2	0	2	0	1	0	0
ศัลยกรรม	1	6	10	1	4	0	0	0	0	0	0	0
อายุรกรรม	23	44	3	7	2	0	2	0	1	0	1	1
อื่นๆ	5	14	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0

หมายเหตุ: Peritoneal Dialysis (PD)



ตาราง 12 แสดงรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะ imipenem colistin และ tigecycline และ  
 จีโนไทป์ของเชื้อ *A. baumannii*

ID	Phenotype			Genotype				
	IPM	COL	TGC	<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-51</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>	<i>bla</i> <sub>NDM</sub>
856	S	I	S	+	-	+	-	-
1089	R	I	S	-	-	+	+	+
1131	R	I	S	+	-	+	-	-
1154	R	I	S	+	-	+	-	-
1694	R	I	S	+	-	+	-	-
1683	R	I	S	+	-	+	-	-
1686	R	I	S	+	-	+	-	-
1672	R	I	S	+	-	+	-	-
974	R	I	S	-	-	+	-	-
1083	R	I	S	+	-	+	-	-
1693	R	I	S	+	-	+	-	-
1659	R	I	S	+	-	+	-	-
928	R	I	S	+	-	+	-	-
541	R	I	S	+	-	+	-	-
730	R	I	S	+	-	+	-	-
620	R	I	S	+	-	+	-	-
938	R	I	S	+	-	+	-	-
934	R	I	S	+	-	+	-	-
744	R	I	S	+	-	+	-	-
538	R	I	S	+	-	+	-	-
683	R	I	S	+	-	+	-	-
945	R	I	S	+	-	+	-	-
537	R	I	S	+	-	+	-	-

ID	Phenotype			Genotype				
	IPM	COL	TGC	<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-51</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>	<i>bla</i> <sub>NDM</sub>
868	R	I	S	+	-	+	-	-
855	R	I	S	+	-	+	-	-
802	R	I	S	+	-	+	+	-
1932	R	I	S	+	-	+	-	-
932	R	I	S	+	-	+	-	-
684	R	I	S	+	-	+	-	-
995	R	I	S	+	-	+	-	-
977	R	I	S	+	-	+	-	-
771	R	I	S	+	-	+	-	-
790	R	I	S	+	-	+	-	-
835	R	I	S	-	-	+	-	-
826	R	I	S	+	-	+	-	-
752	R	I	S	+	-	+	-	-
1758	R	I	S	+	-	+	-	-
1209	R	I	S	-	-	+	-	-
1127	I	R	S	+	-	+	-	-
1735	R	I	S	+	-	+	-	-
1702	R	I	S	+	-	+	-	-
1834	R	I	S	+	-	+	-	-
1837	R	I	S	+	-	+	-	-
1817	R	I	S	+	-	+	-	-
1876	R	I	S	+	-	+	-	-
1780	R	I	S	+	-	+	-	-
1931	R	I	S	-	-	+	-	-
1821	R	I	S	+	-	+	-	-

ID	Phenotype			Genotype				
	IPM	COL	TGC	<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-51</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>	<i>bla</i> <sub>NDM</sub>
1911	R	R	S	+	-	+	+	-
1938	S	I	S	+	-	+	-	-
932.1	S	I	S	+	-	+	-	-
1819	R	R	S	+	-	+	-	-
770	R	R	S	+	-	+	-	-
963	I	R	S	+	-	+	-	-
1757	R	R	S	+	-	+	-	-
1883	I	R	S	+	-	+	-	-
576	R	R	S	+	-	+	-	-
1783	R	R	R	+	-	+	-	-
791	R	R	S	+	-	+	-	-
1747	R	I	S	+	-	+	-	-
725	R	I	I	+	-	+	-	-
667	R	I	S	+	-	+	-	-
918	R	R	S	+	-	+	+	-
619	R	I	S	+	-	+	-	-
942	R	I	S	-	-	+	-	-
300	R	I	S	+	-	+	-	-
317	R	I	S	+	-	+	-	-
312	R	I	S	+	-	+	-	-
67	R	I	S	+	-	+	-	-
68	R	I	S	+	-	+	-	-
348	R	I	S	+	-	+	-	-
1075	R	I	S	+	-	+	-	-
757	R	I	S	+	-	+	-	-

ID	Phenotype			Genotype				
	IPM	COL	TGC	<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-51</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>	<i>bla</i> <sub>NDM</sub>
366	R	I	S	+	-	+	-	-
943	R	I	S	-	-	+	-	+
1999	R	R	S	+	-	+	-	-
364	R	I	S	+	-	+	-	-
668	R	I	S	+	-	+	-	-
372	R	I	S	+	-	+	-	-
343	R	I	S	+	-	+	-	-
678	R	I	S	+	-	+	-	-
687	R	I	S	+	-	+	-	-
1035	R	I	S	+	-	+	-	-
2154	R	I	S	+	-	+	-	-
361	R	I	S	+	-	+	-	-
165	R	I	S	+	-	+	-	-
159	R	R	S	+	-	+	-	-
1213	R	I	S	+	-	+	-	-
1179	R	I	S	+	-	+	-	-
194	R	I	S	+	-	+	-	-
247	R	R	S	-	-	+	-	-
243	R	I	S	+	-	+	-	-
203	R	R	S	+	-	+	-	-
180	R	I	S	+	-	+	-	-
323	R	I	S	+	-	+	-	-
267	R	I	S	+	-	+	-	-
1722	R	I	S	+	-	+	-	-
1681	R	R	S	-	-	+	+	-

ID	Phenotype			Genotype				
	IPM	COL	TGC	<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-51</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>	<i>bla</i> <sub>NDM</sub>
1787	R	R	S	+	-	+	-	-
269	R	I	S	+	-	+	-	-
278	R	I	S	+	-	+	-	-
764	R	I	S	+	-	+	-	-
249	R	I	S	+	-	+	-	-
600	R	I	S	+	-	+	-	-
592	R	I	S	+	-	+	-	-
571	R	I	S	+	-	+	-	-
583	R	I	S	+	-	+	-	-
1690	R	I	S	-	-	+	-	-
1718	R	I	S	-	-	+	-	-
400	R	I	S	+	-	+	-	-
324	R	I	S	+	-	+	-	-
1343	R	I	S	+	-	+	-	-
404	R	I	S	+	-	+	-	-
1251	R	I	S	+	-	+	-	-
332.1	R	I	S	+	-	+	-	-
385	R	I	S	+	-	+	-	-
384	R	I	S	+	-	+	-	-
1276	R	I	S	+	-	+	-	-
1843	R	I	S	+	-	+	-	-
1851	R	I	S	+	-	+	-	-
818	R	I	S	+	-	+	-	-
1940	R	I	S	+	-	+	-	-
1649	R	I	S	-	-	+	+	+

ID	Phenotype			Genotype				
	IPM	COL	TGC	<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-51</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>	<i>bla</i> <sub>NDM</sub>
934	R	I	S	-	-	+	-	-
1872	R	I	S	+	-	+	-	-
1891	R	I	S	+	-	+	-	-
1905	R	I	S	+	-	+	-	-
757.1	R	I	S	+	-	+	-	-
1894	R	I	S	+	-	+	-	+
1641	R	I	S	+	-	+	-	-
1864	R	I	S	+	-	+	-	-
1866	R	I	S	+	-	+	-	-
1145	R	I	S	+	-	+	-	+
1148	R	I	S	-	-	+	-	-
935	R	I	S	+	-	+	-	-
873	R	I	S	+	-	+	-	-
821	R	I	S	-	-	+	-	-
757.2	R	I	S	+	-	+	-	-
1142	R	I	S	+	-	+	-	-
774	R	I	S	+	-	+	-	-
784	R	I	S	+	-	+	-	-
360	R	R	S	+	-	+	-	-
1644	R	R	S	+	-	+	-	-
1212	R	R	S	+	-	+	-	-
1606	R	R	S	+	-	+	-	-
728	R	R	S	+	-	+	-	-
713	R	R	S	+	-	+	-	-
1688	R	R	S	+	-	+	-	-

ID	Phenotype			Genotype				
	IPM	COL	TGC	<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-51</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>	<i>bla</i> <sub>NDM</sub>
705	R	I	S	+	-	+	-	-
754	R	I	S	+	-	+	-	-
853	R	I	S	-	-	+	-	-
701	R	I	S	-	-	+	-	-
2407	R	I	S	+	-	+	-	-
2362	R	I	S	+	-	+	-	-
2345	R	I	S	+	-	+	-	-
780	R	I	S	+	-	+	-	-
2336	R	I	S	+	-	+	-	-
2323	R	I	S	-	-	+	-	-
2317	R	I	S	+	-	+	-	-
2754	R	I	S	+	-	+	-	-
2401	R	I	S	+	-	+	-	+
854	R	I	S	+	-	+	-	-
779	R	I	S	+	-	+	-	-
2149	R	I	S	+	-	+	-	-
2144	R	R	S	-	-	+	-	-
618	R	R	S	+	-	+	-	-
2294	R	R	S	+	-	+	-	-
624	R	I	S	+	-	+	-	-
2151	R	I	S	+	-	+	-	-
637	R	I	S	+	-	+	-	-
697	R	I	S	+	-	+	-	-
694	R	I	S	+	-	+	-	-
2159	R	I	S	+	-	+	-	-

ID	Phenotype			Genotype				
	IPM	COL	TGC	<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-51</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>	<i>bla</i> <sub>NDM</sub>
144	R	I	S	+	-	+	-	-
147	R	I	S	-	-	+	-	-
811	R	I	S	+	-	+	-	-
141	R	I	S	+	-	+	-	-
899	R	I	S	+	-	+	-	-
901	R	I	S	+	-	+	-	+
846	R	I	S	+	-	+	-	-
862	R	I	S	-	-	+	-	-
90	R	I	S	+	-	+	-	-
101	R	I	S	+	-	+	-	-
102	R	I	S	+	-	+	-	-
106	R	I	S	+	-	+	-	-
332	R	I	S	+	-	+	-	-
358	R	I	S	+	-	+	-	-
904	R	I	S	+	-	+	-	+
943.1	R	I	S	+	-	+	-	-
948	R	I	S	+	-	+	-	-

หมายเหตุ: Susceptibility (S), Intermediate (I), Resistance (R), Imipenem (IMP), Tigecycline (TGC), Colistin (COL), Positive (+) , Negative (-)



ตาราง 13 แสดงรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะทั้ง 11 ชนิด โดยวิธี Disc diffusion ของเชื้อ  
*A. baumannii*

ID	Disc diffusion										
	IPM	MEM	CTX	CRO	FEP	AK	CIP	LVX	SXT	TE	TZP
856	S	S	R	R	S	S	I	S	S	S	I
1089	I	S	R	R	R	S	R	S	R	I	I
1131	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
1154	R	R	R	R	R	I	R	I	R	R	R
1694	R	R	R	R	R	I	R	R	S	R	R
1683	R	R	R	R	R	I	R	S	R	R	R
1686	R	I	R	R	I	S	R	S	S	S	S
1672	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
974	R	R	R	R	R	S	R	I	R	R	R
1083	R	R	R	R	I	S	R	R	R	S	R
1693	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R
1659	R	R	R	R	I	S	R	I	S	R	R
928	R	R	R	R	R	S	R	I	S	R	R
541	R	R	R	R	R	S	R	I	R	R	R
730	R	R	R	R	S	I	R	R	S	R	R
620	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R
938	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R
934	R	R	R	R	R	I	R	I	R	R	R
744	R	R	R	R	R	S	R	I	R	R	R
538	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	R
683	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R
945	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
537	R	I	R	R	I	S	R	S	S	S	R

ID	Disc diffusion										
	IPM	MEM	CTX	CRO	FEP	AK	CIP	LVX	SXT	TE	TZP
868	R	R	R	R	R	I	R	R	I	R	R
855	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S
802	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R
1932	R	R	S	S	R	S	R	S	R	S	R
932	R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	R
684	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R
995	R	R	R	R	R	I	R	I	R	R	R
977	R	R	R	R	S	I	R	I	R	R	R
771	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R
790	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
835	S	S	I	I	S	S	S	S	S	S	I
826	R	R	R	R	R	R	R	I	S	R	R
752	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
1758	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
1209	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R
1127	R	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R
1735	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R
1702	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R
1834	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
1837	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
1817	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
1876	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
1780	R	I	R	R	I	S	R	S	R	S	R
1931	R	I	R	R	R	S	R	R	R	R	R

ID	Disc diffusion										
	IPM	MEM	CTX	CRO	FEP	AK	CIP	LVX	SXT	TE	TZP
1821	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
1911	R	I	R	R	R	S	R	R	R	R	R
1938	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
932.1	R	I	R	R	S	R	R	S	R	S	R
1819	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
770	R	R	R	R	I	R	R	S	R	R	R
963	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
1757	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
1883	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
576	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
1783	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
791	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
1747	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
725	S	R	S	S	R	S	S	I	S	S	S
667	R	R	R	R	R	I	R	I	R	R	R
918	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
619	R	R	R	R	I	S	R	S	R	S	R
942	S	R	R	R	S	S	R	S	R	S	S
300	R	R	R	R	R	S	R	S	S	I	R
317	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R
312	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
67	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R
68	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
348	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R

ID	Disc diffusion										
	IPM	MEM	CTX	CRO	FEP	AK	CIP	LVX	SXT	TE	TZP
1075	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R
757	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
366	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S
943	R	S	R	R	R	R	R	I	S	S	R
1999	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R
364	R	R	I	R	R	R	R	I	R	R	R
668	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R
372	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R
343	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
678	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
687	S	S	I	I	S	S	S	S	S	S	S
1035	R	I	R	R	I	S	R	S	S	S	R
2154	R	I	R	R	R	S	R	S	S	S	R
361	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
165	R	R	R	R	R	S	R	I	R	S	R
159	R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	R
1213	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
1179	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
194	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
247	S	S	I	I	S	S	S	S	S	S	S
243	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R
203	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
180	R	R	R	R	R	R	R	I	S	R	R
323	R	I	R	R	I	S	R	S	R	S	R



ID	Disc diffusion										
	IPM	MEM	CTX	CRO	FEP	AK	CIP	LVX	SXT	TE	TZP
1851	R	S	R	R	S	S	R	S	R	S	I
818	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R
1940	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
1649	R	S	R	R	S	S	R	I	R	S	R
934	R	R	R	R	S	R	R	I	R	S	R
1872	R	S	R	R	S	R	R	S	R	R	R
1891	R	R	R	R	R	R	R	I	S	R	R
1905	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R
757.1	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R
1894	R	R	R	R	R	R	R	I	S	S	R
1641	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
1864	R	R	R	R	I	S	R	S	R	S	R
1866	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
1145	R	R	R	R	R	R	R	I	S	R	R
1148	S	S	I	I	S	S	S	S	S	S	S
935	R	R	R	R	I	R	R	S	R	I	R
873	R	R	R	R	I	S	R	S	S	S	R
821	S	S	I	I	S	S	S	S	S	S	S
757.2	R	R	R	R	R	R	R	I	S	R	R
1142	R	R	R	R	I	R	R	S	R	S	R
774	R	R	R	R	I	S	R	S	R	S	R
784	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
360	R	I	R	R	I	S	R	S	S	S	R
1644	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R

ID	Disc diffusion										
	IPM	MEM	CTX	CRO	FEP	AK	CIP	LVX	SXT	TE	TZP
1212	S	S	I	I	I	S	R	S	R	S	I
1606	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
728	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R
713	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R
1688	S	S	I	I	S	S	S	S	S	S	S
705	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
754	R	R	R	R	R	R	R	I	S	R	R
853	S	S	I	I	S	S	S	S	S	S	S
701	S	S	I	I	S	S	S	S	S	S	S
2407	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S
2362	R	R	R	R	R	R	I	S	R	R	R
2345	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
780	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
2336	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R
2323	S	S	I	I	S	S	R	S	S	S	S
2317	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
2754	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
2401	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
854	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
779	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
2149	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R
2144	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S
618	S	S	R	R	R	S	R	S	S	R	S
2294	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R

ID	Disc diffusion										
	IPM	MEM	CTX	CRO	FEP	AK	CIP	LVX	SXT	TE	TZP
624	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R
2151	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R
637	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R
697	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R
694	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R
2159	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
144	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R
147	S	S	I	I	S	S	S	S	S	S	S
811	R	R	R	R	R	R	R	I	S	R	R
141	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R
899	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
901	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
846	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R
862	S	S	R	R	S	R	S	S	S	S	S
90	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R
101	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R
102	S	S	R	R	S	R	R	S	R	S	S
106	R	R	R	R	R	R	R	I	S	R	R
332	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R
358	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
904	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R
943.1	R	R	R	R	R	R	R	I	S	S	R
948	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R



**หมายเหตุ:** Imipenem (IPM), Meropenem (MER), Cefotaxime (CTX), Ceftriaxone (CRO), Cefepime (FEP), Amikacin (AK), Ciprofloxacin (CIP), Levofloxacin (LEX), Trimethoprim/Sulfamethoxazole (SXT), Tetracycline (TE), Piperacillin/Tazobactam (TZP)



ตาราง 14 ความสัมพันธ์การดื้อยาปฏิชีวนะ imipenem และรูปแบบของยีน carbapenemases ของเชื้อ *A. baumannii*

ID	Phenotype			Resistant profile	Genotype				Sequence group (SG)
	Broth microdilution (MIC, µg/ml)		Disc diffusion		<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>	<i>bla</i> <sub>NDM</sub>	
	IPM	COL	IPM						
856	≤2 (S)	≤2 (I)	S	+	-	-	-	SG5	
1089	≥64 (R)	≤2 (I)	I	-	-	+	+	-	
1131	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG18	
1154	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG18	
1694	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG18	
1683	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG18	
1686	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG20	
1672	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG18	
974	≥64 (R)	≤2 (I)	R	-	-	-	-	SG19	
1083	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	-	
1693	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG19	
1659	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG19	

ID	Phenotype				Resistant profile	Genotype			Sequence group (SG)	
	Broth microdilution (MIC, µg/ml)		Disc diffusion	IPM		<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>		<i>bla</i> <sub>NDM</sub>
	IPM	COL	IPM							
928	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG20	
541	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	-	
730	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	-	
620	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	-	
938	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	-	
934	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG20	
744	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG19	
538	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG19	
683	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG20	
945	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG19	
537	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG20	
868	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG19	

ID	Phenotype			Resistant profile	Genotype			Sequence group (SG)	
	Broth microdilution (MIC, µg/ml)		Disc diffusion		Genotype				
	IPM	COL	IPM		<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>		<i>bla</i> <sub>NDM</sub>
855	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG19
802	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	+	-	-
1932	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG19
932	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG20
684	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG19
995	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG19
977	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG19
771	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG19
790	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG19
835	32 (R)	≤2 (I)	S	NON	-	-	-	-	-
826	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	-
752	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	-

ID	Phenotype			Resistant profile	Genotype			Sequence group (SG)	
	Broth microdilution (MIC, µg/ml)		Disc diffusion		Genotype				
	IPM	COL	IPM		<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>		<i>bla</i> <sub>NDM</sub>
1758	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG4
1209	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	-	-	-	-	SG4
1127	4 (I)	≥32 (R)	R	CRAB	+	-	-	-	-
1735	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG4
1702	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG4
1834	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG4
1837	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG4
1817	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG4
1876	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG4
1780	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	-
1931	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	-	-	-	-	-
1821	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG5

ID	Phenotype			Resistant profile	Genotype			Sequence group (SG)	
	Broth microdilution (MIC, µg/ml)		Disc diffusion		<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>		<i>bla</i> <sub>NDM</sub>
	IPM	COL	IPM						
1911	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	+	-	-	
1938	≤2 (S)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	-	
932.1	≤2 (S)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG5	
1819	≥64 (R)	≥32 (R)	R	+	-	-	-	SG4	
770	≥64 (R)	≥32 (R)	R	+	-	-	-	SG4	
963	4 (I)	≥32 (R)	R	+	-	-	-	SG5	
1757	8 (R)	≥32 (R)	R	+	-	-	-	SG4	
1883	4 (I)	≥32 (R)	R	+	-	-	-	SG4	
576	8 (R)	≥32 (R)	R	+	-	-	-	SG4	
1783	≥64 (R)	16 (R)	R	+	-	-	-	SG4	
791	≥64 (R)	≥32 (R)	R	+	-	-	-	-	
1747	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG4	

ID	Phenotype				Resistant profile	Genotype			Sequence group (SG)	
	Broth microdilution (MIC, µg/ml)		Disc diffusion	IPM		<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>		<i>bla</i> <sub>NDM</sub>
	IPM	COL	IPM							
725	≥64 (R)	≤2 (I)	S	CRAB	+	-	-	-	SG4	
667	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG5	
918	≥64 (R)	≥32 (R)	R	CRAB	+	-	+	-	-	
619	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG20	
942	≥64 (R)	≤2 (I)	S	CRAB	-	-	-	-	-	
300	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	-	
317	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG18	
312	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG18	
67	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG19	
68	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG19	
348	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG18	
1075	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG19	

ID	Phenotype				Resistant profile	Genotype			Sequence group (SG)	
	Broth microdilution (MIC, µg/ml)		Disc diffusion	IPM		<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>		<i>bla</i> <sub>NDM</sub>
	IPM	COL	IPM							
757	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG19	
366	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG19	
943	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	-	-	-	+	-	
1999	≥64 (R)	8 (R)	R	R	+	-	-	-	SG19	
364	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG19	
668	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG18	
372	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG18	
343	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	-	
678	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG18	
687	≥64 (R)	≤2 (I)	S	S	+	-	-	-	SG5	
1035	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	-	
2154	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	-	



ID	Phenotype				Resistant profile	Genotype			Sequence group (SG)	
	Broth microdilution (MIC, µg/ml)		Disc diffusion	IPM		<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>		<i>bla</i> <sub>NDM</sub>
	IPM	COL	IPM							
361	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG19	
165	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	-	
159	≥64 (R)	≥32 (R)	R	R	+	-	-	-	-	
1213	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG18	
1179	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG18	
194	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG20	
247	≥64 (R)	8 (R)	S	S	-	-	-	-	SG5	
243	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG19	
203	≥64 (R)	8 (R)	R	R	+	-	-	-	SG5	
180	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG18	
323	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	-	
267	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG18	

ID	Phenotype			Resistant profile	Genotype			Sequence group (SG)	
	Broth microdilution (MIC, µg/ml)		Disc diffusion		Genotype				
	IPM	COL	IPM		<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>		<i>bla</i> <sub>NDM</sub>
1722	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG19
1681	≥64 (R)	16 (R)	R	CRAB	-	-	+	-	SG18
1787	16 (R)	8 (R)	R	CRAB	+	-	-	-	SG20
269	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG19
278	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG18
764	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG18
249	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG20
600	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG19
592	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG19
571	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG19
583	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG19
1690	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	-	-	-	-	SG5

ID	Phenotype			Resistant profile	Genotype			Sequence group (SG)
	Broth microdilution (MIC, µg/ml)		Disc diffusion		Genotype			
	IPM	COL	IPM		<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>	
1718	≥64 (R)	≤2 (I)	S	-	-	-	-	SG18
400	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG18
324	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG5
1343	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG18
404	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG20
1251	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG18
332.1	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG18
385	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG19
384	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG19
1276	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	-
1843	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG18
1851	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	-

ID	Phenotype			Resistant profile	Genotype			Sequence group (SG)	
	Broth microdilution (MIC, µg/ml)		Disc diffusion		Genotype				
	IPM	COL	IPM		<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>		<i>bla</i> <sub>NDM</sub>
818	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG18
1940	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG18
1649	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	-	-	+	+	SG18
934	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	-	-	-	-	-
1872	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG18
1891	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG18
1905	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG18
757.1	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG18
1894	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	+	SG18
1641	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG5
1864	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	-
1866	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG18

ID	Phenotype				Resistant profile	Genotype				Sequence group (SG)
	Broth microdilution (MIC, µg/ml)		Disc diffusion			<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>	<i>bla</i> <sub>NDM</sub>	
	IPM	COL	IPM	IPM						
1145	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	+	SG18	
1148	≥64 (R)	≤2 (I)	S	S	-	-	-	-	SG5	
935	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG18	
873	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	-	
821	≥64 (R)	≤2 (I)	S	S	-	-	-	-	-	
757.2	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG18	
1142	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	-	
774	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	-	
784	≥64 (R)	≤2 (I)	R	R	+	-	-	-	SG18	
360	≥64 (R)	≥32 (R)	R	R	+	-	-	-	-	
1644	≥64 (R)	≥32 (R)	R	R	+	-	-	-	SG18	
1212	≥64 (R)	≥32 (R)	S	S	+	-	-	-	-	

ID	Phenotype			Resistant profile	Genotype			Sequence group (SG)	
	Broth microdilution (MIC, µg/ml)		Disc diffusion		Genotype				
	IPM	COL	IPM		<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>		<i>bla</i> <sub>NDM</sub>
1606	≥64 (R)	≥32 (R)	R	CRAB	+	-	-	-	SG18
728	16 (R)	16 (R)	R	CRAB	+	-	-	-	SG18
713	≥64 (R)	≥32 (R)	R	CRAB	+	-	-	-	-
1688	16 (R)	16 (R)	S	NON	+	-	-	-	SG7
705	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG18
754	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG18
853	≥64 (R)	≤2 (I)	S	NON	-	-	-	-	SG18
701	≥64 (R)	≤2 (I)	S	NON	-	-	-	-	SG18
2407	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG18
2362	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG18
2345	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG18
780	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-	SG18

ID	Phenotype			Resistant profile	Genotype			Sequence group (SG)
	Broth microdilution (MIC, µg/ml)		Disc diffusion		Genotype			
	IPM	COL	IPM		<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>	
2336	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG18
2323	≥64 (R)	≤2 (I)	S	-	-	-	-	SG18
2317	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG18
2754	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG18
2401	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	+	SG18
854	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG18
779	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG18
2149	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG18
2144	≥64 (R)	16 (R)	S	-	-	-	-	G5
618	≥64 (R)	4 (R)	S	+	-	-	-	-
2294	≥64 (R)	4 (R)	R	+	-	-	-	-
624	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG18

ID	Phenotype			Resistant profile	Genotype			Sequence group (SG)
	Broth microdilution (MIC, µg/ml)		Disc diffusion		Genotype			
	IPM	COL	IPM		<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>	
2151	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-
637	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	SG20
697	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	SG18
694	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	SG18
2159	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	SG18
144	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	SG18
147	≥64 (R)	≤2 (I)	S	NON	-	-	-	-
811	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	SG18
141	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	SG18
899	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	SG5
901	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	+	SG18
846	≥64 (R)	≤2 (I)	R	CRAB	+	-	-	-



ID	Phenotype			Resistant profile	Genotype			Sequence group (SG)
	Broth microdilution (MIC, µg/ml)		Disc diffusion		Genotype			
	IPM	COL	IPM		<i>bla</i> <sub>OXA-23</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58</sub>	
862	≥64 (R)	≤2 (I)	S	-	-	-	-	SG5
90	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	-
101	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG18
102	≥64 (R)	≤2 (I)	S	+	-	-	-	-
106	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG5
332	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG18
358	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG18
904	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	+	SG18
943.1	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG18
948	≥64 (R)	≤2 (I)	R	+	-	-	-	SG5

## ภาคผนวก ข การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

### Luria Bertani Agar Medium (LBA) ปริมาตร 300 มิลลิลิตร

Luria Bertani	7.5 กรัม
น้ำกลั่น	300 มิลลิลิตร
Agar 1.5%	4.5 กรัม

นำอาหารเลี้ยงเชื้อ Luria Bertani ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นเติมวุ้นคนให้ละลาย ปิดด้วยฝาขวดด้วยฟอยด์พร้อมเขียนเลเบลข้างขวด จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลานำออกมาพักให้มีอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส จึงเทลงบนจานเพาะเชื้อจานละ 15-20 มิลลิลิตร และทิ้งไว้จนแห้ง นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส

### Leeds Acinetobacter Agar Base Medium (LAM) ปริมาตร 300 มิลลิลิตร

Leeds Acinetobacter Agar Base	16.02 กรัม
น้ำกลั่น	300 มิลลิลิตร
Agar 1.5%	3 กรัม

นำอาหารเลี้ยงเชื้อ Leeds Acinetobacter Agar Base ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นเติมวุ้นเพิ่มลงไป คนให้ละลาย ปิดด้วยฝาขวดด้วยฟอยด์พร้อมเขียนเลเบลข้างขวด จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลานำออกมาพักให้มีอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส จึงเทลงบนจานเพาะเชื้อจานละ 15-20 มิลลิลิตร และทิ้งไว้จนแห้ง นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส

### Muller-Hinton Broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

Muller-Hinton	1.05 กรัม
น้ำกลั่น	50 มิลลิลิตร

นำอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller-Hinton ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นปิดฝาด้วยสำลีและปิดทับด้วยฟอยด์พร้อมเขียนเลเบลข้างขวด จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลานำออกมาพักให้มีอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส จึงเทลงบนจานเพาะเชื้อจานละ 15-20 มิลลิลิตร และทิ้งไว้จนแห้ง นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส

### Muller-Hinton Broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ความเข้มข้น 2 เท่า

Muller-Hinton	2.10 กรัม
---------------	-----------

น้ำกลั่น	50 มิลลิลิตร
----------	--------------

นำอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller-Hinton ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นปิดฝาด้วยสำลีและปิดทับด้วยฟอยด์พร้อมเขียนเลเบลข้างขวด จากนั้นนำไปนิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลานำออกมาพักให้มีอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส

### การเตรียมสารเคมี

#### 0.85 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride; NaCl) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร

NaCl	1.7 กรัม
น้ำกลั่น	200 มิลลิลิตร

นำ NaCl ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นแบ่งใส่หลอด หลอดละ 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลานำออกมาพักให้เย็นและปิดฝาหลอดให้สนิท เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

#### 5X TBE ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

Tris-base	27 กรัม
Boric acid	13.75 กรัม
0.5 EDTA (pH 8.0)	10 มิลลิลิตร

นำสารที่ชั่งเตรียมไว้มาละลาย จากนั้นปรับปริมาตร 500 มิลลิลิตร และเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.5X เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เพื่อใช้สำหรับเตรียม agarose gel และการทำ agarose gel electrophoresis

#### 0.5 M EDTA (pH 8.0) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

Sodium EDTA H <sub>2</sub> O	18.16 กรัม
3 M NaOH	
น้ำกลั่น	80 มิลลิลิตร

นำ Sodium EDTA H<sub>2</sub>O 18.16 กรัมมาละลาย ในน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร ก่อนนำไปปรับ pH โดยใช้ 3 M NaOH จนได้ pH 8.0 จากนั้นปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปนิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลานำออกมาพักให้เย็น เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

### 2% Agarose gel

Agarose	0.6 กรัม
TBE 0.5X	60 มิลลิลิตร
Ethidium bromide	4 ไมโครลิตร

นำผง Agarose ละลายใน 0.5X TBE นำเข้าไมโครเวฟจนละลายดี จากนั้นนำออกมาพักให้มีอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส จึงเติม Ethidium bromide จากนั้นคนให้เข้ากัน และเทลงในถาดสำหรับเท Agarose gel โดยก่อนเทให้นำส่วนที่เป็นเสียบลงก่อน จากนั้นทิ้งให้เย็นประมาณ 15 นาทีจึงนำไปใช้

### DNA loading dye

Sucrose	5 กรัม
Xylene Cyanole	0.0065 กรัม
Bromophenol blue	0.0125 กรัม
น้ำกลั่น	7 มิลลิลิตร

นำสารที่เตรียมไว้มาละลายในน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที 7 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากัน จากนั้นแบ่งใส่หลอด เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส

### การเตรียมความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร

Antimicrobial	ความเข้มข้นเริ่มต้น ( $\mu\text{g/ml}$ )	ความเข้มข้นสุดท้าย ( $\mu\text{g/ml}$ )	ปริมาตรยาปฏิชีวนะ ที่ต้องใช้ ( $\mu\text{g/ml}$ )	น้ำกลั่น ( $\mu\text{g/ml}$ )
Imipenem	2048	256	125	875
Colistin	1024	128	125	875
Tigecycline	2048	128	62.5	937.5

หมายเหตุ: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ( $\mu\text{g/ml}$ )

การเตรียมความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะในรูปแบบของเหลว โดยมีสูตรการคำนวณหาความเข้มข้น ดังนี้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

โดย  $C_1$  = ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะจาก Stock  $V_1$  = ปริมาตรที่ต้องการหา  
 $C_2$  = ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะที่ต้องการใช้  $V_2$  = ปริมาตรที่ต้องการเตรียม

### ภาคผนวก ค เครื่องมือที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัย

1. เครื่องปั่นเหวี่ยง CM-50M
2. ตู้อบฆ่าเชื้อ Lamina flow cabinet Bio base (Jinan Biobase Biotech Co.,LTD, China)
3. หม้อนึ่งความดันไอ SS-325 (TOMY, Contherm, New Zealand)
4. ตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ SL SHEL LAB Model 1565 Incubator (Sheldon Manufacturing Inc., Cornelius, Oregon, USA)
5. เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม Veriti™ 96 well Thermal Cycle รุ่น 9902
6. เครื่อง UV Transilluminator (GIBTHAL CO., LTD)
7. เครื่อง Gel electrophoresis Power supply (GIBTHAL CO., LTD)

