LIBRARY AND INFORMATION CENTER
MAHIDOL UNIVERSITY
25 FEB 1990

COMPARISON OF IMMUNOFLUORESCENCE AND COAGGLUTINATION TESTS FOR THE RAPID IDENTIFICATION OF BACTEROIDES FRAGILIS AND THE STUDY OF ITS ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY PATTERNS

SUPUNNEE THRAKUL

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN PUBLIC HEALTH
(INFECTIOUS DISEASES)

อภินันทนาการ
จาก
Faculty of Graduate Studies

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
1989

Copyright by Mahidol University

13777

ชื่อวิทยานิพนธ์ การเปรียบเทียบวิธีอิมมูนเรืองแสงและวิธีการจับกลุ่มร่วมเพื่อการพิสูจน์เชื้อแบคเทรอยดีส ฟราจิลิสอย่างรวดเร็ว และการศึกษาแบบแผนความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ

ผู้วิจัย สุพรรณี ธรากุล

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาธารณสุขศาสตร์) สาขาโรคติดเชื้อ

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

อัญชลี ตัณฑ์ศุภศิริ, ภ.บ., M.S.(Micro.)

กานดา วัฒโนภาส, พ.บ., M.Sc. Hyg.

มาลัย วรจิตร, วท.บ.(เทคนิคการแพทย์), วท.ม.(พยาธิวิทยาคลินิค)

ดิริพร ยงพานิชกุล, วท.บ.(สถิติ), วท.ม.(ชีวสถิติ)

วันที่สำเร็จการศึกษา 1 พฤษภาคม พ.ศ.2532

บทคัดย่อ

การศึกษาวิธีการทางอิมมิวโนวิทยาสองวิธีการคือ วิธีการจับกลุ่มร่วมและอิมมูนเรืองแสงเพื่อพิสูจน์เชื้อแบคเทรอยดีส ฟราจิลิส ซึ่งเป็นเชื้อแอนแอโรบส์ที่ก่อให้เกิดโรคที่มีความรุนแรงมากชนิดหนึ่ง โดยเชื้อสายพันธุ์ต่างๆแยกได้จากสิ่งส่งตรวจผู้ป่วยและพิสูจน์โดยวิธีทั้งสองอย่างรวดเร็วด้วยแอนติซีรั่มต่อตัวเชื้อแบคเทรอยดีส ฟราจิลิส สายพันธุ์ ATCC 23745 ที่มีชีวิต ผลที่ได้นำมาเปรียบเทียบกับการพิสูจน์ด้วยวิธีมาตรฐานโดยการใช้ปฏิกิริยาทางชีวเคมี พบว่าเชื้อแบคเทรอยดีส ฟราจิลิส จำนวน 111 สายพันธุ์ ให้ค่าบวกที่เป็นจริงจำนวน 103 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบโดยวิธีการจับกลุ่มร่วม และให้ค่าบวกที่เป็นจริงทั้งหมดเมื่อทดสอบโดยวิธีอิมมูนเรืองแสง เท่ากับมีความไวของการทดสอบร้อยละ 92.8 และ 100 ตามลำดับ นับว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01 ส่วนความจำเพาะร้อยละ 97.4 และ 95.7 และประสิทธิภาพร้อยละ 95.2 และ 97.8 ตามลำดับ โดยความจำเพาะและประสิทธิภาพของทั้งสอง มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01 มีปฏิกิริยาข้ามกลุ่มเกิดขึ้นซึ่งพบว่าเป็นเชื้อแบคเทรอยดีส ดีสต้าโซนีสเท่านั้น จำนวน 3 สายพันธุ์ (ร้อยละ 2.6) สำหรับวิธีการจับกลุ่มร่วม และจำนวน 5 สายพันธุ์ (ร้อยละ 4.3) สำหรับวิธีอิมมูนเรืองแสง จากจำนวนทั้งสิ้น 116 สายพันธุ์ ที่เป็นแอนแอโรบส์ และฟาคัลเททีฟแอนแอโรบส์ แกรมลบอื่นๆ แสดงให้เห็นว่าวิธีอิมมูนเรืองแสงเป็นวิธีที่เหมาะสำหรับพิสูจน์เชื้อแบคเทรอยดีส ฟราจิลิส ได้อย่างรวดเร็ว อย่างไรก็ตามวิธีการจับกลุ่มร่วมก็สามารถช่วยในการพิสูจน์

Copyright by Mahidol University

เชื้อสปีชีส์นี้ได้เช่นกัน ซึ่งเหมาะอย่างยิ่งสำหรับห้องปฏิบัติการขนาดเล็กที่ไม่มีกล้องฟลูออเรสเซ็นต์ซึ่งมีราคาแพง เนื่องจากเป็นวิธีการที่ง่าย สะดวก ประหยัด และให้ผลรวดเร็วกว่าวิธีอิมมูนเรืองแสงเป็นอย่างมาก

สำหรับการศึกษาความไวของเชื้อแบคเทรอยดีส ฟราจิลิส จำนวน 109 สายพันธุ์ โดยวิธี Standard agar dilution ต่อยาปฏิชีวนะในกลุ่มเบต้า-แล็คแทมส์ ซึ่งประกอบด้วยอิมิพีเนม, เซฟอกซิทิน, เซฟอกทาซิม, ม็อกซ่าแล็คแทม, อ็อกเมนทิน และเพ็นนิซิลลิน จี และยากลุ่มอื่นที่ไม่ใช่เบต้า-แล็คแทมส์ได้แก่ คลินดามัยซินและเมโทรนิดาโซล พบว่าที่ระดับความไวเต็มที่ ที่กำหนดไว้โดย The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) เชื้อแบคเทรอยดีส ฟราจิลิสไวต่ออิมิพีเนม, เมโทรนิดาโซล, อ็อกเมนทิน, ม็อกซ่าแล็คแทม, เซฟอกซิทิน, เซฟอกทาซิม, คลินดามัยซิน และ เพ็นนิซิลลิน จี เท่ากับร้อยละ 100,98,97,95,80,76, 50 และ 0 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มเบต้า-แล็คแทมส์ เชื้อนี้ไวต่ออิมิพีเนมมากกว่าเซฟอกซิทิน, เซฟอกทาซิม และเพ็นนิซิลลิน จี อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01 แต่เชื้อนี้ไวต่ออิมิพีเนมมากกว่าม็อกซ่าแล็คแทมและอ็อกเมนทิน อย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01 สำหรับพวกซีเฟมส์ด้วยกัน เชื้อนี้ไวต่อม็อกซ่าแล็คแทม และเซฟอกทาซิม (เซฟาโลสปอรินส์รุ่นที่ 3) แตกต่างจากเซฟอกซิทิน (เซฟาโลสปอรินส์รุ่นที่ 2) อย่างไม่มีนัยสำคัญ และในพวกพีแนมส์ด้วยกัน เชื้อนี้ไวต่ออ็อกเมนทินมากกว่าเพ็นนิซิลลิน จี อย่างมีนัยสำคัญ สำหรับกลุ่มอื่นที่ไม่ใช่เบต้า-แล็คแทมส์ เชื้อนี้ไวต่อเมโทรนิดาโซลมากกว่าคลินดามัยซิน อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกลุ่มเบต้า-แล็คแทมส์กับกลุ่มอื่นที่ไม่ใช่เบต้า-แล็คแทมส์นั้น เชื้อนี้ไวต่ออิมิพีเนมมากกว่าคลินดามัยซิน อย่างมีนัยสำคัญ แต่ความไวของเชื้อต่อเมโทรนิดาโซลแตกต่างจากอิมิพีเนมอย่างไม่มีนัยสำคัญ สรุปได้ว่าอิมิพีเนมให้ผลความไวดีที่สุด ส่วนคลินดามัยซินให้ผลความไวน้อยที่สุด และเชื้อแบคเทรอยดีส ฟราจิลิส ทั้งหมดดื้อต่อยาเพ็นนิซิลลิน จี ในขนาดที่ใช้รักษา และประมาณร้อยละ 95 ของเชื้อจำนวน 109 สายพันธุ์ ผลิตเอ็นไซม์เบต้า-แล็คทาเมส จึงเห็นได้ชัดว่าการรักษาโรคติดเชื้อแบคเทรอยดีส ฟราจิลิส ด้วยยาปฏิชีวนะในกลุ่มเบต้า-แล็คแทมส์ในปัจจุบันนี้ มีแนวโน้มว่าจะต้องเลือกใช้ยาที่ทนต่อเอ็นไซม์เบต้า-แล็คทาเมส มากยิ่งขึ้น

Copyright by Mahidol University

Thesis Title COMPARISON OF IMMUNOFLUORESCENCE AND COAGGLUTINATION TESTS FOR THE RAPID IDENTIFICATION OF BACTEROIDES FRAGILIS AND THE STUDY OF ITS ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY PATTERNS

Name Supunnee Thrakul

Degree Master of Science in Public Health (Infectious Diseases)

Thesis Supervisory Committee

Unchalee Tansuphasiri, B.Sc.(Pharm.), M.S.(Micro.)

Kanda Vathanophas, M.D., M.Sc. Hyg.

Malai Vorachit, B.Sc.(Med. Tech.), M.S.(Clin. Patho.)

Siriporn Yongpanichkul, B.Sc.(Stat.), M.S.(Biostat.)

Date of Graduation 1 May B.E.2532 (1989)

ABSTRACT

Bacteroides fragilis, one of the highly virulent pathogenic anaerobic bacteria, were rapidly identified by two immunological methods including coagglutination (COA) and indirect fluorescent antibody (IFA) by using antiserum raised against whole live B. fragilis ATCC 23745. The findings were compared with those of the conventional anaerobic bacteriological tests. Of 111 proven strains of B. fragilis

Copyright by Mahidol University

by biochemical profiles, 103 strains were identified by the COA test and all strains were identified by the IFA test, with a sensitivity of 92.8 and 100 per cent, respectively. The differences were statistically significant (P=0.0020). The specificity was 97.4 per cent for the COA test and 95.7 per cent for the IFA test. The efficiency was 95.2 per cent for the COA test and 97.8 per cent for the IFA test. These differences of the latter both tests were not statistically significant (P=0.2358 and 0.0630, respectively). Cross-reactions were 3 strains (2.6 per cent) for the COA test and 5 strains (4.3 per cent) for the IFA test of 116 strains of other gram-negative anaerobes and facultative anaerobes other than B. fragilis, which all belonged to B. distasonis. The results showed that the IFA is an excellent method for identifying strains of B. fragilis and the COA may be valuable test for the adjunction in mostly small laboratories without the requirement of costly special equipments.

In addition, the susceptibilities of 109 B. fragilis strains were determined by the standard agar dilution method against beta-lactam antibiotics including imipenem, cefoxitin, cefotaxime, moxalactam, augmentin and penicillin G and non beta-lactams including clindamycin and metronidazole. At the fully susceptible levels indicated by the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), B.

Copyright by Mahidol University

fragilis were susceptible to imipenem, metronidazole, augmentin, moxalactam, cefoxitin, cefotaxime, clindamycin, and penicillin G with 100,98,97,95,80,76,50, and 0 per cent, respectively. For all beta-lactams studied, B. fragilis were more susceptible to imipenem than cefoxitin, cefotaxime and penicillin G, these were statistically significant ($P<0.0010$). However, when imipenem was compared with moxalactam and augmentin, these differences were not statistically significant ($P=0.0119$ and 0.0401, respectively).

In cephem group together, when moxalactam and cefotaxime (third generation cephalosporins) were compared with cefoxitin (second generation cephalosporins), the differences of the susceptibilities of B. fragilis were not statistically significant ($P=0.0107$ and 0.2877, respectively). In penam group together, B. fragilis were more susceptible to augmentin than penicillin G, these were statistically significant ($P<0.0010$). For non beta-lactams studied, B. fragilis were more susceptible to metronidazole than clindamycin, these were statistically significant ($P<0.0010$).

When imipenem was compared with clindamycin (non beta-lactam), the differences of their susceptibility were statistically significant ($P<0.0010$) but for metronidazole, the differences were not statistically significant from that of imipenem ($P=0.0778$). These data showed that imipenem was the most effective agent overall tested, whereas clinda

Copyright by Mahidol University

mycin was the least effective agent, and all strains of B. fragilis tested were resistant to penicillin G. About 95 per cent of 109 B. fragilis strains produced beta-lactamase, suggesting a need for the antimicrobial agent which is very potent against most beta-lactamase producing strains.

Copyright by Mahidol University