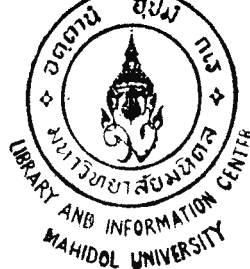


16 JAN 2003



**MULTIPLE DISK DIFFUSION TESTING FOR
DETERMINATION OF PENICILLIN-
AND CEFOTAXIME-RESISTANT
*STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE***

SIRINTORN TENGAMNUAY
๒

**With compliments
of**

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล
.....

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE (CLINICAL PATHOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2002

ISBN 974-04-2514-3

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

TH

S619mv

2002

C.2

Copyright by Mahidol University

**4236351 RACP/M: MAJOR: CLINICAL PATHOLOGY;
M.Sc. (CLINICAL PATHOLOGY)**

**KEY WORDS : PENICILLIN RESISTANT/CEFOTAXIME RESISTANT/
S. PNEUMONIAE/ MULTIPLE DISK DIFFUSION**

**SIRINTORN TENGAMNUAY: MULTIPLE DISK DIFFUSION
TESTING FOR DETERMINATION OF PENICILLIN- AND CEFOTAXIME-
RESISTANT *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*. THESIS ADVISORS:
MALAI VORACHIT, D.Sc., CHATCHAI SORNCHAI, M.D. 139 p. ISBN 974-
04-2514-3**

Penicillin, cefotaxime or ceftriaxone are used to treat invasive infections with *S. pneumoniae*. Therefore, rapid susceptibility test results of these antimicrobial agents are important for *S. pneumoniae* infections. The prevalence of penicillin- and cefotaxime- or ceftriaxone-resistant *S. pneumoniae* is increasing worldwide. However using a 1 mcg. oxacillin disk for determination of penicillin susceptibility, as recommended by NCCLS, cannot separate penicillin-resistant from penicillin-intermediate-susceptible *S. pneumoniae*. Moreover, cefotaxime or ceftriaxone disks are not reliable for the detection of cefotaxime- or ceftriaxone-resistant *S. pneumoniae*.

Therefore, the aim of this study was to standardize multiple disks for screening penicillin-resistant *S. pneumoniae* and cefotaxime- or ceftriaxone-resistant isolates. For screening penicillin-resistant *S. pneumoniae*: penicillin (10 units), oxacillin (1 mcg.), methicillin (5 mcg.), and ampicillin (10 mcg.) were used. For screening cefotaxime- or ceftriaxone-resistant *S. pneumoniae*, penicillin (10 units), oxacillin (1 mcg.), methicillin (5 mcg.), ampicillin (10 mcg.), ceftizoxime (30 mcg.), and cefuroxime (30 mcg.) were used. In addition, we determined the prevalence of penicillin- and cefotaxime-resistant *S. pneumoniae*.

One hundred and sixty-four *S. pneumoniae* were isolated from the Clinical Microbiology Laboratory, Ramathibodi Hospital, during the period September, 2000 through December, 2001. The organisms were isolated from the respiratory tract (78.7%), blood (10.4%), eye-ear (4.3%), skin and soft tissue (3%), CSF (2.4%), and genital tract (1.2%).

All isolates were determined for penicillin and cefotaxime MICs by microdilution method. Disk diffusion was tested at the same time. The data were analyzed according to the NCCLS (M23-A2). The combination of oxacillin and ampicillin disks is proposed for the determination of penicillin susceptibility. The proposed inhibition zone diameters for susceptibility was ≥ 53 mm., intermediate-susceptible was 31-52 mm., and ≤ 30 mm. for resistant with 11.6% minor discrepancy rates. There was no combination or any single disk appropriate for the determination of cefotaxime susceptibility. However, we found that all penicillin-susceptible *S. pneumoniae* and 77.8% of penicillin-intermediate-susceptible isolates were susceptible to cefotaxime. Only 3.1% of penicillin-resistant isolates were susceptible to cefotaxime. The prevalence of penicillin-resistant *S. pneumoniae* was 59.1% and cefotaxime-resistant 34.2%.

4236351 RACP/M: สาขาวิชา: พยาธิวิทยาคลินิก; วท.ม. (พยาธิวิทยาคลินิก)

สิรินทร เต็งอำนวย: การตรวจหาเชื้อ *Streptococcus pneumoniae*

ที่ดื้อยาเพนิซิลลิน และเซฟโทรแทซิม โดยวิธี multiple disk diffusion (MULTIPLE DISK DIFFUSION TESTING FOR DETERMINATION OF PENICILLIN AND CEFOTAXIME-RESISTANT *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*). คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์:

มาลัย วรจิตร, D.Sc., จักรชัย ศรีไชย, M.D. 139 หน้า ISBN 974-04-2514-3

เพนิซิลลินและเซฟโทรแทซิมเป็นยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษาการติดเชื้อ *S. pneumoniae* ในเยื่อหุ้มสมอง และในกระแสโลหิต ดังนั้นการรายงานแผนความไวของเชื้อ *S. pneumoniae* ต่อเพนิซิลลิน และเซฟโทรแทซิมด้วยความรวดเร็ว จึงมีความสำคัญ ปัจจุบันพบมีการดื้อเพนิซิลลิน และเซฟโทรแทซิม หรือเซฟโทรแทซิมเพิ่มมากขึ้นทั่วโลก อย่างไรก็ตามการคัดกรองการดื้อเพนิซิลลินโดยใช้แผ่นยาออกซาซิลลิน (1 ไมโครแกรม) โดยวิธีมาตรฐานของ NCCLS ไม่สามารถแยกเชื้อ *S. pneumoniae* ที่ดื้อเพนิซิลลิน ออกจากเชื้อที่ไวแบบ intermediate ได้ นอกจากนี้ในการตรวจหาการดื้อของเชื้อ *S. pneumoniae* ต่อเซฟโทรแทซิม หรือเซฟโทรแทซิม โดยใช้แผ่นยาเซฟโทรแทซิม หรือเซฟโทรแทซิม ให้การแปลผลการทดสอบที่ผิดพลาดสูง

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อหามาตรฐานในการคัดกรองการดื้อยาของเชื้อ *S. pneumoniae* ต่อเพนิซิลลิน และเซฟโทรแทซิม หรือเซฟโทรแทซิม โดยใช้แผ่นยาหลายชนิด ในการคัดกรองเชื้อ *S. pneumoniae* ที่ดื้อเพนิซิลลิน จะใช้เพนิซิลลิน (10 ยูนิต), ออกซาซิลลิน (5 ไมโครแกรม), เมททิซิลลิน (5 ไมโครแกรม) และแอมพิซิลลิน (10 ไมโครแกรม) ส่วนแผ่นยาที่ใช้คัดกรองการดื้อ *S. pneumoniae* ต่อเซฟโทรแทซิม คือ เพนิซิลลิน (10 ยูนิต), ออกซาซิลลิน (5 ไมโครแกรม), เมททิซิลลิน (5 ไมโครแกรม), แอมพิซิลลิน (10 ไมโครแกรม), เซฟโทรแทซิม (30 ไมโครแกรม) และเซฟพอรอกซิม (30 ไมโครแกรม) นอกจากนี้ การศึกษาครั้งนี้เพื่อหาความชุกของการดื้อยาของเชื้อ *S. pneumoniae* ต่อเพนิซิลลิน และเซฟโทรแทซิม

เชื้อ *S. pneumoniae* ที่นำมาทดสอบจำนวน 164 สายพันธุ์ แยกเชื้อได้จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา รพ.รามาริบัติ ตั้งแต่เดือนกันยายน พ.ศ.2543 ถึงเดือนธันวาคม 2544 เชื้อที่นำมาทดสอบแยกเชื้อได้จากทางเดินหายใจ (78.7%), เลือด (10.4%), ตา-หู (4.3%), ผิวหนังและเนื้อเยื่ออ่อน (3%), น้ำไขสันหลัง (2.4%) และทางเดินสืบพันธุ์ (1.2%) เชื้อทุกสายพันธุ์ทำการทดสอบ MICs ต่อยาเพนิซิลลิน และเซฟโทรแทซิม ด้วยวิธี MIC microdilution ควบคู่กับการทำ disk diffusion วิเคราะห์ข้อมูลตามวิธีมาตรฐานของ NCCLS (M23-A2)

ผลการศึกษาเสนอให้ใช้ผลรวม inhibition zone diameters ของออกซาซิลลิน และแอมพิซิลลิน ในการหาแผนความไวของเพนิซิลลิน ได้เสนอให้ inhibition zone diameters ≥ 53 มม. แปลผลว่า susceptible, 31 ถึง 52 มม. แปลผลว่า intermediate-susceptible และ ≤ 30 มม. แปลผลว่า resistant โดยมีค่าความผิดพลาดในการแปลผล 11.6% และพบว่าไม่สามารถหาแผนความไวของเซฟโทรแทซิมจากแผ่นยาเดี่ยว หรือ ผลรวมของ inhibition zone diameters ของแผ่นยา อย่างไรก็ตาม พบว่าเชื้อ *S. pneumoniae* ทุกสายพันธุ์ที่ไว และ 77.8% ที่ให้ผลไวปานกลางต่อเพนิซิลลิน ให้ผลไวต่อเซฟโทรแทซิม และ 3.1% ของสายพันธุ์ที่ดื้อต่อเพนิซิลลินให้ผลไวต่อเซฟโทรแทซิม ความชุกของการดื้อยาเพนิซิลลิน เท่ากับ 59.1% และเซฟโทรแทซิมเท่ากับ 34.2%