

Thesis Title	Typing of Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> Isolated from Patients in Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital by Pulsed-field Gel Electrophoresis, Antibiogram and Protein A Gene Polymorphism		
Author	Mrs. Vena Chupia		
Degree	Master of Science (Microbiology)		
Thesis Advisory Committee	Assoc. Prof. Prasit Tharavichitkul	Chairperson	
	Dr. Anusorn Boonthum	Member	

Abstract

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is an important cause of hospital-acquired infection and there have been sporadic outbreaks in many hospitals worldwide, including Thailand. The purpose of this study was to investigate the epidemiology of MRSA isolated from patients and health care workers in the internal medicine ward, Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital between 1 July and 30 September 2003 by using pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), which is the gold standard of MRSA typing. The result obtained from this typing was compared with those obtained by antibiogram, protein A gene polymorphism, coagulase typing and enterotoxin typing.

A total of seventy-four isolates of MRSA were included in this study. They comprised 17 infection-related isolates (clinical MRSA) and 57 isolates designated colonized MRSA and contaminated MRSA. Of the 57 isolates, 36 were collected from either anterior nares (colonized MRSA) or index fingers (contaminated MRSA) of MRSA infected patients, 17 were isolated from other patients who admitted in the

same room as MRSA patients and the rest were isolates recovered from anterior nares of health care workers who worked in the patient room.

PFGE analysis of macrorestriction patterns with *Sma*I digested genomic DNA revealed that all MRSA isolates belonged to group A, which consisted of 11 subgroups; A1 to A4 and A6 to A12. Subgroup A1 was the most prevalence (29 of the 74 isolates; 39.2%), followed by subgroup A4 (14 isolates; 18.9%). By antibiogram typing, they were classified into 10 groups, most of them were in An7 (32 isolates; 43.2%), followed by An6 (12 isolates; 16.2%). Typing by protein A gene polymorphism and enterotoxin typing could classify them into 2 groups. On the basis of coagulase typing, all MRSA isolates produced type IV coagulase. Due to the high discrimination power of antibiogram typing, only the result of antibiogram pattern was further analysis for association with PFGE typing.

When 57 colonized/contaminated MRSA were evaluated for the same PFGE and antibiogram patterns with 17 clinical MRSA, in accordance with the same patient room, 33 (57.9%) and 32 (56.1%) showed the same pattern with clinical MRSA, respectively. Most of them, 28 of 33 isolates (84.9%) and 29 of 32 isolates (90.6%) were collected from MRSA patients. Only 5 of the 33 isolates (15.2%) collected from other patients showed the same PFGE pattern and 3 of the 32 isolates (9.4%) presented the same antibiogram pattern with clinical MRSA. Notably, 16 from the 28 isolates (57.1%) and 18 from the 29 isolates (62.1%) were collected from anterior nares of MRSA infected patients. This suggests that MRSA colonized in the anterior nares of infected patients serve as an important reservoir for spreading to others in the hospital.

Comparison of 36 colonized/contaminated MRSA with clinical MRSA isolated from the same patient found that antibiogram and PFGE typing gave concordant result in 69.4%. Analysis by the Chi-square test showed no difference between them ($p < 0.01$). As a result, antibiogram should be used as screening test for determining the relatedness of MRSA isolates involved in nosocomial outbreaks.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การจำแนกชนิดของเชื้อสแตปฟีโลคอคคัสออเรียสที่ดื้อต่อ
ยามเมทิซิลินที่แยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาลมหาราชนคร
เชียงใหม่ โดยวิธีพัลส์ฟิลด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส แอนติไบ
โอแกรม และ โปรตีนเออินพอลิเมอร์พีซิม

ผู้เขียน

นางวีณา จูเปีย

ปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (จุลชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ. ประสิทธิ์ ธรวิจิตรกุล ประธานกรรมการ
ดร. อนุสรณ์ บุญธรรม กรรมการ

บทคัดย่อ

Staphylococcus aureus ที่ดื้อยามเมทิซิลิน (MRSA) เป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อที่เกิดในโรง
พยาบาล และก่อให้เกิดการระบาดในโรงพยาบาลต่างๆ ทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทย วัตถุประสงค์ของ
การศึกษานี้เพื่อสืบค้นระบาดวิทยาของเชื้อ MRSA ที่แยกได้จากผู้ป่วยและบุคลากรในหอผู้ป่วยอายุร
กรรม โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ ระหว่างวันที่ 1 กรกฎาคม ถึง 30 กันยายน 2546 โดยใช้วิธี
พัลส์ฟิลด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (PFGE) ซึ่งเป็นวิธี gold standard ที่ใช้ในการจำแนกเชื้อ MRSA ผล
การจำแนกโดยวิธี PFGE ได้นำไปเปรียบเทียบกับผลการจำแนกโดยใช้รูปแบบการคือยาของเชื้อ
(antibiogram) โปรตีนเออินส์โพลิเมอร์พีซิม ชนิดของ enterotoxin และ coagulase ที่เชื้อสร้าง

การศึกษาค้นครั้งนี้ใช้เชื้อ MRSA จำนวน 74 ไอโซเลต ประกอบด้วย 17 ไอโซเลตที่แยกได้จาก
ตำแหน่งที่มีการติดเชื้อ MRSA (clinical MRSA) และ 57 ไอโซเลตเป็นเชื้อที่สร้างนิคม หรือปนเปื้อน
ในจำนวน 57 ไอโซเลต, 36 ไอโซเลตแยกได้จากโพรงจมูกส่วนหน้า (colonized MRSA) หรือจากนิ้วชี้
(contaminated MRSA) ของผู้ป่วยติดเชื้อ MRSA, 17 ไอโซเลตแยกได้จากผู้ป่วยอื่นที่พักในห้องเดียว
กันกับผู้ป่วยติดเชื้อ MRSA และที่เหลือแยกได้จากโพรงจมูกส่วนหน้าของบุคลากรที่ทำงานอยู่ในห้อง
ผู้ป่วยนั้น

การจำแนกเชื้อโดยวิธี PFGE โดยใช้รูปแบบ DNA ของเชื้อเมื่อถูกตัดด้วยเอนไซม์ *SmaI* พบว่าเชื้อทั้งหมดจัดอยู่ในกลุ่ม A ซึ่งประกอบด้วย 11 กลุ่มย่อย ได้แก่ A1 ถึง A4 และ A6 ถึง A12 เชื้อส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มย่อย A1 (29 จาก 74 ไอโซเลต หรือร้อยละ 39.2) รองลงมาคือกลุ่มย่อย A4 (14 ไอโซเลต หรือร้อยละ 18.9) จากการจำแนกโดยใช้รูปแบบ antibiogram พบว่าสามารถจำแนกเชื้อได้ 10 กลุ่ม เชื้อส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม An7 (32 ไอโซเลต หรือ 43.2%) รองลงมาคือกลุ่ม An6 (12 ไอโซเลต หรือร้อยละ 16.2) วิธีโปรตีนเอียนส์โพลีเมอร์ฟิซิม และการตรวจหาชนิดของ enterotoxin ที่เชื้อสร้าง สามารถจำแนกเชื้อได้เป็น 2 กลุ่ม การตรวจหาชนิดของ coagulase ที่เชื้อสร้าง พบว่า MRSA ทุกไอโซเลตสร้าง type IV coagulase เนื่องจากการจำแนกโดยใช้รูปแบบการคื้อยาของเชื้อมีความสามารถในการจำแนกสูง จึงนำวิธีนี้ไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์กับการจำแนกโดยวิธี PFGE

เมื่อเปรียบเทียบ colonized/contaminated MRSA ทั้ง 57 ไอโซเลตกับ clinical MRSA จำนวน 17 ไอโซเลตที่แยกได้จากผู้ป่วยที่พักรักษาในหอเดียวกัน พบว่า 33 ไอโซเลต (ร้อยละ 57.9) และ 32 ไอโซเลต (ร้อยละ 56.1) มีรูปแบบเหมือนกับ clinical MRSA เมื่อจำแนกเชื้อ โดยวิธี PFGE และ antibiogram ตามลำดับ เชื้อส่วนใหญ่ หรือ 28 จาก 33 ไอโซเลต หรือร้อยละ 84.9 และ 29 จาก 32 ไอโซเลต หรือร้อยละ 60.9 แยกได้จากผู้ป่วยติดเชื้อ MRSA มีเพียงมีเพียง 5 จาก 33 ไอโซเลต (ร้อยละ 15.2) แยกได้จากผู้ป่วยอื่นที่พักรักษาในหอเดียวกันมีรูปแบบ PFGE ที่เหมือนกับ clinical MRSA และ 3 จาก 32 ไอโซเลต (ร้อยละ 9.4) ที่มีรูปแบบ antibiogram เหมือนกับ clinical MRSA ที่สำคัญคือเชื้อ 16 จาก 28 ไอโซเลต (ร้อยละ 57.1) เมื่อจำแนกด้วยวิธี PFGE และ 18 จาก 29 ไอโซเลต (ร้อยละ 62.1) เมื่อจำแนกด้วยวิธี antibiogram แยกเชื้อได้จากโพรงจุกส่วนหน้าแสดงให้เห็นว่า MRSA ที่โพรงจุกส่วนหน้าของผู้ป่วยติดเชื้อ MRSA เป็นแหล่งสะสมเชื้อที่สำคัญในการแพร่เชื้อไปสู่บุคคลอื่นในโรงพยาบาล

เมื่อเปรียบเทียบ colonized/contaminated MRSA ทั้ง 36 ไอโซเลตกับ clinical MRSA ที่แยกได้จากผู้ป่วยติดเชื้อ MRSA คนเดียวกัน พบว่าการจำแนกโดยใช้รูปแบบ antibiogram ของเชื้อกับวิธี PFGE ให้ผลที่สอดคล้องกันร้อยละ 69.4 การทดสอบไคสแควร์พบว่าทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกัน ($p < 0.01$) ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการจำแนกเชื้อโดยวิธี antibiogram น่าจะเป็นวิธีที่ดีในการคัดกรองเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อที่เกี่ยวข้องกับการแพร่กระจายของเชื้อในโรงพยาบาล