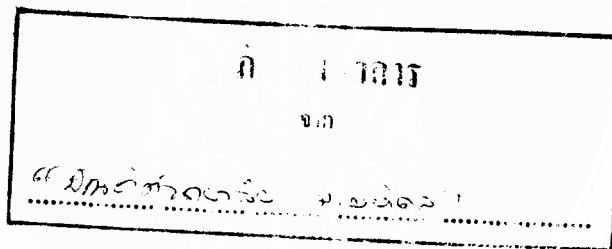


118 APR 1995

ANTIBIOGRAM AND PLASMID DNA ANALYSIS TO CHARACTERIZE
STAPHYLOCOCCUS AUREUS STRAINS

PRISANA SUWANPARADORN



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

IN
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY

1995

ชื่อวิทยานิพนธ์ การนำแบบแผนความไวต่อยาต้านจุลชีพ และการตรวจวิเคราะห์พลาสมิดในการศึกษาคุณสมบัติของเชื้อสแตฟีโลคอคคัส แอเรียสสายพันธุ์ต่างๆ

ผู้วิจัย ปรีศนา สุวรรณภาคร

ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (สาธารณสุขศาสตร์)

สาขาวิชาเอกโรคติดเชื้อ

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

อัญชลี ตันท์ศุภศิริ, M.Sc.(Micro.)

ฉวีวรรณ บุญสุยา, M.S.P.H.(Bios.)

วันที่สำเร็จการศึกษา 24 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2538

บทคัดย่อ

การนำแบบแผนความไวต่อยาต้านจุลชีพ และการตรวจวิเคราะห์พลาสมิดมาใช้ศึกษาคุณสมบัติของเชื้อ สแตฟีโลคอคคัส แอเรียส 231 สายพันธุ์ ซึ่งประกอบด้วยสายพันธุ์ที่ไวต่อยาเมทิซิลลิน (MSSA) และสายพันธุ์ที่คือต่อยาเมทิซิลลิน (MRSA) อันเป็นเชื้อที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจต่างๆ ของผู้ป่วยจากโรงพยาบาล 8 แห่ง และจากตัวอย่างน้ำทิ้งในสิ่งแวดล้อม ในช่วงเดือนกรกฎาคม-สิงหาคม พ.ศ. 2536

จากการศึกษาแบบแผนความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ 8 ชนิด ด้วยวิธี agar disc diffusion เชื้อทุกสายพันธุ์ไวต่อยาแวนโคมัยซิน มากกว่าร้อยละ 90 คือยาเพนิซิลลิน ร้อยละ 56.7 คือยาเตตราไซคลิน และร้อยละ 27-34 คือต่อยาตัวอื่นๆ เชื้อมีจำนวนการกระจายอยู่ในช่วง 0-7 ชนิด (เฉลี่ย 2.98 ± 2.52 ชนิดต่อสายพันธุ์) สายพันธุ์ที่พบบ่อยคือสายพันธุ์ที่คือยา 1 ชนิด ส่วนสายพันธุ์ที่ไม่คือยาเลยพบร้อยละ 6.1 เชื้อทั้งหมดเห็นแบบแผนความไว 16 รูปแบบ และให้รูปแบบพลาสมิดที่แตกต่างกัน 127 รูปแบบ ซึ่งเมื่อย่อยพลาสมิดด้วยเอนไซม์ *EcoRI* จะได้เพิ่มขึ้นเป็น 188 รูปแบบ การกระจายของพลาสมิดพบในช่วง 0-9 อัน (เฉลี่ย 4.0 ± 1.9 อันต่อสายพันธุ์) และร้อยละ 3.5 ตรวจไม่พบพลาสมิด การตรวจวิเคราะห์พลาสมิดเป็นการตรวจทางอ้อมที่นอกจากจะมีความจำเพาะกว่าการตรวจแบบแผนความไวซึ่งแสดงลักษณะการคือยาแล้ว ยังมีอำนาจการจำแนกสายพันธุ์ได้มากกว่าอีกด้วย ด้วยความหลากหลายของเชื้อที่นำ

มาศึกษา จึงพบว่ารูปแบบของพลาสมิดมีมากมายจนไม่สามารถบอกได้ว่ามีความสัมพันธ์กับแบบแผนความไวหรือไม่

เมื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติของเชื้อที่จำแนกเป็น 2 กลุ่ม ระหว่าง MRSA 63 สายพันธุ์ และ MSSA 168 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อทั้ง 2 กลุ่มไวต่อยาแวนโคมัยซิน นอกนั้นเชื้อ MRSA มีอัตราการดื้อยาสูงต่อยาทุกตัว (มากกว่าร้อยละ 95) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ MSSA ที่ร้อยละ 90.5 คือยาเพนิซิลลิน ร้อยละ 42.9 คือยาเตตราไซคลิน และร้อยละ 1-5 คือยาตัวอื่นๆ จำนวนการดื้อยาของ MRSA กระจายอยู่ในช่วง 4-7 ชนิด (เฉลี่ย 6.9 ± 0.6 ชนิดต่อสายพันธุ์) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ MSSA ที่ดื้อยาในช่วง 0-5 ชนิด (เฉลี่ย 1.5 ± 0.9 ชนิดต่อสายพันธุ์) MRSA ให้แบบแผนความไว 4 รูปแบบ ขณะที่ MSSA พบ 12 รูปแบบ รูปแบบที่พบบ่อยของเชื้อ MRSA คือการดื้อยาเกือบทุกตัวยกเว้นแวนโคมัยซิน ขณะที่เชื้อ MSSA เป็นรูปแบบที่ดื้อยา 1-2 ชนิด เชื้อ MRSA ทุกสายพันธุ์ผลิตเอ็นไซม์เบต้าแลคแทมเมส ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ MSSA ที่ผลิตสารนี้เพียงร้อยละ 90 การตรวจวิเคราะห์พลาสมิดพบว่ามากกว่าร้อยละ 95 ของเชื้อทั้ง 2 กลุ่มตรวจพบพลาสมิด โดยพบสายพันธุ์ที่มีพลาสมิด 4 อันมากที่สุดกันทั้ง 2 กลุ่ม แต่การกระจายของพลาสมิดทั้ง 2 กลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ค่าเฉลี่ย MRSA 4.0 ± 2.0 อันต่อสายพันธุ์ และ MSSA 3.4 ± 1.4 อันต่อสายพันธุ์) MRSA ให้รูปแบบของพลาสมิด 22 รูปแบบ ในขณะที่ MSSA ให้มากถึง 112 รูปแบบ ซึ่งเมื่อย่อยพลาสมิดด้วยเอ็นไซม์ *EcoRI* ได้รูปแบบพลาสมิดของ MRSA เพิ่มเป็น 37 รูปแบบและของ MSSA เป็น 151 รูปแบบ

จากการศึกษาอาจสรุปได้ว่า การตรวจวิเคราะห์พลาสมิดของเชื้อ สแตฟีโลคอคคัส แอเรียส ช่วยเพิ่มอำนาจการจำแนกสายพันธุ์จากการใช้วิธีดั้งเดิมคือ แบบแผนความไวเพียงอย่างเดียว ทำให้สะดวก รวดเร็ว มีความคงตัว และให้ผลการตรวจเหมือนเดิม ซึ่งเพียงพอที่จะนำมาใช้ในการศึกษาทางระบาดวิทยาต่อไป

plasmid DNA analysis was more specific and powerful to discriminate *S.aureus* strains than resistance patterns (antibiograms). However, it could not determine whether these plasmid patterns were related to resistance patterns or not, because of wide variety of *S.aureus* strains in this study.

When *S.aureus* isolates were divided into 2 groups of 63 MRSA and 168 MSSA. All were susceptible to vancomycin. The MRSA were highly (>95%) resistant to all antibiotics that were significantly different from MSSA which 90.5% of isolates were resistant to penicillin, 42.9% to tetracycline and 1-5% to other drugs. Resistance determinant distributions of MRSA isolates were in the range 4-7 (\bar{X} 6.9, S.D. 0.6) that were significantly different from MSSA which in the range 0-5 (\bar{X} 1.5, S.D. 0.9). The MRSA isolates showed 4 different resistance patterns, while the MSSA showed 12 patterns. The most common patterns of MRSA were resistant to all antibiotics except vancomycin, while the MSSA were double or single drug resistance patterns. All MRSA produced beta-lactamase that were significantly different from MSSA which 90% of isolates produced this enzyme. More than 95% of both groups harboured plasmid and 4 plasmid harboured strains were commonly detected; however the plasmid distributions between MRSA and MSSA were significantly different. (MRSA, \bar{X} 4.2, S.D. 2.0; MSSA, \bar{X} 3.4, S.D. 1.4). Plasmid DNA patterns gave 22 different types in MRSA, and 112 types in MSSA; and increased to 37 patterns in MRSA and 151 patterns in MSSA after *EcoRI* digestion.

In summary, plasmid DNA analysis were more helpful to discriminate *S.aureus* strains than resistance patterns. This method was rapid, easy to perform, stable and reproducible to use for the epidemiological study.