

การศึกษาระบาดวิทยาของเชื้อ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) โดยวิธี  
Pulsed-Field Gel Electrophoresis ในหน่วยผู้ป่วยไขว้หวัด ที่โรงพยาบาลศิริราช

นางสาว นัฏฐพร รุจิขจร



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาดำเนินหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางการแพทย์


บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2541

ISBN 974-331-549-7

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF METHICILLIN-RESISTANT  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MRSA) BY PULSED-FIELD GEL  
ELECTROPHORESIS IN BURN UNIT AT SIRIRAJ HOSPITAL**



**Miss Nutthaporn Ruchikachorn**

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Medical Microbiology  
Inter-Department of Medical Microbiology**

**Graduate School  
Chulalongkorn University**

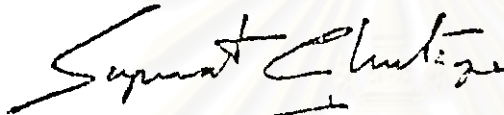
**Academic Year 1998**

**ISBN 974-331-549-7**

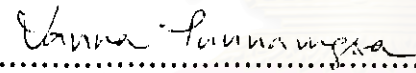
Thesis Title           Epidemiological study of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by Pulsed-field Gel Electrophoresis in Burn Unit at Siriraj Hospital  
By                       Miss Nutthaporn Ruchikachorn  
Inter-department      Medical microbiology  
Thesis Advisor        Associate Professor Dr. Pintip Pongpech , Ph.D.  
Co-Advisor            Assistant Professor Dr. Ariya Chindamporn , Ph.D.

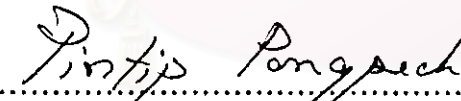
---


Accepted by the Graduate school, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree.

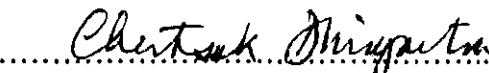
  
.....Dean of Graduate School  
( Professor    Supawat   Chutivongse, M.D.)

#### THESIS COMMITTEE

  
.....Chairman  
( Associate Professor    Vanna Punnaragsa, M.D.)

  
.....Thesis Advisor  
( Associate Professor Dr. Pintip Pongpech, Ph.D.)

  
.....Co-advisor  
( Assistant Professor Dr. Ariya Chindamporn, Ph.D.)

  
.....Member  
( Associate Professor    Chertsak Dhiraputra, M.D., M.Sc.)

นักรูพร จุจิขจร : การศึกษาระบาดของเชื้อ Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) โดยวิธี Pulsed-field Gel Electrophoresis ในหน่วยผู้ป่วยไฟลวกที่โรงพยาบาลศิริราช (EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MRSA) BY PULSED-FIELD GEL ELECTROPHORESIS IN BURN UNIT AT SIRIRAJ HOSPITAL) อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ.ดร. พิณทิพย์ พงษ์เพชร , อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.ดร. อริยา จินตามพร 124 หน้า ISBN 974-331-549-7

จากการศึกษาต่อเนื่องกันเป็นเวลา 32 สัปดาห์ ในหออภิบาลผู้ป่วยไฟลวกพบ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ในโพรงจมูก มือ และแผลของผู้ป่วยแผลไฟลวก 16 รายจากทั้งหมด 30 รายคิดเป็น 53.33% ในโพรงจมูกของบุคลากรทางการแพทย์ 54 ราย พบเชื้อ 8 ราย (14.81%) นอกจากนี้ยังแยกเชื้อ MRSA ได้จากอุปกรณ์ที่ใช้รักษาผู้ป่วยแต่ละราย ได้แก่ราวจับเตียง, เครื่องควบคุมการให้ของเหลวกับผู้ป่วย (enteral pump) และอ่างฟอกตัว ผลการศึกษาการติดเชื้อในหออภิบาลผู้ป่วยอุบัติเหตุ (Traumatic ICU) ซึ่งมีรายงานการพบเชื้อในช่วงเวลาการศึกษาพบเชื้อ MRSA ในผู้ป่วย 3 รายจาก 11 ราย (27.27%) ไม่พบเชื้อ MRSA ในบุคลากรทางการแพทย์ที่หน่วยนี้เลย

เชื้อ MRSA ที่แยกได้ทั้งหมดนี้มีแบบแผนความไวต่อยาต้านจุลชีพถึง 22 แบบ โดยมีแบบแผนที่พบมากที่สุด 2 แบบ คือแบบแผนที่ 17 และ 14 ส่วนการศึกษา pulsotype ด้วยวิธี PFGE สามารถที่จะจำแนกเชื้อ MRSA ทั้งหมดได้เป็น 5 แบบ คือ A, B, C, D และ E โดยพบว่าเชื้อส่วนใหญ่จะเป็นแบบแผน (pulsotype) B แบบแผน A, B และ E สามารถจำแนกย่อยออกเป็น subtype คือ A1, A2, A3, B1, B2, B3, B4, B5, B6 และ E1 ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง antibiogram กับ pulsotype จากการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพนั้นพบว่ายา vancomycin ยังคงใช้ได้ผลดีในการรักษาเนื่องจากเชื้อ MRSA มีความไวต่อยานี้ถึง 100%

การศึกษารังนี้พบว่าหออภิบาลผู้ป่วยไฟลวกยังคงเป็นแหล่งที่สำคัญของ MRSA ซึ่ง MRSA pulsotype B นั้นเป็นเชื้อที่มีการระบาดที่หออภิบาลนี้ ส่วนการติดต่อของ MRSA นั้นยังไม่สามารถบ่งชี้ได้อย่างชัดเจน ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าบุคลากรทางการแพทย์และอุปกรณ์ต่างๆไม่ใช่แหล่งที่สำคัญของเชื้อ การแพร่กระจายของเชื่อนี้อาจเกิดจากการสัมผัสโดยตรงของผู้ป่วยกับเชื้อที่ปนเปื้อนเป็นชั่วคราวที่มีของบุคลากรหรืออุปกรณ์การแพทย์

ส่วนยาที่นิยมใช้ในหออภิบาลผู้ป่วยไฟลวกนั้นคือยาที่เป็น 1<sup>st</sup> และ 2<sup>nd</sup> generation Cephalosporin ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม beta-lactam และพบว่าในผู้ป่วยที่พบเชื้อ MRSA นั้น 13 ใน 16 ราย (81.25%) เป็นผู้ที่ได้รับยาด้านจุลชีพมาก่อนพบเชื้อไม่ต่ำกว่า 3 วัน ส่วนผู้ป่วยที่ไม่พบเชื้อเพียง 4 รายใน 14 ราย (28.57%) ได้รับยาด้านจุลชีพติดต่อกันเกิน 3 วัน

ภาควิชา ..... สหสาขาวิชาจุลชีววิทยาทางการแพทย์  
สาขาวิชา ..... จุลชีววิทยาทางการแพทย์  
ปีการศึกษา ..... 2541

ลายมือชื่อนิสิต ..... นักรูพร จุจิขจร  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ..... รศ.ดร. พิณทิพย์ พงษ์เพชร  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ..... ผศ.ดร. อริยา จินตามพร

# # 3970797730 MAJOR MEDICAL MICROBIOLOGY  
KEY WORD: MRSA / PFGE / EPIDEMIOLOGICAL STUDY / BURN UNIT

NUTTHAPORN RUCHIKACHORN : EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MRSA) BY PULSED-FIELD GEL ELECTROPHORESIS IN BURN UNIT AT SIRIRAJ HOSPITAL. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. DR. PINTIP PONGPECH, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR : ASSIST. PROF. DR. ARIYA CHINDAMPORN, Ph.D. 124 pp. ISBN 974-331-549-7

During 32 weeks consecutive study, it was found that there were 16 out of 30 burn patients (53.33%) who carried MRSA in their nasal cavities, hands, and wounds as well as 8 out of 54 medical personnel (14.81%) were MRSA nasal carriers. MRSA were also isolated from medical equipments which were bed rails, enteral pump, and bath tubs. In the Traumatic ICU, MRSA were isolated from 3 out of 11 patients (27.27%). There was no medical personnel who was MRSA nasal carrier.

All MRSA isolates were discriminated into 22 antimicrobial patterns and 5 pulsotypes. The predominant antibiogram type were type 17 and 14. There were only 5 MRSA pulsotypes ; A , B , C , D , and E. The most prevalent type in this study was type B. Pulsotype A also consisted of subtype A1 , A2 ,and A3 ; pulsotype B consisted of subtype B1 , B2 , B3 , B4 , B5 ,and B6 ; pulsotype E consisted of subtype E1. There is no correlation between antibiogram and pulsotypes. The results from antimicrobial susceptibility test was indicated that vancomycin was still the effective agent to treat MRSA infection, because all isolates were susceptible to this agent (100%).

This study also indicated that the burn unit was still the important source of MRSA. Eventhough, MRSA with pulsotype B had been shown to be the outbreak strain in the burn unit. The route of transmission was not clearly identified. Carrier among the staff has been shown not to be significant in this study as well as the medical equipment. The spread of the organisms could possibly be transient hand borne, airborne and environment contaminant.

The most antimicrobial agents used in the burn unit were beta-lactam antibiotics, which were 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup> generation of cephalosporin. There were 13 out of 16 (81.25%) MRSA-positive patients who received these antimicrobial agents for at least 3 days before MRSA was detected, while only 4 out of 14 (28.57%) MRSA-negative patients received these agents for 3 days or more.

ภาควิชา คณะสัตวศาสตร์สัตววิทยาทางการแพทย์

สาขาวิชา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2541

ลายมือชื่อผู้จัดทำ.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาพร้อม.....



## ACKNOWLEDGEMENTS

The author wishes to express her deepest gratitude to Associate Professor Dr. Pintip Pongpech, of Department of Microbiology, Faculty of Pharmaceutical Science, Chulalongkorn University, her advisor, and Assistant Professor Dr. Ariya Chindamporn, of Department of Microbiology, Faculty of medicine, Chulalongkorn University, her co-advisor for their kind supervision excellent and invaluable advice, indispensable help, constructive criticism, guidance and encouragement throughout the period of this study.

Instructor Penphun Naenna, of Department of Microbiology, Faculty of Pharmaceutical Science, Chulalongkorn university, for her kindness in guidance throughout the laboratory work. Associate Professor Dr. Somchai Chongwutthivej, of Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, for providing the beneficial instrument.

Grateful acknowledgement is also extended to Ms. Preedaporn Seepakdee and all staffs at Burn unit, Siriraj Hospital, and Ms. Ratchada Sathitmethakul for their kind help in collecting the specimens.

Most sincerely, the author wish to extend her acknowledgement to all staffs of Division of Bacteriology, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University, all staffs of Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, and all staffs of Department of Microbiology, Faculty of Pharmaceutical Science, Chulalongkorn University for their kindness and help.

Finally, the investigator is deeply indebted to her advisory committee, Associate Professor Dr. Vanna Punnaragsa, of Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, and Associate Professor Dr. Chertsak Dhiraputra, of Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University for their kindness and helpful suggestion for the completeness of this thesis and to her family and her friends for their understanding and support during her study period.

## CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT.....	iv
ENGLISH ABSTRACT.....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	viii
LIST OF FIGURES.....	x
ABBREVIATIONS.....	xi
<b>CHAPTER</b>	
I. INTRODUCTION.....	1
II. OBJECTIVES.....	3
III. LITERATURE REVIEWS.....	4
IV. MATERIALS AND METHODS.....	43
V. RESULTS.....	54
VI. DISCUSSION.....	94
VII. CONCLUSIONS.....	101
REFERENCES.....	103
APPENDIX I.....	116
APPENDIX II.....	121
BIOGRAPHY .....	124

## LIST OF TABLES

TABLE		PAGE
3-1	Staphylococcus species found on human.....	16
3-2	Staphylococcus Structure and Function.....	17
3-3	Classification of hemolysins by type of erythrocyte lysed.....	18
3-4	Characteristics of Exfoliative toxin.....	19
4-1	The number of specimen which taken from the 30 burn patients, the 54 medical personnel, and the medical equipment.....	45
4-2	Zone size interpretative chart for staphylococci.....	53
5-1	Selected Demographic of the 30 burn patients in the burn unit.....	66
5-2	The prevalence of staphylococci , MRSA and other bacteria isolated from nasal cavities of 54 medical personnel at the Burn unit during 32 weeks of the study.....	67
5-3	The recovery rate of staphylococci (MRSA , MSSA , and coagulase-negative staphylococci) which isolated from the 54 medical personnel during 32 weeks of the study.....	68
5-4	The prevalence of staphylococci , MRSA and other bacteria isolated from the nasal cavities , hands and wound of the 30 burn patients during hospitalization.....	71
5-5	Sites of MRSA first isolation from the nasal cavities , hands, and wounds of the 16 MRSA-positive burn patients.....	72
5-6	The prevalence of staphylococci , MRSA and other bacteria isolated from the medical equipment during 32 weeks of specimen collection..	73
5-7	The prevalence of MRSA , staphylococci and other bacteria isolated from the nasal cavities, hands, and wounds of the 11 patients and nasal cavities of the 24 medical personnel at the Traumatic ICU (TICU).....	74



TABLE	PAGE
5-8	The result of MRSA isolation from the TICU patients.....75
5-9	The antimicrobial susceptibility patterns (antibiogram) and frequency in each pattern of 231 MRSA isolated from the Burn unit .....76
5-10	Percentage of Antimicrobial susceptibility of MRSA isolated from the 16 burn patients and the 8 medical personnel.....77
5-11	Antimicrobial susceptibility of 4 MRSA isolated from the patients at the Traumatic ICU.....78
5-12	Antimicrobial agent administration of the 16 burn patients days prior to first MRSA isolation.....79
5-13	Antimicrobial administration of the 14 MRSA-negative burn patients during 7 days before they were discharged.....82
5-14	The prevalence of pulsotype of MRSA in all subjects and medical equipment in the burn unit.....86
5-15	The correlation between the pulsotypes and the antibiogram of 142 MRSA isolates from the patients, medical personnel, and medical equipment in the burn unit.....87
5-16	Summary of the occurrence of MRSA in each burn patients and environments during the 32 weeks of the study.....88

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## LIST OF FIGURES

FIGURE		PAGE
3-1	Staphylococcal cell wall structure.....	20
3-2	The peptidoglycan structure.....	21
3-3	Staphylococcal disease.....	22
3-4	Staphylococcal virulence factors.....	23
5-1	Chromosomal DNA pulsotypes obtained by Pulsed-Field Gel Electrophoresis after digestion with <i>Sma</i> I restriction endonuclease enzyme.....	83
5-2	Chromosomal DNA subtypes obtained by Pulsed-Field Gel Electrophoresis after digestion with <i>Sma</i> I restriction endonuclease enzyme.....	84
5-3	Chromosomal DNA pulsotypes and subtypes obtained by Pulsed-Field Gel Electrophoresis after digestion with <i>Sma</i> I restriction endonuclease enzyme.....	85

สถาบันวิทยบริการ  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ABBREVIATIONS**

ATCC	=	American Type Culture Collection
°C	=	Degree Celsius
cm	=	Centimeter
g	=	Gram
µg	=	Microgram
µl	=	Microliter
M	=	Molar
mg	=	Milligram
ml	=	millimeter
NCCLS	=	National Committee for Clinical Laboratory Standards
s	=	Second
v	=	Volt
%	=	Percent

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย