

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

ระบาดวิทยาและความไวต่อยาต้านจุลชีพของสายพันธุ์ *Staphylococcus aureus* จาก 3 โรงพยาบาล
ในจังหวัดชลบุรีและฉะเชิงเทรา

ดวงชีวัน พึ่งสุรินทร์

25945 1

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

สิงหาคม 2552

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณา
วิทยานิพนธ์ของ ดวงชีวัน พึ่งสุรินทร์ ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุภัตต์ นิมรัตน์)
.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อภิรดี ปลื้มธนภักย์)
.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิสาลี คงเจริญสุนทร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธาน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปรีนทร์ ชัยวิสุทธิราษฎร์)
.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุภัตต์ นิมรัตน์)
.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อภิรดี ปลื้มธนภักย์)
.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิสาลี คงเจริญสุนทร)
.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุดารัตน์ สอนจิตร)

คณะวิทยาศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยบูรพา

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อุษาวดี ตันติวรานุรักษ์)
วันที่ 11 เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2552

ประกาศคุณูปการ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจากรองศาสตราจารย์ ดร. สุบัณฑิต นิมิตรณ์ ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อภิรดี ปิณฑนภากย์, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิสาครี คงเจริญสุนทร คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปรินทร์ ชัยวิสุทธิทางกูร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุภารัตน์ สวนจิตร คณะกรรมการสอบปากเปล่าวิทยานิพนธ์ และ ดร. กาญจนา หริ่มเพ็ง ที่กรุณาให้คำแนะนำและเป็นที่ปรึกษา ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความละเอียดถี่ถ้วนและเอาใจใส่ด้วยดีเสมอมา ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ภาควิชาจุลชีววิทยา ที่ให้ความช่วยเหลือด้านเครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมีและสถานที่ในการทดลอง ตลอดจนประสานงานด้านต่าง ๆ ในช่วงระยะเวลาการทำวิทยานิพนธ์นี้

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และบุคคลในครอบครัวทุกท่านที่กรุณาอบรมสั่งสอน ให้การสนับสนุนตลอดระยะเวลาการศึกษา ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องจุลชีววิทยาโรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา เจ้าหน้าที่ห้องจุลชีววิทยาโรงพยาบาลชลบุรี และเจ้าหน้าที่ห้องจุลชีววิทยาโรงพยาบาลละเชิงเทราที่มีส่วนช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนเพื่อน ๆ ทุกท่านที่มีส่วนช่วยเหลือทั้งร่างกายและแรงใจเพื่อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์นี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นกตัญญูกตเวทิตา แด่ บพการี บุรพาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบัน ทำให้ข้าพเจ้าเป็นผู้มีการศึกษา ประสบความสำเร็จมาจนตราบนทุกวันนี้

ดวงชีวัน พึ่งสุรินทร์

การวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์ ระดับบัณฑิตศึกษา

จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา

ประจำภาคปลาย ปีการศึกษา 2549

47911279: สาขาวิชา: จุลชีววิทยา; วท.ม. (จุลชีววิทยา)

คำสำคัญ: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* /MRSA/เอนไซม์เบต้าแลคตาเมส/
ชลบุรี/ฉะเชิงเทรา

ดวงชีวัน พึ่งสุรินทร์: ระบาดวิทยาและความไวต่อยาต้านจุลชีพของสายพันธุ์

Staphylococcus aureus จาก 3 โรงพยาบาลในจังหวัดชลบุรีและฉะเชิงเทรา

(EPIDEMIOLOGY AND ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF *Staphylococcus aureus*

ISOLATED FROM THREE HOSPITALS IN CHON BURI AND CHACHEONGSAO

PROVINCES. EPIDEMIOLOGY AND ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF

Staphylococcus aureus ISOLATED FROM THREE HOSPITALS IN CHON BURI AND

CHACHEONGSAO PROVINCES.) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: สุบัณฑิต นิมรัตน์, Ph.D.,

วิสาครี คงเจริญสุนทร, Ph.D., อภิรดี ปิณฑนภาคย์, Ph.D. 74 หน้า. ปี พ.ศ. 2552.

จากการศึกษาระบาดของวิทยาและความไวต่อยาต้านจุลชีพของ *Staphylococcus aureus* จาก
โรงพยาบาล 3 แห่งในจังหวัดชลบุรีและจังหวัดฉะเชิงเทราโดยเก็บตัวอย่างของ *S. aureus* จำนวน
400 ไอโซเลต ตั้งแต่เดือนมกราคม ถึงเดือนธันวาคม ปี พ.ศ.2550 จากผลการทดลองพบ
Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* จำนวน 150 ไอโซเลต (37.50%) ซึ่งพบว่ามีกรดียา
ทุกกลุ่มที่ทำการทดสอบ (100.00%) ยกเว้นยา Chloramphenicol (6.00%) และ Vancomycin
(0.00%) และ Methicillin-susceptibility *Staphylococcus aureus* จำนวน 250 ไอโซเลต (62.50%)
ที่มีความไวต่อยาต้านจุลชีพทุกชนิด (100.00%) แต่ดื้อต่อยา Penicillin G และ Ampicillin
(100.00%) ต่อมาทำการทดสอบความสัมพันธ์ของการทดสอบ Minimum Inhibitory Concentration
(MIC), การผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสและตรวจหายีน *mecA* ของกลุ่ม MRSA ที่แยกได้จาก
การศึกษานี้ พบว่า MRSA ส่วนใหญ่ (89.33%) มีค่า MIC ≥ 64 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถ
ผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสได้ทุกสายพันธุ์ แต่ตรวจพบยีน *mecA* เพียง 37.33% ดังนั้นจาก
การศึกษานี้สามารถสรุปได้ว่า MRSA ส่วนใหญ่ที่แยกได้จาก 3 โรงพยาบาล มีการดื้อยา
โดยเฉพาะอย่างยิ่งยา กลุ่มเบต้าแลคตาม และปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดการดื้อยาดอกกลุ่มเบต้าแลคตาม
มาจากการผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสที่ควบคุมการทำงานซึ่งเกิดจากผลบางส่วนจากยีน *mecA*

47911279: MAJOR: MICROBIOLOGY; M.Sc. (MICROBIOLOGY)

KEYWORDS: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* /MRSA/ β -Lactamase /

Chon Buri/Chacheongsao

DAUNGCHEWAN PUENGSRIN: EPIDEMIOLOGY AND ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF *Staphylococcus aureus* ISOLATED FROM THREE HOSPITALS IN CHON BURI AND CHACHEONGSAO PROVINCES. ADVISORY COMMITTEE: SUBUNTITH NIMRAT, Ph.D., WISATRE KONGCHROENSUNTORN, Ph.D., APIRADEE PILANTANAPAK, Ph.D. 74 P. 2009.

The aim of this study was to investigate the epidemiology and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* from three hospitals in Chon Buri and Chacheongsao Province from January to December 2006. One hundred and fifty isolates (37.50%) were Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* which resisted to most of tested antibiotics (100.00%), except Chloramphenicol (6.00%) and Vancomycin (0.00%). In contrast, there were 250 isolates of Methicillin-susceptibility *Staphylococcus aureus* (62.50%) which were susceptible to most of antimicrobial agents used in this study (100.00%), except Penicillin G (0.00%) and Ampicillin (0.00%). Relationships among Minimum Inhibitory Concentration (MIC), β -Lactamase production test and *mecA* gene were examined in MRSA isolated in this study. Results showed that 89.33% of MRSA demonstrated MICs ≥ 64 μ g/ml which produced β -Lactamase with 37.33% *mecA* gene detection. This findings concluded that MRSA collected from 3 hospitals demonstrated highly resistant to antibiotics, particularly, β -Lactam antibiotics. The major mechanism for β -Lactam antibiotics' resistance is the production of β -Lactamase which is partially controlled by *mecA* gene.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ณ
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่	
1 บทนำ.....	
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
จุดมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า.....	1
ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า.....	3
สถานที่ทำการทดลอง.....	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
<i>Staphylococcus aureus</i>	4
สรีรวิทยาและโครงสร้าง.....	5
พิษ (Toxin).....	6
เอนไซม์ (Enzyme).....	8
Methicillin – Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	9
กลไกในการออกฤทธิ์ของยาและการดื้อยาในกลุ่ม Penicillin ของ Methicillin – Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	10
ลักษณะการดื้อยาของ Methicillin – Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	13
การทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพของ MRSA	15
โรคติดเชื้อที่เกิดจาก MRSA.....	17
การรักษาโรคติดเชื้อ MRSA.....	18
รายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา.....	20

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	24
อุปกรณ์และสารเคมี.....	24
วิธีดำเนินการวิจัย.....	25
การทดสอบยีสันเชื้อ.....	26
การทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ (Disk diffusion).....	26
การทดสอบ Minimum Inhibitory Concentration (MIC) โดยวิธี Agar dilution... ..	27
การทดสอบเอนไซม์เบต้าแลคตาเมส.....	28
การทดสอบ Polymerase Chain Reaction (PCR).....	29
4 ผลการวิจัย.....	30
ระบาศิพยาศของ <i>S. aureus</i> ในจังหวัดชลบุรีและจังหวัดฉะเชิงเทรา.....	30
การทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ.....	35
ผลการทดสอบ Minimum Inhibitory Concentration (MIC)	44
ผลการทดสอบ เอนไซม์เบต้าแลคตาเมส.....	44
ผลการทดสอบ Polymerase Chain Reaction (PCR).....	44
5 อภิปรายและสรุปผลการทดลอง.....	47
สรุปผลการทดลอง.....	47
อภิปรายผลการทดลอง.....	48
ข้อเสนอแนะ.....	54
รายการอ้างอิง.....	55
ภาคผนวก.....	64
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ.....	65
ภาคผนวก ข สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	67
ภาคผนวก ค วิธีคำนวณด้วย่าง.....	70

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก ง Disk diffusion	71
ภาคผนวก จ MICs โดยวิธี Agar dilution	73
ประวัติย่อของผู้วิจัย.....	74

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 องค์ประกอบและหน้าที่ของเชื้อ <i>Staphylococcus</i>	7
2 จำนวนของ <i>S. aureus</i> ที่พบในสิ่งส่งตรวจ	
จากโรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา.....	30
3 จำนวนของ <i>S. aureus</i> ที่พบในสิ่งส่งตรวจ จากโรงพยาบาลชลบุรี.....	32
4 จำนวนของ <i>S. aureus</i> ที่พบในสิ่งส่งตรวจ จากโรงพยาบาลฉะเชิงเทรา.....	33
5 จำนวนของ <i>S. aureus</i> ทั้งหมด 400 ไอโซเลตที่พบในสิ่งส่งตรวจ.....	34
6 รูปแบบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของ MRSA 150 ไอโซเลต.....	43
7 ค่า MICs ยา Oxacillin ของ MRSA และ MSSA	44
8 ความสัมพันธ์ของค่า MICs กับการผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสและการตรวจหา	
ยีน <i>mecA</i> ของ MRSA.....	45
9 มาตรฐานสำหรับแปลผล.....	74

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ลักษณะเชื้อ <i>S. aureus</i>	5
2 ขั้นตอนการสังเคราะห์ UDP-acetylmuramyl-pentapeptide.....	10
3 โครงสร้างของ Bactoprenol.....	11
4 ปฏิกริยา Transpeptidation.....	11
5 โครงสร้างทางเคมีของยาปฏิชีวนะ Methicillin.....	12
6 เพอร์เซ็นต์ของ <i>S.aureus</i> ที่พบในสิ่งส่งตรวจ จากโรงพยาบาลสมเด็จ บรมราชเทวี ณ ศรีราชา.....	31
7 เพอร์เซ็นต์ของ <i>S.aureus</i> ที่พบในสิ่งส่งตรวจ จากโรงพยาบาลชลบุรี.....	32
8 เพอร์เซ็นต์ของ <i>S.aureus</i> ที่พบในสิ่งส่งตรวจ จากโรงพยาบาลฉะเชิงเทรา.....	33
9 เพอร์เซ็นต์ของ <i>S.aureus</i> ทั้งหมด 400 ไอโซเลต ที่พบในสิ่งส่งตรวจ.....	35
10 เพอร์เซ็นต์ความไวต่อยาต้านจุลชีพของ MSSA และ MRSA จาก โรงพยาบาลสมเด็จ บรมราชเทวี ณ ศรีราชา.....	35
11 เพอร์เซ็นต์ความไวต่อยาต้านจุลชีพของ MSSA และ MRSA จากโรงพยาบาลชลบุรี.....	36
12 เพอร์เซ็นต์ความไวต่อยาต้านจุลชีพของ MSSA และ MRSA จากโรงพยาบาลฉะเชิงเทรา.....	37
13 เพอร์เซ็นต์ความไวต่อยาต้านจุลชีพของ MSSA และ MRSA ทั้งหมด.....	38
14 ลักษณะการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของ MSSA และ MRSA โรงพยาบาล สมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา.....	39
15 ลักษณะการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของ MSSA และ MRSA โรงพยาบาลชลบุรี.....	40
16 ลักษณะการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของ MSSA และ MRSA โรงพยาบาลฉะเชิงเทรา....	40
17 ลักษณะการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของ MSSA ของทั้ง 3 โรงพยาบาล.....	41
18 ลักษณะการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของ MRSA ของทั้ง 3 โรงพยาบาล.....	42
19 ยีน <i>mecA</i> ที่สกัดด้วย Lysis buffer และ น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ.....	46
20 Oxacillin powder	71

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
21 Nitrocefin.....	71
22 การทดสอบ Nitrocefin.....	72
23 Disk diffusion ของ MSSA ATCC 25923 และ MRSA ATCC 43300.....	73
24 MICs โดยวิธี Agar dilution.....	75