

การพัฒนาชุดการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่คือต่อยา Methicillin และ ยีนคือยา MLS_B โดยวิธี Multiplex PCR

DEVELOPMENT OF MULTIPLEX PCR FOR DETECTION OF METHICILLIN RESISTANCE AND MLS_B RESISTANCE GENES IN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

เนติลักษณ์ ตันทวาท 5436409 RACP/M

วท.ม. (พยาธิวิทยาคลินิก)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: พัทธ์ชัย สันตนิรันดร์, Ph.D., พุทธภูมิ ลำเจียกเทศ, Ph.D.

บทคัดย่อ

การติดเชื้อในโรงพยาบาลโดยเชื้อกลุ่ม Staphylococci ที่คือยาหลายขนานเช่น Methicillin หรือ macrolide-lincosamide-streptograminsB (MLS_B) เป็นปัญหาที่เพิ่มขึ้นในสถานพยาบาลจำนวนมาก โดยในบรรดาสายพันธุ์ของ Staphylococci ทั้งหมด *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) มีความสามารถในการก่อโรคได้มากที่สุด การติดเชื้อกลุ่ม Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ก่อให้เกิดพยาธิสภาพและอัตราการเสียชีวิตที่สูง การตรวจวินิจฉัยเชื้อและการทราบการคือยาที่รวดเร็วจึงมีความสำคัญต่อผู้ป่วยเป็นอย่างมาก ดังนั้นการศึกษานี้จึงได้พัฒนาการตรวจเพื่อหาเชื้อ *S. aureus* และ ยีนคือยาของเชื้อดังกล่าวโดยวิธี Multiplex PCR เพื่อให้เกิดความรวดเร็วขึ้นในการตรวจวิเคราะห์จากโคลนของเชื้อที่เพาะเลี้ยงได้ การทดสอบนี้ใช้ Primer ที่จำเพาะต่อ ยีนเป้าหมายจำนวน 5 ยีน ได้แก่ *femA* (สำหรับการวิเคราะห์ *S. aureus*), *mecA* (สำหรับวิเคราะห์ยีนคือยา oxacillin หรือ methicillin), *ermA*, B และ C (สำหรับวิเคราะห์ยีนคือยา MLS_B) การทดสอบได้ใช้เชื้อ *Staphylococcus* Spp. จากตัวอย่างผู้ป่วยจำนวน 250 ตัวอย่าง เปรียบเทียบผลกับการตรวจวิเคราะห์โดยวิธีเพาะเชื้อและการทดสอบความไวคือยาในงานประจำของห้องปฏิบัติการ ซึ่งจากการทดลองพบว่า ทั้ง 5 primers ที่สร้างขึ้นมีความจำเพาะต่อยีนเป้าหมาย และแสดงผลไปในทิศทางเดียวกับการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ 100% เชื้อที่ที่มีการคือยา methicillin ทั้งหมด สามารถตรวจพบยีน *mecA* นอกจากนี้เชื้อ *S. aureus* ที่คือยา erythromycin ตรวจพบยีนคือยาได้แก่ *ermA*, *ermB* *ermC* จำนวน 53.4%, 1.1% และ 12.6% ตามลำดับ ในขณะที่เชื้อ กลุ่ม coagulase negative staphylococci (CoNS) ตรวจพบเฉพาะยีน *ermA* 6.6%, *ermB* 1.3%, and *ermC* 46.1% โดยตรวจพบยีน *ermC* มากที่สุด และด้วยวิธี Multiplex PCR ที่พัฒนาขึ้นใหม่นี้ ทำให้สามารถลดเวลาของการตรวจวิเคราะห์ *S. aureus* และ CoNS ลงได้ประมาณ 24 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับการตรวจวิเคราะห์โดยการเพาะเชื้อและทดสอบความไวคือยาทางห้องปฏิบัติการในปัจจุบัน