

การจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*  
ซึ่งแยกจากทางเดินหายใจของผู้ป่วยในหออภิบาล  
ด้วยเทคนิค Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE)

นางสาวสุมาลี คำสิงห์



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางการแพทย์  
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2541

ISBN 974-331-548-9

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**TYPING OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ISOLATED FROM  
RESPIRATORY TRACT OF PATIENTS IN INTENSIVE CARE UNITS  
BY PULSED-FIELD GEL ELECTROPHORESIS**

**Miss Sumalee Comsing**

**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 974-331-548-9**

Thesis Title            Typing of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from respiratory tract  
                                 of patients in intensive care units by pulsed-field  
                                 gel electrophoresis (PFGE)

BY                            Miss Sumalee Comsing

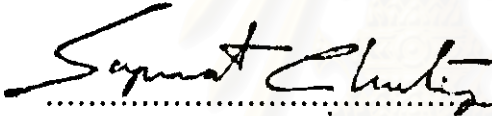
Inter-Department      Medical microbiology

Thesis Advisor        Associate Professor Dr. Pintip Pongpech

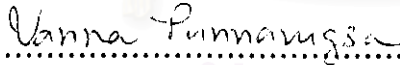
Co-Advisor            Assistant Professor Dr. Ariya Chindamporn

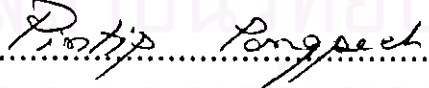
---


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

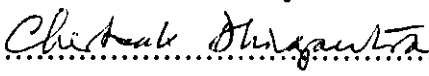
  
..... Dean of Graduate School  
(Professor    Supawat Chutivongse, M.D.)

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.)

สุมาลี คำสิงห์ : การจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อ *P. aeruginosa* ซึ่งแยกจากทางเดินหายใจของ  
ผู้ป่วยในหออภิบาล ด้วยเทคนิค Pulsed-field gel electrophoresis. อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ.  
ดร.พิณทิพย์ พงษ์เพชร. อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.ดร.อริยา จินตามพร ;130 หน้า ISBN  
974-331-548-9

ในการใช้วิธีทางอนุชีววิทยา Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) เพื่อจำแนกสายพันธุ์ของ  
เชื้อ *P. aeruginosa* ซึ่งแยกจากผู้ป่วยที่มี colonization ของเชื้อ เสมหะผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อในทางเดินหายใจส่วน  
ล่าง และจากสิ่งแวดล้อมภายในหอผู้ป่วย พบว่าวิธีนี้สามารถจะจำแนก *P. aeruginosa* ทั้งหมด 135 สายพันธุ์ได้  
เป็น 72 รูปแบบ และจากการใช้วิธีนี้ในการศึกษาระบาดวิทยาของเชื้อ ไม่พบรูปแบบหลักของเชื้อ *P. aeruginosa*  
ซึ่ง colonized ในผู้ป่วยในหออภิบาลผู้ป่วยทางเดินหายใจ และหออภิบาลผู้ป่วยอุบัติเหตุ และผู้ป่วยที่ติดเชื้อในทาง  
เดินหายใจในหอผู้ป่วยอื่นๆ

จากการศึกษาพบว่า ผู้ป่วยใน RCU12 รายจากทั้งหมด 82 ราย (14.63%) colonized ด้วยเชื้อ *P.*  
*aeruginosa* ในคอ และพบการติดเชื้อในแผลผู้ป่วยที่มีแผลเจาะคอ 3 รายจาก 25 ราย (12%) ผู้ป่วยใน TICU 15  
รายใน 147 ราย (10.20%) มีเชื้อ colonized อยู่ในคอ และ 1 ใน 22 รายที่มีการติดเชื้อที่แผล ใน RCU ผู้ป่วย 8  
รายใน 12 ราย (66.7%) พบเชื้อ colonized ในวันแรกที่เข้าพัก และ 4 ใน 12 ราย (33.3%) พบเชื้อ colonized ใน  
ช่วงที่พักรักษาในหออภิบาลนี้ ส่วนใน TICU ผู้ป่วย 7 รายใน 15 ราย (46.7%) colonized ด้วยเชื้อในวันแรกที่เข้าพัก และ  
ผู้ป่วย 8 รายใน 12 ราย (53.3%) มีการ colonization ด้วยเชื้อในช่วงที่ผู้ป่วยอยู่ใน TICU สำหรับผู้ป่วยที่ใช้เครื่อง  
ช่วยหายใจ ใน RCU มีเพียง 1 คนเท่านั้นที่พบเชื้อในน้ำจากเครื่องช่วยหายใจ ในขณะที่ตรวจเชื้อนี้ไม่พบเลย ในผู้ป่วย  
ทั้งหมดที่ใช้เครื่องช่วยหายใจใน TICU 147 ราย นอกจากนั้นยังตรวจพบว่า 8.3% ของผู้ป่วยใน RCU และ 20%  
ของผู้ป่วย TICU ที่มีเชื้อ colonized อยู่แล้ว จะเกิดการติดเชื้อ ในระบบทางเดินหายใจ ส่วนการตรวจพบเชื้อจากอ่างล้าง  
ล้างมือทั้งใน RCU และ TICU จะพบในช่วง 1-6 ครั้ง จากการเก็บตัวอย่างทั้งหมด 24 ครั้ง แสดงให้เห็นถึงว่าอ่างล้าง  
มือไม่ใช่แหล่งของเชื้อ *P. aeruginosa* ในหออภิบาลทั้งสอง

จากการศึกษาการให้ยาต้านจุลชีพทั้งใน RCU และ TICU พบว่ามีการใช้ยาในกลุ่ม  $\beta$ -lactam  
และ aminoglycoside มากที่สุด แต่ไม่สามารถจะอธิบายถึงความสัมพันธ์ระหว่างการให้ยากับการเกิด colonization  
ได้ ส่วนรูปแบบการคือต่อยาต้านจุลชีพ พบว่ามีถึง 30 รูปแบบแต่ไม่มีความสัมพันธ์กับ การจำแนกโดยใช้ PFGE

โดยสรุปการศึกษาทั้งหมดแสดงให้เห็นว่า (1) ไม่มีผู้ป่วยที่มีสายพันธุ์ของเชื้อ *P. aeruginosa* เหมือนกับ  
สายพันธุ์ของเชื้อที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อม ซึ่งแสดงว่าการเกิด colonization ที่ล่าช้ามาจากเชื้อภายในร่างกายผู้ป่วย  
มากกว่าภายนอก (2) ไม่มี pulsotype หลักของเชื้อ *P. aeruginosa* ที่แยกได้จากทั้งในหออภิบาลเดียวกัน และต่าง  
หออภิบาล ซึ่งแสดงถึงไม่มีการระบาดของเชื้อ *P. aeruginosa* ในช่วงเวลา 7 เดือนที่ทำการศึกษา

ภาควิชา ..... สาขาวิชา ..... ปีการศึกษา ..... 2541

ลายมือชื่อชนิด ..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

# # 3972235730: MAJOR MEDICAL MICROBIOLOGY  
KEY WORD: PSEUDOMONAS AERUGINOSA/ INTENSIVE CARE UNITS/ PULSED-FIELD GEL

ELECTROPHORESIS/ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY PATTERN.

SUMALEE COMSING : TYPING OF PSEUDOMONAS AERUGINOSA ISOLATED  
FROM RESPIRATORY TRACT OF PATIENTS IN INTENSIVE CARE UNITS BY  
PULSED-FIELD GEL ELECTROPHORESIS. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF.

PINTIP PONGPECH, Ph.D., CO-ADVISOR : ASSIST. PROF. ARIYA CHINDAMPORN,  
Ph.D. 130 pp. ISBN 974-331-548-9

The purpose of this study is to use pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) to perform the molecular typing of *P. aeruginosa* isolates from various sources including colonized patients, sputum of lower respiratory tract infected patients and environment in the patients units. This technique was able to discriminate 135 isolates into 72 pulsotypes. The results obtained was used for the epidemiological evaluation of *P. aeruginosa* which demonstrated that there was no predominant pulsotype found in the Respiratory Care Unit (RCU), the Traumatic Intensive Care Unit (TICU), and sputum of lower respiratory infected patients.

The epidemiological data was also obtained from this study, it was shown that 12 out of 82 patients in the RCU (14.63%) had *P. aeruginosa* throat colonization and 3 out of 25 patients who had surgical wound from trachiotomy (12%) carried this organism in their wound. In the TICU-15 out of the 147 patients (10.20%) had *P. aeruginosa* in their throat and one out of 22 patients carried the organism in their surgical wound. In the RCU, 8 out of 12 patients (66.7%) were colonized with *P. aeruginosa* on the first day of admission and 4 out of 12 patients (33.3%) had acquired *P. aeruginosa* after admission. In the TICU, 7 out of 15 patients (46.7%) were colonized on admission. The remaining 8 out of 12 patients (53.3%) had acquired *P. aeruginosa* during their stay in this unit. Among the 20 RCU patients who used respirator, only one of them yielded *P. aeruginosa* in the water from the respirator while none of the 147 TICU patients who were on respirators had *P. aeruginosa* in such water. *P. aeruginosa* lower respiratory tract infection had developed in 008.3% of the colonized RCU patients while 20% of the colonized TICU patients had infection. *P. aeruginosa* from all the sinks in both the RCU and the TICU were isolated in the range of 1-6 times from the total 24 times of specimen collection. This indicated the low possibility that sinks could be the reservoir of this organism.

From the study on the antimicrobial administration in both intensive care units, it was shown that the  $\beta$ -lactams and the aminoglycoasides were used most. There was no clearly evidence that these agents were associated with *P. aeruginosa* colonization. There were 30 different antimicrobial susceptibility patterns (antibiograms) from all isolates with no correlation to the pulsotypes obtained.

The results from this study showed that (1) none of the patients harbored the strain similar to the environmental strain, which suggested that colonization with *P. aeruginosa* originated from endogenous rather than exogenous sources. (2) no common pulsotypes was obtained from all the patients in the different unit and even in the same unit which indicated that there was no epidemic or outbreak of *P. aeruginosa* infection occurred during the 7 month of study.

ภาควิชา..... คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล .....  
สาขาวิชา..... สาขาสังคมศาสตร์ .....  
ปีการศึกษา..... 2541 .....

นายมีชื่อ นิสิต.....  
นายมีชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....  
นายมีชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

## ACKNOWLEDGEMENT



The author express her deepest appreciation and grateful thanks to the following, who have helped for the completeness of this thesis.

Associate Professor Dr. Pintip Pongpech of Department of Microbiology, Faculty of Pharmaceutical Science, her advisor, Assistant Professor Dr. Ariya Jindamaporn of the Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, her co-advisor for their excellent advice, guidance and indispensable help throughout the period of this study.

Associate Professor Dr. Somchai Jongwoothiwate of the Department of Parasitology, Faculty of Medicine and lecturer Penphun Neanna of the Department of Microbiology, Faculty of Pharmaceutical Science, Chulalongkorn University for their kindness and encouragement.

Miss Tepnimit Joodang and all staff of the RCU and the Traumatic ICU, and the entire staff of the Bacteriology division, Department of Microbiology Siriraj Hospital, Mahidol University for their kind help in collecting the samples and all staff of the Department of Microbiology, Faculty of Pharmaceutical Science and all staff of the Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University for their support during the author's entire course of graduate study.

Finally, a pleasure acknowledgement goes to her advisory committee including Associate Professor Dr. Vanna Punnaragsa and Associate Professor Dr. Chertsak Dhiraputra for their kindness and helpful suggesting for the completeness of this thesis and to her family for their considerable support and encouragement, and very special thanks to all her friend for their support during the period of her study.

## CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT.....	iv
ENGLISH ABSTRACT.....	v
ACKNOWLEDGEMENT.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	viii
LIST OF FIGURES.....	x
ABBREVIATIONS.....	xi
<b>CHAPTER</b>	
I. INTRODUCTION.....	1
II. OBJECTIVES.....	5
III. LITERATURE REVIEWS.....	6
IV. MATERIALS AND METHODS.....	39
V. RESULTS.....	48
VI. DISCUSSION.....	101
VII. CONCLUSIONS.....	107
REFERENCES.....	108
APPENDIX I.....	122
APPENDIX II.....	127
BIOGRAPHY.....	130



## LIST OF TABLES

TABLE	Page
1. Virulence factors associated with <i>Pseudomonas</i> .....	16
2. Characteristic of Phenotypic typing systems.....	25
3. Characteristic of Genotypic typig systems.....	31
4. Demographic characteristics of the patients admitted to the RCU and the TICU at Siriraj Hospital during 7 months of the study.....	56
5. Percentage of patients who were admitted to the RCU and the TICU during 7 months of study who had throat colonization with <i>P. aeruginosa</i> ....	57
6. Pervallence of <i>P. aeruginosa</i> isolated from the the patients and the Environment in the RCU.....	58
7. Pervallence of <i>P. aeruginosa</i> isolated from the patients and the environment in the TICU .....	58
8. Prevalence of <i>P. aeruginosa</i> from the sinks.....	59
9. Prevalence of <i>P. aeruginosa</i> isolated from different sources in the RCU, the TICU, the other ICU and the other wards.....	60
10. Susceptibility patterns of <i>P. aeruginosa</i> to the 15 antimicrobial agents.....	66
11. Susceptibility patterns (Antibiogram) of <i>P. aeruginosa</i> from different sources in the RCU, the TICU , the other ICU, and the other wards.....	69
12. Susceptibility of <i>P. aeruginosa</i> isolated from the different sources and the different wards against the 15 antimicrobial agents.....	71
13. Comparative of pulstotype to antimicrobial susceptibility patterns of <i>P. aeruginosa</i> isolated from the different wards.....	73



## TABLE(CONTINUE)

## PAGE

14. Antimicrobial administration in patients in the RCU within 7 days prior to the <i>P. aeruginosa</i> detection.....	77
15. Antimicrobial administration in patients in the TICU within 7 days prior to the <i>P. aeruginosa</i> detection .....	78
16. Antimicrobial administration in patients in the other ICU within 7 days prior to the <i>P. aeruginosa</i> detection.....	80
17. Antimicrobial administration in patients in the other wards within 7 days prior to the <i>P. aeruginosa</i> detection.....	83



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## LIST OF FIGURES

FIGURE	Page
1. Pulsed-field gel electrophoresis with a contour-clamped homogenous electric field (CHEF) of DNA from <i>P. aeruginosa</i> I.....	84
2. Pulsed-field gel electrophoresis with a contour-clamped homogenous electric field (CHEF) of DNA from <i>P. aeruginosa</i> II.....	85
3. Pulsed-field gel electrophoresis with a contour-clamped homogenous electric field (CHEF) of DNA from <i>P. aeruginosa</i> III.....	86
4. Diagramatic patterns of 72 pulsotypes of <i>P. aeruginosa</i> .....	87
5. Time course of <i>P. aeruginosa</i> colonization and infection in the RCU patients.....	97
6. Time course of <i>P. aeruginosa</i> colonization and infection in the TICU patients.....	98
7. Time course of <i>P. aeruginosa</i> positive sputum from patients in the other ICU .....	99
8. Time course of <i>P. aeruginosa</i> positive sputum from patients in the other wards.....	100

สถาบันวิทยบริการ  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ABBREVIATIONS**

°C	degree celsius
DNA	deoxyribonucleic acid
et al	et alii
g	gram
kb	kilobase
l	litre
mg	milligram
min	minute
ml	millilitre
mM	millimolar
mol	molar
MW	molecular weight
No.,no.	number
rpm	round per minute
µg	microgram
µl	microlitre
%	percent

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย