

ชื่อวิทยานิพนธ์	การแยกเชื้อ <i>Vibrio hollisae</i> และศึกษาความเป็นไปได้ในการถ่ายทอดจีน <i>tdh</i> โดย bacteriophage
ผู้เขียน	นางสาวอังคณา ไสเกื้อ
สาขาวิชา	จุลชีววิทยา
ปีการศึกษา	2544

บทคัดย่อ

Vibrio hollisae เป็นเชื้อสปีชีส์ใหม่ในกลุ่ม *Vibrio* ที่ก่อให้เกิดอาการท้องร่วงเนื่องจากรับประทานอาหารทะเลสุกๆ ดิบๆ พบว่าเชื้อ *V. hollisae* ทุกสายพันธุ์สามารถสร้าง thermostable direct hemolysin (tdh) ที่คาดว่าเป็นปัจจัยที่ก่อให้เกิดความรุนแรงของโรค เชื้อเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 35 °C ประเทศไทยมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อดังกล่าว แต่ยังไม่เคยมีรายงานการตรวจพบเชื้อนี้ในประเทศไทยเลย จึงตรวจหาเชื้อ *V. hollisae* จากตัวอย่างอาหารทะเล โดยสุ่มเก็บตัวอย่าง จากตลาดสดในจังหวัดสงขลา ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2543 - กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2544 เป็นปลา 191 ตัวอย่าง หอย 237 ตัวอย่าง ปู 13 ตัวอย่าง กุ้ง 4 ตัวอย่าง และกั้ง 3 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้น 448 ตัวอย่าง จากการทดสอบแยกเชื้อขั้นต้น พบเชื้อที่สามารถหมักน้ำตาล arabinose แต่ไม่สามารถหมักน้ำตาล maltose ซึ่งเป็นคุณสมบัติของเชื้อ *V. hollisae* ในตัวอย่างหอยมากที่สุด คือ 197 สายพันธุ์ รองลงมาคือ ปลา 177 สายพันธุ์ ปู 11 สายพันธุ์ กุ้ง 6 สายพันธุ์ และกั้ง 1 สายพันธุ์ เมื่อนำเชื้อทุกสายพันธุ์มาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ให้ผลบวกเพียง 9 สายพันธุ์ และเมื่อนำเชื้อไปตรวจยืนยันโดยวิธี PCR พบว่าให้ผลลบทุกสายพันธุ์ อย่างไรก็ตามพบผลบวก 1 ตัวอย่างในการทำ PCR โดยตรงจาก APW ซึ่งเป็น enrichment medium จากตัวอย่างปลาหัวอ่อน แต่ไม่สามารถแยกเชื้อได้ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะพบเชื้อนี้ในประเทศไทย ถ้ามีการนำเทคนิคเพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อ เช่น immunomagnetic technique มาใช้ อาจช่วยทำให้การแยกเชื้อประสบความสำเร็จได้ ในการศึกษาครั้งนี้พบจีน *tdh* อยู่บนโครโมโซมของ *V. hollisae* 11 สายพันธุ์ที่นำมาทดสอบ

แต่ไม่พบบนพลาสติก และพบว่าตำแหน่งของจีน *tdh* บนเชื้อทั้ง 11 สายพันธุ์อยู่ตรงตำแหน่งเดียวกันบนโครโมโซม ซึ่งช่วยยืนยันสมมติฐานว่าจีน *tdh* น่าจะมีกำเนิดจาก *V. hollisae* และอาจถ่ายทอดไปยัง *Vibrio species* อื่นๆ ทาง bacteriophage อย่างไรก็ตามไม่สามารถตรวจพบจีนของ bacteriophage ทั้งบนโครโมโซมและพลาสติกของเชื้อ *V. hollisae* ทั้ง 11 สายพันธุ์

Thesis Title Isolation of *V. hollisae* and the Study of the Possibility of
Bacteriophage in Transfer of *tdh* Gene
Author Miss Angkana Saikeur
Major Program Microbiology
Academic year 2001

Abstract

Vibrio hollisae is a new species of *Vibrio*. It causes gastroenteritis after consumption of seafood. Thermostable direct hemolysin (tdh) has been reported as one of the virulence factors and was found in all isolated strains of *V. hollisae*. The optimum temperature for growth of *V. hollisae* is 35 °C but there have been no reports of *V. hollisae* in Thailand. In this study, 448 seafood samples in Songkla were investigated for *V. hollisae* during February 2000 - February 2001. The sample were as follow: 191 fish, 237 shell, 13 crab, 4 prawn and 3 mantis prawn. In primary screening arabinose and non-maltose fermenter bacteria were found in shell 197 strains fish 177 strains crab 11 strains mantis prawn 6 strains and prawn 1 strain. There were only 9 strains positive for biochemical test and none of them gave positive in PCR. However, there was one sample of APW, enrichment medium of fish, gave positive PCR but *V. hollisae* could not be isolated. This may due to the low number of bacteria. Concentration techniques such as immunomagnetic technique may increase the possibility of isolation of *V. hollisae* in the future. *Tdh* gene was found in the same region of 11 strains of *V. hollisae* chromosome but not in plasmid. This result suggests that *tdh* gene may be a part of *V. hollisae* chromosome and maintained stably. Detection of *tdh* gene in some strains of other *Vibrio* may be the result of horizontal transfer by bacteriophage. However, in this study we could not detect any gene of bacteriophage on chromosome and plasmid in 11 strains of *V. hollisae*.