

**THE STUDY OF SEROTYPES AND VIRULENCE GENES OF  
*VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS* IN HEALTHY CARRIERS  
AT FROZEN SEAFOOD PLANTS**

**CAPT. THANUNCHA ATHAJARIYA**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (PUBLIC HEALTH)  
MAJOR IN INFECTIOUS DISEASES AND EPIDEMIOLOGY  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY**

**2004**

**ISBN 974-04-4957-3**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

การศึกษาซีโรไทป์และยีนที่ควบคุมการก่อโรคของ วibriโอ พาราฮีโมลิติกัส ในพาหะในโรงงานอาหารทะเลแช่แข็ง (THE STUDY OF SEROTYPES AND VIRULENCE GENES OF *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS* IN HEALTHY CARRIERS AT FROZEN SEAFOOD PLANTS)

ร.อ.หญิง ธัญญา อัครจริยา 4436073 PPH/M

วท.ม. (สาขารณสุขศาสตร์) สาขาวิชาเอกโรคติดเชื้อและวิทยาการระบาด

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : อรษา สุตเชียรกุล, Ph.D. (Medical science), กนกรัตน์ ศิริพานิชกร, B.Sc. (PT), พ.บ., M.P.H., เฟื่องฟ้า อุดรราชต์กิจ, วท.ม. (สาขารณสุขศาสตร์)

#### บทคัดย่อ

ภาวะพาหะของ วibriโอ พาราฮีโมลิติกัส นั้นไม่สามารถให้คำจำกัดความที่ชัดเจนได้ แต่มีหลายรายงานที่พบว่าสามารถตรวจพบ วibriโอ พาราฮีโมลิติกัส ได้ในคนปกติโดยที่ไม่มีอาการและอาการแสดงของอาการระแวง โดยเฉพาะผู้ที่สัมผัสกับผู้ป่วยหรือผู้พาหะระแวง, ผู้ที่อาศัยอยู่ในหมู่บ้านที่ติดทะเล และในพนักงานที่ทำงานในโรงงานอาหารทะเลแปรรูปแช่แข็ง จากการศึกษาซีโรไทป์และยีนที่ควบคุมการก่อโรคของ วibriโอ พาราฮีโมลิติกัส จาก 10,214 ตัวอย่างอุจจาระของพนักงานในโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งและโรงงานอาหารทะเลแปรรูปแช่แข็งในจังหวัดสมุทรปราการ ระหว่างเดือนกรกฎาคม 2545 ถึง สิงหาคม 2546 สามารถตรวจพบเชื้อ วibriโอ พาราฮีโมลิติกัส ได้ตลอดทั้งปี จำนวนทั้งสิ้น 147 ตัวอย่าง (ร้อยละ 1.4) จากพนักงาน 139 คนโดยไม่มีอาการและอาการแสดงของโรคอุจจาระระแวง จากการศึกษาเชื้อ วibriโอ พาราฮีโมลิติกัส ที่แยกจาก 139 ตัวอย่างพบว่าร้อยละ 64 และ 18 ของเชื้อ เป็น Heiberg's type VII และ type V อีกร้อยละ 18 ของตัวอย่างตรวจพบทั้ง 2 ไทป์ ซีโรไทป์ของ วibriโอ พาราฮีโมลิติกัส ที่ตรวจพบทั้งหมดมี 64 ซีโรไทป์โดยพบ O1:KUT มากที่สุด ร้อยละ 11.9 รองลงมาคือ O5:KUT ร้อยละ 11.5, O10:KUT ร้อยละ 8.0 และ O11:KUT ร้อยละ 7.1 การศึกษาปัจจัยก่อโรคโดยการตรวจฮีโมลิติน (TDH) และเอนไซม์ยูริเอส (TRH) พบว่ามีเพียงร้อยละ 1.7 จาก 999 ไอโซเลตที่พบปัจจัยการก่อโรคทั้ง 2 ชนิด, ร้อยละ 32.8 พบให้ผลบวกต่อ TDH ( $KP^+$ ) และร้อยละ 8 ผลิตเอนไซม์ยูริเอส ( $TRH^+$ ) การตรวจยีนที่ควบคุมการก่อโรค (*tdh*, *trh*) ด้วยวิธี multiplex PCR โดยเลือกจากผลของปฏิกิริยาทางชีวเคมีและซีโรไทป์ที่แตกต่างกัน 269 จาก 999 ไอโซเลต พบว่ามีเพียงร้อยละ 4.8 เท่านั้นที่มียีนควบคุมการเกิดโรคทั้ง 2 ชนิด ( $tdh^+$ ,  $trh^+$ ) ร้อยละ 25.3 มีเพียง  $tdh^+$  อย่างเดียว และ วibriโอ พาราฮีโมลิติกัส ร้อยละ 65.1 ไม่พบยีน (*tdh*, *trh*) ทุกไอโซเลตที่มี  $trh^+$  สามารถผลิตเอนไซม์ยูริเอสได้ การศึกษาความไวของ วibriโอ พาราฮีโมลิติกัส ต่อยาต้านจุลชีพ 8 ชนิด พบว่ามากกว่าร้อยละ 96 ของเชื้อมีความไวต่อยาต้านจุลชีพ 6 ชนิดคือ norfloxacin, nalidixic acid, nitrofurantoin, tetracycline, cotrimoxazole and gentamicin และร้อยละ 27.9 คือค็อกซ์ยา ampicillin ร้อยละ 17.8 คือค็อกซ์ยา colistin การคือต่อยามากกว่า 1 ชนิดพบได้ร้อยละ 7.8 จากทั้งหมด 269 ไอโซเลต ร้อยละ 5.9 คือค็อกซ์ยา ampicillin และ colistin จากการศึกษาพาหะของ วibriโอ พาราฮีโมลิติกัส พบว่ามีเพียง 5 คนจากโรงงานอาหารทะเลแปรรูปแช่แข็งที่ตรวจพบเชื้อนี้ได้ซ้ำ 2-3 ครั้งในคนเดียวกั้นตลอดระยะเวลาในการติดตาม โดยไม่มีอาการและอาการแสดงของอาการระแวง อย่างไรก็ตามทุกไอโซเลตของพาหะทั้ง 5 คนนี้ มีซีโรไทป์และสายพันธุ์ที่ต่างกัน ในจำนวนพาหะทั้ง 5 คนนี้มีเพียง 2 คนเท่านั้น ที่มีปัจจัยและยีนที่ก่อโรคคือ มี  $TDH^+$  และ  $tdh^+$  gene และ  $TRH^+$  และ  $trh^+$  gene การศึกษานี้ทำให้ได้ข้อมูลที่สำคัญและลักษณะของ วibriโอ พาราฮีโมลิติกัส ที่ตรวจพบในคนที่เป็พาหะในโรงงานอาหารทะเล ซึ่งจะนำไปสู่การศึกษาต่อไปถึงบทบาทของพาหะ ในด้านการแพร่กระจายเชื้อ การก่อโรค และการแสดงออกของยีนที่ก่อโรค

THE STUDY OF SEROTYPES AND VIRULENCE GENES OF *VIBRIO*  
*PARAHAEMOLYTICUS* IN HEALTHY CARRIERS AT FROZEN SEAFOOD PLANTS

CAPT. THANUNCHA ATHAJARIYA 4436073 PPH/M

M.Sc.(PUBLIC HEALTH) MAJOR IN INFECTIOUS DISEASES AND EPIDEMIOLOGY

THESIS ADVISORS : ORASA SUTHIENKUL, Ph.D.(MEDICAL SCIENCE),KANOKRAT  
SIRIPANICHGON, B.Sc.(PT),M.D.,M.P.H., FUANGFA UTRARACHKIJ, M.Sc.(PUBLIC  
HEALTH)

ABSTRACT

Many studies show that *Vibrio parahaemolyticus* can be detected from healthy contacts of diarrheal patients, villagers living near the sea, and healthy employees from seafood processed plants without showing any symptom of diarrhea. The carrier state of these healthy carriers who harbour *V. parahaemolyticus* has not been characterized. In this research, serotypes and virulence genes of *V. parahaemolyticus* were studied in 10,214 rectal swab samples from healthy workers of the frozen seafood plant and frozen processed seafood plant at Samut Prakan province during July 2002 to August 2003. *V. parahaemolyticus* was found in 147 samples (1.4%) from 139 healthy workers throughout the year. Heiberg's type VII and type V of *V. parahaemolyticus* were found in 64% and 18% of the samples, respectively. The isolates from another 18% of the samples tested positive for both Heiberg types. A total of 64 O:K serotypes were identified among 999 isolates of *V. parahaemolyticus* from 147 positive samples, with O1:KUT (untypable) which was the most dominant serotype (11.9%), followed by O5:KUT (11.5%), O10:KUT (8.0%) and O11:KUT (7.1%). Only 1.7% of 999 isolates produced both thermostable direct hemolysin (TDH) and urease enzyme (TRH), whereas 32.8% of isolates produced only TDH and 8% produced only urease enzyme. Furthermore, 269 of 999 isolates were selected on the basis of their different Heiberg types and serotypes from all positive samples to determine their virulence genes (*tdh* and *trh*) by using multiplex PCR and antimicrobial susceptibility pattern. Both *tdh* and *trh* genes were positive in 4.8% of the isolates, 25.3% contained only *tdh*<sup>+</sup>, 4.8% only *trh*<sup>+</sup> and 65.1% only *tdh*<sup>-</sup>*trh*<sup>-</sup>. All isolates with *trh*<sup>+</sup> produced urease enzyme and 7.4% of *tdh*<sup>+</sup> isolates did not produce TDH. Antimicrobial susceptibility of the 269 isolates were tested with 8 antimicrobial agents, and more than 96% of them were susceptible to norfloxacin, nalidixic acid, nitrofurantoin, tetracycline, cotrimoxazole and gentamicin. Of the isolates, 27.9% and 17.8% were resistant to ampicillin and colistin, respectively. Multidrug resistant patterns were also found in 7.8% of 269 isolates, in which 5.9% showed resistance to ampicillin and colistin. Five transient healthy carriers from the frozen processed seafood plant were *V. parahaemolyticus* positive two to three times during the study period. However, all isolates from each transient healthy carrier were of different serotypes and strains. TDH with *tdh*<sup>+</sup> isolate and TRH with *trh*<sup>+</sup> isolate were identified in two carriers. This study has shown the significant findings and characteristics of *V. parahaemolyticus* among healthy carriers in the frozen seafood plants. Further research is suggested on the roles of carriers in transmission, pathogenic mechanism and virulence gene expression.

KEY WORDS: *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS* / HEALTHY CARRIER / VIRULENCE  
GENES / SEROTYPES / MULTIPLEX PCR

101 pp. ISBN 974-04-4957-3