



22 JUL 1992

STUDY ON BIOLOGICAL AND GENETIC CHARACTERISTICS OF  
VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS ISOLATED FROM DIARRHEAL PATIENTS

NUJJAREE NETTIP

2

อภินันทนาการ

จาก

ภาควิชาเวชศาสตร์ สาธารณสุข

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE  
(PUBLIC HEALTH)

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

1992

19142

ชื่อวิทยานิพนธ์	การศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีและพันธุกรรมของ <u>Vibrio parahaemolyticus</u> ที่แยกได้จากผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วง
ผู้วิจัย	นุจรี เนตรทิพย์
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาธารณสุขศาสตร์) สาขาวิชาเอกโรคติดเชื้อ
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์	อรชา สุตเธียรกุล วท.ม.(จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) สุวณี สุกเวทย์ Dr. Univ. Louis Pasteur บุญช่วย เอี่ยมโกศลาก วท.ม.(อายุรศาสตร์เขตร้อน) เสาวนีย์ ธรรมสภิติ Ph.D. (Genetics)
วันที่สำเร็จการศึกษา	31 มกราคม พ.ศ. 2535

#### บทคัดย่อ

การศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีและพันธุกรรมของ Vibrio parahaemolyticus จากตัวอย่างอุจจาระผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วง จำนวน 5,357 ราย ซึ่งมารับการรักษาที่โรงพยาบาล บำราศนครินทร์ ระหว่างเดือนเมษายน 2533 ถึงมีนาคม 2534 พบว่ามีผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วงด้วย V. parahaemolyticus จำนวน 526 ราย (ร้อยละ 9.8) และพบผู้ป่วยด้วยเชื้อนี้ได้ทุกกลุ่มอายุ เด็กอายุต่ำกว่า 5 ปีพบร้อยละ 2.7 และพบการติดเชื้อสูงสุดในกลุ่มอายุ 20-29 ปี (ร้อยละ 31) ตรวจพบผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วงด้วย V. parahaemolyticus ได้ตลอดทั้งปีโดยพบมากที่สุดในเดือนมิถุนายน (ร้อยละ 14) และพบน้อยที่สุดในเดือนธันวาคม (ร้อยละ 2) สำหรับ serotypes ของ V. parahaemolyticus นั้นพบทั้งหมด 60 O:K serotypes ที่พบมากที่สุดคือ O4:K10 (ร้อยละ 9) รองลงมาคือ O4:K8 (ร้อยละ 8.4), O4:K4 (ร้อยละ 7.4) และ O4:K11 (ร้อยละ 6.8) การกระจาย serotype ของ V. parahaemolyticus ในแต่ละเดือนพบว่า O4:K10 และ O4:K11 พบได้ถึง 11 เดือน

เมื่อศึกษาปฏิกิริยาทางชีวเคมี พบสายพันธุ์ V. parahaemolyticus ร้อยละ 77 เป็น Heiberg's type VII และร้อยละ 23 เป็น Heiberg's type V ร้อยละ 8 ของเชื้อที่แยกได้สามารถผลิตเอนไซม์ urease การศึกษา Kanagawa phenomenon หรือการสร้าง hemolysin ของเชื้อโดยดูการสลายเม็ดเลือดแดงบนอาหาร Wagatsuma และวิธีทางอิมมูโน-

วิทยา คือ Modified Elek's test พบว่าร้อยละ 83 ของเชื้อให้ผลบวก Kanagawa และร้อยละ 17 ให้ผลลบ วิธีการทั้งสองนี้ให้ผลไม่แตกต่างกัน เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ของคุณสมบัติต่าง ๆ ของ V. parahaemolyticus คือระหว่าง Heiberg's type กับการผลิตเอนไซม์ urease และระหว่าง Heiberg's type กับ hemolysin พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน ( $\chi^2$ ;  $P > 0.05$ ) ส่วนสายพันธุ์ที่ผลิตเอนไซม์ urease นั้นพบว่ามีความสัมพันธ์กับการที่ไม่สามารถผลิตสาร hemolysin ( $\chi^2$ ;  $P < 0.05$ ) สำหรับ V. parahaemolyticus สายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์ urease พบว่าเป็น serotypes O1:K1, O1:K69, O4:K46 และ O8:K39 โดยพบมากที่สุด ใน serotype O1:K1 (ร้อยละ 25) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะของอุจจาระกับ hemolysin และลักษณะของอุจจาระกับการสร้างเอนไซม์ urease พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $\chi^2$ ;  $P > 0.05$ ) การศึกษาความไวของ V. parahaemolyticus จากผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วงต่อยาต้านจุลชีพ 8 ชนิด พบร้อยละ 97.7 คือต่อยา ampicillin ร้อยละ 66.2 คือต่อยา colistin ร้อยละ 64.6 คือต่อ ampicillin กับ colistin และร้อยละ 0.2 คือต่อ ampicillin กับ chloramphenicol

การศึกษา plasmid profiles ของ V. parahaemolyticus พบว่าทุกสายพันธุ์มี plasmid อย่างน้อย 1 plasmid ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 15.0 เมกะดัลตัน พบเชื้อมี plasmid band เดียวร้อยละ 78, 2 bands ร้อยละ 21 และ 3 bands ร้อยละ 1 อย่างไรก็ตาม plasmid ที่พบนั้นยังไม่สามารถบอกได้ว่ามีความสัมพันธ์กับ Kanagawa phenomenon, การดื้อยาปฏิชีวนะ หรือการสร้างเอนไซม์ urease

Thesis Title                    Study on Biological and Genetic Characteristics  
   of Vibrio parahaemolyticus Isolated from  
   Diarrheal Patients

Name                                Nujjaree Nettip

Degree                             Master of Science (Public Health)  
   major in Infectious Diseases

Thesis Supervisory Committee

   Orasa Suthienkul, M.S. (Microbiol.)

   Suvanee Supavej, Dr. Univ. Louis Pasteur.

   Boonchuay Eampokalap, M.Sc. (Trop.Med.)

   Saovanee C. Dharmsthiti, Ph.D. (Genetics)

Date of Graduation            31 January B.E. 2535 (1992)

#### ABSTRACT

The study on biological and genetic characteristics of Vibrio parahaemolyticus was carried out in 5,357 stool samples collected from diarrheal patients attending Bamrasnaradura Infectious Diseases Hospital (BIDH), during April 1990 to March 1991. V. parahaemolyticus was isolated from 526 (9.8%) diarrheal patients of all age groups. High isolation rates of V. parahaemolyticus were commonly found in adult patients and the highest isolation rate was seen in the age group of 20-29 years old (31%). 2.7% of children under 5 years old was also infected with V. parahaemolyticus. V. parahaemolyticus gastroenteritis could be found throughout the year. The highest prevalence was noted in June (14%), and the lowest prevalence was in December (2%). V. parahaemolyticus typable isolates were found in 60 O:K serotypes. O4:K10 was the most dominant serotype found in 9%

followed by 04:K8 (8.4%), 04:K4 (7.4%), and 04:K11 (6.8%). 04:K10, and 04:K11 were the two serotypes most frequently found in eleven months of the year. These two serotypes might, therefore, be the most prevalent in the epidemiology of V. parahaemolyticus infection in Thailand.

The study of biochemical reactions showed that 77% of V. parahaemolyticus isolates were Heiberg's type VII, and 23% were type V. Only 8% of V. parahaemolyticus isolates produced urease enzyme. Eighty-three per cent and 17% of V. parahaemolyticus isolates were Kanagawa positive and negative, respectively when tested on Wagatsuma's medium or by the modified Elek's test. The sensitivity and specificity of modified Elek's test was the same as that of Kanagawa phenomenon on Wagatsuma's medium. The association between Heiberg's type and urease activity, and Heiberg's type and hemolysin activity of V. parahaemolyticus strains were not significant ( $\chi^2$ ;  $P > 0.05$ ). But it was found that V. parahaemolyticus strains with positive urease activity were significantly associated with negative hemolysin production ( $\chi^2$ ;  $P < 0.05$ ). All urease positive strains were found in serotypes 01:K1, 01:K69, 04:K46, and 08:K39 and the most prevalent serotype for urease positive strains was 01:K1 (25%). No association between types of diarrhea and urease activity, or types of diarrhea and hemolysin activity were found in this study ( $\chi^2$ ;  $P > 0.05$ ). Clinical V. parahaemolyticus strains were resistant to ampicillin (97.7%), colistin (66.2%), ampicillin and colistin (64.6%), and ampicillin and chloramphenicol (0.2%).

Plasmid DNA profiles of V. parahaemolyticus were studied. All isolates harbored at least one plasmid with the molecular weight over

15.0 mDa. A single plasmid band was seen in 78%, two bands in 21%, and three bands in 1%. However, the correlation between the presence of plasmids and the Kanagawa phenomenon, antibiotic resistance or the production of urease needs more in dept studies.

