

แบบฟอร์มบทคัดย่อ

ภาษาไทย

ส่วนที่ 1

ชื่อโครงการ การศึกษารูปแบบยีนต้านทานสารปฏิชีวนะของเชื้อเอนเทอโรโรแบคทีเรีย (enterobacteria) ที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์อาหารทะเล และการพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบชนิดของเชื้อ enterobacteria อย่างรวดเร็วโดยใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

ชื่อผู้วิจัย 1. รองศาสตราจารย์ ดร. นิลวรรณ พงศ์ศิลป์ (หัวหน้าโครงการ)
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
2. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พงศ์ระวี นิ่มน้อย (ผู้ร่วมวิจัย)
คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาเขตกำแพงแสน

แหล่งทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดินประจำปี 2557

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีที่เสร็จ พ.ศ. 2558

ประเภทการวิจัย การวิจัยประยุกต์

สาขาวิชา (อ้างอิงตามวช.) เกษตรศาสตร์และชีววิทยา

ส่วนที่ 2 บทคัดย่อ

จากการแยกเชื้อและประเมินจำนวนเชื้อเอนเทอโรโรแบคทีเรีย (enterobacteria) ในตัวอย่างอาหารทะเล 35 ตัวอย่างที่จำหน่ายในจังหวัดสมุทรสาคร จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และจังหวัดระยอง มีตัวอย่างที่ไม่พบเชื้อ enterobacteria จำนวน 2 ตัวอย่าง ตัวอย่างที่พบเชื้อ enterobacteria มีจำนวนตั้งแต่ 6.67 ± 5.77 ถึง $2.44 \times 10^5 \pm 5.75 \times 10^4$ colony forming unit (CFU)/กรัม ซึ่งแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้จำนวน 96 ไอโซเลต (isolate) จากการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อด้วยเทคนิค ERIC-PCR ซึ่งใช้ในการจำแนกสายพันธุ์ (strain) พบว่าได้รูปแบบ ERIC-PCR จำนวน 81 รูปแบบ ทำการทดสอบลักษณะทางสรีรวิทยาและชีวเคมีของเชื้อที่แยกได้จำนวน 81 สายพันธุ์ ได้แก่ 1) อุณหภูมิ ค่า pH และความเข้มข้นของ NaCl สำหรับการเจริญ 2) การสังเคราะห์เอนไซม์ protease, urease, catalase, amylase และ caseinase 3) รูปแบบการหมักน้ำตาล 4) รูปแบบการเกิดปฏิกิริยา decarboxylation และ 5) การทดสอบ IMViC จากการทดสอบความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ 10 ชนิด พบว่าร้อยละของจำนวนสายพันธุ์เชื้อ enterobacteria ที่สามารถต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ penicillin, vancomycin, erythromycin, ampicillin, tetracycline, chloramphenicol, streptomycin, neomycin และ kanamycin มีค่าเป็น 90.12, 76.54, 69.14, 61.73, 22.22, 3.70, 3.70, 2.47 และ 1.23 ตามลำดับ ในขณะที่ไม่มีเชื้อสายพันธุ์ใดที่ต้านทาน gentamycin เชื้อที่พบว่ามีฟลาสมิดมีจำนวน

16 สายพันธุ์ โดยมีพลาสมิด 1-5 ชิ้น ขนาดตั้งแต่ 1.7 ถึง 19.0 กิโลเบส จากการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อด้วยเทคนิค TP-RAPD ซึ่งใช้ในการจำแนกชนิด (species) พบว่าได้รูปแบบ TP-RAPD จำนวน 16 รูปแบบ จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA ของเชื้อตัวแทนจากแต่ละรูปแบบ TP-RAPD พบว่าเชื้อมีร้อยละของระดับความเหมือน (% identity) เท่ากับ 98%-99% กับยีน 16S rDNA ของเชื้อ enterobacteria ใน 6 สกุล (genus) ได้แก่ *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Providencia*, *Serratia* และ *Yersinia* จากการศึกษาในด้านทฤษฎีพบว่าเชื้อในสกุล *Enterobacter* และ *Providencia* มียีน *ampC* เชื้อในสกุล *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Providencia* และ *Serratia* มียีน *blaTEM* เชื้อในสกุล *Enterobacter* และ *Providencia* มียีน *shv* รวมถึงเชื้อในสกุล *Klebsiella* และ *Providencia* มียีน *ermB* เชื้อตัวแทนที่มียีนควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์ในกลุ่ม β -lactamase มีค่ากิจกรรมตั้งแต่ 1.96 ± 0.88 ถึง 11.30 ± 0.37 ไมโครโมลของ nitrocefin ที่ถูกย่อยสลาย/นาทิ/มิลลิกรัมโปรตีน

คำสำคัญ : เอนเทอร์โรแบคทีเรีย; ลักษณะทางพันธุกรรม; ลักษณะทางชีวเคมี; enterobacterial repetitive intergenic consensus-polymerase chain reaction (ERIC-PCR); two primers-random amplified polymorphic DNA (TP-RAPD); ยีนด้านทฤษฎี; ยีน 16S ribosomal RNA (16S rDNA)

ภาษาอังกฤษ

ส่วนที่ 1

Research Title Antibiotic Resistance Gene Patterns of Enterobacteria Isolated from Seafood Products and Development of a Rapid Technique for Species Identification of Enterobacteria by Using DNA Fingerprints

Researcher 1. Associate Professor Dr. Neelawan Pongsilp (Project Leader)
Faculty of Science, Silpakorn University
2. Assistant Professor Dr. Pongrawee Nimnoi (Co-Researcher)
Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University
Kamphaeng Sean Campus

Research Grants Fiscal Year 2015,
Research and Development Institute, Silpakorn University

Year of completion 2016

Type of research Applied Research

Subjects (based NRCT) Agriculture and Biology

ส่วนที่ 2 Abstract (ไม่เกิน 250 คำ)

Enterobacteria were isolated from 35 samples of seafood sold in markets in Samutsakhon, Prachuapkhirikhun and Rayong provinces. The numbers of enterobacteria presented in these samples

were enumerated. No enterobacteria was detected in 2 samples, while other samples contained enterobacteria varying from 6.67 ± 5.77 to $2.44 \times 10^5 \pm 5.75 \times 10^4$ colony forming unit (CFU)/gram. The total 96 pure isolates were obtained. Based on DNA fingerprint analysis with ERIC-PCR which has been used in strain characterization, 81 ERIC-PCR patterns were derived. The 81 isolated strains were subjected to physiological and biochemical characterizations including 1) temperatures, pH values and NaCl concentrations for growth 2) syntheses of protease, urease, catalase, amylase and caseinase 3) sugar fermentation patterns 4) decarboxylation reaction patterns and 5) IMViC test. Determination of the resistance to 10 antibiotics revealed that 90.12%, 76.54%, 69.14%, 61.73%, 22.22%, 3.70%, 3.70%, 2.47% and 1.23% of numbers of enterobacterial strains were resistant to penicillin, vancomycin, erythromycin, ampicillin, tetracycline, chloramphenicol, streptomycin, neomycin and kanamycin, respectively, whereas none was resistant to gentamycin. The 16 strains were found to possess plasmids varying from 1 to 5 in number and from 1.7 to 19.0 kilobase in size. Based on DNA fingerprint analysis with TP-RAPD which has been used in species characterization, 16 TP-RAPD patterns were derived. The 16S rDNA sequences of the representative strains from each TP-RAPD pattern exhibited 98%-99% identities to those of enterobacteria in 6 genera including *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Providencia*, *Serratia* and *Yersinia*. The *ampC* gene was found in the strains of *Enterobacter* and *Providencia*. The *blaTEM* gene could be detected in the strains of *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Providencia* and *Serratia*. The strains of *Enterobacter* and *Providencia* possessed the *shv* gene. The strains of *Klebsiella* and *Providencia* contained the *ermB* gene. The representative strains possessing β -lactamase genes exhibited β -lactamase activity ranging from 1.96 ± 0.88 to 11.30 ± 0.37 micromole of hydrolysed nitrocefin/min/mg protein.

Key words : enterobacteria; genotypic characteristic; biochemical characteristic; enterobacterial repetitive intergenic consensus-polymerase chain reaction (ERIC-PCR); two primers-random amplified polymorphic DNA (TP-RAPD); antibiotic resistance gene; 16S ribosomal RNA gene (16S rDNA)