

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความชุกของ <i>Listeria monocytogenes</i> ในเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อบางพื้นที่ของจังหวัดเชียงใหม่
ผู้เขียน	นายสุภโชค ไชโย
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยาประยุกต์)
อาจารย์ที่ปรึกษา	อ. ดร. จอมขวัญ มีรักษ

## บทคัดย่อ

*Listeria monocytogenes* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่พบปนเปื้อนในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ ก่อโรค listeriosis มีอาการสมองอักเสบ เชื้อหุ้มสมองอักเสบ การติดเชื้อในเลือด การแท้ง จึงเป็นแบคทีเรียที่เป็นข้อจำกัดสำหรับการจำหน่ายเนื้อสัตว์ การศึกษาการปนเปื้อนแบคทีเรียในเนื้อและผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่วางจำหน่ายในประเทศไทยมีน้อยมาก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาความชุกของเชื้อในตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ตจากบางอำเภอของจังหวัดเชียงใหม่ การสุ่มเก็บตัวอย่างเนื้อและผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์จากตลาดสด ร้านค้าปลีกย่านชุมชน และซูเปอร์มาร์เก็ตแล้วนำมาตรวจหา *L. monocytogenes* ด้วยอาหารคัดเลือก Fraser และ PALCAM ตามด้วยการทดสอบการเคลื่อนที่และทดสอบ CAMP จาก 157 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน 17 ตัวอย่าง (10.83%) โดยแยกได้เป็น 107 ไอโซเลต เมื่อนำมาตรวจหา ยีน *inlA* ซึ่งเป็นยีนที่จำเพาะต่อสปีชีส์ *L. monocytogenes* พบเพียง 68 ไอโซเลต (63.55%) ส่วนยีน *prs* ซึ่งจำเพาะในระดับจีโนมพบทุกไอโซเลต การจัดจำแนกซีโรทัยป์ด้วยวิธี serotyping พบ 3 ซีโรทัยป์คือ ซีโรทัยป์ 1/2a 1/2b และ 4b อย่างไรก็ตาม การจัดกลุ่มด้วยวิธี ERIC-PCR พบว่าทั้ง 3 ซีโรทัยป์แบ่งได้ 3 กลุ่มใหญ่ โดยมีความสัมพันธ์กับชนิดเนื้อสัตว์ กล่าวคือ ไอโซเลตที่แยกจากไส้กรอกและปลาจะอยู่ในกลุ่มใหญ่ชัดเจน ขณะที่ไอโซเลตที่แยกจากไก่และเนื้อหมูจะอยู่ในกลุ่มเดียวกัน เลือกไอโซเลตของตัวแทนของทั้ง 3 ซีโรทัยป์มา 12 ไอโซเลตทดสอบการบุกรุกเข้าสู่เซลล์กับเซลล์ไลน์ Caco-2 พบว่าทั้งหมดบุกรุกเข้าสู่เซลล์ได้ โดยไอโซเลต LSSn014 ซึ่งอยู่ในซีโรทัยป์ 4b มีค่าดัชนีการบุกรุกเข้าสู่เซลล์สูงสุด 2.733% และต่ำสุดคือไอโซเลต LSS026 ซึ่งอยู่ในซีโรทัยป์ 4b มีค่าดัชนีการบุกรุกเข้าสู่เซลล์ 0.034% และการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ 9 ชนิดที่ใช้รักษาโรค listeriosis พบว่า ทั้ง 68 ไอโซเลตไวต่อยาปฏิชีวนะ ampicillin, chloramphenicol, gentamicin และ tetracycline แต่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ ceftazidime

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยแรกที่รายงานความชุกของเชื้อนี้ถึงระดับซีโรทัยป์และตรวจความสัมพันธ์กับชนิดเนื้อสัตว์ด้วย ซึ่งช่วยทำนายโอกาสเกิดการระบาดของเชื้อในอนาคตและแนวทางการป้องกันการติดเชื้อได้ นอกจากนี้ข้อมูลความไวต่อยาปฏิชีวนะสามารถให้แพทย์นำไปใช้ประโยชน์ในการรักษา listeriosis ในประเทศไทย

<b>Thesis Title</b>	Prevalence of <i>Listeria monocytogenes</i> in Meats and Meat Products in Some Areas of Chiang Mai Province
<b>Author</b>	Mr. Suppachot Chaiyo
<b>Degree</b>	Master of Science (Applied Microbiology)
<b>Advisor</b>	Dr. Jomkhwan Meerak

## ABSTRACT

*Listeria monocytogenes* is a gram positive bacteria which is regularly found to contaminate in raw meats and meat products and cause listeriosis result in several symptoms such as encephalitis, meningitis, septicemia and abortion. Prevalence of this bacteria in meats and their products has been rarely studied. For this reason, meats and meat products collected from local markets and supermarket in some area of Chiang Mai Province were determined the distribution of *L. monocytogenes*. In addition, seroprevalence of the isolates and cell invasion assay will be investigated. Samples were randomly selected and preliminary screening by selective media (Fraser and PALCAM) follow by motility and CAMP test and 17 of 157 samples (10.83%) were detectable. Total 107 isolates obtained from those positive samples were further confirmed by PCR amplification of *inlA* and *prs* genes. Among these, only 68 isolates (63.55%) expressed *inlA* gene which referred to *L. monocytogenes*. In addition, *prs* gene, a genus specific gene, was found in all isolates. Further identification of the isolates by serology test revealed 3 major virulent serotypes 1/2a, 1/2b and 4b. However, these 3 serotypes were divided into 3 major groups when classified by ERIC-PCR which each group showed relationship to isolation source. Isolates from sausage and fish were separately clustered into 2 groups, whereas those obtained from chicken and pork were placed in the same group. Twelve representative isolates of those virulent serotypes were determined for cell invasion assay in Caco-2 cell at MOI 10:1. All had ability to invade cell which the index ranging from 0.03 to 2.7%. The isolate LSSn014 had highest infection ability of 2.733% and isolate LSS026 showed lowest invasion ability (0.034%). Both isolates are serotype 4b.

Antibiotic susceptibility test of those 68 isolates showed that all were sensitive to ampicillin, chloramphenicol, gentamicin and tetracycline, however resisted to ceftazidime.

This study is the first report on seroprevalence of *L. monocytogenes* and their relationship with type of meat. This data will help prediction the epidemiology and prevention. In addition, the result of antibiotic susceptibility test may be useful for future treatment of listeriosis in Thailand.