

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

การทดสอบยืนยันเชื้อ *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วง ที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลนครปฐม จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนมิถุนายน 2551 ถึงเดือนพฤศจิกายน 2552 จำนวนทั้งสิ้น 70 ไอโซเลท (isolates) พบว่าเป็นเชื้อ *V. parahaemolyticus* ทุก ไอโซเลท และจากการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อโดยการศึกษาคุณสมบัติทางฟิโนทัยป์และจีโนทัยป์ ได้ผลดังนี้

#### 1. การจำแนกสายพันธุ์ของ *V. parahaemolyticus* ทางฟิโนทัยป์ โดยการศึกษาแบบแผนการดื้อยาของเชื้อ (antibiotyping) ด้วยวิธี disc diffusion

การจำแนกสายพันธุ์ของ *V. parahaemolyticus* ทางฟิโนทัยป์ โดยการศึกษาแบบแผนการดื้อยาของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ (antibiotyping) จำนวน 12 ชนิด ได้แก่ ampicillin (10 µg), ceftriaxone (30 µg), cephalothin (30 µg), chloramphenicol (30 µg), ciprofloxacin (5 µg), gentamicin (10 µg), nitrofurantoin (300 µg), norfloxacin (10 µg), oxytetracycline (30 µg), sulfisoxazole (250 µg), tetracycline (30 µg) และ trimethoprim/sulfamethoxazole (1.25/23.75 µg) จากการศึกษาพบว่า *V. parahaemolyticus* ทั้ง 70 ไอโซเลท ให้ผลการทดสอบดื้อ (resistant) ต่อยา ampicillin และไว (susceptible) ต่อยา ceftriaxone, cephalothin, chloramphenicol, ciprofloxacin, gentamicin, nitrofurantoin, norfloxacin, oxytetracycline, sulfisoxazole, tetracycline และ trimethoprim/sulfamethoxazole (ตารางที่ 4.1) ซึ่งเป็นแบบแผนการดื้อยา (antibiotyping) แบบแผนเดียวที่พบ ทำให้สามารถจำแนกสายพันธุ์ของ *V. parahaemolyticus* ได้เป็นเพียง 1 สายพันธุ์ (Ant-1)













ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

ไอโซเลท (Isolates)	Susceptibility to *												Antibio- type	
	AM	CRO	CF	C	CIP	GM	NIT	NOR	OTC	SOX	TE	SXT		
VPS-67	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	Ant-1
VPS-68	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	Ant-1
VPS-69	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	Ant-1
VPS-70	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	Ant-1

หมายเหตุ AM = ampicillin (10 µg), PRO = ceftriaxone (30 µg), CF = cephalothin (30 µg), C = chloramphenicol (30 µg), CIP = ciprofloxacin (5 µg),  
 GM = gentamicin (10 µg), NIT = nitrofurantoin (300 µg), NOR = norfloxacin (10 µg), OTC = oxytetracycline (30 µg),  
 SOX = sulfisoxazole (250 µg), TE = tetracycline (30 µg), SXT = trimethoprim/sulfamethoxazole (1.25/23.75 µg)

\* R = Resistant

S = Susceptible

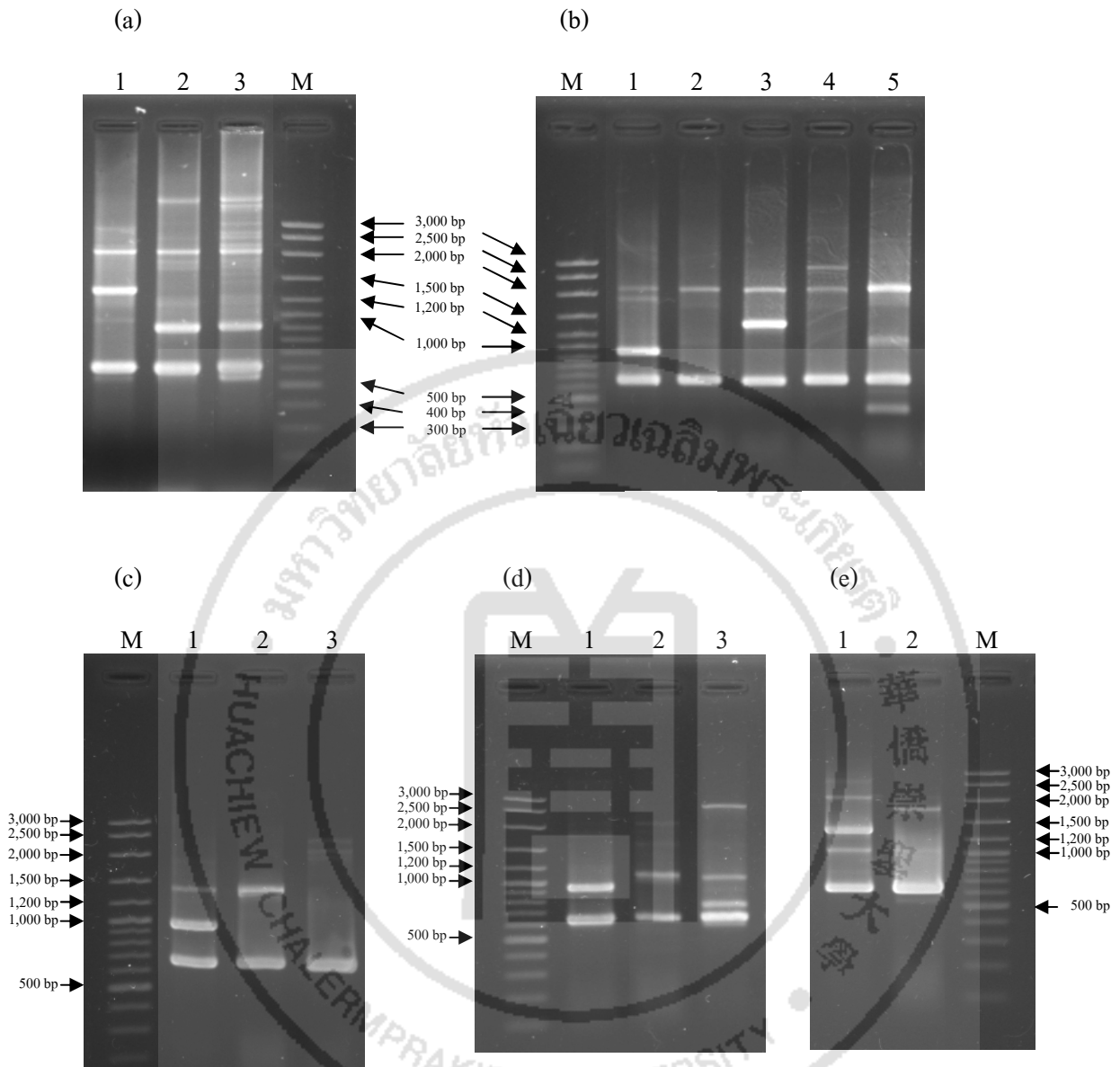


## 2. การจำแนกสายพันธุ์ของ *V. parahaemolyticus* ทางจีโนมด้วยวิธี arbitrarily-primed polymerase chain reaction (AP-PCR)

จากการจำแนกสายพันธุ์ของ *V. parahaemolyticus* ทั้ง 70 ไอโซเลท โดยวิธี arbitrarily-primed polymerase chain reaction (AP-PCR) ได้สภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อคือ denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที annealing ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที โดยทำปฏิกิริยาทั้งสิ้นจำนวน 45 รอบ ได้ PCR product ที่มีความแตกต่างหลากหลาย จำนวน 1 ถึง 4 แถบ (bands) โดยมีขนาดระหว่าง  $450 \pm 20$  base pair ถึง  $2,700 \pm 20$  base pair เมื่อเปรียบเทียบกับ DNA มาตรฐาน (100-1,500 base pair ladder DNA marker) ทำให้สามารถจำแนก *V. parahaemolyticus* เป็นสายพันธุ์ต่างๆ ทั้งสิ้น 16 สายพันธุ์ แต่ละสายพันธุ์มี AP-PCR pattern ที่แตกต่างกัน ได้แก่ AP-A, AP-B, AP-C, AP-D, AP-E, AP-F, AP-G, AP-H, AP-I, AP-J, AP-K, AP-L, AP-M, AP-N, AP-O และ AP-P (ตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.1) AP-PCR pattern ที่พบส่วนใหญ่คือ AP-O, AP-L, AP-D และ AP-F พบจำนวน 12, 11, 10 และ 10 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 17.14 (12/70), 15.71 (11/70), 14.29 (10/70) และ 14.29 (10/70) ตามลำดับ ขณะที่ AP-PCR pattern AP-A, AP-B, AP-C, AP-E, AP-G, AP-H, AP-I, AP-J, AP-K, AP-M, AP-N และ AP-P พบจำนวน 2, 3, 1, 4, 2, 1, 1, 6, 2, 2, 2 และ 1 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 2.86, 4.29, 1.43, 5.71, 2.86, 1.43, 1.43, 8.57, 2.86, 2.86, 2.86 และ 1.43 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.2 AP-PCR patterns ของ *V. parahaemolyticus* จำแนกตามขนาดและจำนวนของ PCR product

AP-PCR patterns	ขนาดของ PCR product (bp)
AP-A	2,100 ± 20, 1,350 ± 20, 600 ± 20
AP-B	2,100 ± 20, 950 ± 20, 600 ± 20
AP-C	2,100 ± 20, 950 ± 20, 650 ± 20, 550 ± 20
AP-D	2,100 ± 20, 1,800 ± 20, 950 ± 20, 650 ± 20
AP-E	2,100 ± 20, 650 ± 20
AP-F	2,100 ± 20, 1,350 ± 20, 650 ± 20
AP-G	2,700 ± 20, 2,100 ± 20, 650 ± 20
AP-H	2,100 ± 20, 1,100 ± 20, 650 ± 20, 450 ± 20
AP-I	1,350 ± 20, 950 ± 20, 650 ± 20
AP-J	1,350 ± 20, 650 ± 20
AP-K	650 ± 20
AP-L	950 ± 20, 650 ± 20
AP-M	1,100 ± 20, 650 ± 20
AP-N	2,700 ± 20, 1,100 ± 20, 750 ± 20, 650 ± 20
AP-O	2,100 ± 20, 1,350 ± 20, 1,100 ± 20, 600 ± 20
AP-P	1,800 ± 20, 1,100 ± 20, 600 ± 20



ภาพที่ 4.1 Agarose gel electrophoresis แสดง AP-PCR patterns ของ *V. parahaemolyticus*

- (a) Lanes: 1, pattern AP-A; 2, pattern AP-B; 3, pattern AP-C  
 (b) Lanes: 1, pattern AP-D; 2, pattern AP-E; 3, pattern AP-F; 4, pattern AP-G; 5, pattern AP-H  
 (c) Lanes: 1, pattern AP-I; 2, pattern AP-J; 3, pattern AP-K  
 (d) Lanes: 1, pattern AP-L; 2, pattern AP-M; 3, pattern AP-N  
 (e) Lanes: 1, pattern AP-O; 2, pattern AP-P

Lane M, 100-1,500 base pair ladder DNA marker

ตารางที่ 4.3 จำนวนและร้อยละของ *V. parahaemolyticus* ที่พบในแต่ละ AP-PCR pattern

AP-PCR patterns	ไอโซเลต	จำนวนไอโซเลต (ร้อยละ)
AP-A	VPS-01, VPS-12	2 (2.86)
AP-B	VPS-03, VPS-06, VPS-17	3 (4.29)
AP-C	VPS-05	1 (1.43)
AP-D	VPS-02, VPS-10, VPS-13, VPS-14, VPS-21, VPS-22, VPS-23, VPS-33, VPS-42, VPS-43	10 (14.29)
AP-E	VPS-20, VPS-31, VPS-47, VPS-66	4 (5.71)
AP-F	VPS-08, VPS-09, VPS-11, VPS-16, VPS-24, VPS-30, VPS-38, VPS-48, VPS-56, VPS-67	10 (14.29)
AP-G	VPS-40, VPS-46	2 (2.86)
AP-H	VPS-51	1 (1.43)
AP-I	VPS-50	1 (1.43)
AP-J	VPS-27, VPS-28, VPS-29, VPS-32, VPS-35, VPS-53	6 (8.57)
AP-K	VPS-54, VPS-58	2 (2.86)
AP-L	VPS-34, VPS-36, VPS-37, VPS-49, VPS-52, VPS-55, VPS-57, VPS-61, VPS-62, VPS-63, VPS-65	11 (15.71)
AP-M	VPS-59, VPS-64	2 (2.86)
AP-N	VPS-60, VPS-70	2 (2.86)
AP-O	VPS-04, VPS-07, VPS-15, VPS-18, VPS-19, VPS-25 VPS-26, VPS-39, VPS-41, VPS-44, VPS-45, VPS-68	12 (17.14)
AP-P	VPS-69	1 (1.43)

### 3. การจำแนกสายพันธุ์ของ *V. parahaemolyticus* ทางจีโนมด้วยวิธี enterobacterial repetitive intergenic consensus sequence-polymerase chain reaction (ERIC-PCR)

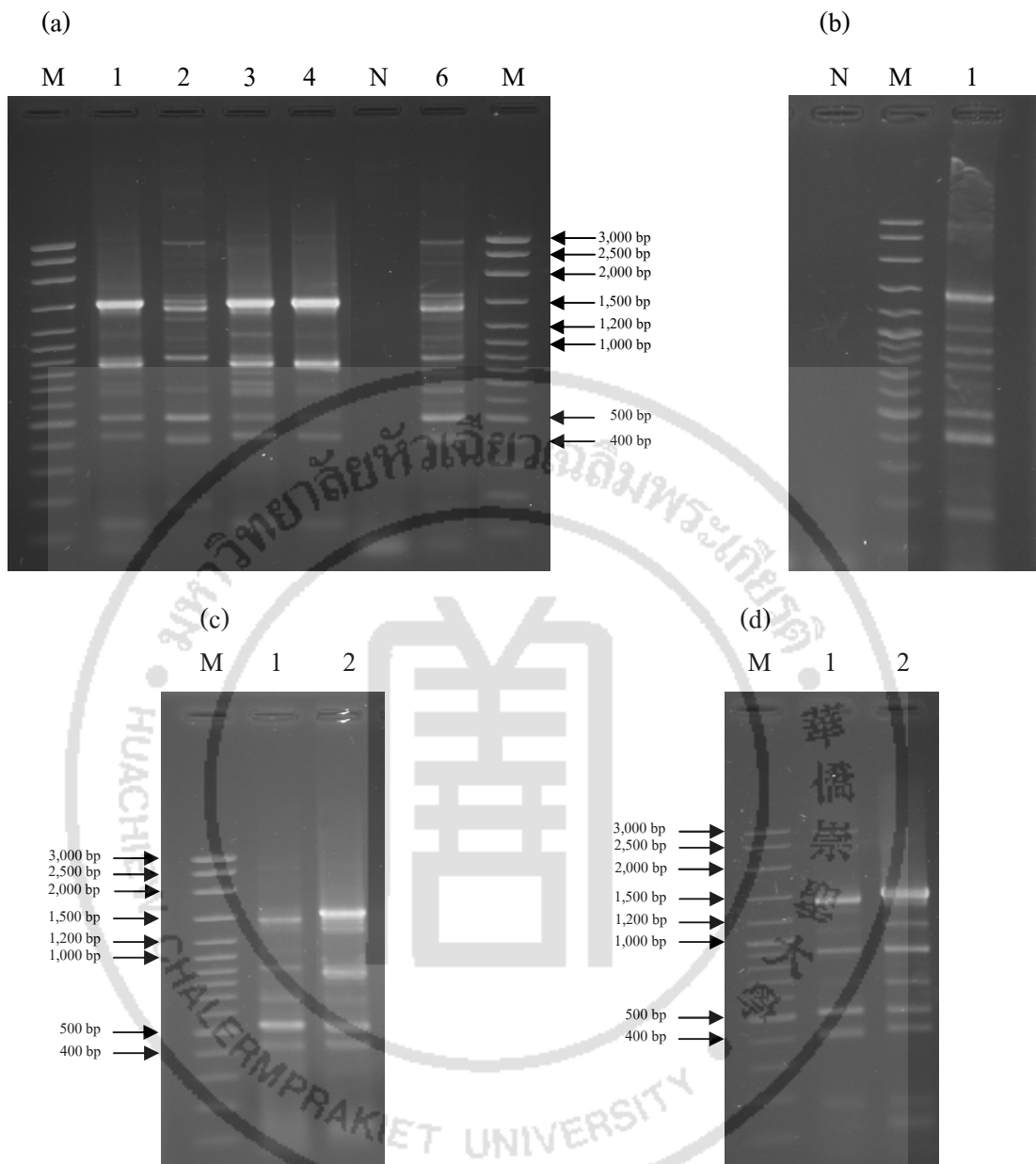
จากการจำแนกสายพันธุ์ของ *V. parahaemolyticus* ทั้ง 70 ไอโซเลท โดยวิธี enterobacterial repetitive intergenic consensus sequence-polymerase chain reaction (ERIC-PCR) ได้สภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อคือ denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที annealing ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 45 วินาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที โดยทำปฏิกิริยาทั้งสิ้นจำนวน 30 รอบ ได้ PCR product ที่มีความแตกต่างหลากหลาย จำนวน 1 ถึง 10 แถบ (bands) โดยมีขนาดระหว่าง  $410 \pm 20$  base pair ถึง  $2,800 \pm 20$  base pair เมื่อเปรียบเทียบกับขนาด DNA มาตรฐาน (100-1,500 base pair ladder DNA marker) ทำให้สามารถจำแนก *V. parahaemolyticus* เป็นสายพันธุ์ต่างๆ ทั้งสิ้น 24 สายพันธุ์ แต่ละสายพันธุ์มี ERIC-PCR pattern ที่แตกต่างกัน ได้แก่ ERIC-1, ERIC-2, ERIC-3, ERIC-4, ERIC-5, ERIC-6, ERIC-7, ERIC-8, ERIC-9, ERIC-10, ERIC-11, ERIC-12, ERIC-13, ERIC-14, ERIC-15, ERIC-16, ERIC-17, ERIC-18, ERIC-19, ERIC-20, ERIC-21, ERIC-22, ERIC-23 และ ERIC-24 (ตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.2) และจากการศึกษาพบว่า ERIC-PCR pattern ที่มีอุบัติการณ์มากที่สุดคือ ERIC-3 พบจำนวน 13 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 18.57 (13/70) ขณะที่ ERIC-PCR pattern ERIC-1, ERIC-2, ERIC-4, ERIC-5, ERIC-6, ERIC-7, ERIC-8, ERIC-9, ERIC-10, ERIC-11, ERIC-12, ERIC-13, ERIC-14, ERIC-15, ERIC-16, ERIC-17, ERIC-18, ERIC-19, ERIC-20, ERIC-21, ERIC-22, ERIC-23 และ ERIC-24 พบจำนวน 4, 3, 7, 5, 1, 3, 4, 3, 8, 2, 1, 2, 1, 1, 1, 1, 2, 1, 1, 1, 1, 3 และ 1 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 5.71, 4.29, 10.00, 7.14, 1.43, 4.29, 5.71, 4.29, 11.43, 2.86, 1.43, 2.86, 1.43, 1.43, 1.43, 2.86, 1.43, 1.43, 1.43, 1.43, 4.29 และ 1.43 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.4 ERIC-PCR patterns ของ *V. parahaemolyticus* จำแนกตามขนาดและจำนวนของ PCR product

ERIC-PCR patterns	ขนาดของ PCR product (bp)
ERIC-1	1,500 ± 20, 925 ± 20, 875 ± 20, 675 ± 20, 525 ± 20, 425 ± 20
ERIC-2	2,800 ± 20, 1,500 ± 20, 1,400 ± 20, 1,300 ± 20, 925 ± 20, 675 ± 20, 525 ± 20, 410 ± 20
ERIC-3	1,500 ± 20, 1,150 ± 20, 925 ± 20, 875 ± 20, 800 ± 20, 725 ± 20, 675 ± 20, 525 ± 20, 425 ± 20
ERIC-4	1,500 ± 20, 875 ± 20, 675 ± 20, 525 ± 20, 425 ± 20
ERIC-5	2,800 ± 20, 1,600 ± 20, 1,400 ± 20, 1,300 ± 20, 1,100 ± 20, 925 ± 20, 800 ± 20, 675 ± 20, 525 ± 20, 410 ± 20
ERIC-6	2,800 ± 20, 1,400 ± 20, 1,100 ± 20, 925 ± 20, 800 ± 20, 675 ± 20, 525 ± 20, 410 ± 20
ERIC-7	1,400 ± 20, 925 ± 20, 675 ± 20, 525 ± 20, 410 ± 20
ERIC-8	1,500 ± 20, 1,300 ± 20, 875 ± 20, 675 ± 20, 525 ± 20, 425 ± 20
ERIC-9	2,800 ± 20, 1,400 ± 20, 925 ± 20, 675 ± 20, 525 ± 20, 410 ± 20
ERIC-10	1,500 ± 20, 1,150 ± 20, 925 ± 20, 675 ± 20, 525 ± 20, 425 ± 20
ERIC-11	1,500 ± 20, 1,150 ± 20, 1,000 ± 20, 800 ± 20, 675 ± 20, 525 ± 20, 410 ± 20
ERIC-12	1,500 ± 20, 1,150 ± 20, 1,000 ± 20, 925 ± 20, 800 ± 20, 675 ± 20, 525 ± 20, 410 ± 20
ERIC-13	1,500 ± 20, 525 ± 20, 425 ± 20
ERIC-14	1,000 ± 20, 925 ± 20, 875 ± 20, 800 ± 20, 675 ± 20, 525 ± 20, 410 ± 20

ตารางที่ 4.4 (ต่อ)

ERIC-PCR patterns	ขนาดของ PCR product (bp)
ERIC-15	1,500 ± 20, 1,150 ± 20, 1,000 ± 20, 800 ± 20, 675 ± 20, 525 ± 20, 425 ± 20
ERIC-16	1,500 ± 20, 875 ± 20, 675 ± 20, 525 ± 20, 410 ± 20
ERIC-17	1,500 ± 20
ERIC-18	1,500 ± 20, 925 ± 20, 525 ± 20, 410 ± 20
ERIC-19	1,500 ± 20, 625 ± 20, 525 ± 20, 425 ± 20
ERIC-20	2,800 ± 20, 1,500 ± 20, 1,400 ± 20, 1,150 ± 20, 800 ± 20, 675 ± 20, 575 ± 20, 525 ± 20, 410 ± 20
ERIC-21	2,800 ± 20, 1,500 ± 20, 1,400 ± 20, 1,150 ± 20, 1,000 ± 20, 925 ± 20, 800 ± 20, 675 ± 20, 525 ± 20, 425 ± 20
ERIC-22	2,800 ± 20, 1,500 ± 20, 1,400 ± 20, 1,300 ± 20, 1,150 ± 20, 800 ± 20, 675 ± 20, 525 ± 20, 410 ± 20
ERIC-23	1,500 ± 20, 1,150 ± 20, 675 ± 20, 525 ± 20, 410 ± 20
ERIC-24	1,500 ± 20, 1,150 ± 20, 800 ± 20, 675 ± 20, 575 ± 20, 525 ± 20, 410 ± 20



ภาพที่ 4.2 Agarose gel electrophoresis แสดง ERIC-PCR patterns ของ *V. parahaemolyticus*

(a) Lanes: 1, pattern ERIC-1; 2, pattern ERIC-2; 3, pattern ERIC-3; 4, pattern ERIC-4;

5, pattern ERIC-5

(b) Lane: 1, pattern ERIC-6

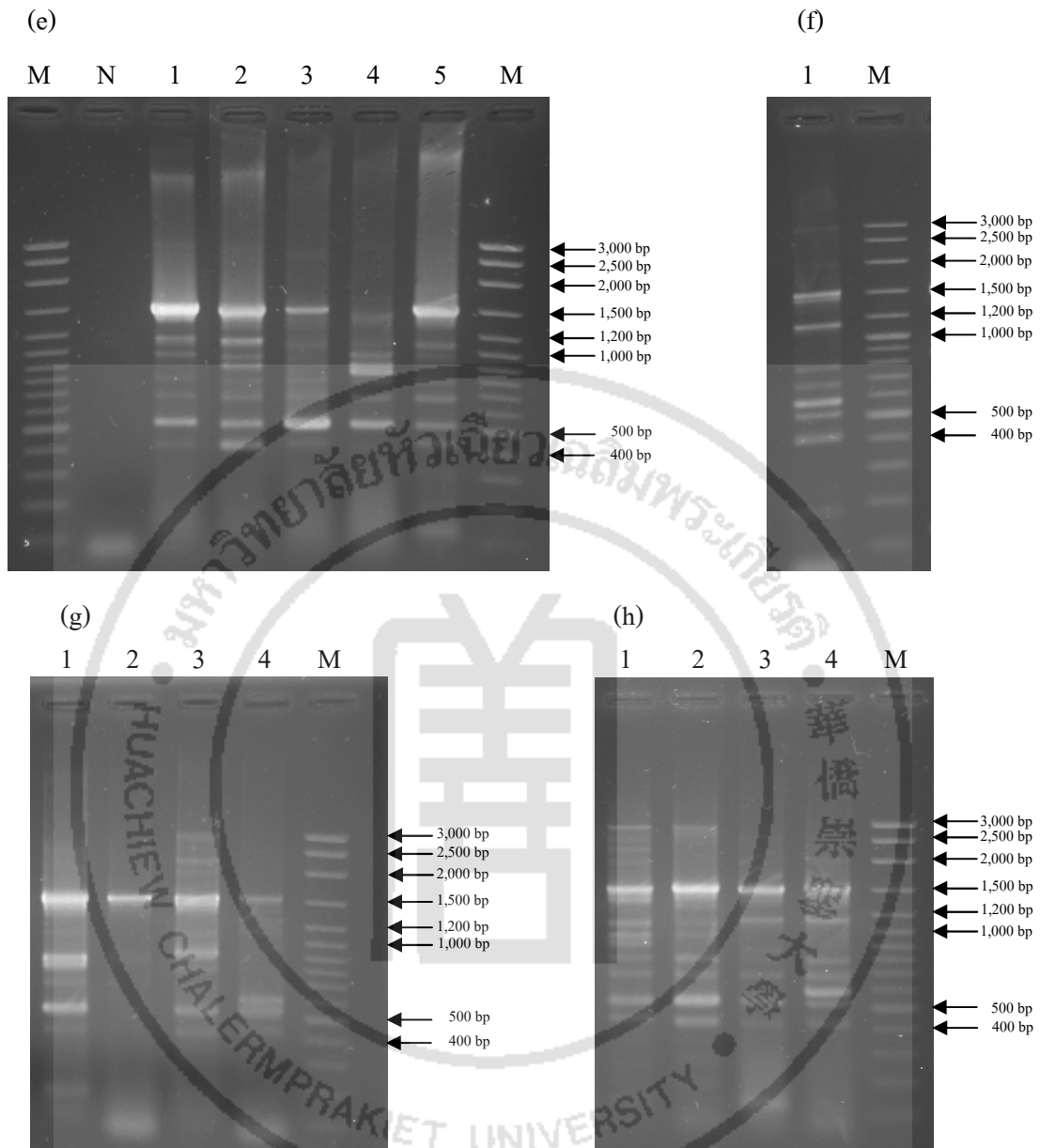
(c) Lanes: 1, pattern ERIC-7; 2, pattern ERIC-8

(d) Lanes: 1, pattern ERIC-9; 2, pattern ERIC-10

Lane: N, Negative control (Sterile UltraPure water)

Lane: M, 100-1,500 base pair ladder DNA marker





#### ภาพที่ 4.2 (ต่อ)

(e) Lanes: 1, pattern ERIC-11; 2, pattern ERIC-12; 3, pattern ERIC-13; 4, pattern ERIC-14;  
5, pattern ERIC-15

(f) Lane: 1, pattern ERIC-20

(g) Lanes: 1, pattern ERIC-16; 2, pattern ERIC-17; 3, pattern ERIC-18; 4, pattern ERIC-19

(h) Lanes: 1, pattern ERIC-21; 2, pattern ERIC-22; 3, pattern ERIC-23; 4, pattern ERIC-24

Lane: N, Negative control (Sterile UltraPure water)

Lane: M, 100-1,500 base pair ladder DNA marker

ตารางที่ 4.5 จำนวนและร้อยละของ *V. parahaemolyticus* ที่พบในแต่ละ ERIC-PCR pattern

ERIC-PCR patterns	ไอโซเลต	จำนวนไอโซเลต (ร้อยละ)
ERIC-1	VPS-03, VPS-07, VPS-65, VPS-68	4 (5.71)
ERIC-2	VPS-04, VPS-28, VPS-48	3 (4.29)
ERIC-3	VPS-05, VPS-22, VPS-23, VPS-30, VPS-33, VPS-34, VPS-36, VPS-37, VPS-42, VPS-44, VPS-45, VPS-61, VPS-62	13 (18.57)
ERIC-4	VPS-06, VPS-13, VPS-17, VPS-21, VPS-43, VPS-49, VPS-52	7 (10.00)
ERIC-5	VPS-12, VPS-24, VPS-35, VPS-39, VPS-41	5 (7.14)
ERIC-6	VPS-11	1 (1.43)
ERIC-7	VPS-15, VPS-16, VPS-25	3 (4.29)
ERIC-8	VPS-18, VPS-19, VPS-26, VPS-27	4 (5.71)
ERIC-9	VPS-29, VPS-38, VPS-50	3 (4.29)
ERIC-10	VPS-01, VPS-02, VPS-08, VPS-09, VPS-10, VPS-14, VPS-32, VPS-55	8 (11.43)
ERIC-11	VPS-20, VPS-31	2 (2.86)
ERIC-12	VPS-40	1 (1.43)
ERIC-13	VPS-51, VPS-58	2 (2.86)
ERIC-14	VPS-53	1 (1.43)
ERIC-15	VPS-54	1 (1.43)
ERIC-16	VPS-56	1 (1.43)

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ERIC-PCR patterns	ไอโซเลต	จำนวนไอโซเลต (ร้อยละ)
ERIC-17	VPS-57	1 (1.43)
ERIC-18	VPS-59, VPS-64	2 (2.86)
ERIC-19	VPS-60	1 (1.43)
ERIC-20	VPS-63	1 (1.43)
ERIC-21	VPS-66	1 (1.43)
ERIC-22	VPS-67	1 (1.43)
ERIC-23	VPS-46, VPS-47, VPS-69	3 (4.29)
ERIC-24	VPS-70	1 (1.43)

เมื่อพิจารณาการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อทางจีโนมัยโดยวิธี AP-PCR และ ERIC-PCR พบว่าการแปลผลร่วมกันระหว่าง AP-PCR pattern และ ERIC-PCR pattern ของเชื้อแต่ละไอโซเลต ทำให้สามารถจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อได้หลากหลายมากขึ้น โดยสามารถจำแนกเชื้อได้ทั้งสิ้น 48 สายพันธุ์ แต่ละสายพันธุ์มี AP-PCR pattern และ ERIC-PCR pattern ที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4.6 และ 4.7) AP/ERIC-PCR patterns ส่วนใหญ่ที่พบ ได้แก่ L/E3, D/E3, D/E4, D/E10, O/E8, B/E4, E/E11, F/E10, L/E4, M/E18, O/E1, O/E3, O/E5 และ O/E7 พบจำนวน 5, 4, 3, 3, 3, 2, 2, 2, 2, 2, 2, 2 และ 2 ไอโซเลต คิดเป็นร้อยละ 7.14, 5.71, 4.29, 4.29, 4.29, 2.86, 2.86, 2.86, 2.86, 2.86, 2.86, 2.86 และ 2.86 ตามลำดับ ขณะที่ AP/ERIC-PCR patterns A/E5, A/E10, B/E1, C/E3, E/E12, E/E23, F/E2, F/E3, F/E5, F/E6, F/E7, F/E9, F/E16, F/E22, G/E12, G/E23, H/E13, I/E9, J/E2, J/E5, J/E8, J/E9, J/E10, J/E14, K/E13, K/E5, L/E1, L/E10, L/E17, L/E20, N/E19, N/E24, O/E2 และ P/E23 พบเพียงสายพันธุ์ละ 1 ไอโซเลต (ร้อยละ 1.43) เท่านั้น (ตารางที่ 4.7)

ตารางที่ 4.6 Antibiotype, AP-PCR pattern และ ERIC-PCR pattern ของ *V. parahaemolyticus* แต่ละไอโซเลท

ไอโซเลท	Antibiotypes	AP-PCR patterns	ERIC-PCR patterns
VPS-12	Ant-1	AP-A	ERIC-5
VPS-01	Ant-1	AP-A	ERIC-10
VPS-03	Ant-1	AP-B	ERIC-1
VPS-06	Ant-1	AP-B	ERIC-4
VPS-17	Ant-1	AP-B	ERIC-4
VPS-05	Ant-1	AP-C	ERIC-3
VPS-22	Ant-1	AP-D	ERIC-3
VPS-23	Ant-1	AP-D	ERIC-3
VPS-33	Ant-1	AP-D	ERIC-3
VPS-42	Ant-1	AP-D	ERIC-3
VPS-13	Ant-1	AP-D	ERIC-4
VPS-21	Ant-1	AP-D	ERIC-4
VPS-43	Ant-1	AP-D	ERIC-4
VPS-02	Ant-1	AP-D	ERIC-10
VPS-10	Ant-1	AP-D	ERIC-10
VPS-14	Ant-1	AP-D	ERIC-10
VPS-20	Ant-1	AP-E	ERIC-11
VPS-31	Ant-1	AP-E	ERIC-11
VPS-66	Ant-1	AP-E	ERIC-21
VPS-47	Ant-1	AP-E	ERIC-23
VPS-48	Ant-1	AP-F	ERIC-2
VPS-30	Ant-1	AP-F	ERIC-3
VPS-24	Ant-1	AP-F	ERIC-5
VPS-11	Ant-1	AP-F	ERIC-6

ตารางที่ 4.6 (ต่อ)

ไอโซลเลท	Antibiotypes	AP-PCR patterns	ERIC-PCR patterns
VPS-16	Ant-1	AP-F	ERIC-7
VPS-38	Ant-1	AP-F	ERIC-9
VPS-08	Ant-1	AP-F	ERIC-10
VPS-09	Ant-1	AP-F	ERIC-10
VPS-56	Ant-1	AP-F	ERIC-16
VPS-67	Ant-1	AP-F	ERIC-22
VPS-40	Ant-1	AP-G	ERIC-12
VPS-46	Ant-1	AP-G	ERIC-23
VPS-51	Ant-1	AP-H	ERIC-13
VPS-50	Ant-1	AP-I	ERIC-9
VPS-28	Ant-1	AP-J	ERIC-2
VPS-35	Ant-1	AP-J	ERIC-5
VPS-27	Ant-1	AP-J	ERIC-8
VPS-29	Ant-1	AP-J	ERIC-9
VPS-32	Ant-1	AP-J	ERIC-10
VPS-53	Ant-1	AP-J	ERIC-14
VPS-58	Ant-1	AP-K	ERIC-13
VPS-54	Ant-1	AP-K	ERIC-15
VPS-65	Ant-1	AP-L	ERIC-1
VPS-34	Ant-1	AP-L	ERIC-3
VPS-36	Ant-1	AP-L	ERIC-3
VPS-37	Ant-1	AP-L	ERIC-3
VPS-61	Ant-1	AP-L	ERIC-3
VPS-62	Ant-1	AP-L	ERIC-3
VPS-49	Ant-1	AP-L	ERIC-4
VPS-52	Ant-1	AP-L	ERIC-4

ตารางที่ 4.6 (ต่อ)

ไอโซเลท	Antibiotypes	AP-PCR patterns	ERIC-PCR patterns
VPS-55	Ant-1	AP-L	ERIC-10
VPS-57	Ant-1	AP-L	ERIC-17
VPS-63	Ant-1	AP-L	ERIC-20
VPS-59	Ant-1	AP-M	ERIC-18
VPS-64	Ant-1	AP-M	ERIC-18
VPS-60	Ant-1	AP-N	ERIC-19
VPS-70	Ant-1	AP-N	ERIC-24
VPS-07	Ant-1	AP-O	ERIC-1
VPS-68	Ant-1	AP-O	ERIC-1
VPS-04	Ant-1	AP-O	ERIC-2
VPS-44	Ant-1	AP-O	ERIC-3
VPS-45	Ant-1	AP-O	ERIC-3
VPS-39	Ant-1	AP-O	ERIC-5
VPS-41	Ant-1	AP-O	ERIC-5
VPS-15	Ant-1	AP-O	ERIC-7
VPS-25	Ant-1	AP-O	ERIC-7
VPS-18	Ant-1	AP-O	ERIC-8
VPS-19	Ant-1	AP-O	ERIC-8
VPS-26	Ant-1	AP-O	ERIC-8
VPS-69	Ant-1	AP-P	ERIC-23

ตารางที่ 4.7 จำนวนและร้อยละของ *V. parahaemolyticus* ที่พบในแต่ละ AP/ERIC-PCR pattern

AP/ERIC-PCR patterns	ไอโซเลต	จำนวนไอโซเลต (ร้อยละ)
A/E5	VPS-01	1 (1.43)
A/E10	VPS-12	1 (1.43)
B/E1	VPS-03	1 (1.43)
B/E4	VPS-06, VPS-17	2 (2.86)
C/E3	VPS-05	1 (1.43)
D/E3	VPS-22, VPS-23, VPS-33, VPS-42	4 (5.71)
D/E4	VPS-13, VPS-21, VPS-43	3 (4.29)
D/E10	VPS-02, VPS-10, VPS-14	3 (4.29)
E/E11	VPS-20, VPS-31	2 (2.86)
E/E21	VPS-66	1 (1.43)
E/E23	VPS-47	1 (1.43)
F/E2	VPS-48	1 (1.43)
F/E3	VPS-30	1 (1.43)
F/E5	VPS-24	1 (1.43)
F/E6	VPS-11	1 (1.43)
F/E7	VPS-16	1 (1.43)
F/E9	VPS-38	1 (1.43)
F/E10	VPS-08, VPS-09	2 (2.86)
F/E16	VPS-56	1 (1.43)
F/E22	VPS-67	1 (1.43)

ตารางที่ 4.7 (ต่อ)

AP/ERIC-PCR patterns	ไอโซเลท	จำนวนไอโซเลท (ร้อยละ)
G/E12	VPS-40	1 (1.43)
G/E23	VPS-46	1 (1.43)
H/E13	VPS-51	1 (1.43)
I/E9	VPS-50	1 (1.43)
J/E2	VPS-28	1 (1.43)
J/E5	VPS-35	1 (1.43)
J/E8	VPS-27	1 (1.43)
J/E9	VPS-29	1 (1.43)
J/E10	VPS-32	1 (1.43)
J/E14	VPS-53	1 (1.43)
K/E13	VPS-58	1 (1.43)
K/E15	VPS-54	1 (1.43)
L/E1	VPS-65	1 (1.43)
L/E3	VPS-34, VPS-36, VPS-37, VPS-61, VPS-62	5 (7.14)
L/E4	VPS-49, VPS-52	2 (2.86)
L/E10	VPS-55	1 (1.43)
L/E17	VPS-57	1 (1.43)
L/E20	VPS-63	1 (1.43)
M/E18	VPS-59, VPS-64	2 (2.86)
N/E19	VPS-60	1 (1.43)
N/E24	VPS-70	1 (1.43)



ตารางที่ 4.7 (ต่อ)

AP/ERIC-PCR patterns	ไอโซเลท	จำนวนไอโซเลท (ร้อยละ)
O/E1	VPS-07, VPS-68	2 (2.86)
O/E2	VPS-04	1 (1.43)
O/E3	VPS-44, VPS-45	2 (2.86)
O/E5	VPS-39, VPS-41	2 (2.86)
O/E7	VPS-15, VPS-25	2 (2.86)
O/E8	VPS-18, VPS-19, VPS-26	3 (4.29)
P/E23	VPS-69	1 (1.43)

จากการศึกษาการจำแนกสายพันธุ์ของ *V. parahaemolyticus* โดยวิธีทางพีโนทัยป์ ได้แก่ การศึกษาแบบแผนการดื้อยาของเชื้อ (antibiotyping) ทางจีโนมทัยป์ ได้แก่ วิธี arbitrarily-primed polymerase chain reaction (AP-PCR), enterobacterial repetitive intergenic consensus sequence-polymerase chain reaction (ERIC-PCR) และวิธี AP-PCR ร่วมกับ ERIC-PCR พบว่าสามารถจำแนกสายพันธุ์ของ *V. parahaemolyticus* ทั้ง 70 ไอโซเลท ออกเป็นสายพันธุ์ต่างๆ จำนวน 1, 16, 24 และ 48 สายพันธุ์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1, 4.2, 4.4 และ 4.7) และเมื่อการศึกษานี้เปรียบเทียบความสามารถในการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อในแต่ละวิธีพบว่าการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อด้วยวิธีการศึกษาแบบแผนการดื้อยาเป็นวิธีที่มีความสามารถในการจำแนกสายพันธุ์ (discriminatory power) ต่ำที่สุด ขณะที่วิธี AP-PCR, ERIC-PCR และวิธี AP-PCR ร่วมกับ ERIC-PCR เป็นวิธีที่มีความสามารถในการจำแนกสูง โดยมีค่า discriminatory index เท่ากับ 0.901, 0.932 และ 0.986 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.8)

ตารางที่ 4.8 เปรียบเทียบความสามารถในจำแนกสายพันธุ์ของ *V. parahaemolyticus* โดยวิธี antibiotyping, AP-PCR, ERIC-PCR และวิธี AP-PCR ร่วมกับ ERIC-PCR

วิธีการจำแนกสายพันธุ์ (methods)	จำนวนสายพันธุ์ (patterns) ที่จำแนกได้	ร้อยละของสายพันธุ์ (patterns) ที่พบได้มากที่สุด	Discriminatory index <sup>a</sup>
Antibiotyping	1	100.00	0.000
AP-PCR	16	17.14	0.901
ERIC-PCR	24	18.57	0.932
AP-PCR + ERIC-PCR	48	7.14	0.986

<sup>a</sup> Simpson's index of diversity คำนวณโดยใช้วิธีของ Hunter and Gaston (Hunter and Gaston, 1988 : 1903-1905 ; Hunter, 1990 : 2465-2466)