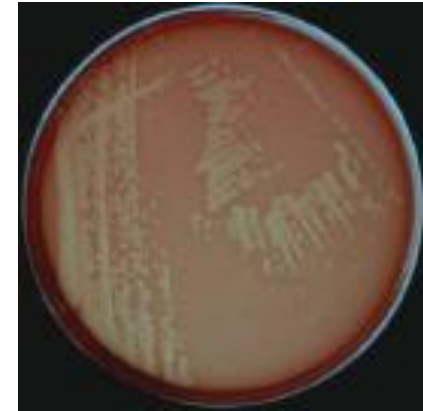


# *Listeria monocytogenes*



- \* เชื้อชนิดนี้อาจทำให้เกิดการเสียชีวิตได้
- \* เชื้อในกลุ่มนี้ที่มีรายงานเกี่ยวกับการทำให้เกิดการเจ็บป่วยต่อมนุษย์มีอยู่ 7 ชนิด
- \* การติดเชื้อในหญิงมีครรภ์จะส่งผลกระทบต่อลูกในครรภ์ทำให้เกิด early-onset syndrome

# ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *Listeria monocytogenes*

- เชื้อชนิดนี้เป็นพวกแบคทีเรีย G+
- เจริญในสภาพ facultatively anaerobic
- มีผลทดสอบ catalase เป็นบวก ส่วน oxidase เป็นลบ
- มีรูปร่างเป็น coccoid และ rod ขนาด 0.4-0.5 x 0.5-2.0 ไมโครเมตร ที่ 20-25 องศาเซลเซียส
- มี flagella ซึ่งสามารถเคลื่อนที่ได้
- เชื้อสามารถเจริญได้ 0-42 องศาเซลเซียสแต่เจริญได้ดีในช่วง 30-35 องศาเซลเซียส
- ค่า pH ที่สามารถเจริญได้อยู่ในช่วง 5.6-4.4

- เชื้อชนิดนี้สามารถสร้าง 58 kDa  $\beta$ -haemolysin และ listerolysin O
- ค่า  $D_{60}$  ที่เวลาเล็กน้อย



ตารางที่ 6.1 ผลของการทดสอบทางด้านชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรีย *Listeria* ทั้ง 6 สายพันธุ์

| สายพันธุ์               | Xylose | Rhamnose | Mannitol | $\beta$ -Hemolysis |
|-------------------------|--------|----------|----------|--------------------|
| <i>L. monocytogenes</i> | -      | +        | -        | +                  |
| <i>L. innocua</i>       | -      | v        | -        | -                  |
| <i>L. seeligeri</i>     | +      | -        | -        | +                  |
| <i>L. welshimeri</i>    | +      | v        | -        | -                  |
| <i>L. ivanovii</i>      | +      | -        | -        | +                  |
| <i>L. grayi</i>         | -      | -        | +        | -                  |

v= variable biotypes, greater than 10% of strains for this trait

ที่มา: (USFDA, 2008)

# การปนเปื้อนในอาหาร

## 1 สามารถโตในอาหารพวก non-acid food



## 2 ผักสด, ผักตกต่าง

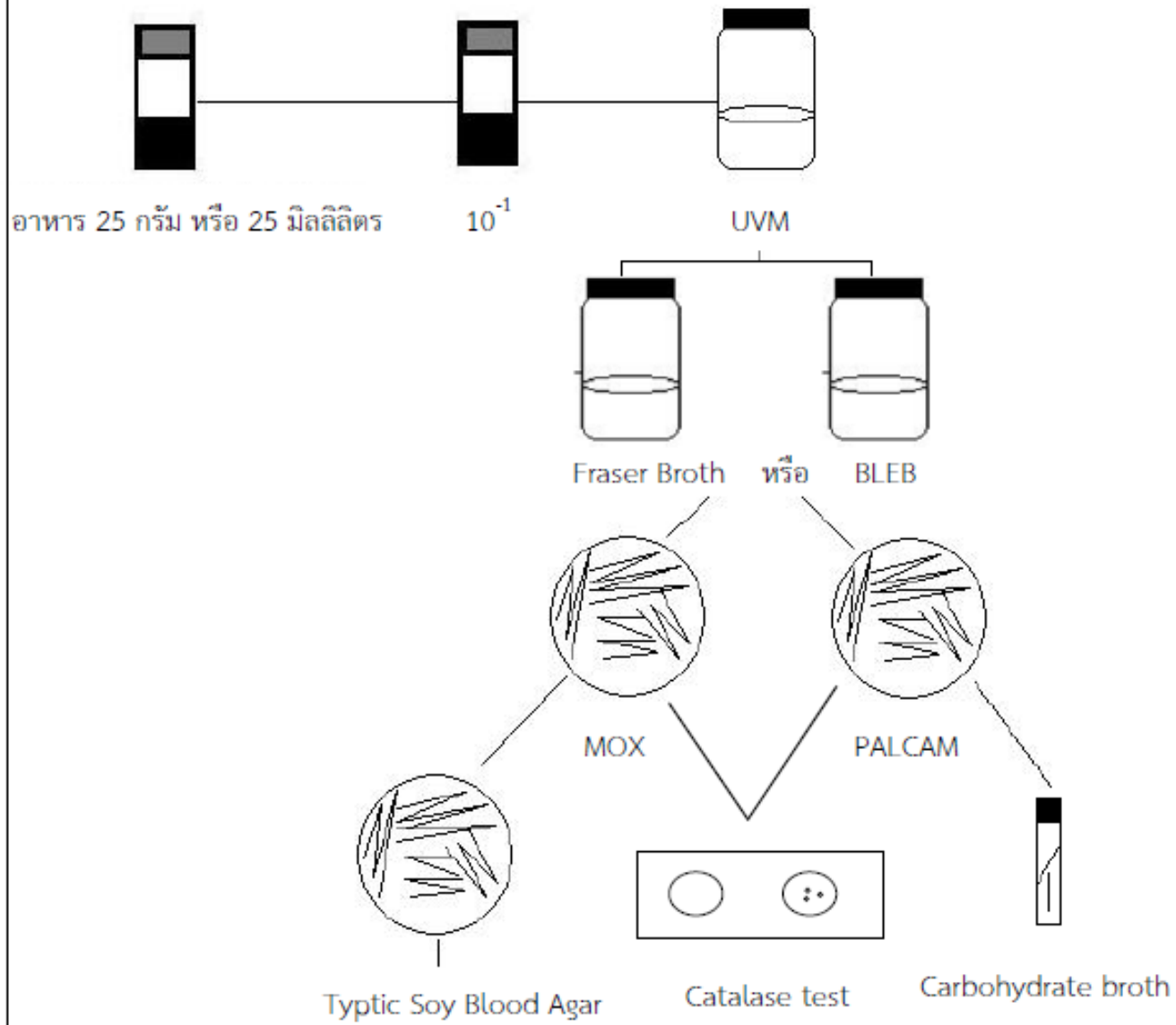




### 3 เนื้อสัตว์



### 4 ผลิตภัณฑ์จากนม



# การ Isolation และ Identification

1 Enrichment ต้องทำที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2 Selective agar

-Lithium chloride, phenylethanol, glycine anhydride, antibiotics เป็น selective agents ซึ่งเมื่อนำเชื้อที่ขึ้นบนจานอาหารไปส่องด้วย กล้องจุลทรรศน์ที่มุม 45 องศาจะให้โคโลนีสี blue-grey ถึง blue-green

- การเติม aesculin และ ferric ammonium citrate จะเห็นโคโลนีสี dark brown และ black ซึ่งเป็นผลมาจากการถูกย่อยโดยเอ็นไซม์ hydrolyse aesculin ของเชื้อจุลินทรีย์

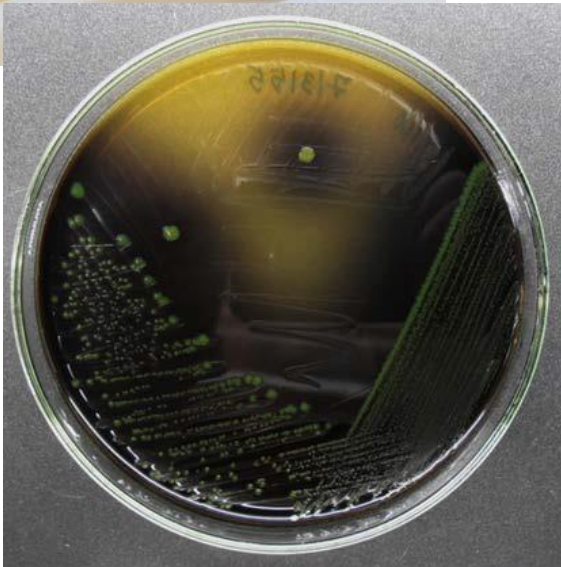
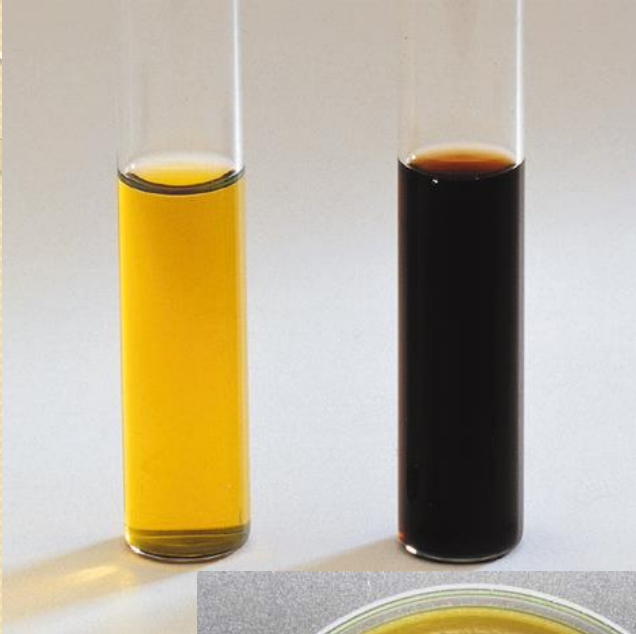


# UVM Broth



- Nalidixic acid ยับยั้ง G-
- Acriflavin ยับยั้ง G+

# Fraser Broth



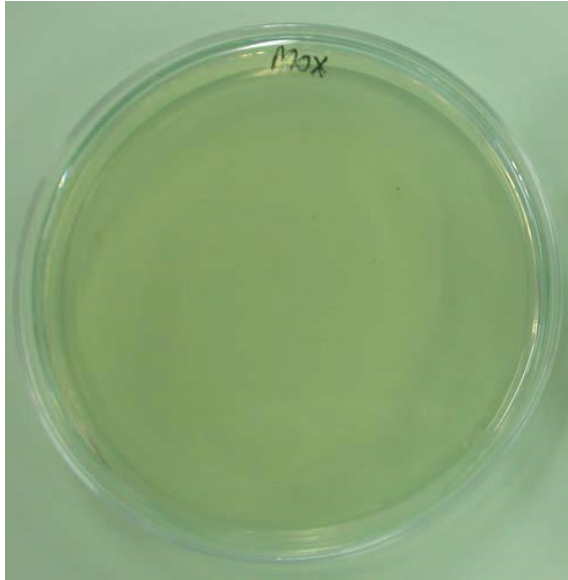
- Acriflavin ยับยั้ง G+
- Lithium chloride ยับยั้ง Enterococci
- Esculin → ย่อย+Fe → สีดำ

# อาหารเลี้ยงเชื้อ **Buffered Listeria Enrichment Broth Base (BLEB)**



- อุดมด้วย แหล่งไนโตรเจน วิตามินและเกลือแร่เนื่องจากมีส่วนผสมของ Enzymatic digest of casein สาร Enzymatic digest of soybean meal และ Yeast extract มีน้ำตาล เดกซ์โทรสเป็นแหล่งคาร์บอน มีเกลือและมี บัฟเฟอร์ จากสาร Monopotassium phosphate สาร Dipotassium phosphate และ สาร Disodium phosphate

# Modified Oxford (MOX) Agar



- Lithium chloride + colistin sulfate  
+ Moxalactam

- Esculin  $\rightarrow$  ย่อย + Fe  $\rightarrow$

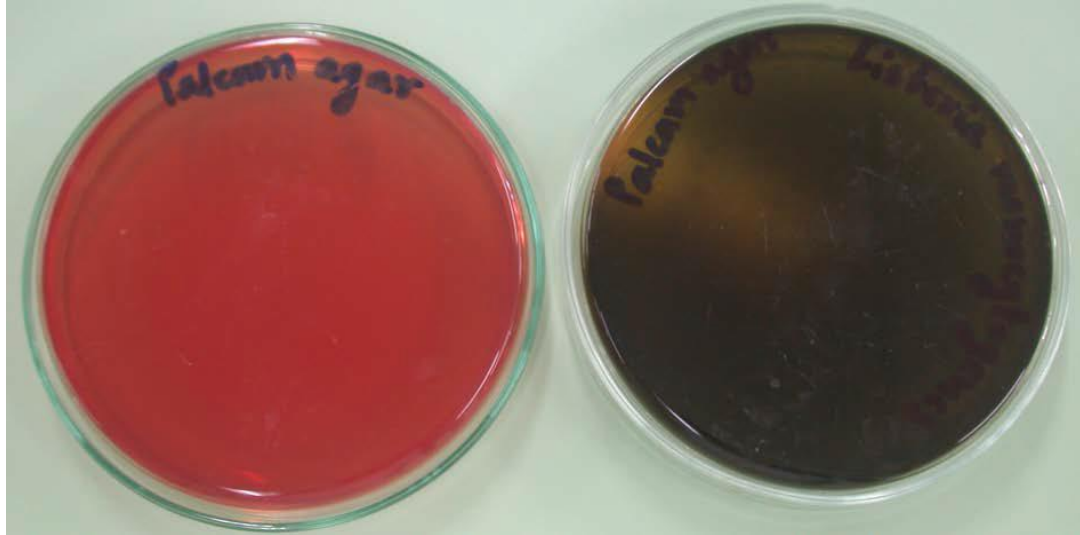
สีดำ

มีสาร Ferric ammonium citrate ที่  
ตรวจจับการย่อย Esculin ทำให้เกิดสาร  
6,7-dihydroxycoumarin แล้วทำ  
ปฏิกิริยากับเหล็กทำให้พื้นของ จาน  
อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสี  
ดำ





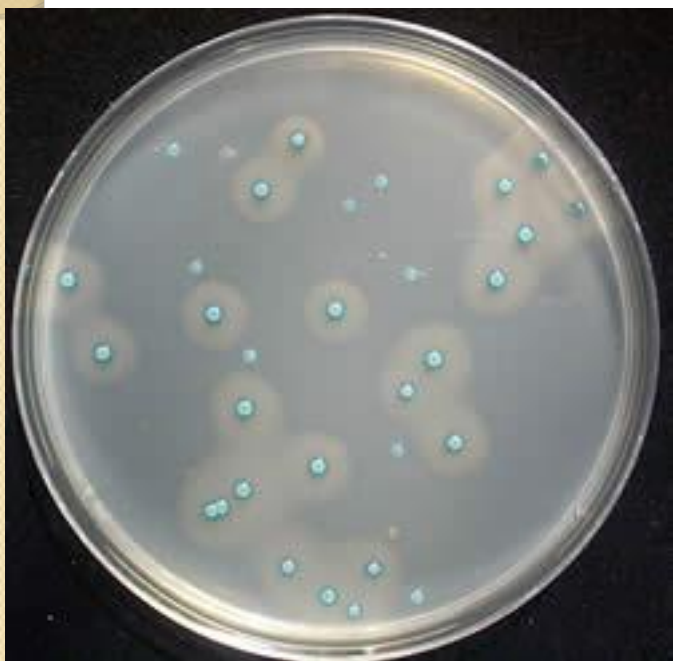
## การเจริญบนอาหาร PALCAM agar



- เติม polymyxin, acriflavin, ceftazidime และ lithium chloride เป็นสาร selective agent
- เชื้อ *L. monocytogenes* จะทำการย่อย esculin ไปเป็น glucose และ esculetin ซึ่ง Esculetin ให้สี olive-green ถึง black ซึ่งมี iron(III) ions
- สามารถใช้น้ำตาล mannitol ได้ หากมีแบคทีเรียพวก *Listeria* ปนเปื้อนอยู่จะมีโคโลนีสีเทาและเหลืองตามลำดับ



## การเจริญบนอาหาร Oxoid Chromogenic Listeria Agar ( OCLA ) Plate



- X- glucoside chromogen ในอาหารจะถูกย่อยโดยเอนไซม์  $\beta$  - glucosidase ทำให้เห็นโคโลนีสี blue-green
- เติม lithium chloride, nalidixic acid and polymixin B. เพื่อยับยั้งเชื้อกลุ่มที่สามารถสร้าง  $\beta$  - glucosidase เช่น enterococci
- lecithin ถูกเติมเพื่อให้เอนไซม์ phospholipase ที่สร้างโดยเชื้อย่อยและทำให้เห็นสีขาวๆเป็น zone รอบๆโคโลนี

# การเจริญบนอาหาร blood agar



ไม่ส่องไฟ



ส่องไฟ

\*เมื่อไม่ส่องไฟแสงผ่านโคโลนีได้เล็กน้อย (semi-transparent colonies)

\*เมื่อส่องไฟจะพบ clear zone รอบๆโคโลนี ( **$\beta$ -Hemolysis**)

# การทดสอบหาเอ็นไซม์ Catalase



การทดสอบหาเอ็นไซม์ Catalase ซึ่ง  
เป็นเอ็นไซม์ที่สามารถสลายอนุพันธ์  
ของออกซิเจนเช่น  $H_2O_2$  ที่เซลล์อาจ  
ได้รับมาเมื่ออยู่ในสถานะที่มีออกซิเจน  
ได้ หากแบคทีเรียชนิดใดมีเอ็นไซม์  
Catalase จะสามารถใช้ เอ็นไซม์นี้  
เปลี่ยนจากอนุพันธ์ที่เป็นพิษของก๊าซ  
ออกซิเจนแล้วสลายอนุพันธ์ที่เป็นพิษ  
นั้นเพื่อให้ได้ก๊าซออกซิเจน และน้ำจึง  
ทำให้แบคทีเรียนั้นมีชีวิตได้ในสถานะ  
ที่มีออกซิเจน



# การทดสอบการหมักน้ำตาล Xylose และ น้ำตาล

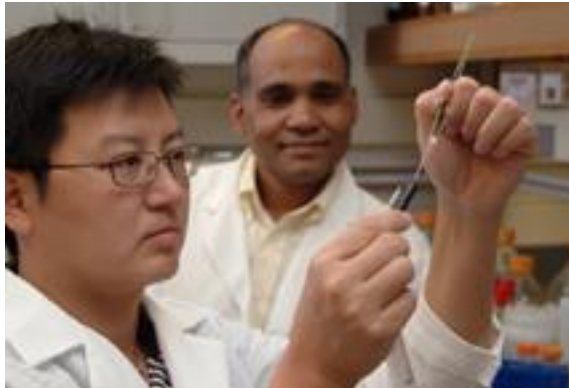
## Rhamnose



การทดสอบทำโดยใช้อาหาร Carbohydrate broth ที่มีหลอดดักแก๊ส (Durham tubes) ซึ่งหลอดอาหารหลอดที่ 1 มีส่วนผสมของน้ำตาล Xylose และหลอดที่ 2 มีส่วนผสมของน้ำตาล Rhamnose ผลการ ทดสอบ *L. monocytogenes* จะไม่ใช้น้ำตาล Xylose โดยหลอดอาหารยังคงมีสีแดงของ *Phenol Red* ซึ่งเป็นอินดิเคเตอร์ และสามารถใช้น้ำตาล Rhamnose ได้โดยหลอดอาหารจะมีกรดเพิ่มมากขึ้นแล้วเปลี่ยนเป็นสีเหลืองโดยไม่สร้างแก๊ส

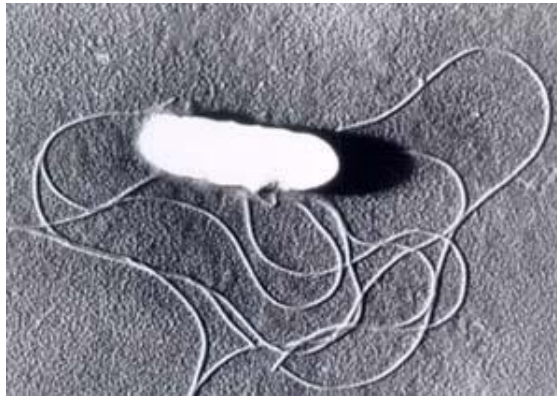
## การทดสอบโดยใช้วิธีการอื่นๆ

- เนื่องจากการทดสอบหาเชื้อ *L. monocytogenes* ในอาหารใช้เวลานาน ซึ่งปัจจุบันได้มีผู้คิดค้นวิธีการตรวจหาวิธีการใหม่ๆ เพื่อสามารถตรวจเชื้อชนิดนี้ได้เร็วขึ้น เช่นมีการทำ sensor สำหรับวัดเชื้อชนิดนี้ โดยเฉพาะโดยวัดจากปริมาณเซลล์ที่ทำการแบ่งตัว ซึ่งสามารถบอกได้ว่ามีเชื้อชนิดนี้ในอาหารหรือไม่ ใช้เวลาต่ำกว่า 24 ชั่วโมง

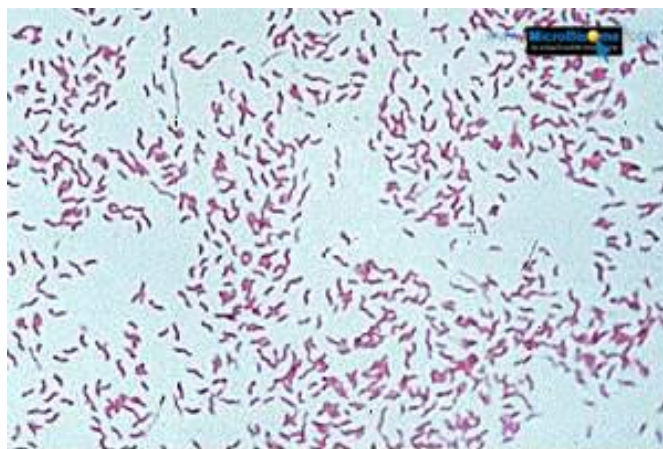




2 การตรวจวัด flagellar antigen ซึ่งสายพันธุ์ที่ก่อโรคในมนุษย์มี 3 สายพันธุ์จากทั้งหมด 13 สายพันธุ์คือ (1/2 a, 1/2 b, 4b)



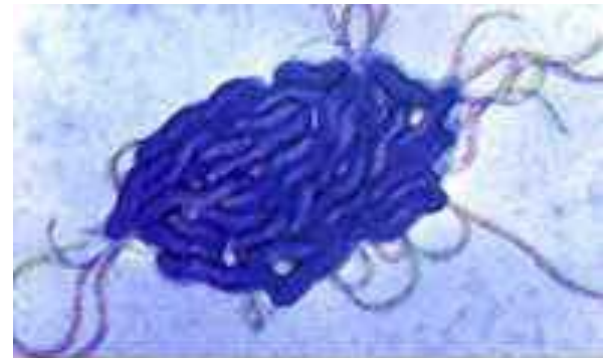
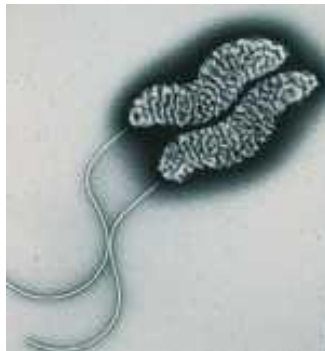
# *Campylobacter jejuni*



- เชื้อชนิดนี้ถูกบันทึกในปี 1970 ซึ่งสามารถแยกจากผู้ป่วยที่เป็นโรคท้องร่วง

# ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *C. jejuni*

- เป็นพวก non-sporeforming G- rod
- Oxidase – และเซลล์มีขนาด 0.5-8 L x 0.2-0.5 W ไมโครเมตร
- ถ้าอยู่ในระยะ log phase เชื้อจะมีรูปร่าง slender, curved, spiral อาจมี 1 หรือ 2 polar หรือ amphitrichous



- เชื้อจะไม่ ferment หรือ oxidize น้ำตาล
- สามารถเจริญในที่ที่มีออกซิเจน 5-10 % และ 3-5 %  
คาร์บอนไดออกไซด์ จัดว่าเป็นพวก oxygen-sensitive
- อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 42-45 องศาเซลเซียส แต่ไม่ทนต่ออุณหภูมิที่ทำอาหารหรือพาสเจอร์ไรซ์ ไม่เจริญในอุณหภูมิต่ำกว่า 28 องศาเซลเซียสและในอุณหภูมิห้องจะเจริญได้ช้า จะลดจำนวนอย่างรวดเร็วในตู้เย็นหรือในที่เย็น
- เชื้อชนิดนี้มีอยู่ในช่องทางเดินอาหารของสัตว์และนก เช่น หนู, สุนัข, แมว, วัว, แกะ, หมู และสัตว์ปีก และนอกจากนั้นยังสามารถพบในน้ำ



# การก่อให้เกิโรค

- เชื้อชนิดนี้ใช้ระยะเวลาในการบ่ม 1-11 วันแต่ส่วนใหญ่ประมาณ 3-5 วันและอาการที่บ่งบอกคือ การวิงเวียนศีรษะ มีไข้ ปวดท้องและท้องเสีย ซึ่งปริมาณเชื้อที่ก่อให้เกิโรคคือ  $10^{6-9}$  cell/g
- อาการปวดท้องอาจเริ่มพอๆกับการมีไข้ ร่างกายจะสามารถกำจัดเชื้อชนิดนี้ออกไป แต่ต้องใช้เวลาประมาณ 2-3 อาทิตย์
- ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับ virulence ของสายพันธุ์ เชื้อชนิดนี้สามารถสร้าง enterotoxin 60-70 kDa

# การ Isolation และ Identification

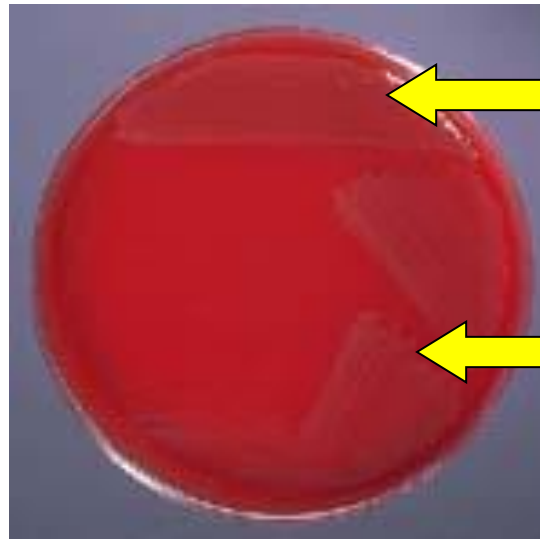
- เชื้อชนิดนี้เลี้ยงยากในอาหารเลี้ยงเชื้อต้องมีการเติมสารอาหารที่เชื้อต้องการใส่ลงไปในการเลี้ยงเชื้อ เช่น peptone based media ซึ่งมีอยู่ในอาหาร nutrient broth
- เชื้อชนิดนี้จะสร้าง peroxides และ superoxide ในอาหาร ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของตัวเอง ดังนั้นการบ่มจึงต้องบ่มในสถานะที่มี 5-6 %ออกซิเจน และ 10% คาร์บอนไดออกไซด์ และใช้สารอาหารที่มี oxygen scavenging compounds เช่น blood, pyruvate, ferrous salts, charcoal และ metabisulfite

- **Selective enrichment media** เช่น polymyxin B, trimethoprim แต่หากเซลล์ได้รับการบาดเจ็บ เช่น อาหารผ่านกระบวนการให้ความร้อน, แช่แข็ง, ทำแห้งมาก่อน โอกาสที่จะเจริญบนอาหาร selective มักน้อย ดังนั้นควรมีเวลาให้เชื้อได้ซ่อมแซมตัวเองก่อน โดยการบ่มทิ้งไว้ในสถานะ non-selective เป็นเวลา 4 ชั่วโมงที่ 37 องศาเซลเซียส
- หลังจากผ่านการบ่มในอาหาร selective enrichment เป็นเวลา 24 ถึง 48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 42-43 องศาเซลเซียสแล้วจึงทำการ cấyเชื้อลงในอาหาร selective plating media

• Selective plating media ส่วนมากแล้วมีส่วนผสมของอาหารมี  
อนุภาคของออกซิเจนเป็นส่วนประกอบ เช่น เม็ดเลือด และ/หรือ  
ferrous sulfate, sodium metabisulfite, sodium pyruvate (FBP)  
เพื่อทำ pre-prepared media โดยใช้ในโตรเจนที่อุณหภูมิ 4 องศา  
เซลเซียส ในที่มีดเพื่อหลีกเลี่ยงการสร้าง toxin oxides จากเชื้อ



-เชื้อมีการเคลื่อนที่



-non-haemolytic

-สีเทาถึงสีน้ำตาลอ่อน



- การทำ confirm test
  - Oxidase (+)
  - เปลี่ยน nitrate เป็น nitrite
  - เจริญในอุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียสและไม่เจริญในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

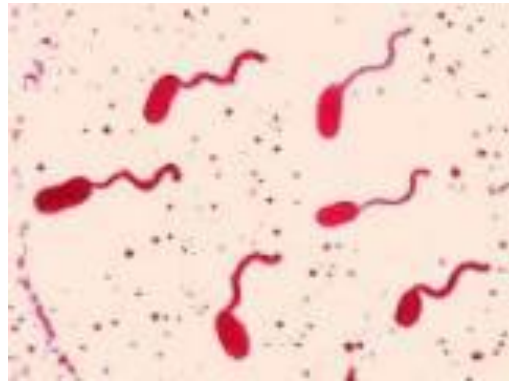


# การปนเปื้อนในอาหาร

- 1 เกิดจากมนุษย์สัมผัสโดยตรงกับอาหาร หรือมนุษย์สัมผัสกับมนุษย์ สัตว์ที่อาจมีเชื้อชนิดนี้คือ ลูกสุนัข
- 2 เนื้อสัตว์
- 3 สัตว์ปีก
- 4 นม
- 5 การปนเปื้อนหลังจากการพลาสติกไรซ์



# Vibrio



- เป็นเชื้อที่อันตรายอาจทำให้เสียชีวิตได้
- ทำให้เกิดโรค “Asiatic cholera” ในช่วงศตวรรษที่ 19

# ชนิดของเชื้อ ***Vibrio*** ที่ก่อโรคในมนุษย์

|                             |                                                                    |
|-----------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| <i>V. cholerae</i> , O1     | Cholera, wound infection                                           |
| <i>V. cholerae</i> , non-O1 | Diarrhoea, gastroenteritis, wound infection, secondary septicaemia |
| <i>V. minicus</i>           | Diarrhoea, gastroenteritis, wound infection                        |
| <i>V. parahaemolyticus</i>  | Gastroenteritis, wound infection, otitis media                     |
| <i>V. fluvialis</i>         | Diarrhoea                                                          |
| <i>V. furnissii</i>         | Diarrhoea                                                          |
| <i>V. hollisae</i>          | Diarrhoea                                                          |
| <i>V. vulnificus</i>        | Wound infection, primary septicaemia, secondary septicaemia        |
| <i>V. alginolyticus</i>     | Wound infection, otitis media                                      |
| <i>V. damsela</i>           | Wound infection                                                    |

# ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *Vibrio*

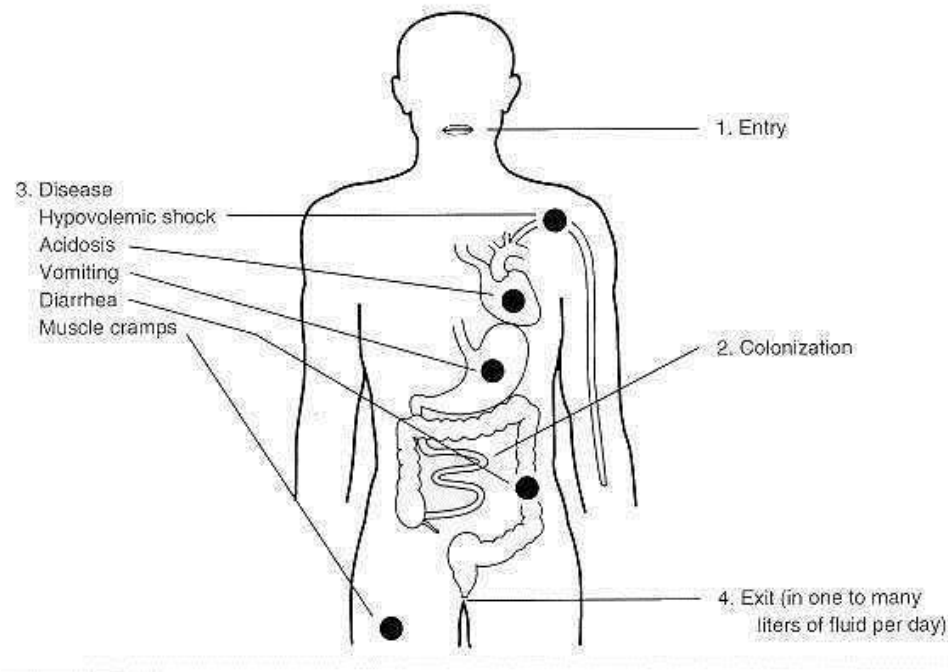
- แบคทีเรีย G+, รูป ร่างเป็น curved หรือ straight (pleomorphic), short rod สามารถเคลื่อนที่โดยใช้ polar flagella
- ผล catalase และ oxidase เป็น +
- เป็นพวก facultatively anaerobic
- สามารถเจริญ, หมักและหายใจในสภาวะที่มีเกลือ NaCl โดย ปริมาณเกลือที่เหมาะสมคือ 1-3 % แต่จะไม่เจริญหากมีเกลือต่ำ 0.5 % หรือ มากกว่า 8%



- ค่า  $a_w$  ที่เจริญอยู่ในช่วง 0.937 ถึง 0.986
- อุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 37 องศาเซลเซียสและสามารถเจริญได้ในช่วง 5-43 องศาเซลเซียส
- *V. parahaemolyticus* โดยมากจะทนในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมได้ดีกว่า *V. cholerae*
- *V. parahaemolyticus* สามารถเจริญใน pH ประมาณ 7.5-8.5 และเชื้อในกลุ่มนี้มีความสามารถเจริญในสภาพต่างประมาณ 11
- ปกติเชื้อชนิดนี้สามารถพบได้ในทะเล สามารถแยกได้จากในน้ำ

# การก่อโรคในมนุษย์

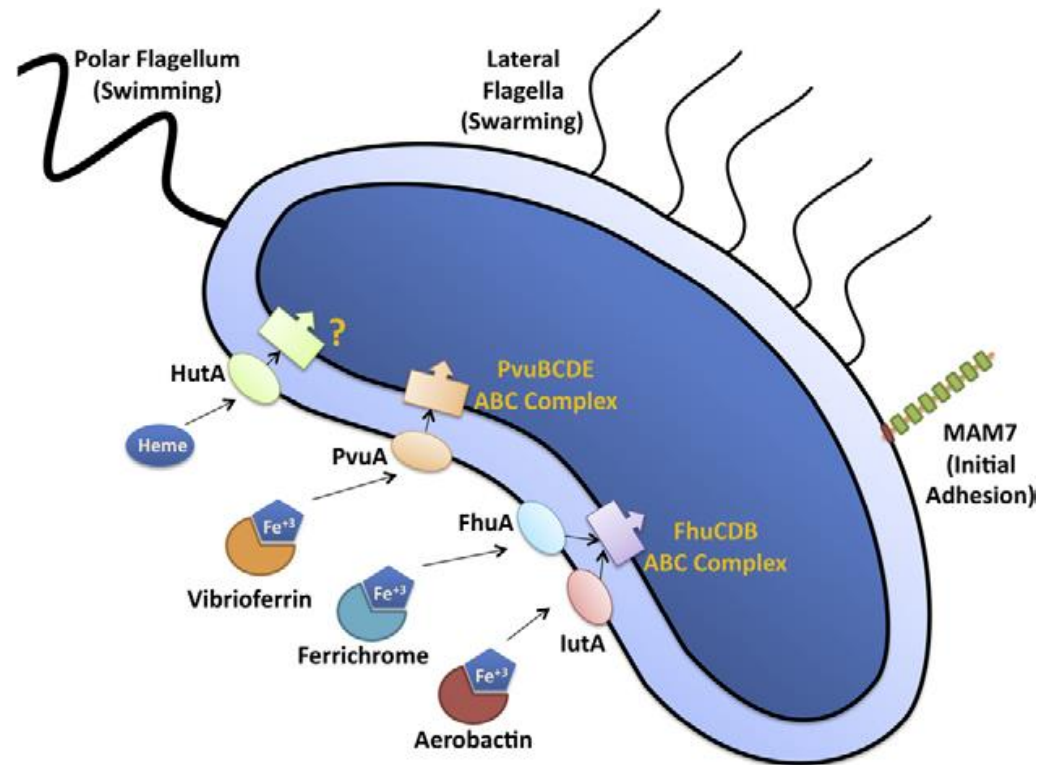
เชื้อชนิดนี้ใช้เวลาในการบ่มตัวเองประมาณ 1-3 วัน และอาจก่อให้เกิดอาการไม่รุนแรงจนถึงรุนแรงมาก ร่างกายจะขับเชื้อออกโดยการถ่ายอุจจาระ



-แบคทีเรียนี้มี *Flagellum* เส้นเดียว เรียกว่า *Single flagellum*

-เชื้อแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* มี โปรตีน *Multivalent adhesion molecule (MAM7)* ที่สามารถยึดเกาะกับ *Fibronectin* และ *Phosphatidic acid* ของเซลล์ที่ต้องการบุกรุก (*Host cells*)

-แบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* สามารถสร้าง *Siderophores* คือ *Vibrioferin*, *Ferrichrome* และ *Aerobactin* ที่สามารถจับกับธาตุเหล็ก (Fe) ในสิ่งแวดล้อมได้



- ในกระเพาะอาหารมีกรด hypochlorohydric ซึ่งสามารถทำลายเชื้อชนิดนี้ได้ แต่หากได้รับมากเกินไป เช่น  $10^{10}$  เซลล์ อาจกำจัดได้ไม่หมด
- เชื้อชนิดนี้อาจแพร่ระบาดระหว่างคนไปสู่คน และการหยิบจับ เชื้อ จุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมก็เป็นสาเหตุหนึ่งที่ได้รับเชื้อชนิดนี้
- หลังรับเชื้อ *V. parahaemolyticus* แล้วอาจก่อให้เกิดอาการอย่างรวดเร็วเพียงแค่ 2 ชั่วโมงถึง 4 วัน ผู้ป่วยจะมีอาการท้องร่วง มีไข้ เชื้อนี้มีความสามารถในการผลิต 22 kDa enterotoxin



# การปนเปื้อนในอาหาร

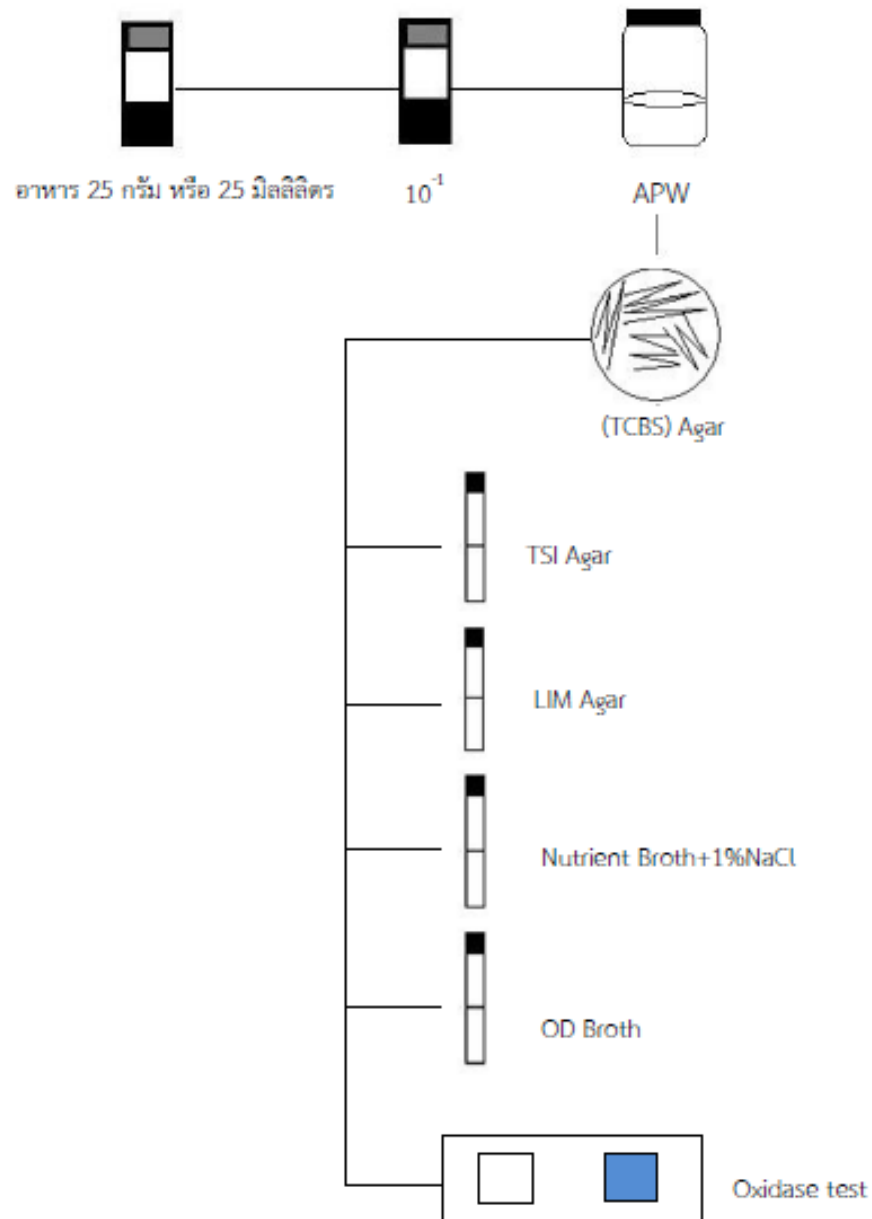
## 1 ปนเปื้อนมากับน้ำที่สัมผัสกับอาหาร





## 2 อาหารที่ปรุงยังสุกดี หรือไม่ต้องปรุงก่อนรับประทานเช่นพวก ผลไม้





# การ Isolation และ Identification

## 1 Enrichment media

- สามารถใช้สารที่เป็นต่างเช่น peptone water (pH 8.6-9.0) บ่มเชื้ออย่างน้อย 8 ชั่วโมง เพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อชนิดอื่นๆ
- Tellurite bile salt broth (pH 9-9.2) สามารถใช้เป็น enrichment media ในการบ่มไว้ 1 คืน



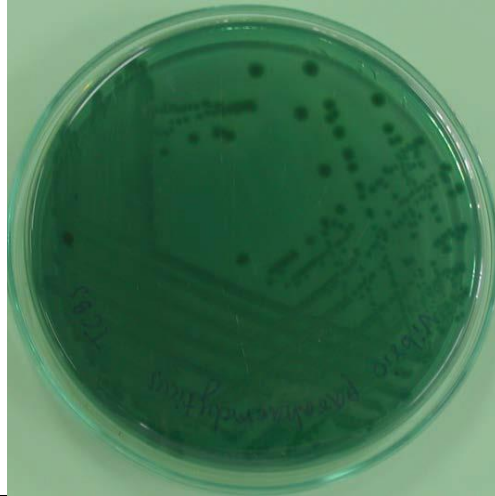
Peptone water

# อาหารเลี้ยงเชื้อ Alkaline Peptone Water (APW)



- นี่สามารถนำ อาหารทะเลที่ต้องการตรวจมา บ่มในอาหารนี้เป็นเวลา 18-20 ชั่วโมงที่ อุณหภูมิ  $35 \pm 2$  องศาเซลเซียส อาหาร ชนิด นี้มี Peptic digest of animal tissue เป็น แหล่งไนโตรเจน คาร์บอนและสารอาหารที่ สำคัญ นอกจากนั้น แล้วการเติมเกลือสูงถึง 30 กรัมต่อลิตรยังช่วยยับยั้งการเจริญของ เชื้อแบคทีเรียกลุ่มอื่นๆ ผลบวกคืออาหารมี ความชุ่มนภายหลังการบ่ม

## 2 Selective และ differential agar ส่วนมากใช้ อาหาร Thiosulfate citrate bile salt sucrose agar (TCBS)



*Vibrio parahaemolyticus*



*Vibrio cholerae*

มีน้ำตาลซูโครสสำหรับให้เชื้อแบคทีเรีย *Vibrio* ได้ทำการหมักโดยหากเกิด ต่างขึ้นจากการหมักจะพบสีของอาหารเลี้ยงเชื้อมีสีเหลืองอันเนื่องจากมี Bromothymol blue ทำหน้าที่เป็น ผลบวก เกิดความขุ่น อินดิเคเตอร์ ซึ่งแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* ไม่สามารถใช้น้ำตาลซูโครสได้จึงเห็นโคโลนีเป็นสีน้ำเงิน เขียวเหมือนเดิม ในขณะที่เชื้อแบคทีเรีย *V. cholerae* สามารถใช้น้ำตาลซูโครสได้จึงพบโคโลนีสีเหลืองบน จานอาหารเลี้ยงเชื้อ



- เชื้อ *V. cholerae* สามารถแบ่งได้เป็น serogroups O1 และ non-O1 strains หรือ แยกได้เป็นพวก non-haemolytic และ El Tor (haemolytic)
- *V. parahaemolyticus* สามารถแบ่งได้ 11 thermostable O antigens และ 65 thermolabile K (capsular) antigens

# Triple sugar iron agar (TSI Agar)



ผลบวก Slant (K) Butt (A) Gas (-)  
H<sub>2</sub>S (-)

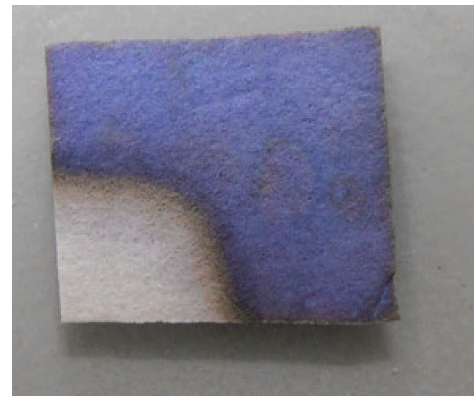
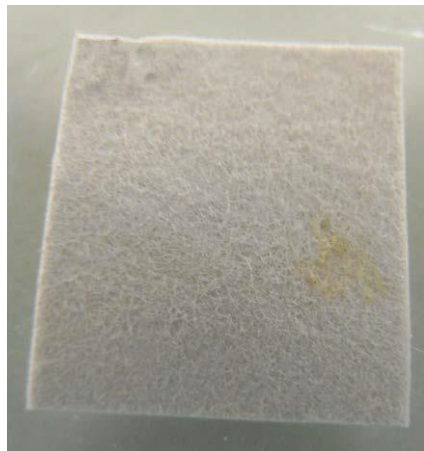
# การทดสอบการใช้ Lysine การสร้างสาร Indole และการ ดูผล Motility



ผลบวก Indole (+) Motility  
(+) Lysine (+)

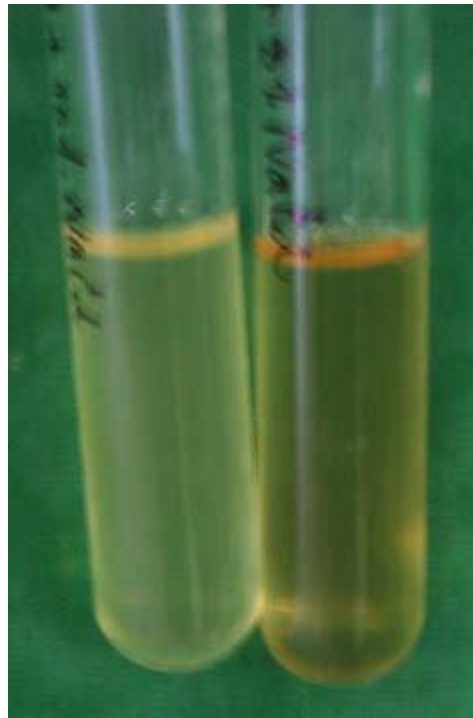
# การตรวจหาเอ็นไซม์ Oxidase

การตรวจหาเอ็นไซม์ Cytochrome oxidase ซึ่งปกติแล้วแบคทีเรียที่เจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน จะใช้เอ็นไซม์นี้ในการรับส่งอิเล็กตรอน การทดสอบทำโดยการเติมน้ำยาที่มีส่วนผสมของสารละลาย Dimethyl-p-phenylenediamine และสาร  $\alpha$ -naphthol ในสารละลายเชื้อแบคทีเรีย (Suspensions) ซึ่งผลบวกจะพบสีน้ำเงินภายใน 15 วินาที



## การทดสอบการเจริญในเกลือ NaCl

ความสามารถในการทนเกลือของเชื้อแบคทีเรียสามารถใช้ในการจำแนกเชื้อแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* ออกจากเชื้อแบคทีเรียอื่นๆ ได้ การทดสอบทำโดยใช้อาหาร *Nutrient Broth+1%NaCl* หากเป็นเชื้อแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* จะสามารถเจริญแล้วทำให้อาหารเหลวนั้นมีความขุ่นได้ แต่ถ้า เป็นเชื้อแบคทีเรีย *V. cholerae* อาหารนั้นจะยังคงใส



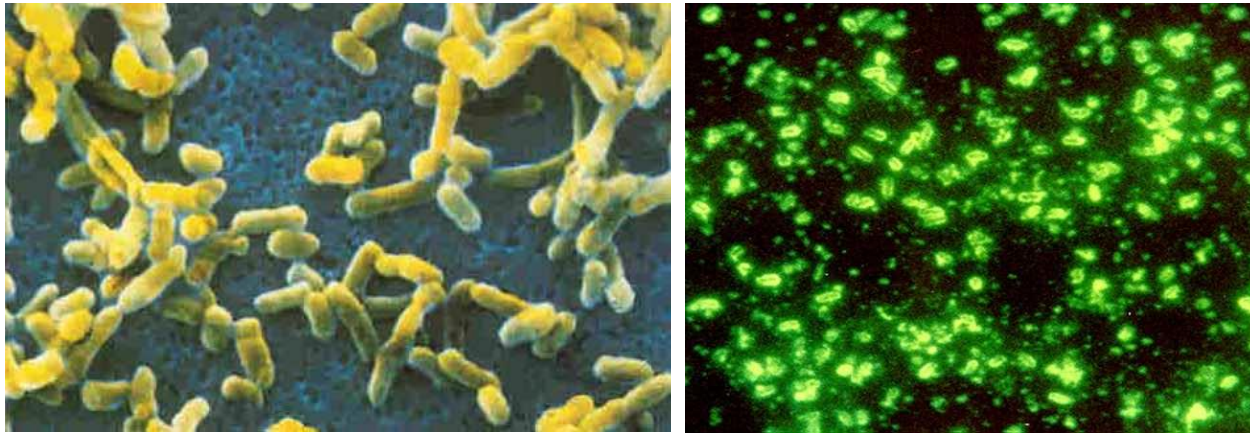


# การทดสอบความสามารถในการย่อยกรดอะมิโน Ornithine



อาหารเลี้ยงเชื้อ Ornithine Decarboxylase (OD) Agar  
โดยหากเชื้อ แบคทีเรียต้องการใช้กรดอะมิโน  
Ornithine เชื้อแบคทีเรียจะหลั่งเอนไซม์  
Decarboxylase ออกมาเพื่อตัด พันธะ Carboxyl ของ  
กรด อะมิโนให้ได้ Amine หรือ Diamine และก๊าซ  
คาร์บอนไดออกไซด์

# Yersinia



- *Yersinia enterocolitica* เป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหาร
- *Yersinia pseudotuberculosis* เป็นเชื้อทำให้เกิดโรคในต่อมน้ำเหลือง
- *Yersinia pestis* เกิดอาการบวมใต้รักแร้ ซึ่งทำให้ผู้คนเสียชีวิตได้ เพราะเป็นโรคระบาด

# ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *Yersinia*

- เชื้อ *Yersinia enterocolitica* เป็นเชื้อในตระกูล Enterobacteriaceae เป็นพวก short rod (0.5-1.0 x 1-2 ไมโครเมตร) G-
- ชอบอยู่ในสภาวะ facultatively anaerobic ให้ผล catalase+ และ oxidase –
- สามารถเจริญในอุณหภูมิตั้งแต่ -1 ถึง 40 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 29 องศาเซลเซียส จะไม่เคลื่อนที่ ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความร้อนสามารถทำลายเชื้อได้
- pH ที่เหมาะสมในการเจริญคือ 7-8

# ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของ bio-sero-phase และ ประเทศที่พบ

| Biotype | Serotype | Phage type     | Host            | Syndrome           | Country       |
|---------|----------|----------------|-----------------|--------------------|---------------|
| 1       | O8       | X              | Man             | Gastroenteritis    | USA, Canada   |
| 2       | O9       | X <sub>3</sub> | Man             | Gastroenteritis    | Europe, Japan |
|         |          |                | Pigs            | Healthy            | Europe, Japan |
| 3       | O1       | II             | Chinchillas     | Systemic infection | Europe        |
| 4       | O3       | VIII           | Man             | Gastroenteritis    | Europe, Japan |
|         |          |                | Pigs            | Healthy            | Europe, Japan |
|         |          | IXA            | Man             | Gastroenteritis    | South Africa  |
|         |          |                | Pigs            | Healthy            | South Africa  |
|         |          | IXB            | Man             | Gastroenteritis    | Canada        |
|         |          |                | Pigs            | Healthy            | Canada        |
| 5       | O2       | XI or II       | Hares,<br>Goats | Death              | Europe        |

# การก่อโรค

- การก่อโรคส่วนมากพบในเด็กอายุต่ำกว่า 7 ปี โดยเชื้อจะบ่มตัวเองประมาณ 1-11 วันหรืออย่างช้า 5-14 วัน
- อาการของโรคคือปวดท้อง การปวดท้องจากลำไส้เล็กอาจก่อให้เกิดอาการไข้และอาเจียน การปวดอาจลามไปถึงใต้แขนด้านขวาโดยนับพลงัน ผลต่อจากนั้นคือการเกิดข้ออักเสบ อาจเกิดตุ่มสีแดง แต่หากเป็นผู้หญิงตุ่มจะขึ้นช้า การเกิดตุ่มสีแดงนี้เกิดจาก serotype O3 และ O9
- เชื้อชนิดนี้สามารถสร้าง encoded ที่ 40-48 MDa บนเปลือกนอกของชั้น outer membrane protein ซึ่ง plasmid นี้จะเป็น virulence เมื่อเซลล์ถูกควบคุมด้วย chromosomal genes
- เชื้อชนิดนี้สามารถสร้าง enterotoxin (9000-9700 Da)

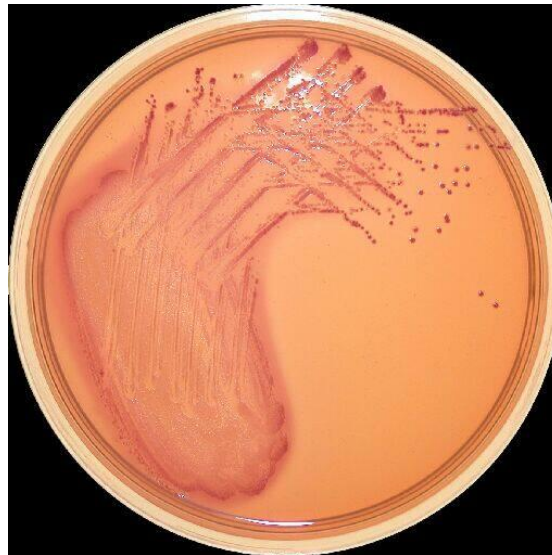


# การ Isolation และ Identification

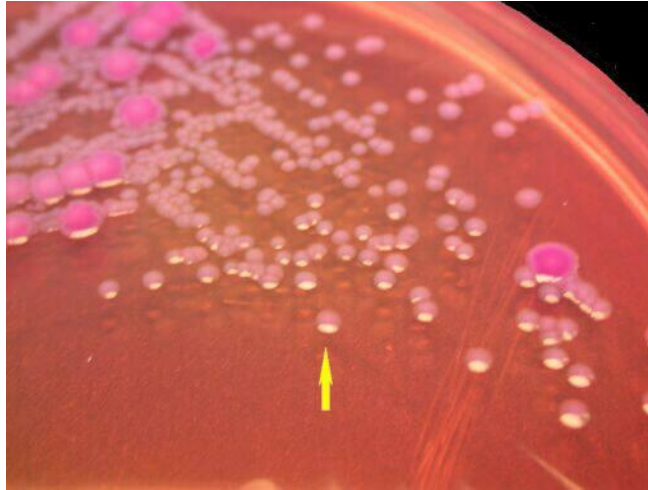
- 1 Enrichment procedure ก่อนตรวจหาเชื้อ ควรทำการบ่มที่อุณหภูมิ ต่ำ อาหารที่นิยมใช้คือ Phosphate buffered saline (PBS) และ Tryptone soya broth (TSB) บ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็น เวลา 21 วัน เชื้อจะทนต่อความเป็นด่างได้ดี ดังนั้นควรมีการปรับ อาหารให้ pH อยู่ในช่วง 8-8.3



• **Cefsulodin irgasan novobiocin (CIN) agar** อาหารชนิดนี้มี deoxycholate, crystal violet เป็นตัวช่วยยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มอื่น และมี mannitol เป็นแหล่ง carbon หลังจากบ่มที่ 28 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จะมองเห็นโคโลนีสีแดง



- การเจริญในอาหาร MacConkey agar จะได้โคโลนีใสสีชมพู



- การทำ gene probes สามารถช่วยแยก virulence plasmid ได้

# การปนเปื้อนในอาหาร

1 เนื้อสัตว์พบ Serotype(O3, O5,27, O8, O9) เชื้อจุลินทรีย์มักถูกแยกได้จากเครื่องในสัตว์โดยเฉพาะหมู



2 นม