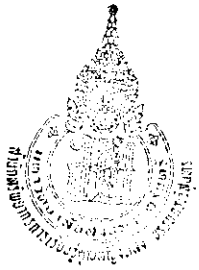

รายงานการวิจัย

การประยุกต์ใช้เทคนิคพีซีอาร์เพื่อตรวจสอบเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ในหอยแครง

Application of polymerase chain reaction technique for detection of *Vibrio parahaemolyticus* in cockle (*Anadara granosa*)

ดวงแข กาญจนโสภา และ เบญจมาภรณ์ พิมพา

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี

ได้รับการสนับสนุนการวิจัยจากเงินรายได้มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วิทยาเขตหาดใหญ่ ประเภทพัฒนานักวิจัย ประจำปี พ.ศ. 2550

บทคัดย่อ

เชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบเป็นเชื้อสาเหตุก่อโรคทางเดินอาหารเป็นพิษอันเนื่องจากการบริโภคอาหารทะเลกึ่งสุกกึ่งดิบที่ปนเปื้อนเชื้อชนิดก่อโรคที่สามารถสร้างสารพิษชนิด TDH และ TRH การทดลองในครั้งนี้ได้ทำการศึกษาวิธีการตรวจสอบเชื้อก่อโรค *V. parahaemolyticus* ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ *toxR* เพื่อจำแนกเชื้อ *V. parahaemolyticus* ออกจากเชื้อ *Vibrio* สายพันธุ์อื่นๆ และทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อที่สามารถผลิตสารพิษ TDH และ TRH ด้วยไพรเมอร์ *tdh* และ *trh* ตามลำดับ ในการทดสอบความไวของไพรเมอร์ *toxR* *tdh* และ *trh* ต่อเชื้อ พบว่า สามารถตรวจสอบเชื้อที่ความเข้มข้นของเชื้อ 10 10^2 และ 10^3 CFU ต่อปฏิกิริยา PCR ตามลำดับ ทำการ enrichment หาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการตรวจสอบเชื้อก่อโรคโดยตรงจากอาหาร พบว่า ควร enrichment ตัวอย่างอาหารอย่างน้อย 9 ชั่วโมง เมื่อทดสอบการปนเปื้อนเชื้อในหอยแครงจากแหล่งทะเลธรรมชาติบริเวณ บ้านพอด อำเภอกาญจนดิษฐ์ ในรอบระยะเวลา 1 ปี จำนวน 65 ตัวอย่าง อาศัยวิธีการตรวจสอบด้วย conventional method ร่วมกับวิธีทาง PCR พบว่า 56 ตัวอย่าง (86.15 %) มีการปนเปื้อนเชื้อ และมีการปนเปื้อนเชื้อก่อโรคชนิด *tdh* และ *trh* จำนวน 1 ตัวอย่าง (1.78%) ซึ่งจากการทดลองพบว่า แม้จะพบ *V. parahaemolyticus* ปนเปื้อนในอาหารแต่ก็ไม่มีความสัมพันธ์กับเชื้อ *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ก่อโรค

Abstract

Vibrio parahaemolyticus is a negative bacterium that is an important pathogen of humans because the virulence *V. parahaemolyticus* causes one of the major food borne gastro-enteric infections often associated with the consumption of raw or undercook sea food. It caused a prevalent food-borne pathogen by producing TDH and TRH protein acted as major virulence factors. In this study, we examined *V. parahaemolyticus* contamination in cockles (*Anadara granosa*) collected from coastal site of Ban Pod, Ampur Kanjanadit by Polymerase Chain Reaction (PCR) technique using *toxR* as a primer, and virulence strains were tested by *trh* and *tdh* as primers. The sensitivity of *toxR tdh* and *trh* was performed at 10, 10^2 and 10^3 CFU per PCR reaction, respectively. In case of artificial seeding *V. parahaemolyticus* in homogenized samples broth, the direct application of PCR from broth culture was achieved by enrichment samples for 9 hours. Total of 65 samples collected from Ban Pod had been monitored during 1 year by conventional and PCR techniques. The results showed that the 56 (86.15 %) samples contaminated with *V. parahaemolyticus* and only 1 samples (1.78%) detected tdh^+ and trh^+ strain. It was found that *V. parahaemolyticus* frequency contaminated in seafood but the number of total *V. parahemolyticus* cell did not reflect that of tdh^+ and trh^+ strains.