

## เอกสารอ้างอิง

- ธิดา ฉวีภักดี, ลิตา เรืองແเป็น และ วริษฐา หนูปืน. (2550). ปรสิต และแบคทีเรีย *Vibrio spp.* ในแม่น้ำแม่กลอง แซบบ้าย (*Penaeus merguiensis*) จากธรรมชาติบริเวณอ่าวไทยผ่านไปจนถึงวันออก. เอกสาร วิชาการฉบับที่ 3/2550. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งจันทบุรี กรมประมง.
- กัทธรชัย กีรติสิน. (2549). ตำราวิทยาแบบที่เรียบทางการแพทย์. กรุงเทพ: คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล.
- วันทนna อญญา. (2528). หอยทะเล. กรุงเทพฯ: กรมประมง.
- สุครารัตน์ สวนจิตร. (2547). เอกสารประกอบการสอนวิชา 305412 พันธุ์วิเคราะห์. ชลบุรี: ภาควิชา จุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
- สุครารัตน์ สวนจิตร, อกรีดี ปีลันธนภาคย์ และ สุรีย์พร เอี่ยมศรี. (2552). รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ เรื่องการตรวจสอบ *Vibrio parahaemolyticus* และ *Vibrio vulnificus* ในหอยนางรมและ สภาพแวดล้อมชายฝั่งทะเลเขตภาคตะวันออกของประเทศไทย โดยใช้ปฏิกิริยาลูกโซ่ พอลิเมอร์สแบบมัลติเพล็กซ์. ชลบุรี: ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
- อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และ วัชรินทร์ รังสีกาณรัตน์. (2551). แบบที่เรียบทางการแพทย์. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- Baffone, W., Pianetti, A., Bruscolini, F., Barbieri, E., and Citterio, B. (2000). Occurrence and expression of virulence-related properties of *Vibrio* species isolated from widely consumed seafood products. *International Journal of Food Microbiology*, 54, 9-18.
- Banerjee, S. R., Pandian, S., Todd, E. C., and Farber, J. M. (2002). A rapid and improved method for the detection of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* strains grown on hydrophobic grid membrane filters. *Journal of Food Protection*, 65, 1049-1053.
- Bej, A. K., Patterson, D. P., Brasher, C. W., Vickery, M. C. L., Jones, D. D. and Kaysner, C. A. (1999). Detection of total and hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish using multiplex PCR amplification of *tl*, *tdh* and *trh*. *Microbiology Methods*, 36, 215-225.
- Belkin, S. and Cowel, R. R. (2006). *Oceans and health: pathogenesis in the marine environment*. New York: Springer.
- Blackstone, G. M., Nordstrom, J. L., Vickery, M. C. L., Bowen, M. D., Meyer, R. F., and

- DePaola, A. (2003). Detection of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in oyster enrichments by real time PCR. *Journal of Microbiological Methods*, 53, 149-155.
- Bliung, L. M., Radu, S., Bahaman, A. R., Rahim, R. A., Napis, S., Ling, M. W. C. V., Tanil, G. B., and Nishibuchi, M. (2005). Detection of *Vibrio parahaemolyticus* in cockle (*Anadara granosa*) by PCR. *FEMS Letters*, 252, 85-88.
- Campbell, M. S., and Wright, A. C. (2003). Real-Time PCR Analysis of *Vibrio vulnificus* from oysters. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 7173-7144.
- Cañigral, I., Moreno, Y., Alonsa, J. L., González, A., and Ferrús, M. A. (in press). Detection of *Vibrio vulnificus* in seafood, seawater and wastewater samples from a Mediterranean coastal area. *Microbiological Research*.
- DePaola, A., Ulaszek, J., Kaysner, C. A., Tenge, B. J., Nordstrom, L. L., Wella, J., Puhr, N., and Gendel, S. M. (2003). Molecular, serological and virulent characteristics of *V. parahaemolyticus* isolated from environment, food and clinical sources in North America and Asia. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 3999-4005.
- Division of Molecular and Genomic Medicine (NHRI). (2007). *Vibrio vulnificus* YJ016. Retrieved March 1, 2010, from <http://genome.nhri.org.tw/vv/mainpage.php>
- Espiñeria, M., Atanassova, M., Vieites, J. M., and Santaclara, F. J. (2010). Validation of a method for the detection of five species, serogroups, biotypes and virulence factors of *Vibrio* by multiplex PCR in fish and seafood. *Food Microbiology*, 27, 122-131.
- European Commission. (2001). *Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health on Vibrio vulnificus and Vibrio parahaemolyticus (in raw and undercooked seafood)*. Retrieved March 8, 2010, from [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scv/out\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scv/out_en.pdf)
- FDA. (2004). *Bacteriological analytical manual online: Vibrio*. Retrieved March 8, 2010, from <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-9.html>
- FDA. (2009). *Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook Vibrio vulnificus*. Retrieved April 21, 2010, from <http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodborneIllnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/ucm070473.htm>
- Garrity, G. M. (2005). *Bergery's manual of systematic bacteriology* (2<sup>nd</sup> ed.) New York:

Springer.

- Gopal, S., Otta, S. K., Kumar, S., Karunasagar, I., Nishibuchi, M., and Karunasagar, I. (2005). The occurrence of *Vibrio* species in tropical shrimp culture environments; implications for food safety. *International Journal of Food Microbiology*, 102, 151-159.
- Harwood, V. J., Gandhi, J. P., and Wright, A. C. (2004). Methods for isolation and confirmation of *Vibrio vulnificus* from oyster and environmental sources: a review. *Journal of Microbiological Methods*, 57, 707-711.
- Honda, T., Iida, T., Yutsudo, M., and Yanagihara, I. Department of Bacterial Infections. Retrieved March 27, 2010, from [http://www.biken.osaka-u.ac.jp/kenkyu/kansen/saikin\\_e.html](http://www.biken.osaka-u.ac.jp/kenkyu/kansen/saikin_e.html)
- Jackson, J. K., Murphree, R. L., and Tamplin, M. L. (1997). Evidence that mortality from *Vibrio vulnificus* infection results from single strains among heterogeneous populations in shellfish. *Journal of Clinical Microbiology*, 35, 2098-2101.
- Kaysner, C.A. and Depaola, A. Jr. (2001) *Compendium of method for the mcrobiological examination of food*. Washington, DC: American Public Health Association.
- Kim, M. S., and Jeong, H. D. (2001). Development of 16S rRNA targeted PCR methods for the detection and differentiation of *Vibrio vulnificus* in marine environment. *Aquaculture*, 193, 199-211.
- Kumar, N. R., Parvathi, A., Karunasagar, I., and Karunasagar, I. (2006). A *gryB*-based PCR for the detection of *Vibrio vulnificus* and its application for direct detection of this pathogen in oyster enrichment broths. *International Journal of Food Microbiology*, 111, 216-220.
- Lee, K. J., Jung, D. W., Eom, S. Y., Oh, S. W., Kim, Y., Kwak, H. S., and Kim, Y. H. (2008). Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters from Korean retail outlets. *Food Control*, 19, 990-994.
- Linkous, D. A., and Oliver, J. D. (1999). Pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. *FEMS Microbiology Letters*, 174, 207-214.
- Maugeri, T. L., Carbone, M., Fera, M. T., and Gugliandalo, C. (2006). Detection and differentiation of *Vibrio vulnificus* in seawater and plankton of a coastal zone of the Mediterranean sea. *Research in Microbiology*, 157, 194-200.
- McCarter, S. A., DePaola, A., Cook, D. W., Kaysner, C. A., Hill, W. E. (1999). Evaluation of alkaline phosphatase and digoxigenin-labeled probes for detection of the thermolabile

- hemolysin (*tlh*) gene of *Vibrio parahaemolyticus*. *Letter in Applied Microbiology*, 28, 66-70.
- Nishibuchi, M., Ishibashi, M., Takeda, Y., Kapper, J. B. (1985). Detection of the thermostable direct hemolysin gene and related DNA sequence in *Vibrio parahaemolyticus* and other *Vibrio* species by the DNA colony hybridization test. *Infection and Immunity*, 63, 2090-2099.
- Nishibuchi, M., Hill, W. E., Zon, G., Payne, W. L., Kaper, J. B. (1986). Synthetic oligodeoxyribonucleotide probe to detect Kanagawa phenomenon-positive *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 23, 1091-1095.
- Ottaviani, D., Santarelli, S., Bacchiocchi, S., Masini, L., Ghittino, C., and Bacchiocchi, I. (2005). Presence of pathogenesis *Vibrio parahaemolyticus* strain in mussels from the Adriatic Sea, Italy. *Food Microbiology*, 22, 585-590.
- Pace, J. L., Chai, T. J., Rossi, H. A., and Jiang, X. (1997). Effect of bile on *Vibrio parahaemolyticus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 63, 2372-2377.
- Panicker, G., Call, R. D., Krug, J. M., and Bej, K. A. (2004). Detection of pathogenic *Vibrio* spp. in shellfish by using multiplex PCR and DNA microarrays. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 7436-7444.
- Provenzano, D., Schuhmacher, D. A., Barker, J. L., and Klose, K. E. (2000). The virulence regulatory protein *toxR* mediates enhanced bile resistance in *Vibrio cholera* and other pathogenic *Vibrio* species. *Infection Immunology*, 68, 1491-1497.
- Raghunath, P., Karunasagar, I., and Karunasagar, I. (2009). Improved isolation and detection of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* from seafood using a new enrichment broth. *International Journal of Food Microbiology*, 129, 200-203.
- Su, Y.C. and Liu, C. (2007). *Vibrio parahaemolyticus*: a concern of seafood safety, *Food Microbiology*, 24, 549-558.
- Strom, M. S., and Paranjpye, R. N., (2000). Epidemiology and pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. *Microbes and Infection*, 2, 177-188.
- Tyagi, A., Saravanan, V., Karunasagar, I., and Karunasagar, I. (2009). Detection of *Vibrio parahaemolyticus* in tropical shellfish by SYBR green real-time PCR and Evaluation of three enrichment media. *International Journal of Food Microbiology*, 129, 124 - 130.

- Tada, J., Ohashi, T., nishimura, N., Shirasaki, Y., Ozaki, H., Fukushima, S., Takano, J., Nishibuchi, M., and Takeda, Y. (1992). Detection of the thermostable direct hemolysin gene (*tdh*) and the thermostable direct hemolysin-related hemolysin gene (*trh*) of *Vibrio parahaemolyticus* by polymerase chain reaction. *Molecular Cell Probes*, 6, 477-487.
- Takahashi, H., Hara-Kudo, Y., Miyasaka, J., Kumagai, S., and Konuma, H., (2005). Development of a quantitative real time polymerase chain reaction targeted to the *ToxR* for detection of *Vibrio vulnificus*. *Journal of Microbiological Methods*, 61, 77-85.
- The University of Iowa Department of microbiology. (1984). *Surface sensing, signal transduction, c-di-GMP signaling, and regulation of gene*. Retrieved March 1, 2010, from <http://www.uiowa.edu/microbiology/mccarter.shtml>
- Venkateswaran, K., Dohmoto, N., and Harayama, S. (1998). Cloning and nucleotide sequence of the *gryB* gene of *Vibrio parahaemolyticus* and its application in detection of this pathogen in shrimp. *Applied and Environmental Microbiology*, 64, 681-687.
- Yamamoto, K., Honda, T., Miwatani, T. (1992). Enzyme-labeled oligonucleotide probes for detection of the genes for thermostable direct hemolysin (TDH) and TDH-related hemolysin (TRH) of *Vibrio parahaemolyticus*. *Canadian Journal of Microbiology*, 38, 410-416.

**ภาคผนวก**

**ภาคผนวก ก**  
**อาหารเลี้ยงเชื้อ**

**1. Alkaline peptone water (APW)**

Peptone	10	กรัม
Sodium chloride (NaCl)	30	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร ปรับพีเอชเป็น 8.5 นำไปปั่นเชือดaway หม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

**2. Cystine Tryptone Agar (CTA)**

ซึ่งอาหารสำเร็จรูป CTA 28.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร หลอมให้ละลายนำไปปั่นเชือดaway หม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

**3. Thiosulfate citrate bile salt agar (TCBS) (Difco™)**

ซึ่งอาหารสำเร็จรูป TCBS 89 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร หลอมให้ละลายปรับพีเอชเป็น  $8.6 \pm 0.2$  ต้มจนเดือดประมาณ 10 นาที (ไม่ต้องนึ่งปั่นเชือด)

**4.  $T_1N_4$  medium**

Tryptone	10	กรัม
Sodium chloride	40	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร หลอมให้ละลายนำไปปั่นเชือดaway หม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

**5. CHROMagar™ Vibrio (CHROMagar)**

ซึ่งอาหารสำเร็จรูป CHROMagar™ Vibrio 74.7 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร หลอมให้ละลาย โดยใช้อุณหภูมิไม่เกิน 100 องศาเซลเซียส (ไม่ต้องนึ่งปั่นเชือด)

ภาควิชาเคมี  
สารเคมีและบัฟเฟอร์



### 1. 50X Tris-acetate-electrophoresis (TAE) buffer

Tris-base	242.0	กรัม
Glyclic acetic acid	57.1	กรัม
0.5M EDTA (พีเอช 8.0)	100.0	มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากันและทำการปรับปริมาณให้ครบ 1,000.0 มิลลิลิตร นำไปปั่นเชือด้วย  
หม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

### 2. SDS-Proteinase K lysis solution

20% SDS	8.75	ไมโครลิตร
20 mg/ml Proteinase K	2.625	ไมโครลิตร
10X TE buffer	35	ไมโครลิตร

ผสม 20% SDS, Proteinase K และ TE buffer ปรับปริมาณโดยน้ำก้นจนครบ 350  
ไมโครลิตร

