

การระบุเชื้อ *Clostridium botulinum* type A, type B , type A ผสม B ในหน่อไม้้อดปิบโดยวิธี

### DGGE

หน่อไม้้อดปิบมีการปนเปื้อนเชื้อ *Clostridium botulinum* type A, type B , type A ผสม B สร้างสารพิษที่มีฤทธิ์ต่อระบบประสาท เป็นสาเหตุทำให้ผู้บริโภคตาย วิธีการระบุเชื้อ *Clostridium botulinum* type A, type B , type A ผสม B แบบดั้งเดิมใช้วิธีเพาะเลี้ยงเชื้อและตรวจยืนยันโดยใช้วิธีทางชีวเคมี สิ้นเปลือง ใ้เวลานาน ดังนั้นงานวิจัยนี้ใช้เทคนิค DGGE ในการระบุเชื้อ *Clostridium botulinum* type A, type B , type A ผสม B DNA ถูกสกัด จากเชื้อบริสุทธิ์ และจากหน่อไม้้อดปิบที่มีการใส่เชื้อบริสุทธิ์ลงไป นำไปเพิ่มปริมาณยีนส์บูทูลินัม ขนาด 160 bp. ในสภาวะที่เหมาะสม ยีนส์บูทูลินัมที่ได้ถูกนำไปวิเคราะห์เพื่อระบุชนิดของเชื้อ *Clostridium botulinum* ในสภาวะที่เหมาะสม โดยวิธี DGGE ผลการวิจัยพบว่า วิธี DGGE สามารถระบุชนิดของเชื้อ *Clostridium botulinum* type A และ type B ทั้งในสภาวะเชื้อบริสุทธิ์ และในสภาวะที่มีเชื้อแต่ละชนิดอยู่ในหน่อไม้้อดปิบ แต่ไม่สามารถที่จะระบุ แยกเชื้อแต่ละชนิดในสภาวะ ที่มีทั้งเชื้อ *Clostridium botulinum* type A และ type B ผสมรวมกันทั้งในสภาวะเชื้อบริสุทธิ์ และในสภาวะที่หน่อไม้้อดปิบมีเชื้อ *Clostridium botulinum* type A และ type B ผสมรวมกัน ดังนั้น วิธี DGGE สามารถใช้ระบุเชื้อ *Clostridium botulinum* type A และ type B ที่ปนมาในหน่อไม้้อดปิบชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงชนิดเดียว

### Identification of *Clostridium botulinum* type A , type B, mixed toxinotype A and B in

#### Fermented Bamboo Shoots by DGGE

Fermented bamboo shoots probably contain *Clostridium botulinum* type A ,type B , mixed toxinotype A and B that cause human to paralyze and die . Culture dependent methods have been used to identify *C. botulinum* type A ,type B, mixed toxinotype A and B , however they are expensive and time consuming. Here, we investigate the application of DGGE for identification *C. botulinum* type A ,type B,mixed toxinotype A and B in fermented bamboo shoots.

DNA from Inoculated samples with *C. botulinum* type A , type B, mixed toxinotype A and B and pure cultures with *C. botulinum* type A ,type B, mixed toxinotype A and B were amplified with primers spanning the botulinum toxin gene under the specific conditions. PCR products (160 bp) were subjected to analyze by DGGE under the specific conditions.

Our data showed that the DGGE could be identify *C. botulinum* type A and type B in pure culture and fermented bamboo shoots and could not be identify mixed toxinotype A and B in both pure culture and fermented bamboo shoots which could be due to competition with each *C. botulinum* toxinotypes A and B . Therefore, DGGE could be reliable for the identification of each *C. botulinum* toxinotypes A and B in fermented bamboo shoots.