บทที่ 6
สรุปผลการวิจัย

primer ที่ได้จากการออกแบบโดยใช้โปรแกรม และข้อมูลลำดับรหัสพันธุกรรมจาก www.ncbi.nim.nih.gov คือ mip F: 5′-GGC AGA ATT AGT GGG CG-3′ และ mip R: 5′-GTG GTG TTA GGC TGA CAC C-3′ ซึ่งสามารถเพิ่มจำนวนสายรหัสพันธุกรรมได้ PCR product ขนาด 901 bp สภาวะที่เหมาะสมต่อการจับระหว่างสาย DNA ต้นแบบของ *L. pneumophila* serogroup 1, 2, 3, 6, 8, 10 และ 11 กับ primer mip F, mip R คือ

Initial denaturation	95°C	เป็นเวลา	5	นาที	
Denaturation	95°C	เป็นเวลา	30	วินาที	30 รอบ
Annealing	54°C	เป็นเวลา	30	วินาที	
Extension	72°C	เป็นเวลา	1	นาที	
Final extension	72°C	เป็นเวลา	10	นาที	

เมื่อนำ primer mip F, mip R เพิ่มปริมาณ DNA บริเวณยีน *mip* ของ *L. pneumophila* ด้วยเทคนิค PCR เปรียบเทียบกับ *Ps. aeruginosa*, *E. coli*, *Shi. dysenteriae*, *Sal. typhi*, *P. vulgaris, S. aureus*, *R. solanacearum*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* และ *V. cholerae* พบว่า primer mip F, mip R มีความจำเพาะกับ *L. pneumophila* เท่านั้น เมื่อนำ PCR product ขนาดความยาว 901 bp ของ *L. pneumophila* แต่ละ serogroup มาตัดด้วยเอนไซม์ *Eco*RII พบว่า สามารถแยก *L.pneumophila* serogroup 1 และ 8 ออกจาก *L. pneumophila* serogroup 2, 3, 6, 10 และ 11 ด้วยความยาวรหัสพันธุกรรมเท่ากับ 164 bp ต่อมาทำการตัด PCR product ขนาดความยาว 901 bp ด้วยเอนไซม์ *Pvu*II พบ *L. pneumophila* serogroup 1 สามารถตัดได้ 2 ตำแหน่ง ได้สายรหัสพันธุกรรมความยาวประมาณ 546 bp และ 237 bp แต่ serogroup 8 ได้รหัสพันธุกรรมความมยาว 783 bp ตำแหน่งเดียวที่เห็นได้ชัด จึงสรุปได้ว่า สามารถแยก *L.pneumophila* serogroup 1 ออกจาก serogroup 2, 3, 6, 8, 10 และ 11 ด้วยเอนไซม์ 2 ชนิดคือ *Eco*RII และ *Pvu*II

การล้างตัวอย่างน้ำและตัวอย่าง swab ด้วย 0.2 M Potassiumchloride - Hydrochloride acid (KCl-HCl) buffer pH 2.2 ก่อนการเพาะเชื้อ จะทำให้ความสามารถในการตรวจหา *Legionella* sp. ลดลง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สูตรอาหาร BCYE ดัดแปลงสูตร 2 ที่มีการเพิ่ม glycine, vancomycin และ polymycin B สามารถส่งเสริมการเจริญของ *Legionella* ได้เช่นเดียวกับอาหาร BCYE มาตรฐาน และสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียอื่นได้ เมื่อนำอาหาร BCYE ดัดแปลงสูตร 2 ไปใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อจากตัวอย่างน้ำ พบว่าสามารถตรวจพบการเจริญของ *Legionella* ได้

ปริมาณเซลล์ที่น้อยที่สุดที่สามารถตรวจสอบได้โดยเทคนิค PCR โดยไม่ผ่านการกรองผงถ่านออกจากปฏิกิริยาและผ่านการกรองผงถ่านออกจากปฏิกิริยา คือ 8.87×10^4 เซลล์/ml และ 6.00×10^4 เซลล์/ml ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved