

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ค
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ฅ
สารบัญภาพ	ฉุ
อักษรย่อและสัญลักษณ์	ฐ
บทที่ 1 บทนำและวัตถุประสงค์	1
บทที่ 2 ทบทวนเอกสาร	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	25
บทที่ 4 ผลการวิจัย	37
บทที่ 5 อภิปรายผลการวิจัย	68
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัย	71
เอกสารอ้างอิง	73
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก	85
ภาคผนวก ข	88
ภาคผนวก ค	93
ภาคผนวก ง	100
ภาคผนวก จ	104
ภาคผนวก ฉ	106
ประวัติผู้เขียน	108

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright © by Chiang Mai University
 All rights reserved

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	ระดับความรุนแรงของ <i>Legionella</i> sp. ภายในอาคาร	8
2	เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	27
3	การหาสภาวะที่เหมาะสมของเทคนิค PCR เพื่อเพิ่มปริมาณ DNA บริเวณ ยีน <i>mip</i> ของ <i>L. pneumophila</i>	39
4	อาหาร 4 สูตรที่ทำการดัดแปลงเพื่อส่งเสริมการเจริญของ <i>Legionella</i> sp.	50
5	การตรวจสอบโคโลนีที่มีลักษณะคล้าย <i>Legionella</i> sp. ด้วยอาหารทดสอบ และทดสอบทางชีวเคมีของตัวอย่างน้ำจากโรงแรม ก	56
6	การตรวจสอบโคโลนีที่มีลักษณะคล้าย <i>Legionella</i> sp. ด้วยอาหาร และทดสอบทางชีวเคมีของตัวอย่างน้ำจากโรงแรม ข	57
7	การตรวจสอบโคโลนีที่มีลักษณะคล้าย <i>Legionella</i> sp. ด้วยอาหารทดสอบ และทดสอบทางชีวเคมีของตัวอย่างน้ำจากโรงแรม ค	59
8	การตรวจสอบโคโลนีที่มีลักษณะคล้าย <i>Legionella</i> sp. ด้วยอาหารทดสอบ และทดสอบทางชีวเคมีของตัวอย่างน้ำจากโรงแรม ง	60
9	การตรวจสอบโคโลนีที่มีลักษณะคล้าย <i>Legionella</i> sp. ด้วยอาหารทดสอบ และทดสอบทางชีวเคมีของตัวอย่างน้ำจากโรงแรม จ	61
10	การตรวจสอบโคโลนีที่มีลักษณะคล้าย <i>Legionella</i> sp. ด้วยอาหารทดสอบ และทดสอบทางชีวเคมีของตัวอย่างน้ำจากโรงแรม ฉ	62
11	ปริมาณเซลล์ในการนับโดยไม่ผ่านการกรองผงถ่าน แต่ละความเข้มข้น ตั้งแต่ 10^{-1} - 10^{-10} โดยวิธี haemocytometer	104
12	ปริมาณเซลล์ในการนับโดยผ่านการกรองผงถ่าน แต่ละความเข้มข้น ตั้งแต่ 10^{-1} - 10^{-10} โดยวิธี haemocytometer	105
13	การเจริญของแบคทีเรียทดสอบบนอาหารสูตรที่สร้างขึ้น	106

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
1 รูปร่างของ <i>L. pneumophila</i> ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน	3
2 ลักษณะโคโลนีของ <i>L. pneumophila</i> บนอาหาร BCYE	4
3 อิทธิพลของความแตกต่างของอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญของ <i>Legionella</i> sp.	6
4 อิทธิพลของความแตกต่างของอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญของ <i>Legionella</i> sp. ในระบบน้ำต่างๆ	7
5 การทำงานของห่อหุ้มเซลล์	9
6 วงจรชีวิตของ <i>L. pneumophila</i> เมื่อเข้าสู่ macrophage	10
7 coiling phagocytosis mechanism	11
8 zipper phagocytosis mechanism	12
9 Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)	17
10 Polymerase Chain Reaction (PCR)	22
11 Genomic DNA ของแบคทีเรียชนิดต่างๆ	37
12 Genomic DNA ของ <i>L. pneumophila</i> แต่ละ serogroup	38
13 อุณหภูมิ annealing ที่ 52°C ของเทคนิค PCR เพื่อเพิ่มปริมาณ DNA บริเวณยีน <i>mip</i> ของ <i>L. pneumophila</i>	41
14 อุณหภูมิ annealing ที่ 53°C ของเทคนิค PCR เพื่อเพิ่มปริมาณ DNA บริเวณยีน <i>mip</i> ของ <i>L. pneumophila</i>	42
15 อุณหภูมิ annealing ที่ 54°C ของเทคนิค PCR เพื่อเพิ่มปริมาณ DNA บริเวณยีน <i>mip</i> ของ <i>L. pneumophila</i>	42
16 อุณหภูมิ annealing ที่ 54°C และ primer <i>mip</i> F และ primer <i>mip</i> R ความเข้มข้น 0.5 μ M ของเทคนิค PCR เพื่อเพิ่มปริมาณ DNA บริเวณยีน <i>mip</i> ของ <i>L. pneumophila</i>	43

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ		หน้า
17	ความจำเพาะเจาะจงของ primer mip F, mip R ต่อยีน <i>mip</i> โดยเทคนิค PCR	44
18	การตัดชิ้น PCR product ขนาด 901 bp ด้วยเอนไซม์ <i>EcoRII</i>	46
19	การตัดชิ้น PCR product ขนาด 901 bp ด้วยเอนไซม์ <i>PvuII</i>	47
20	แสดงปริมาณการเจือจางของเซลล์ที่น้อยที่สุดที่สามารถตรวจพบ <i>L. pneumophila</i> serogroup 1 ได้โดยเทคนิค PCR โดยมีผงถ่าน ปนเปื้อนในปฏิกิริยา	48
21	แสดงปริมาณการเจือจางของเซลล์ที่น้อยที่สุดที่สามารถตรวจพบ <i>L. pneumophila</i> serogroup 1 ได้โดยเทคนิค PCR โดยกำจัดผงถ่าน ออกจากปฏิกิริยา	49
22	ตัวอย่างโคโลนิของแบคทีเรียที่มีลักษณะคล้าย <i>Legionella</i> sp.	51
23	ตรวจสอบการปนเปื้อนของ <i>L. pneumophila</i> จากหอหล่อเย็น โดยเทคนิค PCR	52
24	ลักษณะโคโลนีที่คล้ายกับ <i>Legionella</i> sp. จากตัวอย่างน้ำฝักบัว 2 ภายในโรงแรม ก	53
25	ลักษณะโคโลนีที่คล้ายกับ <i>Legionella</i> sp. จากตัวอย่างน้ำฝักบัว 5 ภายในโรงแรม ก	53
26	ลักษณะโคโลนีที่คล้ายกับ <i>Legionella</i> sp. จากตัวอย่างน้ำฝักบัว 4 ภายในโรงแรม ก	54
27	ลักษณะโคโลนีที่คล้ายกับ <i>Legionella</i> sp. จากตัวอย่างน้ำก๊อกน้ำ 3 ภายในโรงแรม ก	54
28	ลักษณะโคโลนีที่คล้ายกับ <i>Legionella</i> sp. จากตัวอย่าง น้ำก๊อกน้ำ 4 ภายในโรงแรม ข	54

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ		หน้า
29	ลักษณะโคโลนีที่คล้ายกับ <i>Legionella</i> sp. จากตัวอย่าง น้ำก๊อกน้ำ 2 ภายในโรงแรม ข	54
30	ลักษณะโคโลนีที่คล้ายกับ <i>Legionella</i> sp. จากตัวอย่าง น้ำก๊อกน้ำ 5 ภายในโรงแรม ข	54
31	ลักษณะโคโลนีที่คล้ายกับ <i>Legionella</i> sp. จากตัวอย่าง น้ำฝักบัว 1 ภายในโรงแรม จ	54
32	ลักษณะโคโลนีที่คล้ายกับ <i>Legionella</i> sp. จากตัวอย่างน้ำฝักบัว 3 ภายในโรงแรม จ	55
33	ลักษณะโคโลนีที่คล้ายกับ <i>Legionella</i> sp. จากตัวอย่างน้ำก๊อกน้ำ 1 ภายในโรงแรม จ	55
34	ลักษณะโคโลนีที่คล้ายกับ <i>Legionella</i> sp. จากตัวอย่างน้ำก๊อกน้ำ 2 ภายในโรงแรม จ	55
35	การตรวจสอบการปนเปื้อนของ <i>L. pneumophila</i> จากน้ำก๊อกน้ำและฝักบัว ภายในโรงแรม ก และ ข โดยเทคนิค PCR	63
36	การตรวจสอบการปนเปื้อนของ <i>L. pneumophila</i> จากน้ำก๊อกน้ำและฝักบัว ภายในโรงแรม จ โดยเทคนิค PCR	64
37	การตรวจสอบการปนเปื้อนของ <i>L. pneumophila</i> จากน้ำก๊อกน้ำและฝักบัว ภายในโรงแรม ก โดยเทคนิค PCR พบ PCR product ขนาด 600 bp	65
38	การตัดชิ้น PCR product ขนาด 901 bp ด้วยเอนไซม์ <i>EcoRII</i>	66

อักษรย่อและสัญลักษณ์

%	=	เปอร์เซ็นต์
°C	=	องศาเซลเซียส
bp	=	base pair
BCYE	=	Buffer Charcoal Yeast Extract
CFU	=	Colony Forming Unit
cm	=	เซนติเมตร
DNA	=	Deoxyribonucleic acid
dNTPs	=	Deoxynucleotide triphosphate
Dot	=	Defect Inorganelle Trafficking
EDTA	=	Ethylene-diamine-tetraacetic acid
FKBPs	=	FK 506-binding protein
g	=	กรัม
kb	=	kilo base
l	=	ลิตร
µg	=	ไมโครกรัม
µl	=	ไมโครลิตร
µM	=	ไมโครโมลาร์
M	=	โมลาร์
mg	=	มิลลิกรัม
Mip	=	Macrophage Infectivity Potentiator
ml	=	มิลลิลิตร
mm	=	มิลลิเมตร
mM	=	มิลลิโมลาร์
MOMP	=	Major Outer Membrane Protein
NA	=	Nutrient agar
NB	=	Nutrient broth

PCR	=	Polymerase Chain Reaction
PPlase	=	peptidyl-prolyl cis/trans isomerase activity
RNA	=	Ribonucleic acid
RNase	=	Ribonuclease
rpm	=	รอบต่อนาที
SD	=	standard deviation
SDS	=	Sodium dodecyl sulfate
STE	=	Sodium chloride-tris-EDTA
TAE	=	Tris-acetate-EDTA
TCBS	=	Thiosulfate Citrate Bile salts Sucrose
T _m	=	Melting Temperature
V	=	โวลต์
\bar{x}	=	average