# การจำแนกเชื้อ *Listeria* spp. ที่แยกได้จากอาหารด้วยเทคนิคมัลติเพล็กซ์พีซีอาร์
# Identification of *Listeria* spp. isolated from food by using multiplex PCR

กรกช พรหมจันทร์* นพรัตน์ ศรีมาก ภัทราภรณ์ ศรีไหม
Korrakot Prommajan*, Nopparat Srimark, Patraporn Srimai
สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences

**บทคัดย่อ**

*Listeria* spp. เป็นกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก โดยเฉพาะ *L. monocytogenes* ที่ก่อก่อโรคในมนุษย์และสัตว์ การตรวจวินิจฉัยและจำแนกเชื้อในระดับสปีชีส์ด้วยวิธีมาตรฐานต้องใช้เวลา 4-7 วัน การใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยาจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกเพื่อใช้ยืนยันเชื้อภายใน 1 วัน จากการศึกษาการตรวจยืนยันเชื้อ *Listeria* spp. ที่แยกได้จากเนื้อปลาแล่แพนกาเซียสดอรี่ ซูชิ และซาชิมิ จำนวน 115 ไอโซเลท ด้วยวิธีมาตรฐานการทดสอบทางชีวเคมี (ISO 11290-1:2017) สามารถจำแนก *L. monocytogenes* ร้อยละ 18.26 (21/115) *Listeria* spp. ร้อยละ 81.74 (94/115) และเมื่อเปรียบเทียบกับการทดสอบด้วยเทคนิคมัลติเพล็กซ์พีซีอาร์ที่สามารถจำแนกได้ 6 สปีชีส์ (*L. innocua*, *L. grayi*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes*, *L. seeligeri* และ *L. welshimeri*) พบว่าสามารถยืนยัน *L. innocua* ร้อยละ 12.17 (14/115), *L. grayi* ร้อยละ 1.74 (2/115) และสปีชีส์อื่นๆ ร้อยละ 67.83 (78/115) ในขณะที่การทดสอบยืนยันเชื้อ *L. monocytogenes* ได้ร้อยละ 18.26 (21/115) ปริมาณดีเอ็นเอความเข้มข้นต่ำสุดของเชื้อ *L. monocytogenes* ที่ ~$10^4$ cfu/ml และ 0.1 นาโนกรัม การทดสอบความจำเพาะกับเชื้อเป้าหมาย 50 สายพันธุ์ ให้ผลบวกร้อยละ 100 และผลทดสอบเชื้อที่ไม่ใช่เป้าหมาย ให้ผลลบกับเชื้อแบคทีเรียอ้างอิงแกรมบวกและแกรมลบทั้ง 30 สายพันธุ์ การทดสอบด้วยเทคนิคมัลติเพล็กซ์พีซีอาร์จึงเป็นวิธีทดสอบทางเลือกที่สามารถนำมาใช้แทนวิธีมาตรฐานได้

**คำสำคัญ:** *Listeria* spp., *L. monocytogenes*, การจำแนก, มัลติเพล็กซ์พีซีอาร์

**Abstract**

*Listeria* spp. are a group of Gram-positive bacteria, especially *L. monocytogenes* which causes disease in humans and animals. To identify such species, the conventional method commonly requires 4-7 days whereas molecular biology techniques are an alternative method for the detection of *Listeria* species level which shows the result within 1 day. The study of the identification of 155 *Listeria* spp. isolated from Pangasius hypophthalmus fillets, Sushi, and Sashimi by the standard biochemical tests (ISO 11290-1:2017) found 18.26% (21/115) of *L. monocytogenes* and 81.74% (94/115) of *Listeria* spp. And when comparing such study to develop multiplex PCR techniques that identify six distinct species (*L. innocua*, *L. grayi*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes*, *L. seeligeri* and *L. welshimeri*), the results showed 12.17% (14/115) of *L. innocua*, 1.74% (2/115) of *L. grayi*, and 67.83% (78/115) of *Listeria* spp. Moreover, the identification of *L. monocytogenes* was 18.26% (21/115). The multiplex PCR procedure was able to detect genomic DNA as low as ~$10^4$ CFU/ml of *L. monocytogenes* cells and 0.1 nanograms. For the specificity test, fifty target strains were 100% of the correct positive result and thirty non-target strains give the correct negative result of reference Gram-positive and Gram-negative bacteria. The multiplex PCR technique is an alternative method that can be used instead of the standard method.

**Keywords:** *Listeria* spp., *L. monocytogenes,* identification, multiplex PCR

**Corresponding author:** korrakot.p@dmsc.mail.go.th