ว ทันต จุฬาฯ 2549;29: 83-94
CU Dent J. 2006;29: 83-94

บทวิทยาการ
Original Article

การพัฒนาวิธีการตรวจหาและระบุชนิดของเชื้อแคนดิดาในตัวอย่างที่เก็บจากช่องปากโดยวิธีพีซีอาร์

อรนาฏ มาตังคสมบัติ, ท.บ., Ph.D.*
จารุมนต์ ศิรประภา[1]
อิสรา วงษ์ประภารัตน์[1]

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
นิสิตทันตแพทย์ชั้นปีที่ 4 คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อพัฒนาการตรวจหาและระบุชนิดของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ และแคนดิดา กลาบราตาในตัวอย่างที่เก็บจากช่องปากด้วยวิธีพีซีอาร์โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเตรียมตัวอย่างด้วยการสกัดดีเอ็นเอกับการต้ม

วัสดุและวิธีการ เก็บตัวอย่างจากช่องปากโดยการบ้วนน้ำเกลือจากอาสาสมัคร 10 คน แบ่งตัวอย่างส่วนหนึ่งมาระบุชนิดของเชื้อโดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดโครโมเจนิกแคนดิดา การทดสอบทางชีวเคมีและการสร้างคลาไมโดสปอร์ แบ่งตัวอย่างส่วนที่ 2 มาสกัดดีเอ็นเอและส่วนที่ 3 มาต้มเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมาทดสอบโดยวิธีพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์ 3 ชนิด คือ ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อราทุกชนิด ต่อเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ และต่อเชื้อแคนดิดา กลาบราตา และตรวจสอบโดยการแยกด้วยกระแสไฟฟ้า

ผลการศึกษา การระบุชนิดของเชื้อโดยวิธีการเพาะเลี้ยงพบอาสาสมัครที่มีเชื้อแคนดิดาในช่องปากจำนวน 7 คน โดยพบเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ทั้ง 7 คน และพบ 2 คนมีเชื้อแคนดิดา กลาบราตาด้วย การทดสอบโดยวิธีพีซีอาร์จากตัวอย่างที่นำมาสกัดดีเอ็นเอสามารถตรวจหาเชื้อราโดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อราทุกชนิดได้ 6 คน (ความไว 85.71% ความจำเพาะ 100%) ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ พบเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ 5 คน (ความไว 71.43% ความจำเพาะ 100%) และไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อแคนดิดา กลาบราตา พบเชื้อแคนดิดา กลาบราตา 1 ใน 2 คน แต่วิธีพีซีอาร์ที่ใช้นี้ไม่สามารถตรวจหาเชื้อแคนดิดาจากตัวอย่างที่นำมาต้มได้

สรุป วิธีพีซีอาร์นี้สามารถใช้ตรวจหาและระบุชนิดของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์และแคนดิดา กลาบราตา จากตัวอย่างที่เก็บจากช่องปากได้อย่างมีความจำเพาะสูง โดยพบว่าตัวอย่างที่สกัดดีเอ็นเอมีประสิทธิภาพมากกว่าการต้ม ดังนั้นวิธีการสกัดดีเอ็นเอที่ง่ายและประหยัดที่ใช้ในการศึกษานี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจหาและระบุชนิดเชื้อในตัวอย่างจากช่องปากที่รวดเร็วด้วยวิธีพีซีอาร์ได้ดี

(ว ทันต จุฬาฯ 2549;29:83-94)

คำสำคัญ การระบุชนิดของเชื้อ; แคนดิดา; ตัวอย่างจากช่องปาก; พีซีอาร์

The development of a PCR assay for the detection and identification of *Candida* in oral samples

Oranart Matangkasombut*

Jarumon Siraprapa[1]

Issara Wongpraparatana[1]

* Department of Microbiology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University

[1] 4th year dental students, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University

Abstract

Objective To 0.07develop a PCR-based method for the detection and identification of *Candida albicans* and *C. glabrata* in oral samples, with a comparison of sample preparations by DNA extraction and boiling.

Materials and methods Oral rinse samples were collected from 10 healthy volunteers. A portion of the samples was used for cultivation and species identification by growth on Chromogenic *Candida* agar, chlamydospore formation and biochemical assays. The second portion was subjected to DNA extraction, while the third portion was washed and boiled for 10 minutes. The samples were then tested by PCR using fungal specific primers (ITS) and species specific primers for *C. albicans* (CALB) and *C. glabrata* (CGLA). PCR products were detected by standard agarose gel electrophoresis.

Results Using culture-based assays, *Candida* was detected in 7 samples, all of which contain *C. albicans* while 2 also contain *C. glabrata.* In DNA extracted samples, the PCR assay using ITS primers detected fungi in 6 samples (85.71% sensitivity, 100% specificity); CALB primers detected *C. albicans* in 5 samples (71.43% sensitivity, 100% specificity), and CGLA primers detected *C. glabrata* in 1 of the 2 samples. This PCR assay was unable to detect the presence of *Candida* in boiled samples.

Conclusion This PCR assay was able to detect and identify *C. albicans* and *C. glabrata* with high specificity in DNA extracted oral samples, but not in boiled samples. Therefore, the simple and economical DNA extraction method used in this study can be applied for the rapid detection and identification of *Candida* in oral samples by PCR.

(CU Dent J. 2006;29:83-94)

Key words *Candida; oral samples; PCR; species identification*