

# Food borne Pathogens

---

กลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกสร้างสปอร์ (Gram-positive spore-forming foodborne bacteria)

อ. ดร. พัชรินทร์ ศิริงาน

สาขาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

## เชื้อก่อโรคกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกสร้างสปอร์ (Gram-positive spore-forming foodborne bacteria):

### เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus*

#### 1.1 คุณลักษณะของเชื้อ *Bacillus cereus*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างท่อน (rod) มีขนาดเซลล์ 1  $\mu\text{m}$  เรียงตัวแบบเซลล์เดี่ยว เซลล์คู่ หรือสายโซ่มีขนาดเซลล์รวม 3-5  $\mu\text{m}$  เจริญในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนได้ (Facultative anaerobe) สามารถเจริญที่ช่วงอุณหภูมิ 8-55  $^{\circ}\text{C}$  ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ที่ 28-35  $^{\circ}\text{C}$  ทนต่อ pH ต่ำสุดที่ pH 5-6 ขึ้นกับชนิดของกรด ค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ที่เหมาะสมกับการเจริญที่ ( $a_w$ ) >0.95

สร้างเอ็นโดสปอร์ (Endospore) รูปร่างกลมรีเหมือนไข่ (ellipsoid) อยู่ตรงกลางเซลล์ และไม่เกิดอับสปอร์ (don't cause swelling in Sporangium) สปอร์อิสระ (Free spore) ของเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* สามารถพบได้ในดิน น้ำ และพืชผัก มีความสามารถในการทนความร้อนสูงต้องใช้ความร้อนที่ 95  $^{\circ}\text{C}$  (Decimal reduction,  $D_{95}$ ) 1- 36 นาที ความสามารถในการทนต่อความร้อนของสปอร์มีความแตกต่างตามเซโรวาร (Serovar) คือการจำแนกชนิดโดยใช้เทคนิคซีโรไทป์ (serotype) จำแนกจากแฟลกเจลลา (แอนติเจน H) ซึ่งเป็นแอนติเจนที่มีความจำเพาะของแต่ละสายพันธุ์ ทดสอบจากจำนวน 29 agglutinating antisera

การเกิดโรคมึ 2 อาการที่พบว่าเกิดจาก *B. cereus* คือ โรคอาการอาเจียน (Emetic syndrome) และโรคท้องร่วง (Diarrheal syndrome) โดยมีระยะเวลาการเกิดอาการของโรคแตกต่างกัน โรคอาการอาเจียนเกิดจากมีจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดอาการติดเชื้อ (infectious dose)  $10^5$ - $10^8$  cells/g มีระยะเวลาฟักตัวเร็ว 0.5-5 ชั่วโมงซึ่งเร็วกว่า โรคอาการท้องร่วง มีจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดอาการท้องเสีย (infectious dose)  $10^5$ - $10^7$  เซลล์/g และมีระยะเวลาการฟักตัว 6-24 ชั่วโมง

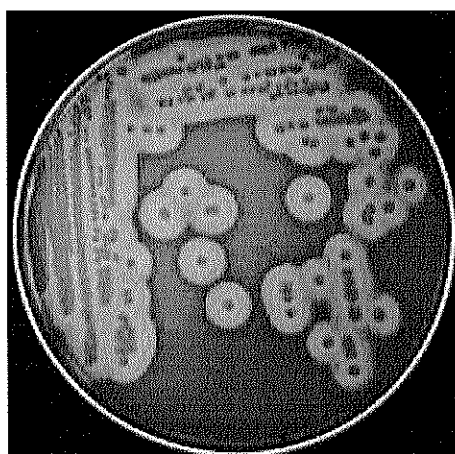
โรคอาการอาเจียน (Emetic syndrome) มีอาการคลื่นเหียนอยากอาเจียน อาเจียน เหนื่อย อ่อนเพลีย และท้องเสีย เกิดจากการสร้างสารพิษ emetic toxin หรือ cereulide ในอาหาร เป็นกลุ่ม enterotoxin ที่มีโครงสร้างแบบ cyclic peptide (dodecadepsipeptide) (D-O-Leu-D-Ala-L-O-val-L-Val, 3 repeat units) ประกอบไปด้วย 2 กรดอะมิโน และ 2 ออกซิแอตติก (oxyacids) ขนาดโมเลกุล 1.2 kDa ถูกสร้างในอาหารในช่วงการเจริญของเชื้อในช่วง late exponential เป็นสารพิษสามารถทนความ

ร้อนที่ 126 °C ได้นาน 90 นาที และมีความคงตัวในช่วง pH 2-11 แหล่งที่พบการปนเปื้อน เช่น ข้าวสวย ข้าวผัด พาสต้า พาสทรี และเส้นก๋วยเตี๋ยว

อาการของโรคท้องร่วง (Diarrheal syndrome) มีอาการท้องเสีย ปวดท้อง มีอาการคลื่นเหียนอาเจียน เกิดจากเชื้อแบคทีเรียผลิตสารพิษในลำไส้เล็กหลังจากมีการติดเชื้อ *B. cereus* สาเหตุเกิดจากสารพิษ Hemolytic enterotoxin (HBL) ที่มีโครงสร้างประกอบไปด้วยโปรตีน 3 ชนิด คือ B, L1 และ L2 มีขนาดโมเลกุล 37, 38 และ 46 kDa ตามลำดับ และ non-hemolytic enterotoxin (NHE) เป็นกลุ่มสารพิษที่ไม่ทนร้อน ไม่ทนกรด และสามารถถูกย่อยด้วยเอนไซม์โปรตีเนส เช่น ทริปซิน (Trypsin) และเปปซิน (pepsin) สามารถถูกทำลายด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 56 °C เวลา 5 นาที ไม่คงตัวที่ pH < 4 และ pH > 11 แหล่งที่พบการปนเปื้อนได้ในผลิตภัณฑ์เนื้อ ชูบ ผัก พุดดิ้ง ซอส นมและผลิตภัณฑ์นม

### 1.2 การตรวจเชื้อ *Bacillus cereus*

การตรวจสอบเชื้อ *B. cereus* ในตัวอย่างอาหารมีการปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus* >10<sup>5</sup> cells/g จึงไม่จำเป็นต้องทำการเพิ่มจำนวน (enrichment) สามารถตรวจสอบด้วย non-selective medium โดยใช้ blood agar ที่เติม polymyxin ที่เป็นยาปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เวลา 24 ชั่วโมง เพื่อตรวจสอบ  $\alpha/\beta$ -Haemolysis โคโลนีมีขนาดใหญ่เส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 3-7 มม. ลักษณะโคโลนีแบบ flat มีลักษณะเป็นแผ่นแบนราบสูงเล็กน้อย สีเทาอมเขียว (greygreen) และมีโซนการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง ลักษณะแสดงดังรูปที่ 1



รูปที่ 1-แสดงลักษณะการเกิด  $\beta$ -hemolysis ของ *B. cereus* บน blood agar สังเกตเห็นเคลิษฐ์โซนรอบ ๆ โคโลนี

ตารางที่ 1.1-คุณลักษณะทางชีวเคมีของ *B. cereus* MTCC 6840

Name of the test	Observation
*Gram's Stain	Positive
Endospore staining	Negative
*Cell shape	Rods
*Density	Opaque
*Elevation	Convex
*Margin	Irregular
Configuration	Lobate
Pigments	Not produced
H <sub>2</sub> S Production	Negative
MacConkey Agar growth	Negative
Fluorescence	Negative
Motility	Positive
*Catalase	Positive
Oxidase	Positive
Methyl Red	Positive
Voges Proskauer	Negative
Indole	Negative
Growth on Furazolidone agar	Negative
Citrate utilization	Negative
*Starch	Not hydrolysed
*Casein	Hydrolysed
*Gelatin	Hydrolysed
Nitrate reduction	Negative
Anaerobic growth	Negative
*Urease	Not Produced
<b>Acid production from</b>	
Glucose	Positive
Arabinose	Negative
Mannitol	Negative
Xylose	Negative
Meso-inositol	Negative
Raffinose	Negative
Rhamnose	Negative
Salicin	Positive
Sucrose	Negative
Galactose	Negative
Fructose	Positive

ตารางที่ 1.2- เปรียบเทียบคุณลักษณะทางชีวเคมีของ *B. cereus* กับสายพันธุ์อื่น ๆ

Feature	<i>B. cereus</i>	<i>B. thuringiensis</i>	<i>B. mycoides</i>	<i>B. weihenstephanensis</i>	<i>B. anthracis</i>	<i>B. megaterium</i>
Gram reaction	+( <sup>a</sup> )	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+	+
Motility	+/-( <sup>b</sup> )	+/-	-( <sup>c</sup> )	+	-	+/-
Reduction of nitrate	+	+	+	+	+	-( <sup>d</sup> )
Tyrosine decomposed	+	+	+/-	+	-( <sup>d</sup> )	+/-
Lysozyme-resistant	+	+	+	+	+	-
Egg yolk reaction	+	+	+	+	+	-
Anaerobic utilization of glucose	+	+	+	+	+	-
VP reaction	+	+	+	+	+	-
Acid produced from mannitol	-	-	-	-	-	+
Hemolysis (Sheep RBC)	+	+	+	ND	-( <sup>d</sup> )	-
Known pathogenicity <sup>e</sup> /characteristic	produces enterotoxins	endotoxin crystals pathogenic to insects	rhizoidal growth	growth at 6°C; no growth at 43°C	pathogenic to animals and humans	

<sup>a</sup> +, 90-100% of strains are positive.

<sup>b</sup> +/-, 50-50% of strains are positive.

<sup>c</sup> -, 90-100% of strains are negative.

<sup>d</sup> -, Most strains are negative.

<sup>e</sup> See Section H, Limitations of method for *B. cereus*.

ND Not determined

VP reaction: Voges-Proskauer reaction

ที่มา: <http://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm070875.htm>

## เชื้อแบคทีเรีย *Clostridium botulinum*

### 2.1 คุณลักษณะของเชื้อ *Clostridium botulinum*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างท่อนตรงโค้งปลายมน (cured rod) ขนาด 2-10  $\mu\text{m}$  สร้างสปอร์รูปไข่ (oval spore forming) ที่ตำแหน่งกึ่งกลางหรือเกือบสุดปลายเซลล์ (subterminal) สามารถเคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลาที่อยู่รอบเซลล์ (peritrichous flagella) เจริญในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนเลย (obligate anaerobe) pH ต่ำสุดในการเจริญเติบโต คือ pH 4.7 จึงมีโอกาสนับเป็นในอาหารที่มีความเป็นกรดอ่อน เชื้อแบคทีเรียมีความสามารถทนกรดอ่อน แต่ไม่เจริญที่ pH < 4.5

เชื้อ *Cl. botulinum* ก่อโรคที่ผลิตสารพิษและก่อให้เกิดโรคจากสารพิษ intoxication พบการปนเปื้อนสารพิษนี้ในอาหาร เป็นสารพิษที่มีพิษต่อระบบประสาท (neurotoxin) มีชื่อโรคว่า botulism มีสารพิษทั้งหมด 8 ชนิด คือ A B C<sub>1</sub> C<sub>2</sub> D E F และ G ยกเว้น C<sub>2</sub> ที่ไม่ใช่ neurotoxin ชนิด สารพิษแบ่งตามหลักของแอนติเจนิกิตี (antigenicity) คือสารพิษทำปฏิกิริยาจำเพาะกับแอนติบอดี คุณสมบัติของสารพิษไม่คงตัวที่ pH เป็นต่าง (pH 8.5-8.9) โดยทั่วไปการเกิดโรคในมนุษย์เกิดจากสารพิษ ชนิด A B E และ F

สามารถแบ่งกลุ่มของเชื้อ *Cl. botulinum* ตามคุณลักษณะทางสรีรวิทยา ทางพันธุกรรม ทางชีวเคมี และคุณลักษณะของสารพิษ ออกเป็น 4 กลุ่มดังแสดงในตารางที่ 2.1 กลุ่ม I และ II เป็นกลุ่มที่พบการก่อโรคในมนุษย์ กลุ่ม III พบก่อโรคในสัตว์ ส่วนกลุ่ม IV พบเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคน้อย กลุ่มที่ I เป็นสายพันธุ์สร้างเอนโดสปอร์ที่ทนความร้อนสูง มีความสามารถในการย่อยโปรตีน (Proteolysis) สูง ทำให้อาหารเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะของอาหาร กลุ่มที่ II เป็นสายพันธุ์ทนอุณหภูมิต่ำ (psychrotrophic) สามารถเจริญและผลิตสารพิษที่อุณหภูมิต่ำแต่อัตราการเจริญและผลิตสารพิษช้า จึงพบการปนเปื้อนในอาหารแช่เย็น (chilled food) สปอร์ไม่ทนร้อน ถูกยับยั้งด้วยเกลือ

อาการของโรค botulism มีระยะฟักตัวที่ 12-36 ชั่วโมงหลังจากการกินสารพิษ เนื่องจากสารพิษเป็นพิษต่อระบบประสาท มีอาการตามลำดับ ดังนี้ ตาพร่า คลื่นเหียน อาเจียน เหนื่อยเพลีย หน้ามืด วิงเวียน ปวดหัว คอแห้ง จมูกแห้ง กล้ามเนื้ออ่อนแรง พูดไม่ชัด ระบบหายใจล้มเหลว อาจทำให้เสียชีวิตได้ ร้อยละ 10 การเกิดโรค Infant botulism ส่วนใหญ่พบว่าเกี่ยวข้องกับการรับประทานน้ำผึ้งที่มีการปนเปื้อนสปอร์ของ *Cl. botulinum* มักพบอาการในเด็กอายุ 6 เดือน ถึง 1 ปี

ตารางที่ 2.1 แสดงกลุ่มของเชื้อแบคทีเรีย *Cl. botulinum*

คุณลักษณะ	กลุ่ม			
	I	II	III	IV
ชนิดสารพิษที่ผลิต (Type)	A B F	B E F	C <sub>1</sub> C <sub>2</sub> D	G
สภาวะการผลิตสารพิษ	35 °C	26-28 °C (3-4 °C)	no data	no data
การย่อยโปรตีน(Proteolysis)	+	-	+/-	+
การย่อยไขมัน(Lipolysis)	+	+	+	-
การหมักน้ำตาลกลูโคส	+	+	+	-
การหมักน้ำตาลแมนโนส	-	+	+	-
ความต้านทานของสปอร์ (Spore resistance)	ทนร้อนสูง (D <sub>121</sub> 0.1-0.25 นาที)	ทนร้อนต่ำ (D <sub>80</sub> 0.6-3.3 นาที)	±	no data
อุณหภูมิต่ำสุดในการเจริญ	10-12 °C	3.3 °C	15 °C	12 °C
ความเข้มข้นเกลือในการยับยั้ง	10 %	5%	3%	>3%
การผลิต Volatile fatty acids	Ac, iB, B, iV, Ph	A, B	A, P, B	A, iB, iV, Pa

Ac = acetic acid, iB = isobutyric acid, B= butyric acid, iV=isovaleric acid, Ph = phenylpropionic acid, Pa = phenylacetic acid

ที่มา: Forsythe (2010).

แหล่งของเชื้อ *Cl. botulinum* พบในดิน ปลา ผักและผลไม้สด อาหารที่มีการปนเปื้อนคือ ผัก ปลา และผลิตภัณฑ์เนื้อ น้ำผึ้ง โคลสลอว์ (Coleslaw) อาหารบรรจุกระป๋องที่เป็นกรดอ่อน (low acid canned food) โดยเฉพาะการบรรจุกระป๋องในครัวเรือน เช่น หน่อไม้ปิ้ง หรืออาหารที่บรรจุแบบไร้อากาศ ในสถานะปิดสนิท ถ้าให้ความร้อนที่ไม่เพียงพอสำหรับการทำลายเซลล์และสปอร์มีโอกาสพบการปนเปื้อนสูงเนื่องจากเป็นแบคทีเรียสร้างเอนโดสปอร์จึงแพร่กระจายทางอากาศ (airborne) มีผลให้สามารถเกิดการปนเปื้อนในภาชนะบรรจุ เช่น กระป๋องที่บรรจุอาหารที่ยังไม่ปิดผนึกฝาเมื่อทำการปิดฝาแล้วทำให้เกิดสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนขึ้นภายในกระป๋อง สปอร์ของเชื้อแบคทีเรียสามารถงอกและเกิดการเจริญพร้อมสร้างสารพิษในอาหาร การป้องกันเชื้อแบคทีเรียเพื่อลดการปนเปื้อนในอาหาร สามารถทำได้ด้วยเพิ่มความเป็นกรดของอาหาร (acidification) ลด  $a_w$  และทำลายสปอร์ด้วยความร้อนสูง โดยทั่วไปอุณหภูมิสำหรับการฆ่าเชื้ออาหารบรรจุกระป๋องที่มีความเป็นกรดอ่อน คือที่ 121 °C เป็นเวลาอย่างน้อย 3 นาที หรือที่สภาวะที่สามารถทำลายสปอร์ของเชื้อ *Cl. botulinum* ได้

## 2.2 การตรวจสอบเชื้อ *Cl. botulinum*

การตรวจเชื้อแบคทีเรีย *Cl. botulinum* โดยเริ่มต้นจากขั้นตอนการทำ enrichment โดยใช้อาหาร Cooked meat broth หรือ Chopped liver broth บ่มที่ 30 °C เป็นเวลา 7 วัน หรือให้ความร้อนที่ 80 °C 10 นาที เพื่อทำลายเชื้อที่ไม่สร้างสปอร์ที่เจริญในสภาวะไม่มีออกซิเจน (non-spore forming anaerobe) หรือใช้วิธี Ethanol treatment ก่อนมาตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียด้วย selective medium เช่น Trypticase-peptone-glucose-yeast extract (TPGY) broth หรือ เดิมเอนไซม์ทริปซิน trypsin (TPGYT) และ Liver-veal-egg yolk agar หรือ anaerobic egg yolk agar (อ้างอิง FDA: BAM <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070879.htm>) และ

CBI (Clostridium Botulinum Isolation Agar Base) ส่วนผสมของอาหารเลี้ยงเชื้อ CBI ประกอบไปด้วย น้ำตาลเดกซ์โทรส (dextrose) เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน Casein enzymatic hydrolysate และยีสต์สกัด (Yeast extract) เป็นแหล่งไนโตรเจนและกรดอะมิโนในการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย มี disodium phosphate ทำหน้าที่เป็น buffer มี magnesium sulphate เป็นสารช่วยเร่งการออกของสปอร์ และมี Sodium chloride เพื่อควบคุมสมดุล osmotic ในอาหาร และ egg yolk ที่ใช้ในการทดสอบการย่อยโปรตีน และไขมันของเชื้อ *Cl. botulinum*

การแยกคุณลักษณะของ *Cl. botulinum* โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ anaerobic egg yolk agar เพื่อใช้ในการตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ lipase และ proteinase โดยถ้ามีกิจกรรมของเอนไซม์ lipase จะเกิดโซนสีขาวไข่มุกรอบโคโลนี เนื่องจากเกิดจากการย่อยลิพิดในไข่แดงภายใน 72 ชั่วโมง ขณะที่ถ้ามีกิจกรรมของโปรตีนเอส สังเกตพบมีเคสิลรัวไข่มุกรอบโคโลนี

การตรวจสอบสารพิษ botulism ใช้วิธี mouse bioassay และ PCR ทำคู่ขนานกับ ELISA และ Endopeptidase assay และ Lateral flow test





รูปที่ 3- แสดงกิจกรรมไลเปสของเชื้อ *Cl. botulinum* (Lipase activity) หลังจากบ่มเป็นเวลา 72 ชั่วโมง บนอาหาร anaerobic egg yolk agar มีลักษณะ โชนสีขาวไข่มุกรอบๆ โคนโชน

## เชื้อแบคทีเรีย *Clostridium perfringens*

### 3.1 คุณลักษณะของเชื้อ *Clostridium perfringens*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างท่อนขนาด  $1 \times 3-9 \mu\text{m}$  สร้างแคปซูล (encapsulation) ไม่เคลื่อนที่ (non-motile) สร้างเอนโดสปอร์รูปไข่ ค่อนไปทางส่วนปลาย (sub terminal) เจริญในสภาวะไม่มีออกซิเจน (anaerobic) แต่บางโอกาสสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนเนื่องจากสามารถต้านทานออกซิเจนได้หรือทนต่อสภาวะที่มีอากาศ (aerotolerance) และไม่ผลิตเอนไซม์ catalase (Catalase-negative anaerobe) ช่วงอุณหภูมิในการเจริญที่  $12-50^{\circ}\text{C}$  ต่ำกว่า  $20^{\circ}\text{C}$  เจริญได้ช้า เหมาะสมที่  $43-47^{\circ}\text{C}$ , ช่วง pH 5.5-8 เหมาะสมที่ pH 6.0-7.5 มีความสามารถทนกรดได้ต่ำสุดที่ pH 5 ค่า  $a_w$  สำหรับการเจริญอยู่ในช่วง 0.95-0.97 และถูกยับยั้งด้วยเกลือความเข้มข้น 6% และมีความสามารถในการต้านทานความเย็น (cold-tolerant) สปอร์ทนความร้อน D values ที่  $100^{\circ}\text{C}$  ( $D_{100}$ ) ตั้งแต่ 0.31 -38 นาที ขึ้นกับชนิด (strains)

ตารางที่ 3.1 แสดงการแบ่งชนิดของ *Cl. perfringens* ตาม Toxinotypes บนพื้นฐานของชนิดสารพิษ exotoxin ที่มีแต่ละสายพันธุ์ผลิต

Toxinotype	Major Toxins				Minor Toxins				Associated diseases	
	$\alpha$	$\beta$	$\epsilon$	$\iota$	CPE	$\lambda$	$\theta$	$\delta$	Humans	Animals
<b>A</b>	++	-	-	-	+	-	+	-	Gangrene Gastrointestinal diseases	Diarrhea (foals, pigs...) Necrotic enteritis in fowl
<b>B</b>	+	+	+	-	+	+	-	+	-	Dysentery in newborn lambs Hemorrhagic enteritis in neonatal calves and foals Enterotoxemia in sheep
<b>C</b>	+	+	-	-	+	-	-	+	Necrotic enteritis	Necrotic enteritis in piglets, lambs, calves and foals Enterotoxemia in sheep
<b>D</b>	+	-	+	-	+	+	-	-	-	Enterotoxemia in lambs, sheep, calves and goats
<b>E</b>	+	-	-	+	+	+	-	-	-	Enterotoxemia in calves

--- no detected toxin production; + - detected toxin production; ++ - highest toxin producer

ที่มา: Cavalcanti et al. (2004)

แบ่งออกเป็น 5 สายพันธุ์ type A-E (ตารางที่ 3.1) ตามการผลิตสารพิษ exotoxin หรือ enterotoxin ประกอบด้วยสารพิษหลัก 4 ชนิด คือ  $\alpha$  (alpha)  $\beta$  (beta)  $\epsilon$  (epsilon)  $\iota$  (iota) และ สารพิษรอง 8 ชนิด คือ  $\delta$ -toxin (delta)  $\nu$ -toxin (nu toxin as a deoxyribonuclease)  $\theta$ -toxin (theta toxin)  $\kappa$ -toxin (kappa toxin as a collagenase)  $\lambda$ -toxin (lambda toxin as a protease)  $\mu$ -toxin (mu toxin as a hyaluronidase) CPE (*Cl. perfringens* enterotoxin) และ Neuramidase (Neuraminidase as a pathogenic factor in gas gangrene infections) กลไกออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารพิษดังแสดงในตารางที่ 3.2 โดยสารพิษเหล่านี้มีบทบาทในการช่วยเชื้อแบคทีเรียบุกรุกเข้าไปทำลายเซลล์เนื้อเยื่อในระบบทางเดินอาหารของทั้งคนและสัตว์

ตารางที่ 3.2 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารพิษของ *Cl. perfringens*

Toxin	Mode of action	Biological activity
$\alpha$	Phospholipase C / sphingomyelinase	Cytolytic, hemolytic, dermonecrotic, lethal <sup>1</sup>
$\beta 1, \beta 2$	Pore-forming activity Cell membrane disruption?	Cytolytic, dermonecrotic, lethal hemorrhagic necrosis of intestinal mucosa <sup>2</sup>
$\epsilon$	Alteration of cell membrane permeability	Edema in various organs: liver, kidney and central nervous system, dermonecrotic, lethal <sup>3</sup>
$\epsilon a, \epsilon b$	ADP-ribosylation of actin for $\epsilon a$	Disruption of actin cytoskeleton, disruption of cell barrier integrity dermonecrotic, lethal <sup>4</sup>
$\delta$	Hemolysin, specific GM2	Additional virulence factors <sup>5</sup>
$\lambda$	Protease	Additional virulence factors <sup>6</sup>
$\theta$	Hemolysin, specific to cholesterol	Additional virulence factors <sup>7</sup>
(CPE)	Pore-forming activity	Cytotoxic, erythematous, lethal leakage of water and ions by enterocytes, diarrhea <sup>8</sup>

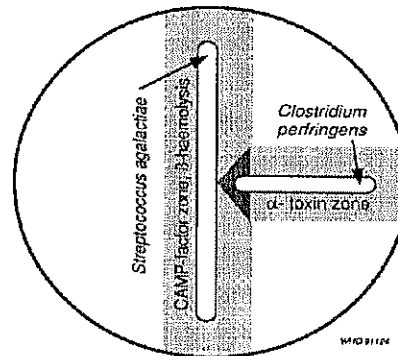
ที่มา: Cavalcanti et al. (2004)

อาการของโรคขึ้นกับชนิดของสารพิษ โดยทั่วไป *Cl. perfringens* Type A C และ D มีอาการปวดท้อง ท้องร่วง อ่อนเพลีย จนถึงเป็นโรคเรื้อรัง เช่น โรคเนื้อเยื่อเน่าตาย (gas gangrene) เป็นสภาวะการตายของเนื้อเยื่อที่มีสาเหตุมาจากการติดเชื้อ *Cl. perfringens* ที่สามารถสร้างก๊าซ และโรคลำไส้อักเสบเน่าตายในทารก (necrotizing enteritis) มีอาการหลังจากการรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อน 8-12 ชั่วโมง แหล่งอาหารที่มีการปนเปื้อน ในเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ เช่น เนื้อวัว เนื้อสัตว์ปีก น้ำซอส เกรวี (gravies)

### 3.2 การตรวจสอบเชื้อ *Cl. perfringens*

การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียหลังจากเลี้ยงใน pre-enrichment medium โดยใช้อาหาร cooked meat broth และนำไปเลี้ยงในอาหาร selective media คือ Perfringen agar base เช่น Shahidi-Ferguson Perfringens Agar (SFP Agar) , Tryptone Sulfite Cycloserine (TSC) agar และ Oleandomycin/polymycin/sulfadiazine/perfringens (OPSP) ในอาหารมีส่วนผสมของ Sodium

*Clostridium* isolate) สามารถย่อยสลายเม็ดเลือดแดงเนื่องจากทุกชนิด ของ *Cl. perfringens* ที่ก่อโรคผลิตสารพิษชนิดนี้



รูปที่ 5- Reverse Camp Test positive

เอกสารอ้างอิง

Adams, M.R. and Moss, M.O. 2008. **Food Microbiology**, 3<sup>rd</sup> edition. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry (RSC) Publishing.

Cavalcanti, M. T. H., Porto, T., Porto, A. L. F., Brandi, I. V., Lima Filho, J. L., and Pessoa Junior, A. 2004. Large scale purification of *Clostridium perfringens* toxins: a review. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. 40 (2): 151-164.

Forsythe, S.J. 2010. **The Microbiology of Safe Food**, 2<sup>nd</sup> edition. Oxford, UK: Wiley-Blackwell.

Jay, J.M., Loessner, M.J., and Golden, D.A. 2005. **Modern Food Microbiology**, 7<sup>th</sup> edition. New York: Springer Science + Business Media, Inc.