วารสารทันตแพทยศาสตร์มหิดล
MAHIDOL DENTAL JOURNAL

ว ทันต มหิดล ปีที่ 26 หน้า 123-130, 2549

บทวิทยาการ
Original Article

Effect of DNA preparations on PCR-detection of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*

Sombhun Doungudomdacha* D.D.S., M.Sc., Ph.D.
Rudee Surarit* B.Sc., M.Sc., Ph.D.
Kanokwan Visadenimitchai Dental student**
Sukchai Tararungraung Dental student**
Korrawan Tangkongpanich Dental student**

**Department of Physiology and Biochemistry, Faculty of Dentistry, Mahidol University. 6 Yothi Street, Rachathewi, Bangkok 10400 Thailand.*

***Dental Students, Faculty of Dentistry, Mahidol University. 6 Yothi Street, Rachathewi, Bangkok 10400 Thailand.*

Abstract

Dental caries is one of the most infectious diseases affected mankind and is still one of the major problems in oral health of Thai population. The etiology of the disease is believed to be multifactors. These include *S. mutans* and *S. sobrinus*, which are able to induce demineralization of the tooth. To date, polymerase chain reaction (PCR) has been widely used to detect bacteria; however, such method is limited by several factors, one of which is DNA template. The objectives of this study were to investigate three sampling methods for PCR detection of *S. mutans* and *S. sobrinus* in oral cavity and to compare DNA preparations between the boiling technique and a commercial kit (QIAamp DNA mini Kit, QIAGEN®). In this study, saliva, supragingival plaque samples and scrapes from buccal mucosa were collected from 18 volunteers of the third-year dental students, Mahidol University. Each sample was equally divided into two parts; DNA from the first part was prepared by boiling for 15 minutes and that from the remaining part was performed by using the QIAamp DNA mini kit. Conventional PCR for detecting *S. mutans* and *S. sobrinus*, was performed to compare the two DNA preparations. Results revealed that *S. mutans* was detected more frequently in the samples using the kit (16/18) whilst *S. sobrinus* was found higher in the boiled samples (12/18). Of the three sampling methods, a positive relationship was found between *S. mutans* and *S. sobrinus* (11/18). The former species appeared to be PCR-detected with the highest frequency in the saliva samples (13/18) whereas the latter in both the supragingival plaque and the buccal swab samples (9/18). In conclusion, DNA preparations and sampling methods may have an impact on PCR for detecting *S. mutans* and *S. sobrinus*. This research was supported by the Faculty of Dentistry, Mahidol University Research Grant.

Key words: PCR, *S. mutans*, *S. sobrinus*, DNA preparation, sampling methods

Doungudomdacha S, Surarit R, Visadenimitchai K, Tararungruang S, Tangkongpanich K. Effect of DNA preparations on PCR-detection of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. Mahidol Dent J 2006; 26: 123-130.

วารสาร
ทันตแพทยศาสตร์มหิดล
MAHIDOL DENTAL JOURNAL

ว ทันต มหิดล ปีที่ 26 หน้า 123-130, 2549

บทวิทยาการ
Original Article

ผลของวิธีการเตรียมแม่แบบดีเอ็นเอ ต่อ การตรวจสอบเชื้อ สเตร็พโตคอกคัส มิวแทนส์ และ สเตร็พโตคอกคัส โซบรินัส ด้วยวิธี ปฏิกิริยาลูกโซ่โปลิเมอเรส

สมบุญ ดวงอุดมเดชา* **ท.บ., วท.ม., Ph.D.**
ฤดี สุราฤทธิ์* **วท.บ., วท.ม., Ph.D.**
กนกวรรณ วิเศษนิมิตชัย** **นักศึกษาทันตแพทย์**
สุขชัย ธารารุ่งเรือง** **นักศึกษาทันตแพทย์**
กรวรรณ ตั้งกงพานิช** **นักศึกษาทันตแพทย์**

**ภาควิชาสรีรวิทยาและชีวเคมี คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล 6 ถนนโยธี เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400*
***นักศึกษาทันตแพทยศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล 6 ถนนโยธี เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400*

บทคัดย่อ

โรคฟันผุจัดเป็นโรคติดเชื้อชนิดหนึ่งและเป็นปัญหาสำคัญของทันตสาธารณสุขของประชากรไทย เชื้อสเตร็พโตคอกคัส มิวแทนส์ (*Streptococcus mutans*) และ สเตร็พโตคอกคัส โซบรินัส (*Streptococcus sobrinus*) มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดโรค โดยสามารถก่อให้เกิดการละลายของแร่ธาตุที่เป็นส่วนประกอบของฟัน ในปัจจุบันการตรวจเชื้อแบคทีเรียนิยมใช้วิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โปลิเมอเรส (polymerase chain reaction, PCR) ซึ่งเป็นวิธีที่มีความรวดเร็ว และ ความแม่นยำสูง แต่วิธีนี้มีข้อจำกัดหลายประการ แม่แบบดีเอ็นเอ จัดเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีบทบาทต่อการตรวจด้วยวิธี PCR วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาวิธีการเก็บตัวอย่างในช่องปากสามแบบ คือ น้ำลาย แผ่นคราบจุลินทรีย์เหนือเหงือก และ ตัวอย่างที่ได้จากการขูดข้างแก้ม ในการตรวจเชื้อ สเตร็พโตคอกคัส มิวแทนส์ และ สเตร็พโตคอกคัส โซบรินัส ด้วยวิธี conventional PCR และเปรียบเทียบวิธีการเตรียมแม่แบบดีเอ็นเอจากตัวอย่าง ระหว่างวิธีการต้ม และ การใช้ชุดสำเร็จรูปที่มีขาย (QIAamp DNA mini kit) ในการศึกษานี้ เก็บตัวอย่างทั้งสามชนิดจาก นักศึกษาทันตแพทย์ชั้นปีที่ 3 คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล จำนวน 18 ราย แบ่งตัวอย่างเป็นสองส่วนเท่ากัน ส่วนแรกนำไปสกัดแม่แบบดีเอ็นเอด้วยวิธีการต้มเป็นเวลา 15 นาที และ ส่วนที่สองใช้ชุดสำเร็จรูป แล้วนำไปตรวจสอบเชื้อทั้งสองด้วยวิธี PCR ผลการทดลองพบว่า แม่แบบดีเอ็นเอที่เตรียมจากการใช้ชุดสำเร็จรูป ให้ผลดีในการตรวจเชื้อ สเตร็พโตคอกคัส มิวแทนส์ (16/18) ขณะที่ แม่แบบดีเอ็นเอที่ได้จากการต้มเหมาะสำหรับการตรวจเชื้อ สเตร็พโตคอกคัส โซบรินัส (12/18) นอกจากนี้มักพบเชื้อทั้งสองร่วมกันในตัวอย่าง (11/18) เชื้อสเตร็พโตคอกคัสมิวแทนส์พบบ่อยในตัวอย่างน้ำลาย (13/18) ส่วนเชื้อสเตร็พโตคอกคัส โซบรินัส มักพบบ่อยในตัวอย่างแผ่นคราบจุลินทรีย์เหนือเหงือก และ ตัวอย่างที่ได้จากการขูดข้างแก้มด้วยไม้กดลิ้น (9/18) การทดลองนี้สรุปได้ว่า ตัวอย่างที่เลือกใช้ในการตรวจเชื้อที่ต้องการศึกษา และ การเลือกวิธีในการเตรียมแม่แบบดีเอ็นเอ มีผลต่อการตรวจเชื้อสเตร็พโตคอกคัส มิวแทนส์ และ สเตร็พโตคอกคัส โซบรินัส ด้วยวิธี PCR การศึกษานี้ได้รับทุนอุดหนุนจากคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

รหัสคำ: ปฏิกิริยาลูกโซ่โปลิเมอเรส, สเตร็พโตคอกคัส มิวแทนส์, สเตร็พโตคอกคัส โซบรินัส, วิธีการเตรียมแม่แบบดีเอ็นเอ, วิธีการเก็บตัวอย่างในช่องปาก

สมบุญ ดวงอุดมเดชา, ฤดี สุราฤทธิ์, กนกวรรณ วิเศษนิมิตชัย, สุขชัย ธารารุ่งเรือง, กรวรรณ ตั้งกงพานิช. ผลของวิธีการเตรียมแม่แบบดีเอ็นเอ ต่อ การตรวจสอบเชื้อ สเตร็พโตคอกคัส มิวแทนส์ และ สเตร็พโตคอกคัส โซบรินัส ด้วยวิธี ปฏิกิริยาลูกโซ่โปลิเมอเรส ว ทันต มหิดล 2549; 26: 123-130.