สารบัญ

หน้า

สารบัญ……………………………………………………………………………………..(1)

สารบัญตาราง………………………………………………………………………….……...(3)

สารบัญภาพ…………………………………………………………………………………...(5)

คำนำ…………………………………………………………………………………………1

วัตถุประสงค์…………………………………………………………………….….2

การตรวจเอกสาร…………………………………………………………………….………3

Salmonella………………………………………………………………….………3

การตรวจวิเคราะห์……………………………………………………………...……….10

Immunomagnetic Separation (IMS)……………………………………………….17

Dynabeads® anti-Salmonella………………………………………………………20

Dynabeads M-280 Tosylactivated………………………………………….…....20

แอนติบอดี………………………………………………………………………….21

อุปกรณ์และวิธีการ………………………………………………………………….……….22

อุปกรณ์……………………………………………………………………….……….22

วิธีการ……………………………………………………………………………..……25

ผลและการวิจารณ์…………………………………………………………………………32

การหาปริมาณแอนติบอดีในแอนติซีรั่ม (crude antiserum)……………………..32

การเตรียม IgG บริสุทธิ์…………………………………………………………….34

การหาปริมาณ IgG โดยวิธี direct agglutination…………………………………37

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเคลือบ IgG บน Dynabeads M-280
Tosylactivated โดยเปรียบเทียบกับ Dynabeads® anti-Salmonella……………..…...40

การศึกษาความจำเพาะ (specificity) ของ Dynabeads M-280 Tosylactivated
เคลือบด้วย IgG ที่ผลิตเองเปรียบเทียบกับ Dynabeads® anti-Salmonella………..45

การศึกษาความไว (sensitivity) ของ Dynabeads M-280 Tosylactivated
เคลือบด้วย IgG ที่ผลิตเองเปรียบเทียบกับ Dynabeads® anti-Salmonella………..50

การศึกษาประสิทธิภาพในการตรวจเชื้อ *Salmonella* โดยวิธี IMS
และวิธีมาตรฐาน ISO6579:2002……………………………………………...52

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

สรุป……………………………………………………………………………………………..55
เอกสารและสิ่งอ้างอิง…………………………………………………………………..………..57
ภาคผนวก……………………………………………………………………………………64

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณแอนติบอดีในแอนติซีรั่มกลุ่ม OMA เมื่อทดสอบกับเชื้อ *Salmonella* ที่เป็นตัวแทนของกลุ่ม	33
2	ปริมาณแอนติบอดีในแอนติซีรั่มกลุ่ม OMB เมื่อทดสอบกับเชื้อ *Salmonella*ที่เป็นตัวแทนของกลุ่ม	33
3	ปริมาณแอนติบอดีของ IgG บริสุทธิ์ เมื่อทดสอบกับเชื้อ *Salmonella* และ non-*Salmonella* โดยวิธี direct agglutination	39
4	การจับเชื้อ *S.* Enteritidis เมื่อใช้ปริมาตร beads และเวลาต่างกัน โดยใช้ปริมาณเชื้อ 8,000 CFU/มิลลิลิตร	40
5	เปรียบเทียบบัฟเฟอร์และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเคลือบ IgG บน beads ในการจับเชื้อ *S.* Enteritidis โดยใช้ปริมาณเชื้อ 10,500 CFU/มิลลิลิตร	41
6	เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนของ IgG ที่ระดับต่างๆ ที่ใช้ในการเคลือบ beads ในการจับเชื้อ *Salmonella*	42
7	การจับเชื้อของ beads เคลือบด้วย IgG ที่ผลิตเองที่เวลาต่างๆ เปรียบเทียบกับDynabeads® anti-Salmonella	44
8	ความจำเพาะของ Dynabeads M-280 Tosylactivated เคลือบด้วย IgG ที่ผลิตเองเปรียบเทียบกับ Dynabeads® anti-Salmonella เมื่อทดสอบกับเชื้อ *Salmonella*	47
9	ความจำเพาะของ Dynabeads M-280 Tosylactivated เคลือบด้วย IgG ที่ผลิตเองเปรียบเทียบกับ Dynabeads® anti-Salmonella เมื่อทดสอบกับเชื้อ non-*Salmonella*	49
10	ความไวของ Dynabeads M-280 Tosylactivated เคลือบด้วย IgG ที่ผลิตเองเปรียบเทียบกับ Dynabeads® anti-Salmonella เมื่อใส่เชื้อ *Salmonella* ที่ระดับต่างๆ	51
11	การตรวจเชื้อ *Salmonella* ในอาหาร โดยวิธี IMS และ ISO6579:2002	54

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ค1	ปฏิกิริยาของเชื้อ *Salmonella* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSI และ MIL	70
ฉ1	เปรียบเทียบผลการตรวจเชื้อ *Salmonella* ในอาหารโดยวิธี IMS ที่ใช้ Dynabeads® anti-Salmonella กับวิธี ISO6579:2002	87
ฉ2	เปรียบเทียบผลการตรวจเชื้อ *Salmonella* ในอาหารโดยวิธี IMS ที่ใช้ Dynabeads M-280 Tosylactivated เคลือบด้วย IgG ที่ผลิตเอง กับวิธี ISO6579:2002	87

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

1 โครงสร้างของ Dynabeads M-280 Tosylactivated เมื่อทำปฏิกิริยา
กับโปรตีน หรือ ligands ที่มี amino หรือ sulfhydryl groups……………….…...21

2 การแยก IgG จากแอนติซีรั่มกลุ่ม OMA โดยวิธี affinity chromatography……...35

3 การแยก IgG จากแอนติซีรั่มกลุ่ม OMB โดยวิธี affinity chromatography……...35

4 การแยก IgG จากแอนติซีรั่มกลุ่ม I โดยวิธี affinity chromatography……...……36

5 ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของ IgG โดยการทำ SDS-PAGE…………….…..……37

ภาพผนวกที่

ข1 กราฟโปรตีนมาตรฐานของ Bovine serum albumin……………………………69

จ1 ขั้นตอนการเคลือบ IgG บน Dynabeads M-280 Tosylactivated………………..81

จ2 ขั้นตอนการใช้เทคนิค Immunomagnetic separation…………………………...82

จ3 ลักษณะการเจริญของเชื้อ *Salmonella* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MSRV……………...83

จ4 ลักษณะการเจริญของเชื้อ *Salmonella* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD………………..83

จ5 อุปกรณ์แท่นแม่เหล็ก (Dynal MPC) ที่ใช้ทำ IMS……………………………....84

จ6 อุปกรณ์เครื่องหมุนระหว่างการเคลือบ IgG บน beads และการจับเชื้อ………...85

จ7 การเกาะติดของ beads ในการทำ IMS…………………………….…………86