สรุป

ในการวิจัยครั้งนี้ได้ใช้ Dynabeads M-280 Tosylactivated มาทำการเคลือบด้วย IgG ที่ผลิตจากโอแอนติเจนของเชื้อ *Salmonella* กลุ่ม OMA, OMB และ I ที่ฉีดเข้าไปในกระต่าย แอนติซีรั่มที่ได้เป็นโพลีโคลนอลเมื่อมาทำให้เป็น IgG บริสุทธิ์โดยวิธี affinity chromatography แล้วหาปริมาณโปรตีนพบว่า IgG 1 กรัมมีโปรตีน 450 มิลลิกรัม

เมื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการเคลือบ beads ด้วย IgG สำหรับนำไปใช้จับเชื้อ *Salmonella* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ พบว่าต้องใช้ IgG ปริมาณโปรตีน 200 ไมโครกรัมเคลือบ beads จำนวน 5 ไมโครลิตร หรือประมาณ $1x10^7$ beads โดยใช้ 0.1 M sodium phosphate buffer pH 7.4 เป็นบัฟเฟอร์ ทำการเคลือบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 16-24 ชั่วโมง ใช้เวลาจับเชื้อนาน 1 ชั่วโมง เพื่อให้มีประสิทธิภาพใกล้เคียง Dynabeads® anti-Salmonella

ในการหาความจำเพาะของ beads เคลือบด้วย IgG ที่ผลิตเองเปรียบเทียบกับ Dynabeads® anti-Salmonella พบว่า beads เคลือบด้วย IgG ที่ผลิตเองจับเชื้อ *Salmonella* ในกลุ่ม F, G และ I ได้ดี แต่จับเชื้อในกลุ่ม B, C, D และ E ซึ่งเป็นกลุ่มที่พบมากในอาหารได้น้อย เมื่อทดสอบกับเชื้อ non-*Salmonella* พบว่า beads ทั้งสองชนิดยังจับเชื้อได้แต่ความสามารถในการจับไม่เท่ากัน ซึ่งการจับเชื้อ non-*Salmonella* ได้น่าจะเกิดจาก non-specific binding แสดงให้เห็นว่า beads ทั้งสองชนิดมีความจำเพาะไม่สูงนัก แต่ Dynabeads® anti-Salmonella มีความจำเพาะมากกว่า beads เคลือบด้วย IgG ที่ผลิตเอง

เมื่อนำมาหาความไว หรือจำนวนเชื้อระดับต่ำสุดที่ beads ทั้งสองชนิดสามารถจับกับเชื้อ *Salmonella* บริสุทธิ์ พบว่าเชื้อ *Salmonella* กลุ่ม C ตรวจพบได้ที่ระดับต่ำกว่า 10 เซลล์ ส่วนกลุ่ม B, D และ E ตรวจพบได้เมื่อมีจำนวนเชื้อมากกว่า 10 เซลล์ขึ้นไป สำหรับกลุ่ม F, G, I และ N นั้น เมื่อใช้ beads เคลือบด้วย IgG ที่ผลิตเองจะตรวจพบเชื้อได้ในช่วง 10-99 เซลล์ ซึ่งดีกว่า Dynabeads® anti-Salmonella ยกเว้นกลุ่ม F อย่างไรก็ตามความสามารถในการจับเชื้อ *Salmonella* ที่ระดับดังกล่าวอาจจะลดลงเมื่อนำไปใช้ตรวจอาหาร เพราะอาหารโดยทั่วไปจะมีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์แข่งขันสูงหรือมีอนุภาคอาหารทำให้ขัดขวางการจับเชื้อของ beads

จากการตรวจอาหารที่มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ตามธรรมชาติด้วยวิธี IMS โดยเฉพาะอาหารที่ไม่ผ่านกรรมวิธีการผลิต พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมจะใช้ในการแยกเชื้อ คือ MSRV เพราะอ่านผลง่าย แม่นยำ และพบเชื้อ *Salmonella* มากกว่า การที่เพิ่มจำนวนเชื้อโดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ BPW นาน 8 ชั่วโมง (วิธีมาตรฐานทั่วไปกำหนดให้บ่มนาน 18-24 ชั่วโมง) เพราะต้องการลดเวลาการตรวจ ผลการตรวจเชื้อ *Salmonella* ของ beads เคลือบด้วย IgG ที่ผลิตเอง และ Dynabeads® anti-Salmonella พบว่ามีประสิทธิภาพเท่ากันเพราะมีความไว ความจำเพาะ และความถูกต้องเท่ากัน คือ ร้อยละ 96.15, ร้อยละ 100 และร้อยละ 96.67 ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี ISO6579:2002 ถึงแม้เวลาที่ใช้จับเชื้อของ beads เคลือบด้วย IgG ที่ผลิตเองจะนานกว่า Dynabeads® anti-Salmonella แต่ราคาของ beads ที่เคลือบด้วย IgG ที่ผลิตเองก็ถูกกว่า โดยราคา IgG ที่ใช้เคลือบประมาณ 16 บาท/ตัวอย่าง ส่วน beads เปล่าราคา 45 บาท/ตัวอย่าง และสารเคมีที่ใช้เคลือบประมาณ 1 บาท/ตัวอย่าง รวมราคาค่าใช้จ่ายของ beads ที่เคลือบด้วย IgG ที่ผลิตเองทั้งหมดเท่ากับ 62 บาท/ตัวอย่าง ในขณะที่ Dynabeads® anti-Salmonella ราคา 143 บาท/ตัวอย่าง

ดังนั้นวิธี IMS โดยใช้ beads เคลือบด้วย IgG ที่ผลิตเอง หรือ Dynabeads® anti-Salmonella สามารถใช้แทนวิธี ISO6579:2002 ได้ และให้ผลการตรวจเร็วกว่า 2 วัน วิธีการตรวจง่าย ประหยัดแรงงาน เหมาะกับโรงงานอาหารหรือห้องปฏิบัติการที่ต้องการความรวดเร็วในการตรวจอาหาร ถึงแม้ค่าใช้จ่ายในการตรวจจะสูงกว่าวิธีมาตรฐานเพราะ beads ที่ใช้มีราคาแพง แต่วิธี IMS ช่วยเพิ่มความเข้มข้นของเซลล์ทำให้อาหารที่มีเชื้อ *Salmonella* จำนวนน้อย ๆ มีโอกาสตรวจพบมากขึ้น และสามารถนำ beads ที่จับเชื้อแล้วไปตรวจสอบเชื้อด้วยวิธีต่างได้

ในการวิจัยต่อไปอาจใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีผสมกับโพลีโคลนอลแอนติบอดี หรือใช้แอนติซีรั่มที่ผลิตจากโอแอนติเจน และ เอชแอนติเจนผสมกันเพื่อเพิ่มความจำเพาะกับเชื้อ *Salmonella* มากขึ้น อีกทั้งอาจใช้แอนติซีรั่มของกลุ่ม *Salmonella* ที่พบมากในอาหารมาทำการเคลือบ beads โดยไม่จำเป็นต้องใช้ทุกกลุ่มเพราะเชื้อ *Salmonella* จะมี antigenic determinant บางส่วนที่คล้ายกันทำให้ถูกจับโดย beads ได้ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการจับเชื้อ *Salmonella* กลุ่มที่พบมากในอาหาร