

กฤษฎา คูจินดา 2551: การพัฒนาวิธีการตรวจเชื้อ *Salmonella* ด้วยวิธี dot-ELISA โดยใช้โพลีโคลนอลแอนติบอดี ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (จุลชีววิทยา) สาขาจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์พัชร สุพรรณนันท, ปร.ด. 78 หน้า

*Salmonella* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร เช่น โรคไข้รากสาด โรคอาหารเป็นพิษ มักพบปนเปื้อนอยู่ในอาหารหลายประเภท ทั้งที่เป็นอาหารดิบและอาหารที่ปรุงสำเร็จ การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในตัวอย่างอาหารด้วยวิธีมาตรฐานทางจุลชีววิทยาทั่วไปมักใช้เวลาในการตรวจหลายวัน การตรวจด้วยวิธีทางอิมมูโนวิทยาที่พัฒนาขึ้นในการวิจัยนี้จะใช้วิธี dot-ELISA โดยผลิตโพลีโคลนอลแอนติบอดีในกระต่าย ด้วยการฉีดเชื้อ *Salmonella* ser. Anatum และ *Salmonella* ser. Enteritidis จะะเล็ดกระต่ายแยกแอนติซีรัม แล้วนำไปเตรียม IgG บริสุทธิ์ด้วยวิธี affinity chromatography ตรวจความบริสุทธิ์ด้วยวิธี SDS-PAGE และตรวจหาปริมาณโปรตีนของ IgG บริสุทธิ์ได้ 625 ไมโครกรัมต่อกรัมของตัวอย่างนำ IgG ที่ผลิตได้มาใช้ในการตรวจหา *Salmonella* ด้วยวิธี dot-ELISA ปรากฏว่าสามารถตรวจพบ *Salmonella* ทุกซีรอร์ทที่ใช้เป็นตัวแทนในแต่ละ group ของ *Salmonella* แต่เกิดปฏิกิริยาข้าม (cross reaction) กับแบคทีเรียกลุ่ม enteric ที่ไม่ใช่ *Salmonella* จึงได้ใช้อาหาร Rappaport Vassiliadis Soya (RVS) broth เพาะเลี้ยงเชื้อเพื่อส่งเสริมการเจริญของ *Salmonella* แต่ยับยั้งการเจริญของเชื้อกลุ่ม non-*Salmonella* แล้วจึงตรวจด้วยวิธี dot-ELISA พบว่าสามารถขจัดปัญหาการเกิดปฏิกิริยาข้ามกลุ่มได้ดี เมื่อนำวิธี dot-ELISA มาตรวจหาเชื้อในตัวอย่างอาหารโดยการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร RVS broth ก่อนการตรวจด้วยวิธี dot-ELISA แล้วเปรียบเทียบกับวิธีตรวจทางจุลชีววิทยาโดยใช้วิธีมาตรฐาน (ISO6579:2002) ที่ดัดแปลงโดยใช้ RVS broth เป็น selective enrichment หลังจากนั้น spread บนอาหาร selective และ differential agar โดยใช้อาหาร xylose lysine deoxycholate (XLD) agar แล้วทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่สำคัญบางประการของเชื้อ *Salmonella* ผลการทดลองพบว่าการใช้อาหาร RVS broth เพาะเลี้ยงเชื้อแล้วตามด้วยวิธี dot-ELISA ให้ผลการตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ได้เหมือนกับการตรวจทางจุลชีววิทยาด้วยวิธีมาตรฐาน แต่วิธีการตรวจโดยใช้ RVS broth ร่วมกับ dot-ELISA ใช้เวลารวมประมาณ 24 ชั่วโมง ซึ่งเร็วกว่าวิธีมาตรฐานที่ปฏิบัติทั่วไปและวิธีตรวจก็ง่าย ใช้สารทดสอบในปริมาณน้อย จึงจัดเป็นวิธีที่มีความไวในการตรวจและน่าจะเป็นทางเลือกที่ดีอีกทางหนึ่งในการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในตัวอย่างอาหารและตัวอย่างน้ำบริโภค