

การพัฒนาวิธีตรวจเชื้อ *Salmonella* ที่พบบ่อยในประเทศไทยใช้วิธี Immunomagnetic Separation (IMS) เพื่อเพิ่มความไวของการตรวจจับ ในขั้นต้นเตรียมแอนติบอดีต่อเชื้อ โดยการฉีดเชื้อ *Salmonella* เข้าไปในกระต่ายแล้วเจาะเลือดกระต่ายแยกส่วนแอนติซีรัมไปตรวจสอบหาปริมาณแอนติบอดี โดยวิธี direct agglutination ได้ titer สูงสุด 1: 1,024 หลังจากนั้นนำแอนติซีรัมไปแยก IgG บริสุทธิ์ โดยวิธี affinity chromatography ตรวจวัดปริมาณโปรตีนได้ 8,952 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและตรวจสอบความบริสุทธิ์ของ IgG โดยวิธี SDS-PAGE แบบ reduced form ได้ IgG แยกเป็น 2 bands ซึ่งอยู่ในช่วงน้ำหนักโมเลกุลของ heavy chain (MW 50,000 dalton) และ light chain (MW 26,000 dalton) IgG บริสุทธิ์ที่เตรียมได้นำมาเคลือบบน M-280 Tosylactivated Dynabeads (coated beads) แล้วนำ coated beads ที่จำเพาะต่อเชื้อ *Salmonella* นี้ไปใช้ในการตรวจเชื้อบริสุทธิ์สายพันธุ์ต่างๆหลังจากการขยายการเจริญของเชื้อแล้ว 18 ชั่วโมง จากการทดสอบกับเชื้อบริสุทธิ์พบว่าปริมาณเชื้อน้อยที่สุดที่สามารถตรวจพบ คือ 3 CFUต่อมิลลิลิตร เมื่อตรวจตัวอย่างเนื้อไก่และกุ้งแช่แข็งที่สุ่มมาจากตลาด โดยวิธีมาตรฐาน ISO 6579, วิธี coated beads ที่ทำการเคลือบโดยใช้ IgG บริสุทธิ์ที่เตรียมเองและการใช้ commercial coated beads กับตัวอย่างเนื้อไก่และเครื่องในไก่จำนวน 25 ตัวอย่างพบ *Salmonella* จำนวน 23 ตัวอย่าง (92%) โดยพบด้วยวิธีมาตรฐาน ISO 6579, วิธี coated beads และการใช้ commercial coated beads จำนวน 21 ตัวอย่าง (84%) , 22 ตัวอย่าง (88%) และ 22 ตัวอย่าง (88%) ตามลำดับ ส่วนในเนื้อกุ้ง พบ *Salmonella* จำนวน 15 ตัวอย่าง (75%) จาก 20 ตัวอย่าง โดยพบด้วยวิธีมาตรฐาน ISO 6579, วิธี coated beads และ commercial coated beads จำนวน 14 ตัวอย่าง (70%) , 15 ตัวอย่าง (75%) และ 14 ตัวอย่าง (70%) ตามลำดับ กล่าวโดยสรุปการใช้ coated beads ที่เตรียมเองให้ผลการตรวจวิเคราะห์ไม่ต่างจาก วิธีมาตรฐาน ISO 6579 และ commercial coated beads (P >0.05)

Abstract

TE 160363

An Immunomagnetic Separation (IMS) was developed for the detection of the most prevalent *Salmonella* in foods in Thailand. An antibody was prepared by immunizing the rabbit with *Salmonella*. The antibody titer was determined by direct agglutination technique, the maximal antibody titer of 1:1,024 was obtained. After purification of IgG by affinity chromatography, the amount of protein determined by Lowry method was 8,952 µg/ml. The purity of IgG determined by SDS-PAGE under reduced condition showed two bands of a heavy chain (MW 50,000 dalton) and a light chain (MW 26,000 dalton). Tosylactivated beads were coated by the purified IgG and used for the detection of *Salmonella* cultures. Following on 18-h enrichment of the pure *Salmonella* cultures in TSB, the lowest detectable level was 3 CFU/ml. On the contrary, in naturally contaminated foods, ISO 6579 methods, coated beads and commercial coated beads were used to determine *Salmonella* in 25 samples of fresh chicken and internal organ and 20 samples of frozen shrimp. *Salmonella* were found in twenty-three samples (92%) of fresh chicken and internal organ and also in fifteen samples (75%) of frozen shrimp. The methods of ISO 6579, coated beads and commercial coated beads detected 21 (84%), 22 (88%) and 22 (88%) samples of fresh chicken and internal organ, respectively. They detected 14 (70%), 15 (75%) and 14 (70%) samples of frozen shrimp, respectively.