

การประยุกต์ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์ Caco-2 เพื่อการคัดเลือกโปรไบโอติกแบคทีเรียในการวิจัยครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อพัฒนาวิธีการคัดเลือกในเชิงคุณภาพที่คาดว่าจะได้โปรไบโอติกแบคทีเรียที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคที่จะเข้าสู่เซลล์ของร่างกายได้ดี ผลการศึกษาพบว่าอัตราการเจริญของเซลล์ Caco-2 นั้นจะเจริญเติบโตค่อนข้างช้าและเมื่อเซลล์เติบโตเต็มที่แล้วเซลล์จะเจริญแล้วยึดเกาะกับวัสดุเพาะเลี้ยงเป็นแผ่นชั้นเดียว ทั้งนี้ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงเป็นเวลาประมาณ 35 - 42 วัน ความสามารถของ *Bacillus subtilis* MP9 และ MP10 ที่สามารถยึดเกาะกับเซลล์ Caco-2 นั้นจะพบว่าแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์มีความสามารถในการยึดเกาะเซลล์ Caco-2 ค่อนข้างสูง คือมีอัตราการยึดเกาะเท่ากับ 3.35 และ 3.37 log cfu/ml ในขณะที่มีเชื้อเริ่มต้น 6.39 และ 6.38 log cfu/ml ตามลำดับ ประสิทธิภาพของ *B. subtilis* NC ต่อการยับยั้งการบุกรุกเข้าสู่เซลล์ Caco-2 ของ *S. enteritidis* พบว่าทั้งการใช้เซลล์ *B. subtilis* NC โดยตรง หรือ Cell free supernatant หรือ Cell free supernatant ที่มีการปรับ pH 7 มีความสามารถในการยับยั้งการบุกรุกเข้าสู่เซลล์ Caco-2 ของ *S. enteritidis* สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีอัตราการบุกรุกเซลล์ Caco-2 ของ *S. enteritidis*

The aim of this study was to evaluate the application of Caco-2 cell culture as in the quality selective model of probiotic bacteria which has ability to adhesion and inhibition the pathogenic bacteria invade into epithelial cells of the hosts. The growth rates of Caco-2 cells were observed a rather slowly growth, the fully differentiation time were about 35 – 42 days. Morphological differentiation of this Caco-2 cells were found in different stages, but fully differentiate show attach as cell monolayer to the culture flasks. The adhesive ability of *Bacillus subtilis* MP9 and MP10 to Caco-2 cells were exhibited in a rather high, which were adhere about 3.35 and 3.37 log cfu/ml, respectively. The original concentrations of *B. subtilis* MP9, MP10 were 6.39 and 6.38 log cfu/ml, respectively. The protective efficiencies of *Bacillus subtilis* NC on the inhibition of *Salmonella enteritidis* invade to Caco-2 cells. The results showed that not only the direct *B. subtilis* NC cells but also the cell free supernatant or cell free supernatant adjust pH 7 groups had ability to inhibit the invasion rate ($P < 0.05$) compare to that of control group. The invasion rates of *S. enteritidis* were about 3.95, 4.16 and 4.07 log cfu/ml, respectively. The control group was 4.84 log cfu/ml as the control group.

The results in this study indicate that the application of Caco-2 cell culture could be applied as the quality selection of probiotic bacteria.