ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
208816

การผลิตแอนติซีรั่มแรง DNA probe เพื่อตรวจสอบ *Salmonella* spp.

PRODUCTION OF ANTISERUM DNA PROBE FOR DETECTION *Salmonella* spp.

นางสาวรารภรณ์ พันธุ์พรหม

วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

พ.ศ. 2554

D0025686

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
208816

การผลิตแอนติซีรั่ม และ DNA probe เพื่อหาเชื้อ *Salmonella* spp.

PRODUCTION OF ANTISERUM DNA PROBE FOR DETECTION *Salmonella* spp.

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

นางสาววราภรณ์ พันธุ์พรหม

วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

พ.ศ. 2554

การผลิตแอนติซีรั่ม และ DNA probe เพื่อหาเชื้อ *Salmonella* spp.

นางสาววราภรณ์ พันธุ์พรหม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางการเกษตร
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น
พ.ศ. 2554

PROUCTION OF ANTISERUM DNA PROBE FOR DETECTION *Salmonella* spp.

MISS WARAPORN PHANPROM

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS

FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE

IN AGRICULTURAL MICROBIOLOGY

GRADUATE SCHOOL KHON KAEN UNIVERSITY

2011

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

หลักสูตร

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางการเกษตร

ชื่อวิทยานิพนธ์ : การผลิตแอนติซีรั่ม และ DNA probe เพื่อหาเชื้อ *Salmonella* spp.

ชื่อผู้ทำวิทยานิพนธ์ : นางสาววราภรณ์ พันธุ์พรหม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศุภลักษณ์ สิงหบุตร ประธานกรรมการ

รองศาสตราจารย์ ดร. ศักดา ดาดวง กรรมการ

รองศาสตราจารย์ ดร. เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล กรรมการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรรณดี บัญญัติรัชต กรรมการ

อาจารย์วิทยานิพนธ์ :

.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร. ศักดา ดาดวง)

.....อาจารย์ที่ร่วมปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร. เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล)

.....อาจารย์ที่ร่วมปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรรณดี บัญญัติรัชต)

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร. ลำปาง แม่นมาตย์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร. อนันต์ พลธานี)

คณบดีคณะเกษตรศาสตร์

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยขอนแก่น

วราภรณ์ พันธุ์พรหม. 2554. **การผลิตแอนติซีรั่ม และ DNA probe เพื่อหาเชื้อ *Salmonella* spp.** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางการเกษตร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : รศ.ดร.ศักดา ดาดวง, รศ.ดร.เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล, ผศ.ดร.วรรณดี บัญญัติรัชต

บทคัดย่อ

208816

เชื้อ *Salmonella* spp. เป็นเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินทางอาหารที่พบในอาหารและน้ำ เพื่อพัฒนาการตรวจเชื้อเหล่านี้ให้เร็วขึ้น การศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการผลิตแอนติซีรั่ม ต่อเชื้อ *Salmonella* ผลการทดลองพบว่า ผลการใช้ antibody ทดสอบวิธี dot blotting ผลการทดลองพบว่า ผลการใช้แอนติซีรั่มในการตรวจติดตามในการพัฒนาการตรวจเชื้อ *Salmonella* โดยใช้ Anti-Salmonella O polyvalent A-I และ Anti-Salmonella O group B พบว่า แอนติบอดีจับกับเชื้อ *Salmonella* spp. ได้ที่ปริมาณโปรตีน 0.015625 ไมโครกรัม และ 0.00049 ไมโครกรัม แต่ก็มี cross reactivity อยู่บ้างต่อ *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *E. coli* ATCC 8738 , *E. coli* DMST 4212, *E. coli* ATTC 25922, *E. coli* 0157 H :7 และ *Vibrio* spp. และมี cross reactivity สูงมากต่อ *Staphyloccus aureus*, และ *S. aureus* ATCC 1466 ส่วนการพัฒนาการใช้ แอนติบซีรั่มที่ผลิตขึ้น โดยใช้ Mouse anti-flagella antibody ต่อเชื้อ *Salmonella* พบว่า แอนติบอดีจับกับเชื้อ *Salmonella* spp. ได้ ปริมาณโปรตีน 0.1 ไมโครกรัม หลังจากนั้น ไม่อาจนำมาใช้ในการพัฒนาตรวจเชื้อ *Salmonella* ได้ เพราะมี cross reactivity กับเชื้อ *S. aureus* , *E. coli* และ *Vibrio* spp.ได้ แต่ก็สามารถใช้แยกออกจากเชื้อ *Bacillus* spp., *C. perfringens.*, และ *P. aeruginosa* ได้บ้าง

การพัฒนาการตรวจเชื้อ *Salmonella* spp. ด้วย DNA strip โดยใช้ Sal1 probe gyrase B gene (TCCGGTGGTC TGCACGGGGT GGGC GTCTCG GTAGTCAACG CTCTGTCGCA) มาใช้ในการตรวจด้วยวิธี DNA hybridization พบว่า Sal1 probe สามารถจับกับเชื้อ *S. typhi*, *S. typhi* B, *S. typhimurium*, *S. paratyphi* B, และ *S. enteritidis* จากการทดสอบกับ *Salmonella sp.* ได้ที่ปริมาณ DNA 1 ไมโครกรัม สามารถแยกตัวอย่างเชื้อ *Salmonella* spp. ออกจากตัวเนื้อหมู ตัวอย่างเนื้อวัว และตัวอย่างเนื้อไก่ที่ปนเปื้อนได้

Waraporn Phanphrom. 2011. **Production of Antiserum DNA Probe for Detection *Salmonella* spp.** Master of Science Thesis in Agricultural Microbiology, Graduate School, Khon Kaen University.

Thesis Advisors : Assoc. Prof. Dr. Sakda Daduang,
Assoc. Prof. Dr. Petcharat Thummabenjapone,
Assist. Prof. Dr. Wandee Bunyatratchata

ABSTRACT

208816

Salmonella spp. is pathogenic bacteria commonly found in food and water that cause food borne illness. To detect these pathogens more rapidly, Detect have to be developed. Anti-Salmonella O polyvalent A-I and Anti-Salmonella O group B antibodies had been checked for their specificity using dot blotting techniques. Results showed that antiserum were able to detect *Salmonella* spp. However, they showed cross reactivity to *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *E. coli* ATCC8738, *E. coli* DMST 4212, *E. coli* ATTC 25922, *E. coli* 0157 H :7 and *Vibrio* spp., especially high cross reactivity to *Staphyloccus aureus* and *S. aureus* ATCC 1466 .

Production of antiserum had developed by mouse anti-flagella antibody. The results from Dot blotting showed that *Salmonella* were specific to *Salmonella* spp. at protein concentration 0.1 µl. However salmonella strips cannot be developed because show cross reactivity to *S. aureus* , *E. coli* nad *Vibrio* spp. con not by cross reactivity with *Bacillus* spp., *C. perfringens* and *P. aeruginosa*.

The specific DNA sequence had been synthesized for using as DNA probe. For detection using Southern blotting and DNA hybridization for develop *Salmonella* DNA strip. Sal1 probe were designed base on the gyrase B gene sequence (TCCGGTGGTC TGCACGGGGT GGGC GTCTCG GTAGTCAACG CTCTGTCGCA). Results showed that Sal1 probe can specifically bind to *S. typhi*, *S. typhi* B, *S. typhimurium*, *S. paratyphi* B and *S. enteritidis* at 1 µg DNA. *Salmonella* DNA strip can detect *Salmonella* spp. in contaminated pork, beef and poultry.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบรูณ์ได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาอย่างดียิ่ง จากอาจารย์ที่ปรึกษา ได้แก่ รศ.ดร.ศักดา ดาดวง รศ.ดร.เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล, ผศ.ดร.วรรณดี บัญญัติรัชต ซึ่งได้กรุณาให้ความช่วยเหลือในการแก้ไขปัญหา ข้อผิดพลาด และให้คำแนะนำในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้โดยตลอด และคุณสุภาพร เวทีวุฑาจารย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดขอนแก่น ที่เอื้อเฟื้อเชื้อแบคทีเรียและทดสอบเอกลักษณ์ของเชื้อและความรู้ เทคนิคต่างๆ ที่ดีเสมอมา

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์สาขาวิชาโรคพืชคณะเกษตรศาสตร์, สาขาวิชาชีวเคมี และคณาจารย์ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ทุกท่านที่ได้ให้การสั่งสอนรายวิชาที่เป็นพื้นฐานในการศึกษา และทำงานวิจัย และให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์การทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วง นอกจากนี้ขอขอบทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว.สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานรัฐวิสา ที่ได้เอื้อเฟื้อและอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ทางวิทยาศาสตร์

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำสาขาวิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในด้านต่างๆ ขอขอบคุณนักศึกษาปริญญาโท-เอกสาขาวิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นทุกท่านที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจในการศึกษาตลอดมา

ขอขอบคุณ ดร.นันทวัน เอื้อวงศ์กูล และสมาชิกในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโปรติโอมิกที่เอื้อเฟื้อสารเคมี รวมทั้งให้คำแนะนำเทคนิคต่างๆที่เป็นประโยชน์ต่อการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณคุณพ่อสุเมท ฉลวยแสง, คุณแม่จงกล ฉลวยแสง คุณพ่อเมืองชัย แสวงแก้ว, คุณแม่เพ็ญประภา แสวงแก้ว คุณดิลก แสวงแก้วและครอบครัวของข้าพเจ้า ที่คอยเป็นกำลังใจให้เสมอมา

วราภรณ์ พันธุ์พรหม

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1. ที่มาและความสำคัญของปัญหา	1
2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
3. ขอบเขตของการวิจัย	4
4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการศึกษาวิจัย	4
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	5
1. จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุให้เกิดอาหารเป็นพิษ	5
2. โรคซัลโมเนลโลซิส (Salmonellosis)	7
3. วิธีการตรวจวินิจฉัยเชื้อจุลินทรีย์	20
4. การพัฒนาการวิธีการวินิจฉัยเชื้อจุลินทรีย์	20
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	26
1. การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย	26
2. แอนติบอดี	27
3. การเตรียมเชื้อให้มีปริมาณโปรตีนเท่ากันก่อนนำไปทดสอบ	27
4. การเตรียมเชื้อให้มีปริมาณโปรตีนเท่ากันก่อนนำไปทดสอบด้วยแอนติบอดีชนิดต่างๆ ด้วยวิธี dot blotting	27
5. วิธีการใช้แอนติบอดีตรวจโปรตีนของเชื้อ *Salmonella*	28
6. นำสิ่งส่งตรวจมาทดสอบกับ antibody	30
7. การสัดดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรีย	32
8. วิธีการใช้ DNA probe เพื่อตรวจจับ DNA ของเชื้อ *Salmonella*	32
9. การตรวจสอบดีเอ็นเอเป้าหมายโดยวิธี southern blot hybridization	33
10. นำสิ่งส่งตรวจมาทดสอบกับ DNA probe	34

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการดำเนินการวิจัย	36
1. วิธีการใช้แอนซีรั่มในการตรวจจำเพาะต่อโปรตีนของเชื้อ *Salmonella*	36
2. การผลิตแอนติบอดี	43
3. นำสิ่งส่งตรวจมาทดสอบกับแอนติซีรั่ม	50
4. การสัดดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรีย	54
5. วิธีการใช้ DNA probe	54
6. นำสิ่งส่งตรวจมาทดสอบกับ DNA strip	56
บทที่ 5 สรุปวิจารณ์ผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	57
เอกสารอ้างอิง	61
ภาคผนวก	65
ภาคผนวก ก สูตรอาหารสำหรับการเลี้ยงแบคทีเรีย	66
ภาคผนวก ข การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์	68
ประวัติผู้เขียน	74

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	สมบัติทางชีวเคมีที่สำคัญของเชื้อ *Salmonella*	10
ตารางที่ 2	ค่า pH ต่ำสุดที่เชื้อ *Salmonella* เจริญได้ภายใต้สภาวะที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ	14
ตารางที่ 3	ปัจจัยด้านอุณหภูมิ pH และ aw ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Salmonella*	15
ตารางที่ 4	ชนิดของเชื้อที่ใช้ในการตรวจสอบ	26

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	ผลการแยกโปรตีนในเชื้อแต่ละชนิดด้วยวิธี SDS-PAGE แล้วย้อมด้วยสี coomassie blue R250	37
ภาพที่ 2	ผลการแยกโปรตีนในเชื้อแต่ละชนิดด้วยวิธี SDS-PAGE แล้วย้อมด้วยสี coomassie blue R250	37
ภาพที่ 3	การตรวจความจำเพาะของ Anti-Salmonella O polyvalent A-I ต่อเชื้อ *Salmonella* ด้วยวิธี western immuno blotting โดยแยกโปรตีนของเชื้อด้วยวิธี SDS-PAGE แล้วย้ายโปรตีนไปยังแผ่น PVDF แล้วบ่มด้วยแอนติบอดี	39
ภาพที่ 4	การตรวจความจำเพาะของ Anti-Salmonella O polyvalent A-I ต่อเชื้อต่าง ๆ ด้วยวิธี western immunoblotting โดยแยก โปรตีนของเชื้อแต่ละชนิดด้วยวิธี SDS-PAGE แล้วย้ายโปรตีนไปยังแผ่น PVDF แล้วบ่มด้วยแอนติบอดี	39
ภาพที่ 5	ปริมาณโปรตีนของเชื้อ *S. typhi* ที่ความเข้มข้นต่างๆ และ ปริมาณโปรตีนของเชื้อแบคทีเรีย ที่มีความจำเพาะต่อ Anti-Salmonella O polyvalent A-I ด้วยวิธี dot blotting	40
ภาพที่ 6	การตรวจความจำเพาะของ Anti-Salmonella group B ต่อเชื้อ *Salmonella* ด้วยวิธี western immuno blotting โดยแยกโปรตีนของเชื้อด้วยวิธี SDS-PAGE แล้วย้ายโปรตีนไปยังแผ่น PVDF แล้วบ่มด้วยแอนติบอดี	41
ภาพที่ 7	การตรวจความจำเพาะของ Anti-Salmonella O polyvalent A-I ต่อเชื้อต่าง ๆ ด้วยวิธี western immun blotting โดยแยกโปรตีนของเชื้อแต่ละชนิดด้วยวิธี SDS-PAGE แล้วย้ายโปรตีนไปยังแผ่น PVDFแล้วบ่มด้วยแอนติบอดี	42
ภาพที่ 8	ปริมาณโปรตีนของเชื้อ *S. typhi* ที่ความเข้มข้นต่างๆ และ ปริมาณโปรตีนของเชื้อแบคทีเรีย ที่มีความจำเพาะต่อ Anti-Salmonella group B ด้วยวิธี dot blotting	43
ภาพที่ 9	ผลการแยกโปรตีนในเชื้อ *S. typhi* ด้วยวิธี SDS-PAGE แล้วย้อมด้วยสี coomassie blue R250 โดยแบ่งเจลออกเป็น 3 ช่วง	44
ภาพที่ 10	แสดงความจำเพาะของ mouse anti-salmonella antibody ในช่วงที่ 1 (รูป ก), แสดงความจำเพาะของ anti-salmonellaในช่วงที่ 1 (รูป ข), แสดงความจำเพาะของ anti-salmonella ในช่วงที่ 1 (รูป ค)หลังจากนั้นทดสอบการจับของแอนติบอต่อเชื้อทั้งหมด 18 ชนิด	45

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 11	ทดสอบความจำเพาะของ mouse anti-salmonella antibody ในช่วงที่ 1, 2 และ 3 ต่อเชื้อ 18 ชนิด ด้วยวิธี western immunoblotting โดยแยกโปรตีนของเชื้อแต่ละชนิดด้วยวิธี SDS-PAGE แล้วย้ายโปรตีนไปยังแผ่น nitrocellulose แล้วบ่มด้วยแอนติบอดี	46
ภาพที่ 12	ปริมาณโปรตีนของเชื้อ *S. typhi* ที่ความเข้มข้นต่างๆ และ ปริมาณโปรตีนของเชื้อแบคทีเรีย ที่มีความจำเพาะต่อ mouse anti-salmonella antibody ด้วยวิธี dot blotting	47
ภาพที่ 13	ผลการแยกโปรตีนในเชื้อ *S. typhi* ด้วยวิธี SDS-PAGE แล้วย้อมด้วยสี coomassie blue R250 โดยตัดเจลออกเป็นที่ 37 kDa	48
ภาพที่ 14	ทดสอบความจำเพาะของ mouse anti-salmonella antibody ต่อปริมาณโปรตีนที่ 37 kDa ต่อเชื้อ *S. typhi* ด้วยวิธี western immunoblotting โดยแยกโปรตีนของเชื้อแต่ละชนิดด้วยวิธี SDS-PAGE แล้วย้ายโปรตีนไปยังแผ่น nitrocellulose แล้วบ่มด้วยแอนติบอดี	49
ภาพที่ 15	ทดสอบความจำเพาะของ mouse anti-salmonella antibody ต่อปริมาณโปรตีนที่ 37 kDa ต่อเชื้อ 18 ชนิด ด้วย western immunoblotting โดยแยกโปรตีนของเชื้อแต่ละชนิดด้วยวิธี SDS-PAGE แล้วย้ายโปรตีนไปยังแผ่น nitrocellulose แล้วบ่มด้วยแอนติบอดี	49
ภาพที่ 16	ทดสอบความจำเพาะของ mouse anti-salmonella antibody37 kDa ต่อปริมาณโปรตีน *Salmonella* ที่ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัม ต่อเชื้อแบคทีเรีย 18 ชนิดด้วยวิธี dot blotting	50
ภาพที่ 17	การตรวจความเป็นไปได้ของการพัฒนา Salmonella Strip ของ Anti-Salmonella O polyvalent A-I ในการตรวจตัวอย่างเนื้อหมู ตัวอย่างเนื้อวัว และตัวอย่าเนื้อไก่ที่ไม่ได้เติมเชื้อ *S. typhi* โดยการทดสอบจำนวน 2 ซ้ำ	51
ภาพที่ 18	การตรวจความเป็นไปได้ของการพัฒนา Salmonella Strip ของ Anti-Salmonella O polyvalent A-I ในการตรวจตัวอย่างเนื้อหมู ตัวอย่างเนื้อวัว และตัวอย่าเนื้อไก่ที่ได้เติมเชื้อ *S. typhi* โดยการทดสอบจำนวน 2 ซ้ำ	51

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 19 การตรวจความเป็นไปได้ของการพัฒนา Salmonella Strip ของ Anti-Salmonella group B ในการตรวจตัวอย่างเนื้อหมู ตัวอย่างเนื้อวัว และตัวอย่างเนื้อไก่ที่ไม่ได้เติมเชื้อ *S. typhi* โดยการทดสอบจำนวน 2 ซ้ำ 52

ภาพที่ 20 การตรวจความเป็นไปได้ของการพัฒนา Salmonella Strip ของ Anti-Salmonella group B polyvalent A-I ในการตรวจตัวอย่างเนื้อหมู ตัวอย่างเนื้อวัว และตัวอย่าเนื้อไก่ที่ได้เติมเชื้อ S. typhi โดยการทดสอบจำนวน 2 ซ้ำ 52

ภาพที่ 21 การตรวจความเป็นไปได้ของการพัฒนา Salmonella Strip ของ mouse anti-salmonella antibody ในการตรวจตัวอย่างเนื้อหมู ตัวอย่างเนื้อวัว และตัวอย่าเนื้อไก่ที่ไม่ได้เติมเชื้อ *S. typhi* โดยการทดสอบจำนวน 2 ซ้ำ 53

ภาพที่ 22 การตรวจความเป็นไปได้ของการพัฒนา Salmonella Strip ของ mouse anti-salmonella antibody ในการตรวจตัวอย่างเนื้อหมู ตัวอย่างเนื้อวัว และตัวอย่าเนื้อไก่ที่ได้เติมเชื้อ *S. typhi* โดยการทดสอบจำนวน 2 ซ้ำ 53

ภาพที่ 23 DNA จากเชื้อแบคทีเรียทั้ง 18 ชนิด คือ *S. typhi, S. typhi* B, *S. typhimurium*, S. paratyphi B, S. enteritidis, E. coli, E. coli ATCC 8738, E. coli DMST 4212, *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* 0157 H:7, *S. aureus, S. aureus* ATCC 1466, *B. subtilis, B. cereus, V. parahaemolyticus, V. cholerae, C. perfringen* และ *P. aeruginosa* 54

ภาพที่ 24 ผลการใช้ DNA probe เพื่อตรวจจับ DNA ของเชื้อ Salmonella และเชื้อแบคทีเรียต่าง ๆ 18 ชนิด โดยทำการ Pre-hybridization และ Hybridization ด้วย ที่มี Sal1 DNA probe แล้วนำ streptavidin-alkaline phosphatase ทำให้ปรากฏสีด้วยการใช้ AP substrate kit 55

ภาพที่ 25 ผลการใช้ Sal1 DNA probe เพื่อตรวจจับ DNA ของเชื้อ Salmonella และตัวอย่างเนื้อหมูตัวอย่าง เนื้อวัว และตัวอย่างเนื้อไก่ โดยทำการ pre-hybridization และ hybridization ด้วยที่มี Sal1 DNA probe แล้วนำ streptavidin-alkaline phosphatase ทำให้ปรากฏสีด้วยการใช้ AP substrate kit 56