

ภัทรพร ทองไทย 2552: การตรวจเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในตัวอย่างอาหาร ด้วยวิธี dot-ELISA โดยใช้โพลีโคลนอลแอนติบอดี ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) สาขาจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์พัชรีย์ สุนทรนนท์, ปร.ด. 105 หน้า

เชื้อ *Staphylococcus aureus* สามารถก่อโรคในคนได้หลายโรครวมทั้งโรคอาหารเป็นพิษ เชื้อสร้างเอนไซม์และสารพิษได้หลายชนิดและสร้างโปรตีน เอ ที่ผนังเซลล์ เป็นแอนติเจนที่ใช้เป็นตัวบ่งชี้การตรวจเชื้อได้มักพบเชื้อปนเปื้อนในอาหารดิบและอาหารปรุงสำเร็จ การตรวจเชื้อด้วยวิธีมาตรฐานทางจุลชีววิทยาใช้เวลาหลายวัน แต่การตรวจด้วยวิธีทางอิมมูโนวิทยาจะใช้น้อยกว่า การตรวจที่พัฒนาขึ้นนี้ จะใช้วิธี dot-ELISA โดยใช้ โพลีโคลนอลแอนติบอดี ซึ่งผลิตในกระต่ายด้วยการฉีดเชื้อ *Staph. aureus* และ Protein A แล้วเจาะเลือดกระต่ายเพื่อแยกแอนติซีรัม จากนั้นจึงนำไปเตรียม Immunoglobulin G (IgG) บริสุทธิ์โดยใช้วิธี affinity chromatography ตรวจหาความบริสุทธิ์ด้วย SDS-PAGE และตรวจหาปริมาณโปรตีนของ IgG บริสุทธิ์จากเชื้อ *Staph. aureus* ทั้งเซลล์และ Protein A ได้ในปริมาณ 0.58 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและ 18.96 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ แล้วนำ IgG บริสุทธิ์ทั้งสองชนิดไปตรวจเชื้อ *Staph. aureus* ด้วยวิธี dot-ELISA โดยใช้ปริมาณ IgG ที่เหมาะสมคือ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ conjugate ที่ความเจือจาง 1:5,000 ซึ่งตรวจพบเชื้อได้ที่ 10^3 CFU/ml

เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาข้าม (cross reaction) กับ *Staph. aureus* ชนิดอื่นและแบคทีเรียกลุ่ม enteric จึงใช้อาหาร Baird-Parker broth เพาะเลี้ยงเชื้อเพื่อส่งเสริมการเจริญและคัดแยกเชื้อ *Staph. aureus* แต่ยับยั้งการเจริญของเชื้อกลุ่มอื่นได้ดีพบว่าสามารถกำจัดปฏิกิริยาข้ามได้ เมื่อนำมาตรวจด้วยวิธี dot-ELISA และสามารถตรวจพบเชื้อ *Staph. aureus* ในจำนวนเท่าเดิม คือ ที่ 10^3 CFU/ml

การนำวิธีนี้มาตรวจหาเชื้อในตัวอย่างอาหารโดยการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร Baird-Parker broth ก่อนตรวจด้วยวิธี dot-ELISA แล้วเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน พบว่าให้ผลการตรวจพบเชื้อเหมือนกันแต่ใช้น้อยกว่าโดยใช้เพียง 30 ชั่วโมงขณะที่วิธีมาตรฐานใช้เวลาประมาณ 5-6 วัน วิธีการตรวจก็ง่ายกว่าใช้สารทดสอบในปริมาณน้อย จึงจัดเป็นวิธีที่มีความสะดวกรวดเร็วและน่าจะเป็นทางเลือกที่ดี อีกทางหนึ่งในการตรวจหาเชื้อ *Staph. aureus* ในตัวอย่างอาหารและตัวอย่างน้ำบริโภค