



สรุปและวิจารณ์

ในการพัฒนาวิธีการตรวจหาเชื้อสาเหตุโรคทริสเทซาโดยระบบอิมมูโนโครมาโตกราฟีคลาเทอรัลโฟล์ (ICFL) ครั้งนี้ พบว่าขนาดของอนุภาคทอง (CG) ซึ่งใช้เชื่อมกับแอนติบอดีของทริสเทซาไวรัส (CTV-IgG) เป็นปัจจัยที่สำคัญในการเกิดสีบนเส้นตรวจ (Test line) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ (dye marker) ของการตรวจพบเชื้อไวรัส ดังจะเห็นได้ว่าการใช้อนุภาคทองขนาด 30 นาโนเมตร ให้สีแดงชัดเจนกว่าการใช้อนุภาคทองขนาด 15 นาโนเมตร (ภาพที่ 14 และตารางที่ 4) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการทดลองของการตรวจเชื้อทริสเทซาไวรัสโดยใช้แผ่นตรวจระบบ lateral flow โดย Salmone และคณะ (2004) ทั้งนี้ชนิดของเมมเบรนที่ใช้ขีดเส้นตรวจ (Test line) เป็นปัจจัยรอง ดังผลการวิเคราะห์ความเข้มของสีแดงบนเส้นตรวจที่ใช้เมมเบรน CN 140 และ CN 95 กับอนุภาคทองขนาดเดียวกันบ่งชี้ว่าสีแดงบนเส้นตรวจของ CN 140 เข้มกว่า CN 95 แต่ความแตกต่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4 และ ภาคผนวก ข) และพบว่าเกิดการเกิดสีบนเส้นตรวจของเมมเบรน CN 95 เร็วกว่า CN 140 (ตารางที่ 4) ทั้งนี้เนื่องจากเมมเบรน CN 95 มีอัตราการเคลื่อนที่ของของเหลว (capillary speed specification) ที่ 90-135 วินาทีต่อ 4 เซนติเมตรซึ่งเร็วกว่า เมมเบรน CN 140 ซึ่งมีอัตราการเคลื่อนที่ 110-165 วินาทีต่อ 4 เซนติเมตร แต่ในทางกลับกันเมมเบรน CN 140 มีความจำเพาะของการทำปฏิกิริยาของแอนติบอดีกับแอนติเจนสูงกว่าเมมเบรน CN 95 เนื่องจากความเข้มของสีบนเส้นตรวจของเมมเบรน CN 140 โดยเฉลี่ยสูงกว่าสีที่เกิดบนเมมเบรน CN 95 (ตารางที่ 4 ภาพที่ 14) ทั้งนี้เกิดจากสองปัจจัยคือปัจจัยแรก เมมเบรน CN 140 ยึดจับแอนติบอดีที่อัตรา 30 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตรของเมมเบรน ซึ่งมากกว่าการยึดจับของเมมเบรน CN 95 มีการยึดจับที่อัตรา 28 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตรของเมมเบรน ปัจจัยที่สองเกิดจากเมมเบรน CN 140 มีการเคลื่อนที่ของของเหลวที่ช้ากว่าทำให้เพิ่มโอกาสการทำปฏิกิริยาระหว่างแอนติบอดีบนเส้นตรวจกับแอนติเจน ซึ่งจับกับอนุภาคทอง (CG -IgG conjugate) และเคลื่อนที่มาพร้อมกับของเหลว ขณะที่เมมเบรน CN 95 มีอัตราการเคลื่อนที่ของของเหลวที่ 90-135 วินาทีต่อ 4 เซนติเมตร ทำให้โอกาสการทำปฏิกิริยาระหว่างแอนติบอดีกับแอนติเจนลดลง

จากผลการทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่า แผ่นตรวจที่ใช้ CG 30 nm-IgG conjugate ที่มี IgG เข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรทอง และขีดเส้นตรวจด้วย IgG เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร บนเมมเบรน CN 140 ให้ผลตรวจดีที่สุด เนื่องจากสีแดงที่ปรากฏบนเส้นตรวจสามารถมองเห็นชัดเจนด้วยตาเปล่า (ภาพที่ 13, 14 และ 15) และเกิดขึ้นภายในเวลาอันรวดเร็วเฉลี่ย 3 นาที 39 วินาที หรือ 219 วินาที (ตารางที่ 4) ซึ่งใกล้เคียงกับชุดตรวจโรคกลัวไม้ที่เกิดจากไวรัส (สุรสี และคณะ 2547) และการเกิดสีแดงบนเส้นควบคุม (C) เมื่อใช้เมมเบรน CN 140 และเมมเบรน CN 95 บ่งชี้ว่าเมมเบรนทั้งสองชนิดมีขนาดช่องทำให้โมเลกุลของ CG- IgG conjugate

เคลื่อนที่ผ่านไปได้ทำให้ผลตรวจเป็นที่น่าเชื่อถือ (สุรณี และคณะ 2547 กิตติศักดิ์ และคณะ 2549 และ Byzova *et al.*, 2009)

ในการทดลองครั้งนี้พบว่าความจำเพาะเจาะจงของแผ่นตรวจระบบ ICFL ขึ้นอยู่กับคุณภาพของแอนติบอดีของทริสเตชาไวรัส (CTV-IgG) คือปราศจากการปะปนของแอนติบอดีต่อโปรตีนของพืชปกติเมื่อเปรียบเทียบการใช้แอนติบอดีที่ผ่านและไม่ผ่านการ cross absorbed ด้วยโปรตีนของมะนาวปกติ ก่อนนำไปเชื่อมกับทองหรือนำไปฉีดเป็นเส้นตรวจ (T) พบว่าแผ่นตรวจที่ใช้แอนติบอดีซึ่งผ่านการ cross absorbed ไม่ทำปฏิกิริยาข้ามกับพืชปกติเนื่องจากเมื่อนำแผ่นตรวจไปทดสอบกับน้ำคั้นของมะนาวปกติไม่เกิดสีบนเส้นตรวจ (ภาพที่ 16 ก) ขณะที่แผ่นตรวจที่ใช้แอนติบอดี ที่ไม่ผ่านการ cross absorbed เกิดสีจางๆบนเส้นตรวจ (ภาพที่ 16 ข)