

Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) เป็นเทคนิคที่มีความแม่นยำและความไวสูง สามารถจำแนกได้ทั้งชนิด (typing) และชนิดย่อย (subtyping) ของไวรัสไข้หวัดใหญ่ งานวิจัยนี้ เก็บตัวอย่าง cloacal swabs จากเป็ดไล่ทุ่ง นำมาเพิ่มจำนวนไวรัสในไข่ไก่ฟัก ตรวจหาไวรัสด้วยวิธี immunochromatography สามารถแยกไวรัสไข้หวัดใหญ่ได้ 1 ตัวอย่าง คือสายพันธุ์ SU04501-4 จากลูกเป็ดอายุ 19 วัน ทำการ titration ไวรัสด้วย hemagglutination assay (HA) เพื่อหา HA titer ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนไวรัสในไข่ไก่ฟัก พบว่า อยู่ในช่วง 3 – 4 วัน ทำการเปรียบเทียบความไวระหว่างวิธี HA และวิธี immunochromatography พบว่าวิธี immunochromatography มีความไวมากกว่า 62.5 เท่า ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสายพันธุ์ SU04501-4 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) พบว่าอนุภาคไวรัสมีรูปร่างแบบ influenza viruses จำแนกชนิด (typing) และชนิดย่อย (subtyping) ด้วยเทคนิค RT-PCR โดยใช้ specific primers ที่จำเพาะต่อชนิด (type) A และชนิดย่อย (subtype) H3, H5, H7, H9, N1 และ N2 จากผลการทดลองสรุปได้ว่า SU04501-4 เป็นไข้หวัดใหญ่ชนิด A ได้ผลตรงกับการตรวจด้วยวิธี immunochromatography มีชนิดย่อยเป็น N2 อย่างไรก็ตามไม่พบผลิตภัณฑ์ใด ๆ ของชนิดย่อย H3, H5, H7 และ H9

คำสำคัญ : Influenza viruses, Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction

Abstract

225988

Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) is a precision and high sensitivity technique commonly used in molecular biology to generate many copies of a DNA sequence, a process termed "amplification". In RT-PCR, however, an RNA strand is first reverse transcribed into its DNA complement (*complementary DNA*, or *cDNA*) using the enzyme reverse transcriptase. This work we collecting samples in field ducks by cloacal swabs and reproductive in embryonate eggs, detection virus by immunochromatography. One strain of the influenza A virus was isolated (sample number SU04501-4) from a 19-day old duckling. The RT-PCR provides a sensitive and specific method for detecting, typing and subtyping influenza A virus (using specific primers for type A and subtype H3, H5, H7, H9, N1 and N2). The result of RT-PCR confirmed by immunochromatography (sample number SU04501-4 is influenza A virus subtype N2)