

อารีรัตน์ แพงเพ็ง 2555: การพัฒนา Nucleoprotein ELISA เพื่อติดตามรูปแบบของการติดเชื้อไวรัสไข้หวัดสุกร ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยาทางสัตวแพทย์) สาขาจุลชีววิทยาทางสัตวแพทย์ ภาควิชาจุลชีววิทยาและวิทยาภูมิคุ้มกัน
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์พรทิพภา เล็กเจริญสุข, Ph.D.
131 หน้า

โรคไข้หวัดใหญ่สุกรมีสาเหตุจากเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิด A ในขณะที่สุกรเป็นตัวกลางในการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมของไวรัสไข้หวัดใหญ่ในมนุษย์และสัตว์ปีก การเฝ้าระวังและติดตามการติดเชื้อไวรัสไข้หวัดสุกรในฟาร์มมีความสำคัญในการควบคุมและป้องกันไวรัสไข้หวัดใหญ่ โปรตีน Nucleoprotein (NP) เป็นแอนติเจนเฉพาะกลุ่มของไข้หวัดใหญ่ชนิด A ทุก subtype การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ในการพัฒนา NP ELISA เพื่อศึกษารูปแบบของการติดเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกรในประเทศไทย โปรตีนรีคอมบิแนนท์ NP ของไวรัสไข้หวัดใหญ่สุกรถูกผลิตในแบคทีเรีย *Escherichia coli* (*E. coli*) ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนคือ การเหนี่ยวนำด้วย IPTG เข้มข้น 0.2 mM ที่ 37°C 16-18 ชั่วโมง NP มีขนาด 56 KDa และทำปฏิกิริยาอย่างจำเพาะกับแอนติบอดีต่อ histidine tag และซีรัมสุกรที่ติดเชื้อไวรัสไข้หวัดสุกร โปรตีนในรูปที่ละลายน้ำได้ถูกทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี affinity chromatography และใช้เป็นแอนติเจนสำหรับพัฒนา NP ELISA ทำการแยกซีรัมบวกและซีรัมลบของแม่สุกรด้วยวิธี IFA และใช้ซีรัมชุดดังกล่าวในการตั้งค่า cutoff ของ NP ELISA โดยวิธี Receiver operating characteristic (ROC) analysis เมื่อเปรียบเทียบผลของ NP ELISA กับ IFA พบค่าการยอมรับทางสถิติ (Kappa value) เท่ากับ 0.568 ($p < 0.01$) NP ELISA มี diagnostic sensitivity และ specificity เท่ากับ 93.4% และ 80.0% ตามลำดับ นำ NP ELISA มาตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสไข้หวัดสุกรในซีรัมแม่สุกรจำนวน 1,548 ตัวอย่าง ที่เก็บจากฟาร์มต่างๆ ใน 5 จังหวัดที่ตั้งอยู่ในแต่ละภาคของประเทศไทย ในช่วงปี 2552 และปี 2553 พบการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่สุกร ในฟาร์มเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ กลาง ตะวันออก ใต้ และเหนือเท่ากับ 96.88, 94.52, 93.90, 93.27 และ 89.92% ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยภาพรวมสุกรส่วนใหญ่ของประเทศมีภูมิคุ้มกันต่อ NP สูงที่สุดในช่วงเดือนกรกฎาคม ยกเว้นในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อ NP สูงที่สุดในช่วงเดือนพฤษภาคม ทั้งสองเดือนเป็นช่วงเริ่มต้นฤดูฝน ซึ่งมีปัจจัยที่ช่วยส่งเสริมการแพร่กระจายเชื้อแบบ contact transmission ได้ดีซึ่งเป็นลักษณะเด่นของการแพร่กระจายเชื้อในประเทศเขตร้อน