225821

บทคัดย่อ

ชื่อโครงการการวิจัย การทดสอบประสิทธิภาพของซับยูนิตวัคซีนป้องกันโรคเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในสุกร

ชื่อผู้วิจัย น.สพ.ดร คมกฤช เทียนคำ น.สพ. รุ่งธรรม เกษโกวิท
น.สพ. ดำเนิน จตุรวิธวงศ์ น.สพ.ดร. รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปี 2551 จำนวนเงิน 834,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2551 ถึง ธันวาคม 2552

โรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ก่อปัญหาต่อสุขภาพของสุกรหลายระบบรวมทั้งระบบทางเดินหายใจ และทำให้ระบบภูมิคุ้มกันของสุกรเกิดความผิดปกติ มีอัตราการสูญเสียสูง เกิดผลเสียหายทางเศรษฐกิจอย่างต่อเนื่อง การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีนสำหรับใช้เป็นซับยูนิตวัคซีนเพื่อลดความสูญเสียจากโรคเซอร์โคไวรัสในสุกร โดยทำการแยกเชื้อไวรัสจากตัวอย่างสุกรป่วยด้วยโรคเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในประเทศไทย ใช้รหัสพันธุกรรมของเชื้อไวรัสในส่วนแคปสิดโปรตีน (open reading frame (ORF)-2 / neuclear localisation signal (NLS)-truncated gene) เพื่อทำการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีนขึ้นโดยอาศัยเชื้อ *E. coli* จากนั้นทำโปรตีนให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีอาฟฟินิตีโครมาโตกราฟี และวัดปริมาณโปรตีนด้วยวิธีแบรดฟอร์ด นำรีคอมบิแนนท์โปรตีนที่ได้ไปผสมกับสื่อน้ำมันเพื่อใช้เป็นวัคซีน นำวัคซีนที่ผลิตได้ไปทดลองฉีดเข้ากล้ามเนื้อคอของสุกรปลอดเชื้อ โดยใช้สุกรอายุ 4 สัปดาห์ (n = 45) แบ่งเป็น 5 กลุ่ม คือ กลุ่ม A, B, C, D (n = 10) และกลุ่ม E (n=5) โดยกลุ่ม A และ B ใช้โปรตีนขนาด 5 μg ฉีด 1 ครั้ง และ 2 ครั้ง (ห่างกัน 2 สัปดาห์) ตามลำดับ ส่วนกลุ่ม C และ D ใช้โปรตีนขนาด 50 μg ฉีด 1 ครั้งและ 2 ครั้ง (ห่างกัน 2 สัปดาห์) ตามลำดับ และกลุ่ม E ฉีดเฉพาะสื่อวัคซีน เก็บตัวอย่างซีรัมของสุกรก่อนฉีดวัคซีนและหลังการฉีดวัคซีนทุกสัปดาห์จนครบ 6 สัปดาห์นับจากการฉีดวัคซีนครั้งแรก นำซีรัมมาตรวจหาแอนติบอดีจำเพาะต่อเซอร์โคไวรัส ด้วยชุดทดสอบอีไลซาที่พัฒนาขึ้นใช้เองในห้องปฏิบัติการ ผลการทดลองพบว่าหลังจากให้วัคซีนเข็มที่สองแล้ว สุกรที่ได้รับวัคซีน 2 ครั้งให้ผลตอบสนองทางภูมิคุ้มกันสูงกว่ากลุ่มสุกรที่ได้รับวัคซีน 1 ครั้ง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของกลุ่มสุกรที่ได้รับวัคซีน 1 ครั้ง พบว่ากลุ่มสุกรที่ได้รับโปรตีนขนาด 50 μg (C) นั้นสามารถตรวจพบแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเซอร์โคไวรัสในระดับที่สูงกว่ากลุ่มสุกรที่ได้รับโปรตีนขนาด 5 μg (A) การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่ารีคอมบิแนนท์โปรตีนสามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้างแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเซอร์โคไวรัสในสุกรทดลองได้ โดยเฉพาะในกลุ่มของสุกรที่ได้รับวัคซีน 2 ครั้งของทั้ง 2 ขนาด แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของการนำรีคอมบิแนนท์โปรตีนดังกล่าวไปใช้ผลิตวัคซีนเซอร์โคไวรัสในระดับอุตสาหกรรม ทั้งนี้การศึกษาถึงประสิทธิภาพของวัคซีนดังกล่าวในภาคสนามมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการศึกษาในอนาคต

Abstract

225821

Title: Efficacy of a subunit vaccine against porcine circovirus type 2 on immunological responses in pigs

Researchers:

1. Komkrich Teankum, DVM, MSc, Dr. Med. Vet., Assistant Professor
2. Roongtham Kedkovid, DVM, MSc
3. Damnoen Chaturavittawong, DVM
4. Rongroje Thanawongnuwech, DVM, PhD., Professor

Budget 834,000 Bath

Period 1 year from October 2008 to December 2009

Porcine circovirus type 2 (PCV2) causes multisystemic diseases in pigs including respiratory and gastrointestinal tracts as well as immunological disorder leading to secondary infection. The infection has led to a continuing economic loss in swine industry. Therefore, we aimed to test the efficacy of a subunit vaccine producing from PCV-2 recombinant protein. By using *E. coli* expression system, the recombinant protein was constructed from the neuclear localisation signal (NLS)-truncated gene within the open reading frame (ORF)-2 of PCV2 capsid protein. The protein was purified by affinity chromatography and was measured by Bradford assay. To prepare the subunit vaccine, known amount of the recombinant protein was mixed with a comercial oil adjuvant. The vaccine efficacy was examined in the experimental pigs which were free from PCV2. Fourty-five pigs (4 week old) were allocated into 5 groups (group A, B, C, D; n = 10, and group E; n = 5). Group A and B received 5 μg of the vaccine as one shot and two shot (boosted at 2 wks interval) consecutively. In the same manner, group C and D was given 50 μg of the vaccine as one shot and two shot (boosted at 2 wks interval) respectively. Group E was given only an adjuvant. Sera were collected before vaccination as the baseline and every week after the first vaccination until 6 wks. Antibodies against PCV2 were detected by an in-house ELISA. Results revealed that after the second vaccination, the level of antibodies in the two-shot vaccinated groups was significantly higher than those in the one-shot groups ($p < 0.05$). As expected in the one-shot groups, a significantly higher level of anti-PCV2 antibodies was found in group C (50 μg) when compared with group A (5 μg). The results suggested that the recombinant protein originated from the capsid protein of PCV2 could induce the specific antibody resposes in the experimental pigs especially in the two-shot vaccinations of both concentration which could be used as the potential vaccine candidate. However, field trial of this subunit vaccine is needed for the future study.