

50303205 : สาขาวิชาชีววิทยา

คำสำคัญ : Der f 2/IgE/Time-Resolved Fluoroimmunoassay

รัชณู พิพัฒนชัยไพศาล : การตรวจวัดระดับ IgE ต่อสารก่อภูมิแพ้ไรฝุ่นด้วย time resolved fluoroimmunoassay. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : อ. ดร. จันทร์ดี ระเบียบเลิศ, ผศ. ดร. ทิตติยา จิตติहरรษา และ ผศ. ดร. ณัฐ มาลัยนวล. 79 หน้า.

ไรฝุ่น *Dermatophagoides farinae* และ *D. pteronyssinus* เป็นไรฝุ่นบ้านที่พบเห็นได้บ่อยๆ ในประเทศเขตร้อนชื้น และเป็นสาเหตุสำคัญของการก่อให้เกิดโรคภูมิแพ้ ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการพัฒนาวิธี sandwich time-resolved fluoroimmunoassay (sandwichTRF) เพื่อตรวจวัดแอนติบอดี IgE ในผู้ป่วยที่ให้ผลบวกด้วยวิธี skin prick test แต่ไม่สามารถตรวจวัดได้ด้วยวิธีอื่น ๆ โดยใช้ซีรัมจากผู้ป่วยโรคภูมิแพ้ 50 คน และจากผู้ที่สุขภาพแข็งแรง 19 คน แล้วเปรียบเทียบกับผลการตรวจด้วยวิธี sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (sandwichELISA) ผลการศึกษาปรากฏว่า โปรตีนสังเคราะห์ rDer f 2 มีขนาดโปรตีน 14 kDa เท่ากับโปรตีนสารก่อภูมิแพ้ในธรรมชาติ ระดับแอนติบอดี IgE ที่วัดด้วยวิธี sandwichTRF ต่อโปรตีนสารก่อภูมิแพ้ของไรฝุ่น Df, rDer f 2 และ Dp มีความสัมพันธ์กับวิธี sandwichELISA (r^2 0.93-0.96) จากการเปรียบเทียบพบว่า วิธี sandwichTRF สามารถหาค่าแอนติบอดี IgE ต่อ Df, rDer f 2 และ Dp ได้ที่ระดับ 62, 62 และ 50 เปอร์เซ็นต์ของผู้ป่วยโรคภูมิแพ้ ส่วนวิธี sandwichELISA วัดได้เพียง 28, 32 และ 22 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สำหรับผู้ที่มีสุขภาพแข็งแรง 19 คน วิธี sandwichTRF สามารถตรวจหาค่าแอนติบอดี IgE ต่อ Df, rDer f 2 และ Dp ได้ที่ระดับ 26.3, 31.6 และ 5.3 เปอร์เซ็นต์ ส่วนวิธี sandwichELISA วัดได้ 0, 5.3 และ 0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ผลการใช้ rDer f 2 และสารก่อภูมิแพ้ไรฝุ่นในการศึกษานี้ผลการตรวจแอนติบอดี IgE ด้วยวิธี sandwichELISA และ sandwichTRF ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่พบว่าวิธี sandwichTRF สามารถตรวจพบแอนติบอดี IgE ได้ในระดับที่ต่ำและให้ผลที่ดีกว่าวิธี sandwichELISA ในผู้ป่วยโรคภูมิแพ้ จากผลการศึกษาสรุปได้ว่าวิธีตรวจวัดระดับแอนติบอดี IgE ด้วยวิธี sandwichTRF เป็นวิธีการทางห้องปฏิบัติการวิธีหนึ่งที่เหมาะสมในการวินิจฉัยผู้ป่วยโรคภูมิแพ้

ภาควิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2553

ลายมือชื่อนักศึกษา

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ 1. 2. 3.

50303205: MAJOR : BIOLOGY

KEY WORDS : DER F 2/IGE/TIME-RESOLVED FLUOROIMMUNOASSAY

RATCHANOO PHIPHATCHAIPAISARN : DETECTION OF IGE AGAINST MITE ALLERGENS USING TIME-RESOLVED FLUOROIMMUNOASSAY. THESIS ADVISORS : JUNDEE RABABLERT, Ph.D., ASST. PROF. TITIYA CHITTIHUNSA, Ph.D., AND ASST. PROF. NAT MALAINUAL, Ph.D. 79 pp.

Dermatophagoides farinae and *D. pteronyssinus* are the prevalent house dust mites (HDM) in tropical countries and are associated with allergic diseases. This investigation developed a sandwich time-resolved fluoroimmunoassay (sandwichTRF) for the first time to detect specific IgE antibody in patients with skin prick test positive to HDM but no detectable IgE by other means. Levels of IgE to native and recombinant HDM allergens were measured by TRF in 50 HDM-allergic patients and 19 healthy subjects compared to sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (sandwichELISA). A recombinant allergen, rDer f 2, showed a 14 kDa band corresponding to broad range proteins of native HDM. sandwichTRF employing of Df, rDer f 2 and Dp showed good correlations with sandwichELISA at r^2 0.93-0.96. HDM IgE of Df, rDer f 2 and Dp detected from sandwichTRF are 62 %, 62 % and 50 % of allergic patient serum sample compared to 26 %, 32 % and 22 % detected from sandwichELISA, respectively. Sandwich TRF also detected 26.3 %, 31.6 % and 5.3 % positive samples from 19 healthy subjects while sandwichELISA showed 0 %, 5.3 % and 0 % IgE positive samples. The use of rDer f 2 as an HDM allergen for the assay was verified with no statistically different from other HDM allergens. Although with lower detection limit than sandwichELISA but sandwichTRF yielded higher sensitivity for patient sera with allergic symptoms but no detectable HDM IgE. It is indicated that TRF for HDM-specific IgE detection could play an important role in future diagnosis of HDM allergy.

Department of Biology Graduate School, Silpakorn University Academic Year 2010

Student's signature

Thesis Advisors' signature 1. 2. 3.