

การใช้ชุดตรวจสอบ non structural protein ชนิดต่างๆ สำหรับตรวจแยกระหว่างสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนและสัตว์ ที่ติดเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย

วิไล ลิณจงสุขภงกข* ดิลก อ้วนพรมมา ปณิธาน ทองทา

ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ กรมปศุสัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

*ผู้เขียนรับผิดชอบ โทรสาร 044 314889; e-mail: wilaifmd@loxinfo.co.th

บทคัดย่อ

การตรวจหาแอนติบอดีต่อ non structural protein (NS) ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยด้วย ELISA technique โดยใช้ชุดตรวจสอบชนิดต่างๆ ซึ่งผลิตจาก World Reference Laboratory (WRL), United Biomedical Inc. (UBI), Bommeli/Intervet (Bomm) และ CEDI Diagnostic B.V. (CEDI) เพื่อใช้สำหรับตรวจแยกระหว่างสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนและสัตว์ที่ได้รับการติดเชื้อ ควบคู่กับการตรวจสอบ VIA test ผลการตรวจสอบซีรัมสัตว์จำนวน 1197 ตัวอย่าง (โค=918 กระบือ=40 และสุกร=239) โดยจำแนกเป็นซีรัมสัตว์ที่ไม่เคยได้รับการฉีดวัคซีน ได้รับการฉีดวัคซีนเพียง 1 ครั้ง ได้รับการฉีดวัคซีนจำนวนหลายครั้ง และได้รับการติดเชื้อในพื้นที่พบว่าซีรัมโคที่ไม่เคยได้รับการฉีดวัคซีนจะให้ผลลบต่อ NS test ที่ใช้ชุดตรวจสอบจาก WRL, UBI, Bomm, CEDI และ VIA test เท่ากับ 100%, 99.74%, 99%, 100% และ 100% ตามลำดับ ส่วนซีรัมสุกรให้ผลลบจาก WRL, UBI และ VIA test เท่ากับ 100% ทั้งหมด ผลการตรวจซีรัมโคและสุกรที่ได้รับการฉีดวัคซีนเพียง 1 ครั้ง ให้ผลลบต่อ NS test จาก WRL, UBI และ VIA test เท่ากับ 99.03%, 98.4% และ 97.7% ตามลำดับ ผลการตรวจซีรัมโคและกระบือที่ได้รับการฉีดวัคซีนจำนวนหลายครั้งจะให้ผลลบ NS test จาก WRL, UBI เท่ากับ 97.73% และ 100% และได้ผลลบต่อ VIA test เท่ากับ 65.45% ซึ่งแสดงถึงให้ความจำเพาะต่ำ ผลการตรวจซีรัมโคที่ได้รับการติดเชื้อในพื้นที่พบว่าได้ผลบวกต่อ NS test จาก WRL, UBI, Bomm, CEDI และ VIA test เท่ากับ 98.3 %, 88.9 %, 84.6%, 90.1% และ 100% ตามลำดับ ส่วนในสุกรให้ผลบวกต่อ NS test จาก WRL, UBI และ VIA test เท่ากับ 73.33%, 80%, และ 100% ตามลำดับ จากการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้ว่าการตรวจสอบ NS test จาก WRL, UBI, Bomm และ CEDI ในโคและสุกรให้ความจำเพาะสูงถึง 99-100% และให้ความไวของการตรวจสอบในโคถึง 84.6-98.3% ในสุกร 73.33-80% นอกจากนี้ยังพบว่าการตรวจ VIA test ให้ผล false positive ค่อนข้างสูง ในสัตว์ที่เคยได้รับการฉีดวัคซีนซ้ำหลายครั้ง ดังนั้นสามารถใช้วิธี NS test แทน VIA test ได้เพื่อแยกระหว่างสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนและสัตว์ที่ได้รับการติดเชื้อในพื้นที่ และเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจสอบทางซีรัมวิทยาของโรคปากและเท้าเปื่อยได้อย่างถูกต้อง และแม่นยำยิ่งขึ้น

คำสำคัญ : non structural protein VIA ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย

บทนำ

กรมปศุสัตว์ได้ดำเนินการรณรงค์ฉีดวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยในโค กระบือ แพะ แกะ และ สุกรอย่างต่อเนื่องปีละ 2 ครั้ง เพื่อเสริมสร้างภูมิคุ้มกันให้สัตว์ในพื้นที่ที่ได้รับการฉีดวัคซีนอย่างทั่วถึงเป็นจำนวนไม่ต่ำกว่า 80 % ของฝูงหรือของประชากรสัตว์ทั่วประเทศ เพื่อให้มั่นใจได้ว่าสัตว์เหล่านั้นมีระดับภูมิคุ้มกันสูงเพียงพอต่อการป้องกันโรค การตรวจสอบทางซีรัมวิทยาในห้องปฏิบัติการโดยวิธี liquid phase blocking ELISA (LP ELISA) ควบคู่กับการตรวจสอบสถานะการสัมผัสเชื้อไวรัส โดยวิธี virus infection associated (VIA) test ตามวิธีการของ วิลและคณะ (2536) เพื่อแยกแยะระหว่างสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนและสัตว์ที่ได้รับการติดเชื้อ การตรวจสอบวิธีนี้ได้ผลเป็นที่น่าพอใจในระยะแรกของโครงการเนื่องจาก จำนวนครั้งของการฉีดวัคซีนยังมีน้อยทำให้การวินิจฉัยโรคจากตัวอย่างซีรัมค่อนข้างถูกต้องและแม่นยำระดับหนึ่ง ปัจจุบันสัตว์ในพื้นที่ที่ได้รับการฉีดวัคซีนปีละหลายครั้งส่งผลให้เกิดผลบวกต่อ VIA test ในสัตว์ที่ไม่เคยสัมผัสเชื้อไวรัสมาก่อน แต่เกิดจากการฉีดวัคซีนเชื้อตายจำนวนหลายครั้ง (McVicar and Suttmoller, 1970 ; Pinto and Garland, 1979) ทำให้การตรวจวินิจฉัยโรคผิดพลาดได้ ปัจจุบันได้มีการนำเทคนิคการตรวจหาแอนติบอดีต่อ non structural protein ของ FMDV ในส่วนของ 3A, 3B, 3AB, 3ABC, 2B, 2C หรือ 3D โดยวิธี indirect ELISA ตามรายงานของ Bruderer et al. (2004), De Deigo et al. (1997) และ Sorensen et al. (1998a) และวิธี blocking ELISA ตามรายงานของ Sorensen et al. (1998b) มาใช้ ตรวจสอบทางซีรัมวิทยาเพื่อแยกสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนจากสัตว์ที่ได้รับการติดเชื้อได้ถูกต้อง และแม่นยำกว่าวิธี VIA test โดยหลักการ FMDV จะมีองค์ประกอบที่เป็นส่วน structural protein ได้แก่ VP1, VP2, VP3 และ VP4 และส่วนที่เป็น non structural protein ได้แก่ 3A, 3B, 3C, 2B, 2C และ 3D จะเกิดขึ้นในขบวนการ viral replication ในร่างกายสัตว์ขณะได้รับการติดเชื้อ ดังนั้นร่างกาย จะสร้างแอนติบอดีต่อส่วน structural และ non structural protein ซึ่งจะสามารถตรวจพบได้ในซีรัมสัตว์ป่วย จากรายงานของวิลและคณะ (2543) ได้ทำการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการหาแอนติบอดีต่อ 3ABC non structural protein ของ FMDV (NS test) โดยวิธี indirect ELISA test เปรียบเทียบกับวิธี VIA test ควบคู่กับการตรวจหาแอนติบอดีต่อส่วน structural protein ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์โอ เอ และเอเชียวัน ด้วยวิธี LP ELISA ในซีรัมโค กระบือ และสุกร พบว่า NS test ให้ผลถูกต้องและแม่นยำกว่า VIA test และสามารถใช้แทน วิธี VIA test ได้ในปัจจุบันได้มีการผลิตชุดตรวจสอบสำเร็จรูป (NS kit) จากต่างประเทศเป็นจำนวนมาก จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาวิจัยเพื่อคัดเลือกสารตรวจสอบทางซีรัมวิทยาที่มีประสิทธิภาพสูงในด้านความไวและความแม่นยำ

จุดประสงค์การศึกษาครั้งนี้ เพื่อตรวจหาแอนติบอดีต่อ non structural protein โดยใช้ NS kit ชนิดต่างๆ ควบคู่กับการตรวจสอบ VIA test และ LP ELISA test และศึกษาความจำเพาะ และความไวของชุดตรวจสอบ NS kit ชนิดต่างๆ เพื่อคัดเลือกชุดตรวจสอบที่มีคุณสมบัติเหมาะสม

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ตัวอย่างซีรัม

ซีรัมจากทองที่และจากห้องปฏิบัติการ จำนวนทั้งสิ้น 1197 ตัวอย่าง (โค = 918 กระบือ = 40 และสุกร = 239) แบ่งตามประวัติดังนี้คือ ซีรัมจากสัตว์ที่ไม่เคยได้รับการฉีดวัคซีน ซีรัมจากสัตว์ที่เคยฉีดวัคซีนจำนวน 1 ครั้ง ซีรัมจากสัตว์ที่เคยได้รับการฉีดวัคซีนจำนวนหลายครั้ง และซีรัมจากสัตว์ที่ได้รับการติดเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในพื้นที่ รายละเอียดซีรัมสัตว์และจำนวนตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบ NS test และ VIA test ดังแสดงในตารางที่ 1

2. VIA test

ตรวจหาแอนติบอดีต่อ VIA antigen โดยวิธี Agar gel immunodiffusion (AGID) test ตามวิธีการของ วิลเล และคณะ (2536)

3. Non structural protein (NS) test

ใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูปที่ผลิตจากหน่วยงานต่างประเทศ ดังนี้

3.1 ชุดตรวจสอบที่ผลิตจากหน่วยงาน World Reference Laboratory (WRL) ประเทศอังกฤษ เป็นการตรวจหาแอนติบอดีต่อส่วนของ 3ABC non structural protein ของ FMDV โดยวิธี indirect ELISA ขั้นตอนและวิธีการตรวจสอบดำเนินการตามคู่มือของผู้ผลิต

3.2 UBI[®] FMDV NS EIA (UBI) เป็นชุดตรวจสอบที่ผลิตจากหน่วยงาน United Biochemical Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยการตรวจหาแอนติบอดีต่อส่วนของ 3B ของ non structural protein FMDV โดยวิธี indirect ELISA ขั้นตอนและวิธีการตรวจสอบดำเนินการตามคู่มือของผู้ผลิต

3.3 Checkit FMDV-3ABC (Bomm) เป็นชุดตรวจสอบที่ผลิตจากหน่วยงาน Bommeli/Intervet ประเทศสวิสเซอร์แลนด์ เป็นการตรวจหาแอนติบอดีต่อส่วนของ 3ABC ของ non structural protein ของ FMDV โดยวิธี indirect ELISA ขั้นตอนและวิธีการตรวจสอบดำเนินการตามคู่มือของผู้ผลิต

3.4 CediTest[®] FMDV-NS (CEDI) ที่ผลิตจากหน่วยงาน CEDI Diagnostic B.V. ประเทศเนเธอร์แลนด์ เป็นการตรวจหาแอนติบอดีต่อส่วนของ 3ABC ของ non structural protein ของ FMDV โดยวิธี blocking ELISA ขั้นตอนและวิธีการตรวจสอบดำเนินการตามคู่มือของผู้ผลิต

4. Liquid phase blocking ELISA (LP ELISA)

ทำการตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์โอ เอ และเอเซียวัน โดยวิธี indirect double antibody sandwich ELISA ตามวิธีการของ วิลเลและคณะ (2536) และ วิลเลและธนรัตน์ (2537) ในการศึกษาครั้งนี้จะทำการตรวจ LP ELISA เฉพาะซีรัมจากกลุ่มสัตว์ที่ได้รับการติดเชื้อ ในพื้นที่เท่านั้น

ผลการทดลอง

ผลการตรวจสอบ NS test โดยใช้ NS kit ที่ผลิตจาก WRL, UBI, Bomm, CEDI และ VIA test ในซีรัมโค กระบือ และสุกร ในสถานะที่ไม่เคยได้รับการฉีดวัคซีน ฉีดวัคซีนจำนวนหลายครั้ง และได้รับการติดเชื้อในพื้นที่ ดังแสดงในตารางที่ 2

ศึกษาด้านความจำเพาะและความไว (specificity and sensitivity) ของการตรวจสอบ NS test โดยใช้ NS kit ที่ผลิตจาก WRL, UBI, Bomm, CEDI และ VIA test ดังแสดงในตารางที่ 2 และผลการตรวจสอบระดับภูมิคุ้มกันเฉลี่ยต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในกลุ่มโคที่ได้รับการติดเชื้อในพื้นที่และได้รับวัคซีนชนิดไทรวาเลนท์ ไพโอ เอ และเอเซียวันสูงทั้ง 3 ไพป์ เท่ากับ 3.216 ± 0.310 , 2.496 ± 0.415 และ 2.637 ± 0.314 ตามลำดับ

ตารางที่ 1. ตัวอย่างซีรัมที่ได้รับการตรวจสอบ โดยวิธี NS test และ VIA test

รายละเอียดสถานะสัตว์ที่ทำการเก็บซีรัม	ชนิดสัตว์	จำนวนตัวอย่าง
ไม่เคยได้รับการฉีดวัคซีนและไม่ได้รับการติดเชื้อ	โค	379
	สุกร	101
ได้รับการฉีดวัคซีนจำนวน 1 ครั้งและไม่ได้รับการติดเชื้อ	โค	179
	สุกร	123
ได้รับการฉีดวัคซีนจำนวนหลายครั้งและไม่ได้รับการติดเชื้อ	โค	180
	กระบือ	40
ได้รับการติดเชื้อ FMD ไพโอ เอ และได้รับการฉีดวัคซีนไทรวาเลนท์	โค	180
	สุกร	15

ตารางที่ 2 ผลการตรวจซีรัมจากแหล่งต่างๆ โดย NS test และ VIA test

กลุ่มซีรัม*	WRL		UBI		Bomm		CEDI		VIA test	
	% Pos	% Neg	% Pos	% Neg	% Pos	% Neg	% Pos	% Neg	% Pos	% Neg
1	0	100	0.26	99.74	1	99	0	100	0	100
2	0	100	0	100	NT	NT	NT	NT	0	100
3	0.97	99.03	1.6	98.4	NT	NT	NT	NT	2.3	97.7
4	2.27	97.73	0	100	NT	NT	NT	NT	34.55	65.45
5	98.3	1.7	88.9	11.1	84.6	15.4	90.1	9.9	100	0
6	73.33	26.67	80	20	NT	NT	NT	NT	100	0

*1 = ซีรัมโคที่ไม่เคยได้รับการฉีดวัคซีน จำนวน 379 ตัวอย่าง

2 = ซีรัมสุกรที่ไม่เคยได้รับการฉีดวัคซีน จำนวน 101 ตัวอย่าง

3 = ซีรัมสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนเพียง 1 ครั้ง จำนวน 302 ตัวอย่าง (โค = 179 สุกร = 123)

4 = ซีรัมสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนจำนวนหลายครั้ง จำนวน 220 ตัวอย่าง (โค = 180 กระบือ = 40)

5 = ซีรัมโคที่ได้รับการติดเชื้อ FMD ไทยป้อ และได้รับการฉีดวัคซีนไคราเลนส์ จำนวน 180 ตัวอย่าง

6 = ซีรัมสุกรที่ได้รับการติดเชื้อ FMD ไทยป้อ และได้รับการฉีดวัคซีนไคราเลนส์ จำนวน 15 ตัวอย่าง

Pos = ได้ผลบวก, Neg = ได้ผลลบ, NT = ไม่ได้ทำการตรวจสอบ

VIA test = Virus Infection Associated agar gel immunodiffusion test

WRL = 3ABC NS kit from World Reference Laboratory, UK UBI = 3B NS kit from United Biochemical Inc, USA

Bomm = 3ABC Bommeli/Intervet NS kit, Netherlands CEDI = 3ABC NS kit from Cedi Diagnostic B.V., Netherlands

วิจารณ์

การตรวจหาแอนติบอดีต่อ non structural protein (NS) ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย โดยใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูปที่ผลิตจาก WRL, UBI, Bomm และ CEDI ให้ความจำเพาะ (specificity) ของการตรวจสอบในโคและสุกรที่ไม่เคยได้รับการฉีดวัคซีนพบว่าให้ความจำเพาะสูงถึง 99-100% และ 98.4-99.03 % ในสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนเพียง 1 ครั้ง ดังแสดงในตารางที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบกับผล VIA test ให้ผลสอดคล้องกับที่ได้รายงานไปแล้ว (วิไลและคณะ, 2543) ผลการตรวจสอบ NS test ในซีรัมสัตว์ที่เคยได้รับการฉีดวัคซีนจำนวนหลายครั้ง (ซีรัม กลุ่ม 4 ในตารางที่ 2) ส่วนใหญ่เคยได้รับ

การฉีดวัคซีนประมาณ 5 -10 ครั้งเนื่องจากฉีดวัคซีน เป็นประจำปีละ 2 ครั้งแบบต่อเนื่องพบว่าได้ผลบวกต่อ VIA test ก่อนข้างสูงคือ 34.55 % แสดงว่ามีความจำเพาะ เพียง 65.45% ซึ่งจากประวัติสัตว์เหล่านี้พบว่าไม่เคยได้รับการติดเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ซึ่งสอดคล้องกับที่เคยมีการรายงานมาแล้ว (Pinto and Garland, 1979) และเมื่อทำการตรวจสอบ NS test โดยใช้ชุดตรวจสอบจาก WRL และ UBI จะเห็นได้ว่าได้ผลลบจาก UBI ถึง 100% แต่พบผลบวกจาก WRL เพียง 2.27 % ซึ่งถือว่าน้อยมาก อาจเนื่องจากชุดตรวจสอบให้ความไวสูงมากทำให้เกิดปฏิกิริยาจาก non specific binding reaction จากวิธี indirect ELISA ส่วนการวิเคราะห์ผลในด้านความจำเพาะพบว่า VIA test ให้ความจำเพาะน้อยกว่า NS test ส่งผลให้เกิดผล false positive เป็นไปได้สูง หากพิจารณาถึงความจำเพาะและความแม่นยำในการแยกสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนจากสัตว์ที่ได้รับการติดเชื้อ พบว่า NS test จะให้ความถูกต้อง และแม่นยำกว่า VIA test ซึ่งสอดคล้องกับรายงานจากต่างประเทศ (Silberstein et al., 1997) แต่เมื่อพิจารณาชิมรในกลุ่ม 5 และ 6 ของตารางที่ 2 จากการตรวจสอบ NS test, VIA test และ LP ELISA จากสัตว์ในพื้นที่ที่เคยได้รับการติดเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์โอ และระบาดไปทั่วทั้งฝูงสัตว์ส่วนใหญ่แสดงอาการป่วยและได้รับการฉีดวัคซีน ชนิดไคราเลนท์ แบบปูพรม ทั้งในฝูงที่ป่วยและสัตว์พื้นที่ใกล้เคียง ผลการตรวจสอบ NS test โดยใช้ชุดตรวจสอบ WRL, UBI, Bomm, CEDI และ VIA test พบว่าได้ผลบวกต่อ NS test และ VIA test สูงมากเท่ากับ 98.33 %, 88.9%, 84.6 %, 90.1% และ 100% ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า NS test และ VIA test ให้ความไวของการตรวจสอบ (sensitivity) สูงมากโดยเฉพาะ VIA test ให้ผลถึง 100 % ในสัตว์ที่เคยได้รับการติดเชื้อเป็นเวลา 1 เดือน เนื่องจากอาจเป็นผลบวกของ VIA test ทั้งจากการติดเชื้อ และจากการฉีดวัคซีนซ้ำด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าระดับภูมิคุ้มกันเฉลี่ยต่อ ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ไทป์โอ เอ และเอเซียวันสูงทั้ง 3 ไทป์เท่ากับ 3.216 ± 0.310 , 2.496 ± 0.415 และ 2.637 ± 0.314 ซึ่งจะค่อนข้างสูงในไทป์ที่เกิดระบาดในพื้นที่คือไทป์โอ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของวิลและคณะ (2536) และ Mackey et al.(1998) จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการตรวจสอบ NS test โดยใช้ชุดตรวจสอบจำนวน 4 ชนิดที่ผลิตจาก WRL, UBI, Bomm และ CEDI นั้นให้ผลค่อนข้างใกล้เคียงกันในด้านความจำเพาะและความไวของการตรวจสอบ สามารถเลือกใช้อย่างใดอย่างหนึ่งได้ตามความเหมาะสมทั้งนี้ ต้องคำนึงถึง สภาวะสัตว์ในพื้นที่หรือประวัติการฉีดวัคซีน หรือการติดเชื้อเป็นต้น นอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงชนิดของสัตว์ซึ่งต้องเลือกชุดตรวจสอบให้ตรงกัน ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็น indirect ELISA ต้องใช้ conjugate ที่จำเพาะต่อชนิดสัตว์ ส่วน NS test ของ CEDI นั้นใช้วิธี blocking ELISA สามารถใช้ตรวจชิมรจากสัตว์ได้มากชนิด กว่าเนื่องจากไม่ต้องเลือก conjugate ที่จำเพาะต่อชนิดสัตว์นั้นๆ จากการศึกษาครั้งนี้ถึงแม้ว่าข้อมูล ของชิมรสกรยังมีน้อยมาก จำเป็นต้องมีการดำเนินการศึกษาต่อไป แต่ยังให้ประโยชน์ในด้าน การนำเทคนิคใหม่ คือ NS test มาใช้แก้ปัญหาการเกิด false positive ที่ได้จากตรวจสอบ VIA test อันเนื่องมาจากการฉีดวัคซีน

หลายครั้ง ซึ่งนับว่าเป็นประโยชน์และใช้สนับสนุนโครงการรณรงค์การฉีดวัคซีน โรคปาก และเท้าเปื่อยในโคและกระบือของแต่ละปี เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจสอบ ทางซีรัมวิทยาของ โรคปากและเท้าเปื่อยให้ถูกต้องและแม่นยำยิ่งขึ้น และยังสามารถใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการ ตรวจสอบซีรัมสัตว์ เพื่อการจัดตั้งเขตปลอดโรคปากและเท้าเปื่อย ภายใต้ข้อกำหนดของ OIE

สรุปผล

การตรวจหาแอนติบอดีต่อ non structural protein โดยใช้ชุดตรวจสอบจำนวน 4 ชนิดที่ผลิตจาก WRL, UBI, Bomm และ CEDI ให้ผลการตรวจสอบด้านความจำเพาะสูงทั้งในโค และสุกร โดยเฉลี่ยมากกว่า 99-100% และให้ความไวสูงใกล้เคียงกันตั้งแต่ 84.6-98.3% ในโค และ 73.33-80% ในสุกร สรุปได้ว่าสามารถนำ NS test มาใช้แทน VIA test ได้เพื่อใช้แก้ปัญหา false positive จากการ VIA test โดยเฉพาะในสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนจำนวนหลายครั้ง

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับความช่วยเหลือทางวิชาการจากหน่วยงาน International Atomic Energy Agency (IAEA) ประเทศออสเตรีย หน่วยงาน World Reference Laboratory (WRL) ประเทศอังกฤษ บริษัท อินเทอร์เน็ต (ประเทศไทย) ในการสนับสนุนสารตรวจสอบสำเร็จรูป ขอขอบคุณนายกุล ลิมแหลมทอง อธิบดีกรมปศุสัตว์ Dr. John Crowther เจ้าหน้าที่ Animal Health and Production, IAEA ที่ให้การสนับสนุนทางวิชาการและการดำเนินงานเป็นผลสำเร็จ ขอขอบคุณนางสาวกฤตยา สุนทร นางสาว ศรัญญา แพงตะคุ นางสาวศิริลักษณ์ แสงสง่า และเจ้าหน้าที่ศูนย์อ้างอิง โรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่ให้ความช่วยเหลือ ในการเตรียมสารละลาย และดำเนินการตรวจสอบทางซีรัมวิทยา

เอกสารอ้างอิง

- วิไล ลิ้นจงสุขงข อนุโรจน์ ภูสิริมงคล นพพร พัฒนประสิทธิ์ ดิลก อานพรมมา ปณิธาน ทองทา. 2543. พัฒนาเทคนิค อีไลซ่า ในการตรวจแยกแอนติบอดีต่อ 3ABC นอน สตรัคเจอร์ โปรตีนของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยสำหรับแยกสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนจากสัตว์ ที่ได้รับการติดเชื้อ ประมวลผลการประชุมวิชาการปศุสัตว์ ครั้งที่ 17 ประจำปี 2543 หน้า 27-41.
- วิไล ลิ้นจงสุขงข สันสมุทร นิลฉวี และ วชิร สันสูงศักดิ์. 2536. การวินิจฉัยโรคปากและ เท้าเปื่อยจากซีรัมสัตว์ป่วย วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 4 (2) หน้า 1-11.

วิไล ลิ้นจสุบงกช และธนรัตน์ จานุกิจ. 2537. การตรวจระดับแอนติบอดีต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยโดยวิธี ลิควิด เฟส อีไลซ่า ประมวลเรื่องประชุมวิชาการ กองผลิตชีวภัณฑ์ ครั้งที่ 1 หน้า 63-72.

Bruderer, U., Swam, H., Haas, B., Visser, N., Brocchi, E., Grazioli, S., Esterhuysen, J.J., Vosloo, W., Forsyth, M., Aggarwal, N., Cox, S., Armstrong, R., Anderson, J. 2004.

Differentiating infection from vaccination in foot and mouth disease: evaluation of an ELISA based on recombinant 3ABC. *Vet. Microbiol.* 101: 187-197.

De Deigo, M., Brocchi, E., Mackay, D.K.J., De Simone, F. 1997. The non structural of polyprotein 3ABC of foot and mouth disease virus as a diagnostic antigen in ELISA to differentiate infected from vaccinated cattle. *Arch. Virol.* 142: 2021-2033.

Mackay, D.K.J., Forsyth, M.A., Davies, P.R. and Salt, J.S. 1998. Antibody to the non structural proteins of foot and mouth disease virus in vaccinated and animal exposed to infection. *The Veterinary Quaterly.* 20: 9-11.

McVicar, J.W. and Suttmoller, P. 1970. Foot and mouth disease: The agar gel diffusion precipitin test for antibody to virus infection associated (VIA) antigen as a tool for epidemiological surveys. *Am. J. Epidemiol.* 94(4): 273-278.

Pinto, A.A. and Garland, A.J.M. 1979. Immune response to virus infection associated (VIA) antigen in cattle repeatedly vaccinated with foot and mouth disease virus activated by formalin or acethylethyleneimine. *J. Hyg.* 82: 41-50.

Silberstein, E., Kaplan, G., Tobogo, O., Duffy, S. and Palma, E. 1997. Foot and mouth disease virus infected but not vaccinated cattle develop antibodies against recombinant 3AB1 nonstructural protein. *Arch. Virol.* 142: 795-805.

Sorensen, K.J., Madsen, K.G., Madsen, E.S., Salt, J.S., Nqindi, J. and Mackay, D.K.J. 1998a. Differentiation infection from vaccination in foot and mouth disease by the detection of antibody to the nonstructural proteins 3D, 3AB and 3ABC in ELISA using antigen expressed in baculovirus. *Arch. Virol.* 143: 1461-1476.

Sorensen, K.J., Hansen, C.M., Madsen, E.S., Madsen, K.G. 1998b. Blocking ELISA using non structural proteins 3D, 3AB and 3ABC produced in the baculovirus expression system. *J. Clin. Sci. Epidemiol.* 20: S17-S20.

The use of various non structural protein kits to differentiate between vaccinated and infected animals with foot and mouth disease virus

Wilai Linchongsabongkoch*, Dilok Aunpomma, Panithan Thongtha
Regional Reference Laboratory for FMD in South East Asia

Department of Livestock Development Pakchong Nakhonratchasima 30130

* Corresponding person Fax. 044 314889; e-mail: wilaimd@loxinfo.co.th

Abstract

The detection of antibody to non structural protein (NS) of foot and mouth disease virus (FMDV) using various types of NS kits which were produced from World Reference Laboratory (WRL), United Biomedical Inc.(UBI), Bommeli/Intervet (Bomm) and CEDI Diagnostic B.V. (CEDI), was studied. The conventional method of VIA test was also carried out in parallel with the NS test in order to study the specificity and sensitivity of each NS test kit. One thousand one hundred and ninety seven serum samples (cattle = 918, buffaloes = 40, pigs = 239) from non vaccinated, single vaccinated, multiple vaccinated and field infected animals were examined. The NS test using kits from WRL, UBI, Bomm, CEDI and VIA test were shown high negative results in non vaccinated cattle were 100%, 99.74%, 99%, 100% and 100%, respectively, in pigs were shown all 100% negative results by WRL, UBI and VIA test. While in the single vaccinated cattle and pigs were shown NS negative results by WRL, UBI and VIA test were 99.03%, 98.4% and 97.7%, respectively. The NS test in multiple vaccinated cattle and buffaloes were shown negative results by WRL, UBI and VIA test were 97.73%, 100% and 65.45%, respectively. In the FMD field outbreak area, the infected cattle were distinguished giving the highly positive results by NS test from WRL, UBI, Bomm, CEDI and VIA test were 98.3%, 88.9%, 84.6%, 90.1% and 100%, respectively, while in the infected pigs gave the highly positive by the NS test from WRL, UBI and VIA test were found 73.33%, 80%, and 100%, respectively. This study indicated that the NS kit from WRL, UBI, Bomm, and CEDI giving the high specificity assay in both non vaccinated cattle and pigs from 99-100% and giving the high sensitivity assay from 84.6-98.3 % in

cattle and 73.33-80% in pigs. In addition, the false positive results from VIA test were found in multiple vaccinated animals. Thus, the NS test could be used to replace VIA test to differentiate the vaccinated from naturally infected animals in serological assay for FMD diagnosis with increasing efficiency and accuracy.

Key word: Non structural protein kit, VIA, FMDV