

การตรวจหาไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยจากตัวอย่างเนื้อเยื่อ โดยวิธี แรปิด เพนไซด์ เทสต์^{1/}

ดิลก อ้วนพรมมา^{2/} ร่มพฤษ อุดล^{2/} วิไล ลินจงสูงงกช^{2/}

บทคัดย่อ

ชุดตรวจสอบ rapid pen-side test ของ BioSign™ FMDV Ag ถูกนำมาใช้ในการตรวจหาไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ในตัวอย่างที่เป็น 10% tissue suspension (10%TS) และ virus isolation culture fluid (VICF) โดยใช้ชุดตรวจสอบจำนวน 2 ชุด คือชุดตรวจสอบ rapid pen-side kit FB 4F11 สำหรับทดสอบต่อส่วน structural protein ของไทป์ O, A, Asia1, C และส่วน 3ABC non structural protein (3ABC NSP) ทดสอบกับตัวอย่างที่ได้รับการตรวจด้วยวิธี ELISA typing ที่พบไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย จำนวนทั้งสิ้น 81 ตัวอย่าง และไม่พบไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย(not type) จำนวนทั้งสิ้น 9 ตัวอย่าง และชุดตรวจสอบ rapid pen-side kit FB 4E11 สำหรับทดสอบต่อส่วน structural protein ของไทป์ O และส่วน 3ABC NSP ทดสอบกับตัวอย่างที่ได้รับการตรวจด้วยวิธี ELISA typing ที่พบไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย จำนวนทั้งสิ้น 51 ตัวอย่าง และไม่พบไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย(not type) จำนวนทั้งสิ้น 6 ตัวอย่าง ผลปรากฏว่าชุดตรวจสอบ rapid pen-side kit FB 4F11 มีความไวโดยเฉลี่ยเท่ากับ 81.48% (66/81) และมีความจำเพาะเท่ากับ 100%(9/9) ในขณะที่ชุดตรวจสอบ rapid pen-side kit FB 4E11 มีความไวเท่ากับ 73.33%(22/30) ในตัวอย่างที่เป็นไทป์ O และมีความจำเพาะเท่ากับ 100%(6/6) ในตัวอย่างที่เป็น not type ในขณะที่ให้ผลลบทั้งหมดในตัวอย่างที่เป็นไทป์ A (21/21) สรุปได้ว่าการตรวจวินิจฉัยไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยโดยใช้ชุดตรวจสอบ rapid pen-side test ถือเป็นวิธีที่ง่าย สามารถอ่านผลได้อย่างรวดเร็ว และไม่ต้องใช้เครื่องมือทาง ELISA technique อย่างไรก็ตามการนำชุดตรวจสอบ rapid pen-side kit FB 4F11 มาประยุกต์ใช้ในภาคสนามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงความไวและความแม่นยำต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ Asia1 และ C ในขณะที่การนำชุดตรวจสอบ rapid pen-side kit FB 4E11 มาใช้ยังไม่เหมาะสมเนื่องจากในประเทศไทยยังพบมีการระบาดของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์อื่น

คำสำคัญ : ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย rapid pen-side test 10% tissue suspension virus isolation culture fluid

^{1/} เลขทะเบียนผลงานทางวิชาการกรมปศุสัตว์ : 49(2) – 0115 - 137

^{2/} ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ปากช่อง นครราชสีมา 30130
โทรสาร 0-4431-4889 E-mail : Dilok_a@hotmail.com



Detection of foot and mouth disease virus from infected tissue specimens using rapid pen-side test ^{1/}

Dilok Ounpomma^{2/} Romphruke Udon^{2/} Wilai Linchongsubongkoch^{2/}

Abstract

The rapid pen-side test kit (BioSignTM) for detection of foot and mouth disease virus (FMDV) antigen in samples both from 10% tissue suspension (10%TS) and virus isolation fluid (VICF) have been studied. Totally 81 of known FMD positive and 9 of not type samples by ELISA were tested by using FB 4F11 kit which detected the structural protein of FMDV type O, A, Asia1, C and 3ABC non structural protein (3ABC NSP). While 51 of known FMD positive and 6 of not type samples by ELISA were test by using FB 4E11 kit which detected the structural protein of only FMDV type O and 3ABC NSP. It was founded that the average sensitivity of FB 4F11 kit was 81.48% (66/81) and 100% specificity (9/9), while FB 4E11 kit gave 73.33% sensitivity (22/30) for type O samples and 100% spectivity (6/6 of the not type sample) while 21/21 of type A samples were negative. In conclusion the test kits were simple and convenience in use and rapid in reading the results without using ELISA equipment. However the application of using FB 4F11 kit in the field should be further studied of its sensitivity and specificity with FMDV type Asia 1 and C. While the FB 4E11 kit is not suitable for the use in Thailand where several types of FMDV outbreaks.

Key words : Foot and mouth disease virus , rapid pen-side test , 10% tissue suspension , virus isolation culture fluid

^{1/} Research Paper No : 49(2) – 0115 - 137

^{2/} Regional Reference Laboratory for FMD in South East Asia, Pakchong, Nakhonratchasima 30130



บทนำ

โรคปากและเท้าเปื่อยเป็นโรคระบาดที่รุนแรง ติดต่อกันง่ายในสัตว์กับคู่ทุกชนิดทั่วโลกมีทั้งหมด 7 ไทป์ คือ O, A, Asia1, C, SAT1, SAT2 และ SAT3 (Brooksby and Rogers, 1957) ในประเทศไทยพบว่ามีโรคระบาดอยู่ 3 ไทป์ คือ O, A และ Asia1 สัตว์ป่วยจะมีอาการซึม เบื่ออาหาร มีน้ำลายไหล เกิดเม็ดตุ่มใสบนเยื่อลิ้น กระพุ้งแก้มและอุ้งเท้า เมื่อเม็ดตุ่มใสแตกออกจะเกิดเป็นรอยโรคบริเวณเยื่อลิ้นและเยื่อภายในช่องปากและบริเวณอุ้งเท้าและไรกีบ ในโครายที่เป็นรุนแรงจะพบรอยโรคที่บริเวณด้านนมและหัวนม และบริเวณเหนือจมูกในสุกร การวินิจฉัยโรคปากและเท้าเปื่อยโดยการสังเกตจากอาการนั้นไม่เพียงพอ เพราะไม่สามารถบอกไทป์หรือชนิดของเชื้อไวรัสได้ จำเป็นต้องตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ ซึ่งเป็นวิธีเดียวที่สามารถจำแนกชนิดของไวรัสหรือ FMD typing (Roeder and Le Blanc Smith, 1987) ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการประกอบด้วยการตรวจหาเชื้อไวรัสจากเยื่อลิ้น เยื่อบริเวณอุ้งเท้าและไรกีบ ทำการตรวจวินิจฉัยโดยวิธี จำแนกชนิดเชื้อไวรัส (ELISA typing) วิธีการเพิ่มปริมาณเชื้อไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยง (virus isolation) และยืนยันผลด้วยวิธี ELISA typing นอกจากนี้ยังมีการนำเทคนิคทาง molecular Biology มาใช้ ได้แก่วิธี Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) (Hofner et al., 1993) การตรวจวินิจฉัยโรคที่รวดเร็ว และมีความแม่นยำสูงถือว่าเป็นสิ่งสำคัญ และจำเป็นอย่างยิ่งทำให้ทราบชนิดของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่ระบาดในพื้นที่ได้ถูกต้อง เพื่อเป็นข้อมูลในการสนับสนุนการควบคุมและกำจัดโรคปากและเท้าเปื่อยในเขตพื้นที่ที่เกิดโรคระบาดให้สงบอย่างรวดเร็ว และมีประสิทธิภาพ ถือเป็นการป้องกันไม่ให้เกิดโรคระบาดและแพร่กระจายไปสู่สัตว์บริเวณข้างเคียงได้ วิธีมาตรฐานที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคปากและเท้าเปื่อยในปัจจุบันของศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้คือวิธี ELISA typing test เพื่อตรวจหาและจำแนกชนิดไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย (Roeder and Le Blanc Smith, 1987) วิธีนี้ให้ผลการตรวจสอบที่มีความจำเพาะ ความไวและความแม่นยำสูง ซึ่งต้องดำเนินการในห้องปฏิบัติการเป็นหลักและจะต้องมีเครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้กับงาน ELISA technique และเครื่องมือ micropipettes โดยเฉพาะซึ่งมีราคาค่อนข้างสูง ปัจจุบันมีนักวิจัยพยายามศึกษาค้นคว้าทดลองวิจัย เพื่อพัฒนาหาวิธีการตรวจสอบและวินิจฉัยโรคที่ง่ายและไม่ยุ่งยากซับซ้อนสามารถดำเนินการตรวจสอบในพื้นที่ได้ทันที ให้ผลการตรวจสอบในเวลาอันรวดเร็วและใช้เวลาน้อยที่สุด และไม่ต้องใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ที่มีราคาแพง เช่นการนำชุดตรวจสอบสำเร็จรูป rapid pen-side test มาใช้ตรวจวินิจฉัยโรคปากและเท้าเปื่อย (Donaldson and Kihm, 1996) ซึ่งสะดวกและสามารถตรวจสอบได้ทันทีในพื้นที่หรือในฟาร์มโดยไม่ต้องใช้เครื่องมือหรืออุปกรณ์ทาง ELISA สามารถอ่านผลด้วยตาเปล่าภายใน 20 นาที มีนักวิจัยจากหน่วยงาน National Veterinary



Research Quarantine Service ประเทศเกาหลีใต้ (ข้อมูลไม่ตีพิมพ์) ได้พัฒนาชุดตรวจสอบสำเร็จรูป 2 ชนิด คือ rapid pen-side kit สำหรับใช้ตรวจหาไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย (antigen detection kit) และ rapid pen-side kit สำหรับใช้ตรวจหาแอนติบอดีต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย (antibody detection kit) สำหรับการศึกษาวิจัยครั้งนี้ จะเป็นการนำ rapid pen-side test ชนิด antigen detection มาใช้ในการตรวจวินิจฉัยไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย จากตัวอย่าง 10% tissue suspension(10%TS) และ virus isolation culture fluid (VICF) เพื่อประเมินผลในด้านความไวและความจำเพาะโดยเปรียบเทียบกับผลการตรวจวินิจฉัยโดยวิธี ELISA typing test เป็นหลัก

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ชนิดของตัวอย่างทดสอบ

ตัวอย่างที่ใช้ทดสอบเป็นตัวอย่างจาก 10% tissue suspension จำนวน 54 ตัวอย่าง และตัวอย่างจาก Virus isolation culture fluid จำนวน 36 ตัวอย่าง โดยตัวอย่างทั้งหมดผ่านการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA typing มาก่อนโดยเป็นไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ไทป์ O จำนวน 42 ตัวอย่าง ไทป์ A จำนวน 39 ตัวอย่าง และ Not type จำนวน 9 ตัวอย่าง

2. การเตรียมตัวอย่าง 10%TS

ตัวอย่างเนื้อเยื่อรอยโรคจากสัตว์ป่วยหรือที่สงสัยว่าป่วยเป็นโรคปากและเท้าเปื่อย จะถูกเก็บในรูปของ epithelium บริเวณเยื่อลิ้นและอุ้งกีบ และนำมาเตรียมเป็น 10%TS โดยทำการตัดเนื้อเยื่อให้เป็นชิ้นเล็กๆแล้วใส่ทรายละเอียดที่หนึ่งมาเชื้อแล้วจำนวนพอประมาณ นำมาบดในโกร่งให้ละเอียดเพื่อแยกไวรัส ออกจากเนื้อเยื่อแล้วเติมสารละลายบัฟเฟอร์คือ 0.04 M phosphate buffer saline (PBS) pH 7.2-7.6 จากนั้นนำไปปั่นเพื่อแยกส่วนน้ำใสออกจากส่วนตะกอน นำส่วนน้ำใสไปทำการตรวจวินิจฉัยไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยด้วยวิธี ELISA typing และ rapid pen-side test ต่อไป

3. การเตรียมตัวอย่าง VICF

ตัวอย่าง 10%TS จะถูกนำมาผ่านลงบนเซลล์เพาะเลี้ยง Baby Hamster Kidney cell (BHK-21) ทำการเติม maintenance medium ในปริมาณพอประมาณให้ท่วมผิวเซลล์ BHK-21 นำไปบ่มที่ 37°C แล้วอ่านผลการเปลี่ยนแปลงทาง cytopathic effect (CPE) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง หากไม่มี CPE เกิดขึ้น ทำการผ่านบนเซลล์เพาะเลี้ยงต่ออีก 1-2 ครั้ง ทำการเก็บ VICF โดยการปั่นแยกส่วนน้ำใสออกจากส่วนตะกอนเซลล์ นำส่วนน้ำใสไปทำการตรวจวินิจฉัยไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยด้วยวิธี ELISA typing และ rapid pen-side test ต่อไป



4. การตรวจจำแนกชนิดของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยโดยวิธี ELISA typing

เป็นการตรวจหาไวรัสและจำแนกชนิดของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ด้วยวิธี double antibody sandwich ELISA ตามวิธีการของ Roeder and Le Blanc Smith (1987)

5. การตรวจวินิจฉัยไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยโดยวิธี rapid pen-side test

เป็นการตรวจหาไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่จำเพาะต่อ 2 ส่วนของอนุภาคไวรัสคือ ส่วนที่เป็น 3ABC non structural protein (3ABC NSP) และส่วนที่เป็น structural protein ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย (SP FMDV) ในตัวอย่างที่เป็น 10%TS และ VICF โดยใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูปของ BioSignTM FMDV Ag , Princeton BioMeditech Corporation (PBM) ประเทศสหรัฐอเมริกา จำนวน 2 ชุด คือ rapid pen-side kit FB 4F11 สำหรับทดสอบต่อส่วน structural protein และส่วน 3ABC non structural protein (3ABC NSP) ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ O, A, Asia1 และ C ส่วน rapid pen-side kit FB 4E11 สำหรับทดสอบต่อส่วน structural protein และส่วน 3ABC NSP ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ O ชุดตรวจสอบสำเร็จรูป rapid pen-side test ใช้หลักการของ one step solid phase immunochromatographic assay ซึ่งเป็นการตรวจวิเคราะห์ในเชิงคุณภาพ โดยใช้ monoclonal antibody (MAb) ที่จำเพาะต่อส่วน FMDV non structural protein และ Mab ที่จำเพาะต่อส่วน structural protein ซึ่งถูกยึดติดแน่นกับแผ่น membrane และจะถูกติดฉลากกับ dye-conjugate antibody เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเส้นสีชมพูม่วงเข้ม ส่วนเส้น control line จะใช้ rabbit anti-mouse antibody ติดฉลากกับ dye-conjugate antibody เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเส้นสีชมพูม่วงเข้ม เมื่อตัวอย่างที่มีไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยอยู่จะเกิดปฏิกิริยาจับกันต่อเนื่องระหว่าง monoclonal antibody (MAb) ที่จำเพาะต่อส่วน FMDV non structural protein (NSP) และ/หรือ Mab ที่จำเพาะต่อส่วน structural protein (SP) กับ antigen และ dye-conjugate antibody ทำให้เกิดปฏิกิริยาเส้นสีชมพูม่วงเข้มขึ้นมา ส่วนรายละเอียดการตรวจสอบดูตามขั้นตอนและวิธีการของผู้ผลิต

6. การอ่านผลและแปลผลการตรวจสอบ rapid pen-side test

เป็นการวิเคราะห์ผลในเชิงคุณภาพ โดยการแปลผลเป็นบวกหรือลบ มีหลักเกณฑ์ ดังนี้

6.1 กรณีเกิดเส้นสีชมพูม่วงเข้ม จำนวน 3 เส้น คือเส้นที่ตำแหน่งของ SP , NSP และที่ตำแหน่ง control line แสดงว่าได้ผลเป็นบวก

6.2 กรณีเกิดเส้นสีชมพูม่วงเข้ม จำนวน 2 เส้น คือเส้นที่ตำแหน่งของ NSP และที่ตำแหน่ง control line แสดงว่าได้ผลเป็นบวก เฉพาะ FMDV 3ABC เท่านั้น

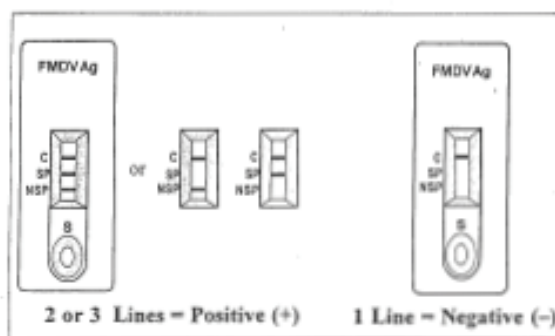
6.3 กรณีเกิดเส้นสีชมพูม่วงเข้ม จำนวน 2 เส้น คือเส้นที่ตำแหน่งของ SP และที่ตำแหน่ง control line แสดงว่าได้ผลเป็นบวก เฉพาะ FMD viral particle เท่านั้น



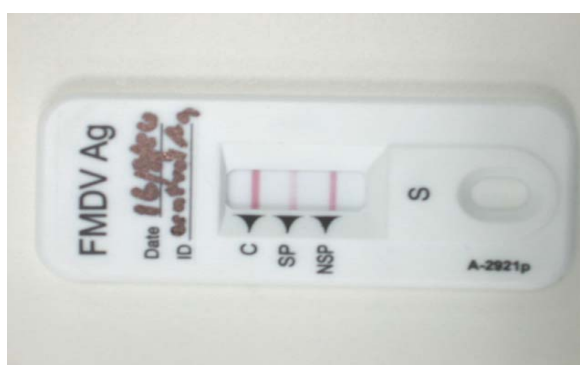
6.4 กรณีเกิดเส้นสีชมพูม่วงเข้ม จำนวน 1 เส้นที่ตำแหน่ง control line แสดงว่า
ได้ผลเป็นลบ

6.5 กรณีไม่มีเส้นสีชมพูม่วงเข้มที่ตำแหน่ง control line แสดงว่าผลการตรวจสอบ
ใช้ไม่ได้

รูปที่ 1 แสดงการอ่านผลบวกและลบหลังการเกิดปฏิกิริยาเป็นเส้นสีชมพูม่วงเข้มที่ตำแหน่งต่าง ๆ



รูปที่ 2 แสดงผลบวกจากการเกิดเส้นสีชมพูม่วงเข้มตรงตำแหน่ง SP, NSP และ Control line



ผลการทดลอง

ผลการตรวจวินิจฉัยไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย โดยใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูป rapid pen-side kit จำนวน 2 ชุด คือ rapid pen-side kit FB 4F11 สำหรับทดสอบต่อส่วน structural protein ของไทป์ O, A, Asia1, C และส่วน 3ABC nonstructural protein (3ABC NSP) ให้ผลบวกเท่ากับ 66/81 (sensitivity = 81.48%) ในตัวอย่างที่เป็นไทป์ O และ A ให้ผลลบในตัวอย่างที่เป็น not type เท่ากับ 9/9 (specificity = 100%) ส่วน rapid pen-side kit FB 4E11 สำหรับทดสอบต่อส่วน structural protein ของไทป์ O และส่วน 3ABC NSP ให้ผลบวกจากตัวอย่างที่เป็นไทป์ O เท่ากับ 22/30 (sensitivity = 73.33%) และให้ผลลบต่อ not type เท่ากับ 6/6 (specificity = 100%) ดังแสดงผลในตารางที่ 1 และ 2 ซึ่งตัวอย่างทั้งหมดได้ผ่านการตรวจวินิจฉัยและจำแนกชนิดไวรัสมาแล้วโดยวิธี ELISA typing test

ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจวินิจฉัยไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยจากตัวอย่าง 10% tissue suspension และ virus isolation culture fluid โดยใช้ rapid pen-side kit FB 4F11 สำหรับทดสอบไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ O, A, Asia1,C และ 3ABC non structural protein ซึ่งตัวอย่างทั้งหมดผ่านการตรวจจำแนกชนิดไวรัสด้วยวิธี ELISA typing test จำนวน 50 ตัวอย่าง

Sample	No. of sample	ELISA typing result	Rapid pen-side result		Total Positive
			Positive	Negative	
10% tissue suspension	26	O	23(88.47)**	3	37/42 (88.09)**
Virus Isolation culture fluid	16		14(87.50)	2	
Subtotal	42		37	5	
10% tissue suspension	23	A	14(60.87)	9	29/39 (74.36)
Virus Isolation culture fluid	16		15(93.75)	1	
Subtotal	39		29	10	
10% tissue suspension	5	Not type*	0	5	0/9 (0)
Virus Isolation culture fluid	4		0	4	
Subtotal	9		0	9	

* Not type = not detected of antigen by ELISA typing test

** () = percentage

ตารางที่ 2 แสดงผลการตรวจวินิจฉัยไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยจากตัวอย่าง 10% tissue suspension และ virus isolation culture fluid โดยใช้ rapid pen-side kit FB 4E11 สำหรับทดสอบไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ O และ 3ABC non structural protein ซึ่งตัวอย่างทั้งหมดผ่านการตรวจจำแนกชนิดไวรัสด้วยวิธี ELISA typing test จำนวน 57 ตัวอย่างจากตัวอย่างทั้งหมดในตารางที่ 2

Sample	No. of sample	ELISA typing result	Rapid pen-side result		Total Positive
			Positive	Negative	
10% tissue suspension	19	O	15(78.95)**	4	22/30 (73.33)**
Virus Isolation culture fluid	11		7(63.64)	4	
Subtotal	30		22	8	
10% tissue suspension	14	A	0	14	0/21 (0)
Virus Isolation culture fluid	7		0	7	
Subtotal	21		0	21	
10% tissue suspension	2	Not type*	0	2	0/6 (0)
Virus Isolation culture fluid	4		0	4	
Subtotal	6		0	6	

* Not type = not detected of antigen by ELISA typing test

** () = percentage



วิจารณ์

จากการศึกษาทดลองนำชุดตรวจสอบสำเร็จรูป rapid pen-side test ตรวจวินิจฉัยไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ทั้ง 2 ชุด คือ rapid pen-side kit FB 4F11 สำหรับทดสอบต่อส่วน structural protein ของไทป์ O, A, Asia1, C และส่วน 3ABC nonstructural protein และ rapid pen-side kit FB 4E11 สำหรับทดสอบต่อส่วน structural protein ของไทป์ O และส่วน 3ABC NSP พบว่าให้ความจำเพาะเท่ากับ 100% ในตัวอย่าง 10%TS และ VICF ที่ได้ผล not type เมื่อตรวจโดยวิธี ELISA typing มาก่อน ดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2 ถึงแม้ว่าตัวอย่างที่ให้ not type มีเพียงจำนวนน้อยก็ตาม แต่ผลการตรวจสอบทั้ง 2 ชุดให้ผลเหมือนกัน แสดงว่าชุดตรวจสอบสำเร็จรูป rapid pen-side test มีความจำเพาะสูงในการตรวจวินิจฉัยไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย

การศึกษาด้านความไว (sensitivity) ของชุดตรวจสอบสำเร็จรูป rapid pen-side test ในตัวอย่าง 10%TS และ VICF ที่ได้ผลตรวจโดยวิธี ELISA typing มาก่อน เป็นไทป์ O จำนวน 42 ตัวอย่าง และเป็นไทป์ A จำนวน 39 ตัวอย่าง เมื่อตรวจด้วยชุดตรวจสอบสำเร็จรูป rapid pen-side kit FB 4F11 พบว่าให้ความไวเฉลี่ยค่อนข้างสูงถึง 81.48 % แต่เป็นที่น่าสังเกตว่า ตัวอย่างจาก 10%TS ที่ได้ผลการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA typing เป็นไทป์ A จำนวน 23 ตัวอย่าง นั้นเมื่อตรวจสอบด้วย rapid pen-side kit FB 4F11 ให้ผลลบลค่อนข้างสูงคือ 9 ใน 23 ตัวอย่าง อาจเนื่องจากตัวอย่าง 10%TS ดังกล่าวมีการเตรียมมานาน และเก็บไว้ในตู้เย็น 4°C ซึ่งมีสารละลาย buffer เป็น 0.04 M Phosphate buffer saline (PBS) และไม่มีสารที่เป็น stabilize อยู่ใน buffer อาจทำให้ปริมาณไวรัสลดลงหรืออาจมาจากจำนวนปริมาณไวรัสที่มีน้อยอยู่แล้วในตัวอย่าง original tissue จึงทำให้ปริมาณไวรัสมีไม่เพียงพอที่จะ detect ได้โดย rapid pen-side test ซึ่งต้องใช้ปริมาณสูงกว่าเมื่อเทียบกับการตรวจสอบโดยวิธี ELISA typing test.

ส่วนการศึกษาด้านความไวของชุดตรวจสอบสำเร็จรูป rapid pen-side kit FB 4E11 ในตัวอย่าง 10%TS และ VICF ที่ได้ผลตรวจโดยวิธี ELISA typing มาก่อน เป็นไทป์ O จำนวน 30 ตัวอย่าง และเป็นไทป์ A จำนวน 21 ตัวอย่าง พบว่าในตัวอย่างที่เป็นไทป์ O ให้ความไวเท่ากับ 73.33% ซึ่งค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับผลในตารางที่ 1 ซึ่งพอจะอธิบายได้ว่า rapid pen-side kit FB4 E11 นั้นเตรียมมาจาก monoclonal type O Pan - Asia strain (เอกสารไม่ตีพิมพ์) ซึ่งเป็น strain ที่ระบาดในแถบประเทศเกาหลีใต้ และได้หวัน ส่วน strain ที่ระบาดในประเทศไทยจะเป็น South East Asia (SEA) strain ซึ่งมีคุณสมบัติทางด้านแอนติเจนต่างกัน (Nick et al.,2005) จึงทำให้ผลการตรวจสอบด้านความไว (sensitivity) ของชุดตรวจสอบสำเร็จรูป rapid pen-side kit FB 4E11 ได้ผลค่อนข้างต่ำ ทำให้ไม่เหมาะในการใช้ตรวจหาไวรัสโรคปาก



และทำปฏิกิริยาไทป์ O ในประเทศไทยและอีกประการหนึ่งในประเทศไทยยังพบมีการระบาดของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ A และ Asia1 ด้วย จึงถือว่าไม่เหมาะสมในการนำชุดตรวจสอบสำเร็จรูป rapid pen-side kit FB 4E11 มาใช้ตรวจหาไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ O เพียงอย่างเดียว ส่วนกรณีการตรวจสอบตัวอย่างที่ให้ผลเป็นไทป์ A นั้นให้ผลลบทั้งหมดต่อชุดตรวจสอบสำเร็จรูป rapid pen-side kit FB 4E11 แสดงว่าชุดตรวจสอบนี้ไม่มีผล cross reaction กับไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์อื่นและเหมาะสมสำหรับทดสอบไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ O เท่านั้น ซึ่งตรงกับข้อบ่งใช้ของผู้ผลิต

อย่างไรก็ตาม จากผลการศึกษาการใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูป rapid pen-side kit FB 4F11 ในการตรวจหาไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย โดยภาพรวมให้ความไวสูงถึง 81.48% นับว่าได้ผลเป็นที่น่าพอใจในระดับหนึ่ง สอดคล้องกับผลการทดลองของ Raid et al.(2001) ซึ่งสามารถนำชุดตรวจสอบสำเร็จรูปนี้มาประยุกต์ใช้ในภาคสนามหรือในพื้นที่เฉพาะกิจได้ โดยเฉพาะตัวอย่างที่เป็น vesicular fluid หากสามารถทำการเก็บตอนช่วง vesicle ยังไม่แตกก็จะให้ผลได้ดี (Raid et al,2001) และการใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูป rapid pen-side test นี้ยังมีข้อดีอีกหลายประการคือ ทดสอบง่าย อ่านผลรวดเร็วภายใน 20 นาที สะดวกในการใช้ โดยไม่ต้องอาศัยเครื่องมือทาง ELISA technique ที่มีราคาค่อนข้างแพง และไม่จำเป็นต้องใช้ผู้ทดสอบที่มีความรู้หรือประสบการณ์สูง แต่ข้อเสียของชุดตรวจสอบสำเร็จรูป rapid pen-side test คือมีราคาแพง หากจะนำมาใช้เป็น routine diagnosis จะสิ้นเปลืองงบประมาณมาก แต่ทั้งนี้ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงความไวและความจำเพาะต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ Asia1 และ C ก่อนที่จะมีการนำไปใช้ในภาคสนามต่อไป

สรุป

ชุดตรวจสอบสำเร็จรูป rapid pen-side kit FB 4F11 สำหรับทดสอบต่อส่วน structural protein ของไทป์ O, A, Asia1, C และส่วน 3ABC NSP เมื่อนำมาใช้ตรวจไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยจากตัวอย่างที่เป็น 10%TS และ VICF ให้ความไวเฉลี่ยสูงถึง 81.48 % และชุดตรวจสอบสำเร็จรูป rapid pen-side kit FB 4E11 สำหรับทดสอบต่อส่วน structural protein ของไทป์ O และส่วน 3ABC NSP ให้ความไวเฉลี่ย 73.33% นั่นคือผลการทดสอบชุดตรวจสอบสำเร็จรูป rapid pen-side kit FB 4F11 ให้ผลเป็นที่น่าพอใจระดับหนึ่ง ก่อนการนำไปใช้ควรมีการศึกษาถึงความไวและความจำเพาะเพิ่มเติมให้ครอบคลุมทุกไทป์ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่มีการระบาดในประเทศไทย



กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ Mr. Nyeong Kwang, Dr. Ku Jae และ Dr. Sik Byung จากหน่วยงาน National Veterinary Research and Quarantine Service ประเทศเกาหลี ที่ให้ความอนุเคราะห์ ชุดตรวจสอบสำเร็จรูป Rapid pen-side ทั้ง 2 ชุด เพื่อใช้ในการศึกษาครั้งนี้

ขอขอบคุณอธิบดีกรมปศุสัตว์ ที่ให้การสนับสนุนโครงการความร่วมมือทางวิชาการ ระหว่างนักวิจัยจากประเทศเกาหลีและนักวิจัยของศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาค ตะวันออกเฉียงใต้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่จากงานมาตรฐานและพิสูจน์เชื้อ และเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ ในการดำเนินการทดสอบและศึกษาครั้งนี้จนบรรลุผลสำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

- Brooksby, J. and Rogers. 1957. Method used in typing the virus of foot and mouth disease at Pirbright, 1950-1955. In methods of typing and cultivation of foot and mouth disease virus. Project 208 of OEEC, Paris. 31-34.
- Donaldson, A.I. and Kihm, U. 1996. Research and technological development required for more rapid control and eradication of foot and mouth disease. Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz. 15: (3) 863-873.
- Hofner, M.C., Carpenter, W.C. and Donaldson, A.I. 1993. Detection of foot and mouth disease virus RNA in clinical samples and cell culture isolates by amplification of coding region. J. Virol. Methods. 42: 53-62.
- Nick, J.K., Alan, R.S., Paul, R.D., Rebecca, J.M. and Jean -Francois, V. 2005. Pandemic Strain of Foot and mouth disease virus serotype O. Emerging infectious disease. 11(12) : 1887- 1893.
- Roeder, P. and Le Blanc Smith, P.M. 1987. The detection and typing of foot and mouth disease virus by enzyme - linked immunosorbent assay : a sensitive, rapid and reliable technique for primary diagnosis. Res. Vet. Sci. 43:225-232.
- Raid, S.M., Ferris, N.P., Bruning, A., Hutchings, G.H., Kowalska, Z., Akerblom, L. 2001. Development of a rapid chromatographic strip test for the pen-side detection of foot and mouth disease virus antigen. J. Virol. Method. 96(2) : 189-202.

