

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ A ที่แยกได้ใน พื้นที่ภาคกลางและภาคเหนือของประเทศไทยปี พ.ศ. 2554 กับไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีน

ร่มพฤกษ์ อุดล * สมใจ กมลศิริพิชัยพร

ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

* ผู้รับผิดชอบบทความ โทรศัพท์ 0-44279112 โทรสาร 0-44314889 E-mail: romphrukeudon@yahoo.com

บทคัดย่อ

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ A ที่แยกได้ในพื้นที่ภาคกลางและภาคเหนือของประเทศไทย ปี พ.ศ. 2554 จำนวน 4 ตัวอย่าง กับไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีน ด้วยวิธี liquid phase blocking ELISA (LP ELISA) และศึกษาความสัมพันธ์ของแอนติเจนทางซีรั่มวิทยา (r-value หรือ vaccine matching) กับไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีนไทป์ A สเตรน A/Nakornpathom/87 สเตรน A/Sakolnakorn/97 และ สเตรน A/Saraburi/87 พบว่าทั้ง 4 ตัวอย่างไม่มีความจำเพาะกับสารตรวจสอบโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ A สเตรน A/Saraburi/87 และ สเตรน A/Nakornpathom/87 แต่มีความจำเพาะสูงกับสเตรน A/Sakolnakorn/97 และ ให้ r-value มากกว่า 0.40 ทั้ง 4 ตัวอย่าง แสดงให้เห็นว่าไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ A ที่แยกได้จากพื้นที่ภาคกลางและภาคเหนือในปี พ.ศ. 2554 จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันกับไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีน สเตรน A/Sakolnakorn/97 ดังนั้นกรมปศุสัตว์ได้ผลิตวัคซีน โดยใช้ไวรัส สเตรน A/Sakolnakorn/97 เพื่อปรับปรุงคุณภาพวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ A ให้เหมาะสมกับไวรัสที่ระบาดในพื้นที่ภาคกลางและภาคเหนือของประเทศไทยในช่วงเวลาดังกล่าว ซึ่งสามารถควบคุมโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ : ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ A ไวรัสที่แยกได้ในพื้นที่ ความสัมพันธ์ทางซีรั่มวิทยา สเตรน A/Sakolnakorn/97

บทนำ

โรคปากและเท้าเปื่อย เป็นโรคระบาดที่รุนแรง ติดต่อกันง่าย แพร่กระจายได้อย่างรวดเร็วในสัตว์กบฏคู่ ส่งผลต่อการส่งออกสัตว์หรือผลิตภัณฑ์สัตว์ เนื่องจากต่างประเทศใช้เป็นข้อกีดกันทางการค้า ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยมีทั้งหมด 7 ซีโรไทป์คือ O, A, Asia1, C, SAT1, SAT2 และ SAT3 และยังแบ่งออกเป็นไวรัสชนิดย่อยอีก 64 subtype ดังนี้คือ ซีโรไทป์ O มี 11 subtype, A มี 32 subtype, Asia1 มี 3 subtype, C มี 5 subtype, SAT1 มี 6 subtype, SAT2 มี 3 subtype และ SAT3 มี 4 subtype (Pereira, 1977) แต่ละซีโรไทป์ไม่ให้ความคุ้มกันซึ่งกันและกัน การควบคุมโรคสามารถกระทำได้โดยการควบคุมการเคลื่อนย้ายสัตว์ และการทำวัคซีนให้ได้อย่างน้อย 80% ของประชากรสัตว์ทั่วประเทศ จากรายงานของ World Reference Laboratory (WRL) ประเทศอังกฤษ ปี 2553 (Knowles, 2010) พบการระบาดของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ A สเตรน A/Iran/05 ในประเทศแถบตะวันออกกลางและเอเชียใต้ ได้แก่ อิหร่าน อิรัก อัฟกานิสถาน และปากีสถาน และพบไวรัสไทป์ A ในประเทศพม่า ในเดือนกันยายน 2553 หลังจากที่ไต้หวันพบไทป์ A ในพม่า ตั้งแต่ปี 2521(1978) ต่อมาในช่วงเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม 2553 พบการระบาดของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ A บริเวณภาคเหนือและภาคกลางของประเทศไทย หลังจากที่ไต้หวันพบการระบาดของไทป์ A ตั้งแต่เดือนสิงหาคม 2552 (ข้อมูลของสำนักควบคุม ป้องกันและบำบัดโรคสัตว์ กรมปศุสัตว์ เอกสารไม่ตีพิมพ์) เนื่องจากไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยเป็นไวรัสขนาดเล็กสามารถเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของแอนติเจน ทำให้ประสิทธิภาพของวัคซีนในการให้ ความคุ้มโรคไม่ดีเท่าที่ควร ดังจะเห็นได้จากการจำแนกไวรัสที่ออกเป็นหลาย subtype ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Regional Reference Laboratory for FMD in South East Asia, คออ.) จึงมีบทบาทสำคัญในการคัดเลือกไวรัสต้นแบบสำหรับใช้ผลิตวัคซีน (seed virus vaccine, ไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีน) สิ่งที่สำคัญและจำเป็นอย่างยิ่ง คือ ไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีนต้องมีความสามารถในการให้ความคุ้มโรคครอบคลุมไวรัสที่แยกได้จากสัตว์ป่วยในพื้นที่ให้ได้มากที่สุด โดยที่ คออ. มีสถานภาพเป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงสำหรับโรคปากและเท้าเปื่อยในภูมิภาค ดังนั้นนอกจากทำการทดสอบและเฝ้าระวังความเปลี่ยนแปลงของไวรัสที่แยกได้จากสัตว์ทั้งในประเทศไทยแล้ว ยังดำเนินการในระดับภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ด้วย ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการควบคุมป้องกันโรคในระดับภูมิภาค รวมถึงกลุ่มประเทศสมาชิก OIE ภายใต้โครงการ South East Asia foot and mouth disease control campaign โครงการความร่วมมือระหว่างประเทศ Bilateral multilateral project รวมถึงโครงการนำเข้าสัตว์ชายแดน ด้วยเหตุผลดังกล่าวการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ A ที่ระบาดบริเวณภาคกลางและภาคเหนือของประเทศไทย เพื่อศึกษาว่าไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีนที่กรมปศุสัตว์ผลิตยังสามารถให้ความคุ้มโรคครอบคลุมไวรัสที่แยกได้จากพื้นที่หรือไม่ เพื่อจะได้นำไปปรับปรุงคุณภาพวัคซีนให้เหมาะสม มีประสิทธิภาพในการป้องกันและควบคุมโรคปากและเท้าเปื่อยให้ทันกับสถานการณ์การระบาดของโรคในประเทศและเตรียมการล่วงหน้าเพื่อรับมือกับโรคที่ระบาดในภูมิภาคต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย

ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่ใช้ผลิตวัคซีนของสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ (สทช.) กรมปศุสัตว์ไทป์ A สเตรน A/Nakornpathom/87 สำหรับผลิตวัคซีนก่อนปี 2540, สเตรน A/Sakolnakorn/97 สำหรับผลิตวัคซีนในช่วงปี 2540-2546 (1997-2003) และ สเตรน A/Saraburi/87 สำหรับผลิตวัคซีนตั้งแต่ปี 2547 - จนถึงปัจจุบัน

ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่แยกได้จากโคในพื้นที่ ได้แก่ไวรัสจากภาคกลางและภาคเหนือของประเทศไทย A โดยมีที่มาจากเขต 5 จำนวน 1 ตัวอย่าง จากเขต 6 จำนวน 2 ตัวอย่าง และเขต 7 จำนวน 1 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้น 4 ตัวอย่าง จาก 4 จังหวัด ในช่วงปลายปี 2553 และต้นปี 2554 ทำการตรวจหาและจำแนกชนิดไวรัสด้วยวิธี ELISA typing (Roeder and Le Blanc Smith, 1987) เมื่อให้ผลบวกแล้วจึงนำตัวอย่างส่งตรวจมาเพาะเลี้ยงใน primary lamb kidney cell และ BHK-21 cell จำนวน 3-6 passages เพื่อเพิ่มปริมาณไวรัสให้มากพอ แล้วนำมาทดสอบปริมาณไวรัสโดยวิธี Antigen titration

การเตรียมแอนติซีรัมสำหรับ antigen titration

การเตรียมแอนติซีรัมจากกระต่าย ทำโดยการฉีดอนุภาค 146S แอนติเจนที่เข้มข้นและบริสุทธิ์ของไวรัสไทป์ A สเตรน A/Nakornpathom/87, สเตรน A/Sakolnakorn/97 และสเตรน A/Saraburi/87 ผสมกับ complete freund's adjuvant ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ ใช้อุณหภูมิ 146S แอนติเจนความเข้มข้นประมาณ 50 ไมโครกรัมต่อตัว หลังจากนั้น 28 วัน ให้ฉีดซ้ำใช้ความเข้มข้นประมาณ 25 ไมโครกรัมต่อตัว ผสมกับ incomplete freund's adjuvant ทำการเก็บเลือดและแยกซีรัมในวันที่ 10 หลังการฉีดเข็มที่สอง

การเตรียมแอนติซีรัมจากหนูตะเภา ทำเช่นเดียวกับกระต่าย แต่ฉีดเพียงครั้งเดียวด้วยแอนติเจนที่เข้มข้นและบริสุทธิ์ของไวรัสประมาณ 25 ไมโครกรัมต่อตัว หลังจากนั้น 28 วัน ทำการเก็บเลือดและแยกซีรัม

การทำ antigen titration

การทำ antigen titration ด้วยวิธี double antibody sandwich ELISA ตามวิธีของ Hamblin และคณะ (1986) เป็นการหาปริมาณไวรัสโดยตรวจหาระดับแอนติเจนเพื่อให้ปริมาณความเข้มข้นของไวรัสเพียงพอในงานทดสอบ อ่านค่าที่ความเข้มแสง (OD) = 1-1.5 มีขั้นตอนการตรวจสอบโดยย่อต่อไปนี้คือ ทำการ coat plate ด้วย rabbit trapping anti FMD virus type A สเตรน A/Nakornpathom/87 หรือ สเตรน A/Sakolnakorn/97 หรือ สเตรน A/Saraburi/87 เติมน้ำแอนติเจนที่ต้องการทดสอบ ซึ่งเจือจางแบบ 2 fold serial dilution เติมน้ำในทั้งสาม plate จากนั้นจึงเติม guinea-pig detecting anti FMD virus type A สเตรน A/Nakornpathom/87 หรือ สเตรน A/Sakolnakorn/97 หรือ สเตรน A/Saraburi/87 ให้ตรงกับแอนติเจนที่ coat plate เติมน้ำ conjugate (anti guinea pig - Horse radish peroxidase enzyme, HRPE) เติมน้ำ substrate (ทำปฏิกิริยาด้วย H_2O_2 ติดสีด้วย tetramethylbenzidine, TMB) หยุดปฏิกิริยาด้วย 1N H_2SO_4 แล้วอ่านค่า OD ด้วย ELISA reader ที่ความยาวคลื่น 450 nm. แปลผล ที่ค่า OD = 1-1.5 ค่า antigen titer ที่ได้ไม่ควรต่ำกว่า 1:8

การหาค่าความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อที่แยกได้จากพื้นที่กับไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีน

Immune serum ของไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีน เตรียมจากโคทดลองที่ใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย ของ สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ (สทช.) กรมปศุสัตว์ โดยการฉีดวัคซีนชนิดไตรวาเลนท์ (ไทป์ O, ไทป์ A และ ไทป์ Asai1) จากนั้นเจาะเลือดและเก็บซีรัมหลังจากฉีดวัคซีน 21 วัน เพื่อนำมาใช้ในการตรวจสอบโดยวิธี LP ELISA สำหรับวัคซีนไตรวาเลนท์ที่ใช้ฉีดโคเพื่อเตรียม Immune serum มาจากวัคซีน 3 ชุด ที่ใช้ไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีนไทป์ A แตกต่างกัน 3 สเตรน คือ สเตรน A/Nakornpathom/87, สเตรน A/Sakolnakorn/97 และ สเตรน A/Saraburi/87

วิธีทดสอบเพื่อหาค่าความสัมพันธ์ของเชื้อไวรัสที่แยกได้จากพื้นที่กับไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีนทางซีรัมวิทยา (r-value หรือ vaccine matching) ด้วยวิธี Liquid phase blocking ELISA test (LP ELISA) ซึ่งอาศัยหลักการ double antibody sandwich ELISA วิธีการตรวจสอบเช่นเดียวกับการทำ antigen titration ยกเว้นในขั้นตอนเจือจางแอนติเจน ให้เจือจาง

Immune serum ของไวรัสทั้ง 3 สเตรน แบบ 2 fold serial dilution แล้วเติมไวรัสตามปริมาณที่คำนวณได้จากการทำ antigen titration เพื่อให้ immune serum ทำปฏิกิริยา neutralize กับไวรัสที่แยกได้จากพื้นที่และไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีน โดยมีไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีนทั้งสามสเตรนเป็นตัวควบคุมบวก ไวรัสที่เหลือจากการ neutralize จะจับกับ แอนติซีรัม จากนั้นอ่านค่าเป็นระดับแอนติบอดีที่ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่แยกได้จากพื้นที่ ทำปฏิกิริยาต่อแอนติซีรัม โดยทุกตัวอย่างทำการตรวจสอบซ้ำอย่างน้อย 2 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

วิธีคำนวณหา r-value ตามวิธีการของ Kitching et al. (1988) โดยคำนวณอัตราส่วนระหว่างแอนติบอดีของไวรัสที่แยกได้จากพื้นที่ กับแอนติบอดีที่ได้จากไวรัสวัคซีน นำ r-value มาวิเคราะห์ผลความสัมพันธ์ทางซีรัมวิทยาตามวิธีของ Samuel et al. (1990) และ Doughty et al. (1995) ดังนี้

$$r\text{-value} = \frac{\text{serum titer against field strain}}{\text{serum titer against vaccine strain}}$$

กำหนดหลักเกณฑ์ความหมายของ r-value ดังนี้

- r = 0 - 0.19 Highly significant serological variation from the reference vaccine strain
- r = 0.2 - 0.39 Significant difference from the reference vaccine strain but protection may be satisfactory if using a sufficiently potent vaccine.
- r = 0.4 - 1.0 Not significant difference from reference strain

ผลการทดลอง

ผลจากการหาปริมาณของไวรัส (แอนติเจนไตเตอร์) ที่แยกได้จากพื้นที่โดยวิธี antigen titration ตามตารางที่ 1 พบว่าไวรัสจากพื้นที่ทั้ง 4 ตัวอย่างมีปฏิกิริยาต่อ แอนติซีรัม A/Sakolnakorn/97 เท่านั้น และมีแอนติเจน ไตเตอร์ 1:16, 1:16, 1:8 และ 1:16 (ที่ OD = 1-1.5) เหมาะสมสำหรับนำมาทดสอบ r-value และไม่มี binding reaction กับ แอนติซีรัมต่อสเตรน A/Nakornpathom/87 และ A/Saraburi/87 โดยให้ค่าแอนติเจนไตเตอร์ต่ำกว่า 1:4

ผลการตรวจสอบ r-value ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ A ที่แยกได้จากพื้นที่ภาคกลางและภาคเหนือ ของประเทศในช่วงปลายปี 2553 และต้นปี 2554 รวมทั้งสิ้น 4 ตัวอย่าง กับไวรัสที่เคยใช้ผลิตวัคซีนในประเทศไทยในช่วงปี พ.ศ. 2540-2546 (1997-2003) ไทป์ A สเตรน A/Sakolnakorn/97 โดยวิธี LP ELISA พบว่าไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ A ที่แยกได้จากพื้นที่ทั้ง 4 ตัวอย่าง ให้ r-value มากกว่า 0.40 (ดังแสดงในตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 แสดงผลแอนติเจนไตเตอร์ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ A ที่แยกได้จากพื้นที่ภาคกลางและภาคเหนือของประเทศไทยในช่วงปลายปี 2553 - ต้นปี 2554 จำนวน 4 ตัวอย่าง โดยวิธี antigen titration เปรียบเทียบกับไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีนของ กรมปศุสัตว์ สเตรน A/Nakornpathom/87 สเตรน A/Sakolnakorn/97 และ สเตรน A/Saraburi/87

ไวรัสที่แยกได้ จากพื้นที่ (ตัวอย่างที่)	เขต	แอนติเจนไตเตอร์ (Antigen titer) ต่อแอนติซีรัม สเตรน		
		A/Nakornpathom/87	A/Sakolnakorn/97	A/Saraburi/87
1	5	< 1:4	1:16	< 1:4
2	6	< 1:4	1:16	< 1:4
3	6	< 1:4	1:8	< 1:4
4	7	< 1:4	1:16	< 1:4

ตารางที่ 2 แสดงผลค่าความสัมพันธ์ของแอนติเจนทางซีรัมวิทยา (r-value หรือ vaccine matching) ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์เอ (Type A) ที่แยกได้จากพื้นที่ภาคกลางและภาคเหนือของประเทศไทยในช่วงปลายปี 2553 - ต้นปี 2554 จำนวน 4 ตัวอย่าง โดยเทียบกับไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีนของกรมปศุสัตว์ สเตรน A/Sakolnakorn/97

ไวรัสที่แยกได้จากพื้นที่ (ตัวอย่างที่)	เขต	r-value
1	5	0.61
2	6	0.41
3	6	0.61
4	7	0.61

วิจารณ์

ผลการทำ Antigen titration ของไวรัสที่แยกได้จากพื้นที่ทั้ง 4 ตัวอย่างด้วยสเตรน A/Nakornpathom/87 และ สเตรน A/Saraburi/87 พบว่าค่า OD ที่ dilution เริ่มต้น 1:4 นั้น A/Nakornpathom/87 ให้ค่า OD อยู่ในช่วง 0.3-0.4 ส่วน A/Saraburi/87 ให้ ค่า OD อยู่ในช่วง 0.4-0.6 ต่ำกว่าระดับที่ต้องการคือที่ OD = 1-1.5 ไม่สามารถหาแอนติเจน-ไตเตอร์เพื่อนำมาทดสอบ r-value ตามวิธีทดสอบนี้ได้ เนื่องจากไม่มี binding reaction กับ แอนติซีรัม ซึ่งสามารถแก้ไขได้โดยเลือกวิธีทดสอบ Virus neutralization (VN) test แต่อย่างไรก็ตามวิธี VN test นั้น จำเป็นต้องใช้เซลล์เพาะเลี้ยงไวรัส ซึ่งต้องใช้เทคนิคปลอดเชื้อ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อโรค และมีขั้นตอนซับซ้อนต้องใช้เวลาในการทดสอบ

การหาค่าความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อที่แยกได้จากพื้นที่กับไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีนทางซีรัมวิทยา (r-value หรือ vaccine matching) เป็นการหาค่าความสัมพันธ์ระหว่างไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีนกับเชื้อไวรัสที่แยกได้จากพื้นที่ โดยใช้ Immune serum ของไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีน เป็นตัว neutralize เปรียบเทียบระหว่างไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีน กับเชื้อไวรัสที่แยกได้จากพื้นที่ คำนวณค่าความสัมพันธ์และวิเคราะห์ผล จุดประสงค์หลักเพื่อใช้ในการคัดเลือกไวรัสสำหรับผลิตวัคซีน ที่มีคุณสมบัติเหมาะสม ครอบคลุม

เชื้อที่แยกได้จากพื้นที่ สามารถนำไปปรับปรุงการผลิตวัคซีนให้มีประสิทธิภาพสูงสุด ดังนั้นเพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมโรคให้ดียิ่งขึ้น การศึกษา r -value อย่างสม่ำเสมอจึงเป็นการเฝ้าระวังไวรัสที่แยกได้จากพื้นที่และในภูมิภาค เพื่อเพิ่มความมั่นใจให้สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ (สทช.) ของกรมปศุสัตว์ ในการเลือกใช้ไวรัสสำหรับผลิตวัคซีนที่ถูกต้อง เหมาะสม ตรงกับสายพันธุ์ที่ระบาด และเกิดประโยชน์สูงสุดต่อเกษตรกร จากการศึกษาของวิไลและคณะ (2543) ได้ศึกษา r -value ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทย A ที่แยกได้จากพื้นที่กับไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีน สเตรน A/Nakornpathom/87 จำนวน 13 ตัวอย่าง ในช่วงปี 2537- 2541 พบว่า 76.92% ให้ r -value ต่ำกว่า 0.19, 13.08% ให้ r -value อยู่ระหว่าง 0.2 - 0.39 และ 0% ให้ r -value มากกว่า 0.4 แสดงให้เห็นว่า ไวรัสไทย A ที่แยกได้จากพื้นที่ส่วนใหญ่ มีความสัมพันธ์ของแอนติเจนทางซีรัมวิทยาต่างไปจากไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีนในขณะนั้น จึงมีการเปลี่ยนแปลงไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีน โดยคัดเลือกไวรัสที่แยกได้จากพื้นที่สเตรน A/Sakolnakorn/97 ที่มีความใกล้เคียงสามารถครอบคลุมไวรัสที่แยกได้จากพื้นที่มากที่สุดเป็นตัวแทนในการผลิตวัคซีนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมโรคให้ดียิ่งขึ้น และใช้ผลิตวัคซีนในช่วงปี 2540-2546 ต่อมาในปี 2547 ไวรัสที่แยกได้จากพื้นที่ที่มีการเปลี่ยนแปลงเป็นสเตรน A/Saraburi/87 จึงมีการเปลี่ยนแปลงไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีน (Kamolsiripichaiporn and Udon, 2006) ในปี 2551 ร่มพฤกษ์และคณะ ได้ศึกษา r -value ไวรัสไทยเอที่แยกได้จากประเทศไทย กัมพูชา และลาว ในช่วงปี 2549-2550 พบว่าไวรัสไทย A ยังจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีนของกรมปศุสัตว์ สเตรน A/Saraburi/87 ต่อมาร่มพฤกษ์และคณะ (เอกสารไม่ตีพิมพ์) ได้ศึกษา r -value ไวรัสไทย A ที่แยกได้จากประเทศไทย กัมพูชา ลาว และเวียดนาม ในช่วงปี 2552-2553 พบว่าไวรัสไทย A ยังจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีนของกรมปศุสัตว์ สเตรน A/Saraburi/87 เช่นกัน

การศึกษา r -value ระหว่างไวรัสที่แยกได้จากพื้นที่เปรียบเทียบกับไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีน สเตรน A/Sakolnakorn/97 ใช้วิธี double antibody sandwich ELISA (Hamblin et al., 1986) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานเดียวกับ World Reference Laboratory (WRL) ประเทศอังกฤษ จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าไวรัสที่แยกได้จากพื้นที่ให้ r -value เท่ากับ 0.61, 0.41, 0.61 และ 0.61 อยู่ในช่วง 0.4-1.0 ทั้ง 4 ตัวอย่าง แสดงว่าไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทย A ที่แยกได้จากพื้นที่มีความสัมพันธ์ของแอนติเจนทางซีรัมวิทยาใกล้เคียงสเตรน A/Sakolnakorn/97 กรมปศุสัตว์จึงใช้ไวรัสไทย A สเตรน A/Sakolnakorn/97 ผลิตวัคซีนตั้งแต่มีถุนายน 2554 เป็นต้นมา ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ WRL (Knowles, 2011) พบว่าการทดสอบโดยวิธี Genotyping ไวรัสที่แยกได้จากพื้นที่ที่นำมาศึกษาทั้ง 4 ตัวอย่าง อยู่ใน ASIA Topotype, SEA-97 Strain ไม่ได้เป็นไวรัสที่มาจากภูมิภาคอื่น โดยมีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนของนิวคลีโอไทป์ (% Identity) ใกล้เคียงกับ ไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีน ของไทยสเตรน A/Sakolnakorn/97 มากที่สุดคือ 91.51%, 91.67%, 91.51% และ 91.39% ตามลำดับ

สรุป

การศึกษาไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทย A ที่แยกได้จากพื้นที่ภาคกลางและภาคเหนือของประเทศ ในปี 2554 พบว่าให้ผล r -value มากกว่า 0.40 ทุกตัวอย่าง เมื่อเทียบกับสเตรน A/Sakolnakorn/97 สรุปได้ว่าไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทย A ที่แยกได้จากพื้นที่มีความสัมพันธ์ของแอนติเจนทางซีรัมวิทยาจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับสเตรน A/Sakolnakorn/97 ดังนั้นกรมปศุสัตว์จึงพิจารณาใช้ไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีน สเตรน A/Sakolnakorn/97 เป็นไวรัสสำหรับผลิตวัคซีน เพื่อปรับปรุงคุณภาพวัคซีน สำหรับควบคุมป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อยที่พบในช่วงเวลาดังกล่าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้อำนวยการสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ นายสัตวแพทย์ปรีชา วงษ์วิจารณ์ นายสัตวแพทย์สมเกียรติ เพชรวานิชกุล และนายสัตวแพทย์ ไชยา สง่าประโคน ที่ให้ความช่วยเหลือและสนับสนุนด้านสัตว์ทดลองและ seed virus สำหรับผลิตวัคซีน ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อยภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ที่ให้ความร่วมมือในการช่วยจัดเตรียมตัวอย่าง เตรียมเครื่องมือ และอุปกรณ์ในการวิจัยครั้งนี้จนบรรลุผลสำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

- ร่วมฤกษ์ อุดล, ดิลก อ้วนพรมมา และปณิธาน ทองทา. 2551. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของแอนติเจนทางซีรัมวิทยา (ค่า r) ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่ระบาดในประเทศไทย และในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ในปี 2549-2550. วารสารสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. 3(1): 52-60.
- วิไล ลินจงสุบงกช, สุนันท์ ร่มลำดวน, สมใจ กมลศิริพิชัยพร และธนรัตน์ จานุกิจ. 2543. การเปลี่ยนคุณสมบัติทางแอนติเจนของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่ระบาดในประเทศไทย. บทคัดย่อการประชุมทางวิชาการสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 38. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. ระหว่างวันที่ 1-4 กุมภาพันธ์ 2537.
- Doughty, W.J., Lunt, R.A., Linchongsubongkoch, W., Gleeson, L.J. and Kongthon, A. 1995. Serological comparison of type A foot and mouth disease virus isolates from Thailand. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Eqiz. 14(3): 547-555.
- Hamblin, C., Barnett, I.T.R. and Hedger, R.S. 1986. A new enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for the antibodies against foot and mouth disease virus. J. Immunol. Methods. 93: 122-129.
- Kamolsiripichaiporn, S. and Udon, R. 2006. Serological Correlation of Type A Foot-and-Mouth Disease Virus Isolated from Thailand during 2003-2005. 1(2) 117-125. [Online]. Available : http://www.dld.go.th/niah/Publishing/eJournal/Index_v1n2.html
- Kitching, R.P., Rendle, R. and Ferris, N.P. 1988. Rapid correlation between field isolates and vaccine strains of foot and mouth disease virus. Vaccine. 6: 403-408.
- Knowles, N.J. 2010. Report of FAO World Reference Laboratory for foot and mouth disease. Pirbright Laboratory: Institute for Animal Health. p. 1. [Online]. Available : http://www.wrlfmd.org/fmd_genotyping/2010/WRLFMD-2010-00011%20A%20Iran%202009-2010.pdf
- Knowles, N.J. 2011. Report of FAO World Reference Laboratory for foot and mouth disease. Pirbright Laboratory: Institute for Animal Health. p. 1. [Online]. Available : http://www.wrlfmd.org/fmd_genotyping/2011/WRLFMD-2011-00033%20A%20Thailand%202010-2011.pdf
- Periera, H.G. 1977. Subtyping of foot and mouth disease virus. Dev. Biol. Stand. 35: 167-174.
- Rweyemamu, M.M. 1984. Antigenic Variation in foot and mouth disease : studies base on the virus neutralization reaction. J. Biol. Stand. 12: 323-327.

- Roeder, P.L. and Le Blanc Smith, P.M. 1987. 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.
- Samuel, A.R., Ouldrige E.J., Arrowsmith, A.E.M., Kitching, R.P. and Knowles, N.J. 1990. Antigenic analysis of serotype O of foot and mouth disease virus isolates from the Middle East 1981-1988. Vaccine. 8: 390-396.

Study of relationship of FMD type A vaccine strains and type A field isolated strains from the central and northern parts of Thailand in 2011

Romphruke Udon *

Somjai Kamolsiripichaiporn

Regional Reference Laboratory for FMD in South East Asia, Pakchong, Nakhonratchasima 30130, Thailand

* Corresponding person: Tel. 0-44279112 Fax. 0-44314889: e-mail: romphrukeudon@yahoo.com

Abstract

The relationship of FMD type A vaccine strains and type A field isolated strains from the central and northern parts of Thailand in 2011 were studied by liquid phase blocking ELISA (LP ELISA) for r-value (vaccine matching test). A total of 4 samples during the initial FMD outbreak of type A in the central and northern parts of Thailand were diagnosed by ELISA typing and further investigation of serological relationship (r-value or vaccine matching). It was found that all 4 samples were type A and gave no binding reaction to the reference vaccine strain type A/Saraburi/87 and A/Nakhonpathom/87 but have a high binding reaction with A/Sakolnakorn/97 with good matching of r-value greater than 0.4. This result indicated that all 4 isolates from the central and northern parts in 2011 belonged to the same group of A/Sakolnakorn/97 vaccine strains. Therefore, Department of Livestock Development has urgently formulated the A/Sakolnakorn/97 vaccine to improve the quality of FMD vaccine for controlling of FMD outbreak in the central and northern parts efficiently during that period.

Key words: foot and mouth disease virus type A, field virus isolates, r-value, strain A/Sakolnakorn/97