**เอกสารหมายเลข 1**

แนบท**แบบประเมินคุณสมบัติของบุคคล**

**ชื่อ นางสาวอมรรัตน์ ชุณศาสตร์**

**ตำแหน่ง นายสัตวแพทย์ชำนาญการ ตำแหน่งเลขที่ 869**

**กลุ่ม/ฝ่าย ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สำนัก/กอง สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ**

**กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์**

**ขอประเมินเพื่อขอรับเงินประจำตำแหน่ง**

**ตำแหน่ง นายสัตวแพทย์ชำนาญการ ตำแหน่งเลขที่ 869**

**กลุ่ม/ฝ่าย ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สำนัก/กอง สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ**

**กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์**

**เอกสารหมายเลข 3**

# ผลงานที่จะขอรับการประเมินเพื่อขอรับเงินประจำตำแหน่ง

1.ชื่อผลงาน การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเซลล์ทุติยภูมิจากไตแกะ, เซลล์ ZZ-R 127 และ เซลล์ BHK21 เพื่อใช้ในการทดสอบหาไตเตอร์ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย (Comparative performance of secondary lamb kidney cells, ZZ-R 127 cells and BHK21 cells for titer detection of foot and mouth disease virus )

ปีที่ดำเนินการ กรกฎาคม 2562 – มิถุนายน 2563

2. ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการศึกษา

โรคปากและเท้าเปื่อยเป็นโรคทางปศุสัตว์ที่ส่งผลกระทบต่อความสูญเสียทางด้านเศรษฐกิจเนื่องจากการกีดกันทางการค้า โดยศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีภารกิจหลักในด้านการวินิจฉัยโรคปากและเท้าเปื่อยจากตัวอย่างที่ได้รับจากท้องที่ที่พบการระบาด ซึ่งหนึ่งในกระบวนการทดสอบไวรัสโรคปากและเปื่อยคือ การทดสอบ TCID50 ซึ่งในปัจจุบันทางศูนย์อ้างอิงฯ ใช้เซลล์ BHK21 เป็นเซลล์หลักในการทดสอบหาไตเตอร์ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย โดยในปัจจุบันทางศูนย์ได้มีเซลล์ ZZ-R 127 และเซลล์ทุติยภูมิจากไตแกะเพิ่มขึ้น ซึ่งจากข้อมูลการศึกษาประสิทธิภาพเกี่ยวกับเซลล์ ZZ-R 127 จากการทดสอบ Virus Isolation และการหาค่าไตเตอร์ที่สูงมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อทำการทดสอบเทียบกับ porcine kidney cell line; IB-RS-2 (Fukai el al., 2013) นอกจากนี้มีการศึกษาในระดับการผลิตไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยโดยใช้เซลล์ทุติยภูมิจากไตแกะพบว่า Sensitivity อยู่ในระดับที่ใกล้เคียงจนถึงสูงกว่าสองเท่าเมื่อเทียบกับเซลล์ BHK21 ซึ่งเป็นทางเลือกสำหรับการวินิจฉัยโรค FMDV (Zabal and Fondevila, 2013) ดังนั้นจากข้อมูลการหาประสิทธิภาพของเซลล์ชนิดต่างๆที่มี สามารถใช้เป็นแนวทางในการเลือกใช้เซลล์ที่เหมาะสมต่อการทดสอบวินิจฉัยโรคปากและเท้าเปื่อยของศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อยฯ จึงเป็นที่มาของการศึกษาในครั้งนี้

3. วัตถุประสงค์ในการศึกษา

วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเซลล์ทุติยภูมิจากไตแกะ, เซลล์ ZZ-R 127 และ เซลล์ BHK21 ในการทดสอบหาไตเตอร์ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยโดยวิธี TCID50 โดยนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษามาใช้ในงานด้านการทดสอบ vaccine matching ซึ่งผลจากการทดสอบจะช่วยสนับสนุนข้อมูลเกี่ยวกับการคัดเลือก Seed vaccine ของโรคปากและเท้าเปื่อย (Tekleghiorghis et al., 2014) ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นแนวทางต่อไปในการเลือกใช้เซลล์ทางเลือกและเหมาะสมต่อการทดสอบด้านหาไตเตอร์ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยและ vaccine matching ต่อไปในอนาคต

4. ความรู้ทางวิชาการ หรือแนวคิดหรือหลักทฤษฎีที่ใช้ในการดำเนินการ

ความรู้เรื่องโรคปากและเท้าเปื่อย, ความรู้และความชำนาญในการตรวจวินิจฉัยโรค, ความรู้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์และเอาหารเลี้ยงเซลล์

5. วิธีการหรือขั้นตอนการศึกษา

ใช้ตัวอย่างเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย Seed ซีโรไทป์ O, A, Asia1 มาทำ Virus isolation เพื่อเพิ่มปริมาณไวรัสโดยเซลล์ทุติยภูมิจากไตแกะ, เซลล์ ZZ-R 127 และ เซลล์ BHK21 โดยทำการศึกษาค่า End point ของเซลล์ที่ใช้ในการศึกษาเพื่อเป็นทางเลือกในการใช้ชนิดของเซลล์เพาะเลี้ยงเพื่อทดสอบงานไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยของศูนย์ ฯ ที่เหมาะสม จากนั้นจึงดำเนินการทดสอบ FMDV infectivity titration เพื่อหาไตเตอร์และนำผลที่ได้มาเทียบกัน เพื่อหาระดับไตเตอร์ ด้วยวิธีการค่า TCID50 และการหาค่า 146s เพื่อพิจารณาผลผลิตไวรัสที่ได้จากแต่ละประเภทเซลล์ (Hassan, AI. 2016) จากนั้นทำการเปรียบเทียบวิเคราะห์ผลในแต่ละชนิดเซลล์

6. ผู้ร่วมดำเนินการ (ถ้ามี) (1) ชื่อ-นามสกุล นางกิ่งกานต์ บุญสุยา สีโย สัดส่วนผลงาน……60 %..………..

(2) ชื่อ-นามสกุล นางสาวอมรรัตน์ ชุณศาสตร์ สัดส่วนผลงาน……20 %………….

(3) ชื่อ-นามสกุล นางสาวกานต์รวี ซ่วนพัฒน์ สัดส่วนผลงาน……20 %………….

7. ระบุรายละเอียดเฉพาะงานในส่วนที่ผู้ขอรับการประเมินเป็นผู้ปฏิบัติ

1. ดำเนินการเพิ่มปริมาณเซลล์ทุติยภูมิจากไตแกะ, เซลล์ ZZ-R 127 และ เซลล์ BHK21 (10%)  
 2. ดำเนินการทดสอบ FMDV infectivity titration เพื่อหาไตเตอร์ (10%)

8. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ (กรณีเป็นผลงานที่อยู่ระหว่างศึกษา)

ได้รับข้อมูลทางวิทยาศาสตร์จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเซลล์ทุติยภูมิจากไตแกะ, เซลล์ ZZ-R 127 และ เซลล์ BHK21 เพื่อใช้ในการทดสอบหาไตเตอร์ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ซึ่งจะเป็นแนวทางต่อไปในการเลือกใช้เซลล์ทางเลือกและเหมาะสมต่อการทดสอบด้าน vaccine matching ต่อไปในอนาคต

9.ระบุผลสำเร็จของงาน หรือผลการศึกษา (กรณีที่เป็นผลงานที่ดำเนินการเสร็จแล้ว)………………………..………….

……………………………………………………………………………………………..………………………………………………….……

10. ความยุ่งยากในการดำเนินการ/ปัญหา/อุปสรรค

ความยุ่งยากในการดำเนินการ คือการเพิ่มปริมาณเซลล์ทุติยภูมิจากไตแกะ, เซลล์ ZZ-R 127 และ เซลล์ BHK21 จาก seed stock ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส การเพิ่มปริมาณเซลล์จะต้องทำในหลาย passage ทำให้ต้องใช้เวลาสักระยะหนึ่งเพื่อให้ได้ปริมาณและคุณภาพของเซลล์เพียงพอที่จะนำไปทดสอบต่อไป

11. การนำไปใช้ประโยชน์ หรือคาดว่าจะนำไปใช้ประโยชน์

นำข้อมูลที่ได้ไปทำการคัดเลือกเซลล์ที่เหมาะสมต่อการทดสอบด้าน Vaccine matching เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยให้สามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วและมีคุณภาพ โดยการได้รับผลการทดสอบด้าน Vaccine matching ที่รวดเร็วและถูกต้องจะทำให้สามารถคัดเลือก Seed vaccine เพื่อใช้ในการผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยได้อย่างเหมาะสมกับสถานการณ์การระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อยในขณะนั้น

ขอรับรองว่าผลงานดังกล่าวข้างต้นเป็นความจริงทุกประการ

ลงชื่อ…………………………………………………..

(นางสาวอมรรัตน์ ชุณศาสตร์)

ผู้เสนอผลงาน

..….…..…./…………….……….../….……….

**ขอรับรองว่าสัดส่วนหรือลักษณะงานในการดำเนินการของผู้เสนอข้างต้นถูกต้องตรงกับความจริง**

**ทุกประการ**

ลงชื่อ…………………………………… ลงชื่อ……………………………….….

(นางกิ่งกานต์ บุญสุยา สีโย) (นางสาวกานต์รวี ซ่วนพัฒน์)

ตำแหน่ง นายสัตวแพทย์ชำนาญการพิเศษ ตำแหน่ง นายสัตวแพทย์ชำนาญการ

ผู้ร่วมดำเนินการ ผู้ร่วมดำเนินการ

………../……………………./………….. …………../…………………../…………

## **ได้ตรวจสอบแล้วขอรับรองว่าผลงานดังกล่าวข้างต้นถูกต้องตรงกับความเป็นจริงทุกประการ**

ลงชื่อ……………………………………….. ลงชื่อ…………………………………..

(นายร่มพฤกษ์ อุดล) (นายเชาวฤทธิ์ บุญมาทิต)

ตำแหน่ง นายสัตวแพทย์ชำนาญการพิเศษ ตำแหน่ง ผู้อำนวยการสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ  
รักษาการในตำแหน่งผู้เชี่ยวชาญด้านวินิจฉัย  
โรคปากและเท้าเปื่อย ปฏิบัติหน้าที่ในฐานะ .............../..................../......................  
หัวหน้างานศูนย์อ้างอิง โรคปากและเท้าเปื่อย  
ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้.

……………./……………………/…………..

(ผู้บังคับบัญชาที่ควบคุมดูแลการดำเนินการ)

**หมายเหตุ**

1. กรุณาให้ผู้ร่วมดำเนินการ และผู้บังคับบัญชา ลงลายมือชื่อรับรองให้ครบทุกคน **ด้วยลายมือจริง**

2. หากผลงานมีลักษณะเฉพาะ เช่นแผ่นพับ หนังสือ แถบบันทึกเสียง ฯลฯ ผู้เสนอผลงาน อาจส่งผลงานจริงประกอบการพิจารณาของคณะกรรมการก็ได้

##### **เอกสารหมายเลข 3**

# ผลงานที่จะขอรับการประเมินเพื่อขอรับเงินประจำตำแหน่ง

# 1. ชื่อผลงานการเปรียบเทียบความไวและความจำเพาะของชุดทดสอบ non-structural protein ที่มีการจำหน่ายในประเทศไทย (Comparative sensitivity and specificity in commercial foot-and-mouth disease virus non-structural protein ELISA kits)

ปีที่ดำเนินการ สิงหาคม 2562- กรกฎาคม 2563

2. ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการศึกษา

โรคปากและเท้าเปื่อย หรือ Foot and Mouth Disease (FMD) ถูกระบุอยู่ในโรคที่สำคัญโดยองค์การโรคระบาดสัตว์ระหว่างประเทศ ซึ่งเป็นโรคติดต่อร้ายแรงที่ส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจและสังคมรวมถึงเป็นโรคสำคัญในการควบคุมการนำเข้าและส่งออกระหว่างประเทศ การตรวจหาแอนติบอดีต่อ Non Structural Protein (NSP) ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยเพื่อใช้สำหรับตรวจแยกระหว่างสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนและสัตว์ที่ได้รับการติดเชื้อ(Mackay et al, 1998) นับเป็นเครื่องมือที่สำคัญชนิดหนึ่งในการควบคุมป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อยไม่ให้เกิดการแพร่กระจายของโรคในประเทศไทย จากการศึกษาของLinchongsubongkochet et al. (2004)พบว่า การตรวจหาแอนติบอดีต่อ NSP โดยใช้ชุดทดสอบจำนวน 4 ยี่ห้อการค้าที่ผลิตจาก WRL, UBI, Bommและ CEDI ให้ผลการตรวจสอบด้านความจำเพาะสูงทั้งในโคและสุกรโดยเฉลี่ยมากกว่า 99% –100% และให้ความไวสูงใกล้เคียงกันตั้งแต่ 84.6% -98.3% ในโค และ 73.33% - 80% ในสุกร ในสถานการณ์ปัจจุบันพบว่ามีชุดทดสอบหลากหลายยี่ห้อที่จำหน่ายในประเทศไทย ส่งผลให้ผู้ใช้งานเกิดความลังเลใจในการตัดสินใจเลือกใช้ชุดทดสอบให้เหมาะกับวัตถุประสงค์ของผู้ใช้และเพื่อเป็นการตอบสนองนโยบายของกรมปศุสัตว์ที่ต้องการข้อมูลความไวและความจำเพาะของชุดทดสอบ NSP

3. วัตถุประสงค์ในการศึกษา

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้คือการดำเนินการเปรียบเทียบความไวและความจำเพาะของชุดทดสอบ ELISA ในการตรวจหา NSP จากชุดทดสอบที่จำหน่ายในประเทศไทย เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการตัดสินใจเลือกใช้ชุดทดสอบได้อย่างเหมาะสม

4. ความรู้ทางวิชาการ หรือแนวคิดหรือหลักทฤษฎีที่ใช้ในการดำเนินการ

ความรู้เรื่องโรคปากและเท้าเปื่อย, ความรู้และความชำนาญในการตรวจวินิจฉัยโรคปากและเท้าเปื่อยด้วยวิธี ELISA, ความรู้เรื่องการเก็บตัวอย่างซีรัม

5. วิธีการหรือขั้นตอนการศึกษา

นำตัวอย่างซีรัมควบคุมบวกซึ่งทำการเก็บตัวอย่างจากโคและสุกรที่ได้รับการยืนยันว่าติดเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยด้วยวิธี ELISA typing หรือ วิธีทาง Molecular จากศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยทำการเก็บตัวอย่างซีรัมหลังจากสัตว์แสดงอาการ 14-30 วันและซีรัมควบคุมลบเป็นซีรัมที่นำมาจากประเทศญี่ปุ่นและออสเตรเลีย ซึ่งเป็นประเทศที่ได้รับการรับรองการปลอดโรคปากและเท้าเปื่อยจาก OIE มาทำการทดสอบด้วยชุดทดสอบNSP ที่มีการจำหน่ายในประเทศไทย ได้แก่ PrioCHECK®, IDEXX®, ID VET®, BioVet®และ Sentinel®โดยดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบที่แต่ละยี่ห้อการค้ากำหนดไว้ จำนวนตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบอ้างอิงจากระดับความเชื่อมั่น 95% และความคลาดเคลื่อน 2% (Jacobson, 1998) สรุปและวิเคราะห์ผลโดยใช้ตาราง 2\*2 โดยการนำข้อมูลของผลการทดสอบที่ได้มาเทียบกับจำนวนของซีรัมควบคุมบวกและลบเพื่อหาค่าความไวและความจำเพาะของแต่ละชุดทดสอบ และทำการเปรียบเทียบความไวและความจำเพาะของชุดทดสอบโดยวิธี Fisher-exact test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

6. ผู้ร่วมดำเนินการ (ถ้ามี) (1) ชื่อ-นามสกุล นางสาวอมรรัตน์ ชุณศาสตร์ สัดส่วนผลงาน……80 %………….

(2) ชื่อ-นามสกุล นางสาวกานต์รวี ซ่วนพัฒน์ สัดส่วนผลงาน……20 %………….

7. ระบุรายละเอียดเฉพาะงานในส่วนที่ผู้ขอรับการประเมินเป็นผู้ปฏิบัติ

1. ดำเนินการจัดหา True negative serum จากประเทศญี่ปุ่น (10%)  
 2. ดำเนินการประสานและจัดหาชุดทดสอบ NSP ที่มีการจำหน่ายในประเทศไทย (10%)  
 3. ดำเนินการทดสอบ (30%)  
 4. ดำเนินการวิเคราะห์ และแปลผล (20%)  
 5. จัดทำรูปเล่ม (10%)

8. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ (กรณีเป็นผลงานที่อยู่ระหว่างศึกษา)

**1.** ทราบความไวและความจำเพาะของชุดทดสอบ NSP ที่มีจำหน่ายในประเทศไทย สำหรับเป็นข้อมูลในการตัดสินใจเลือกใช้ชุดทดสอบ NSP เพื่อให้ผู้ใช้งานสามารถเลือกใช้ชุดทดสอบได้ตรงตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการใช้งานได้มากที่สุด

2. เพิ่มตัวเลือกให้กรมปศุสัตว์ทำการจัดซื้อชุดทดสอบได้หลากหลายยี่ห้อยิ่งขึ้น ไม่ผูกขาดกับชุดทดสอบเพียงยี่ห้อเดียว ซึ่งเพิ่มการแข่งขันในการประกวดราคาจัดซื้อส่งผลให้กรมฯอาจจะลดค่าใช่จ่ายในการจัดซื้อได้

9.ระบุผลสำเร็จของงาน หรือผลการศึกษา (กรณีที่เป็นผลงานที่ดำเนินการเสร็จแล้ว)…………-……………..…………

……………………………………………………………………………………………..………………………………………………….……

10. ความยุ่งยากในการดำเนินการ/ปัญหา/อุปสรรค

ความยุ่งยากในการดำเนินการคือ การจัดหาซีรัมจากประเทศปลอดโรคปากและเท้าเปื่อยเพื่อนำมาใช้เป็น True negative serum ทำให้ต้องมีการดำเนินการขออนุญาตนำเข้าซีรัมจากประเทศญี่ปุ่นและออสเตรเลีย รวมทั้งกระบวนการผ่านขั้นตอนทางศุลกากรและด่านกักกันสัตว์เมื่อนำเข้าของทางอากาศยาน

อีกหนึ่งอุปสรรคคือการนำเข้าชุดทดสอบจากตัวแทนบริษัทในประเทศไทยเกิดความล่าช้า เนื่องจากสถานการณ์ COVID-19 ทำให้การนำเข้าชุดทดสอบจากต่างประเทศมายังประเทศไทยไม่สามารถทำได้ตามกำหนด กระบวนการทดสอบจึงทำได้ไม่ตรงตามแผนงานที่วางไว้

11. การนำไปใช้ประโยชน์ หรือคาดว่าจะนำไปใช้ประโยชน์

สามารถนำข้อมูลความไวและความจำเพาะของชุดทดสอบที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้มาใช้เป็นเกณฑ์ในการตัดสินใจเลือกใช้ชุดทดสอบ NSP ให้ได้ตรงกับความต้องการและงบประมาณของผู้ใช้ รวมถึงเพิ่มโอกาสการแข่งขันทางการค้าของแต่ละบริษัท ทำให้สามารถซื้อชุดทดสอบได้ในราคาที่เป็นธรรมและเหมาะสมกับชุดทดสอบ

ขอรับรองว่าผลงานดังกล่าวข้างต้นเป็นความจริงทุกประการ

ลงชื่อ…………………………………………………..

(นางสาวอมรรัตน์ ชุณศาสตร์)

ผู้เสนอผลงาน

..….…..…./…………….……….../….……….

**ขอรับรองว่าสัดส่วนหรือลักษณะงานในการดำเนินการของผู้เสนอข้างต้นถูกต้องตรงกับความจริง**

**ทุกประการ**

ลงชื่อ……………………………….….

(นางสาวกานต์รวี ซ่วนพัฒน์)

ตำแหน่ง นายสัตวแพทย์ชำนาญการ

ผู้ร่วมดำเนินการ

…………../…………………../…………

## **ได้ตรวจสอบแล้วขอรับรองว่าผลงานดังกล่าวข้างต้นถูกต้องตรงกับความเป็นจริงทุกประการ**

ลงชื่อ……………………………………….. ลงชื่อ…………………………………..

(นายร่มพฤกษ์ อุดล) (นายเชาวฤทธิ์ บุญมาทิต)

ตำแหน่ง นายสัตวแพทย์ชำนาญการพิเศษ ตำแหน่ง ผู้อำนวยการสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ  
รักษาการในตำแหน่งผู้เชี่ยวชาญด้านวินิจฉัย  
โรคปากและเท้าเปื่อย ปฏิบัติหน้าที่ในฐานะ .............../..................../......................  
หัวหน้างานศูนย์อ้างอิง โรคปากและเท้าเปื่อย  
ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้.

……………./……………………/…………..

(ผู้บังคับบัญชาที่ควบคุมดูแลการดำเนินการ)

**หมายเหตุ**

1. กรุณาให้ผู้ร่วมดำเนินการ และผู้บังคับบัญชา ลงลายมือชื่อรับรองให้ครบทุกคน **ด้วยลายมือจริง**

2. หากผลงานมีลักษณะเฉพาะ เช่นแผ่นพับ หนังสือ แถบบันทึกเสียง ฯลฯ ผู้เสนอผลงาน อาจส่งผลงานจริงประกอบการพิจารณาของคณะกรรมการก็ได้

**เอกสารหมายเลข 4**

### **ข้อเสนอแนวคิด/วิธีการ เพื่อพัฒนางานหรือปรับปรุงให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น**

ชื่อ……นาวสาวอมรรัตน์ ชุณศาสตร์………………………………………………………………………….……………………..

เพื่อประกอบการขอรับเงินประจำตำแหน่ง…นายสัตวแพทย์ชำนาญการ….ตำแหน่งเลขที่……869……..…….

สำนัก/ กอง …ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้…สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

เรื่อง การนำสารตรวจสอบชนิด monoclonal antibody มาใช้ในการตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยโดยวิธี liquid phase blocking ELISA

**หลักการและเหตุผล**

โรคปากและเท้าเปื่อยเป็นโรคระบาดที่รุนแรง ติดต่อง่าย ในสัตว์กีบคู่ทุกชนิดได้แก่โค กระบือ แพะ แกะ และสุกร เป็นต้น ซึ่งเป็นสัตว์เศษฐกิจที่สำคัญในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ทั่วโลกมีทั้งหมด 7 serotype คือ O, A, Asia1, C, SAT1, SAT2 และ SAT3 (Brooksby and Rogers, 1975) และยังมีไวรัสชนิดย่อยไม่น้อยกว่า 64 subtype ประเทศไทยและในภูมิภาคนี้ยังคงพบโรคปากและเท้าเปื่อยระบาดได้แก่ type O, A และ Asia1 ซึ่งส่งผลกระทบต่อความสูญเสียทางด้านเศรษฐกิจและเป็นปัญหาระดับประเทศไม่สามารถส่งออกสัตว์เศรษฐกิจไปยังต่างประเทศได้ การตรวจวินิจฉัยโรคทางด้านห้องปฏิบัติการโดยวิธี standard ELISA typing และ virus isolation (Roeder and Le Blanc Smith, 1987) ร่วมกับการตรวจสอบทางซีรัมวิทยาอื่นๆ เช่น virus neutralization (VN) test (Rweyemamu, M.M., 1978), liquid phase blocking ELISA (Hamblin et al., 1986) ร่วมกับการตรวจหาแอนติบอดีต่อ non structure protein (Linchongsubongkoch et al., 2000) ซึ่งสามารถให้ข้อมูลทางอิมมูนวิทยาเพื่อสนับสนุนงานด้านการเฝ้าระวังโรคและระบาดวิทยา

การตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยโดยวิธี liquid phase blocking ELISA (LP ELISA) ในปัจจุบันของศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อยฯนั้น เป็นวิธีการทดสอบที่ได้รับการรับรองมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 จากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ไม่เพียงแต่ใช้ในศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อยฯเท่านั้น แต่วิธีการทดสอบนี้ยังถูกใช้ในสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ, ศูนย์วิจัยและพัฒนาการทางสัตวแพทย์ และห้องปฏิบัติการของประเทศในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้อีกด้วย องค์ประกอบสำคัญของวิธีการทดสอบนี้คือสารตรวจสอบที่ทางศูนย์ผลิตขึ้นได้แก่ rabbit trapping antibody และ guinea pig trapping antibody ซึ่งถูกผลิตโดยกระบวนการที่ได้มาซึ่ง polyclonal antibody ของสารตรวจสอบทั้ง 2 ชนิด เมื่อนำไปใช้งานจะส่งผลให้มีความไว(Sensitivity)ในการทดสอบเป็นอย่างมาก ด้วยเหตุนี้ทางศูนย์อ้างอิงจึงพัฒนาการผลิตสารตรวจสอบให้ได้มาซึ่ง monoclonal antibody ซึ่งจะทำให้การทดสอบมีความจำเพาะ (Specificity) สูงขึ้น ส่งผลให้การทดสอบมีความแม่นยำเพิ่มมากขึ้น

ดังนั้นการนำสารตรวจสอบชนิด monoclonal antibody มาใช้ในการตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยโดยวิธี liquid phase blocking ELISA จึงเป็นสิ่งจำเป็นและสำคัญอย่างยิ่งเพราะเป็นการพัฒนามาตรฐานการทดสอบของศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อยให้ได้มาตรฐานมากยิ่งขึ้น เพื่อให้สามารถเทียบเคียงการทดสอบกับศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อยในระดับนานาชาติได้ต่อไป

**บทวิเคราะห์ / แนวคิด / ข้อเสนอ (แผนงาน / โครงการ ) ที่ผู้ประเมินจะพัฒนางาน**

การนำสารตรวจสอบชนิด monoclonal antibody มาใช้ในการตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยโดยวิธี liquid phase blocking ELISA นั้น จะต้องทำการvalidation สารตรวจสอบก่อนการใช้งาน เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของสารตรวจสอบและหาค่าการใช้งานที่เหมาะสมก่อนที่จะนำมาใช้งานจริงกับตัวอย่างที่ได้รับจากท้องที่และเผยแพร่การใช้งานแก่ห้องปฏิบัติการโรคปากและเท้าเปื่อยอื่นๆต่อไป

กระบวนการ validation สารตรวจสอบ monoclonal antibody จะดำเนินการโดยใช้สารตรวจสอบทดสอบโดยวิธี liquid phase blocking ELISA กับ monovalent reference serum ซึ่งเป็นซีรัมที่ได้มาจากการฉีดวัคซีน monovalent vaccine ที่มีสายพันธุ์เชื้อต่างๆ ได้แก่ O india 2001e, Alopburi, A sakonnakorn เป็นต้น โดยทำการเก็บซีรัมหลังทำการฉีดวัคซีน monovalent vaccine ไปแล้ว 21-28 วัน เพื่อให้ได้ระดับแอนติบอดีที่มากเพียงพอต่อการทดสอบ การทดสอบนี้จะเป็นการหา cross reaction ระหว่างสารตรวจสอบ monoclonal antibody ซีโรไทป์นั้นกับแอนติบอดีของซีโรไทป์อื่นๆ หากผลการทดสอบไม่พบ cross reaction ของสารตรวจสอบ monoclonal antibody ห้องปฏิบัติการจะทำการคัดเลือกสารตรวจสอบนั้นมาเก็บไว้เพื่อนำสารตรวจสอบไปหาค่าการใช้งานที่เหมาะสมต่อไป

กระบวนการหาค่าการใช้งานที่เหมาะสม จะทำโดยใช้วิธีการ checkerboard titration เพื่อหาค่าการใช้งานที่เหมาะสม (Optimize) ระหว่าง rabbit trapping monoclonal antibody และ guinea pig trapping monoclonal antibody หลังจากที่ผ่านการทดสอบ cross reaction และได้ค่าการใช้งานที่เหมาะสมแล้ว ก่อนการใช้งานจริงจะต้องทำการเก็บข้อมูลเปรียบเทียบผลการทดสอบระหว่าง monoclonal antibody และการทดสอบโดยวิธี serum neutralization (S/N) ซึ่งเป็น gold standard method ในการระดับภูมิคุ้มกัน เมื่อผ่านการทดสอบทั้งหมดแล้วจึงจะสามารถนำสารตรวจสอบ monoclonal antibody ไปใช้ในงานประจำต่อไป

**ผลที่คาดว่าจะได้รับ**

สามารถนำสารตรวจสอบชนิด monoclonal antibody มาใช้ในการตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยโดยวิธี liquid phase blocking ELISA ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อให้ได้ผลการทดสอบที่มีความไว(Sensitivity)และความจำเพาะ (Specificity) สูงกว่าการใช้สารตรวจสอบชนิด polyclonal antibodyในปัจจุบัน

**ตัวชี้วัดความสำเร็จ**

สามารถนำสารตรวจสอบชนิด monoclonal antibody มาใช้ในในการตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยโดยวิธี liquid phase blocking ELISA เป็นงานประจำ และสามารถแจกจ่ายสารตรวจสอบชนิด monoclonal antibody แก่ห้องปฏิบัติการโรคปากและเท้าเปื่อยทั้งในประเทศและในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

ลงชื่อ……………………………….

(นางสาวอมรรัตน์ ชุณศาสตร์)

ผู้เสนอแนวคิด

…..…../……..……./…..

,

## **การพิจารณาประเมินข้าราชการเพื่อคัดเลือกให้ส่งผลงานทางวิชาการ**

ชื่อ…นางสาวอมรรัตน์ ชุณศาสตร์……………………………………………….……………………..……………………

ตำแหน่ง………นายสัตวแพทย์ชำนาญการ…………ตำแหน่งเลขที่……………869.....…………….……………

ขอประเมินเพื่อขอรับเงินประจำตำแหน่ง………………………ตำแหน่งเลขที่……………………………………………..………

กลุ่ม/ฝ่าย…ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อยฯ..…กอง/สำนัก………สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ……………….

### ผลการพิจารณา (**คะแนนเต็ม 100 คะแนน)**

1.ผลงาน/ผลการปฏิบัติงานย้อนหลัง 3 ปี 50 คะแนน ได้รับ …………………….…คะแนน

2.ข้อเสนอแนวคิด/วิธีการเพื่อพัฒนางานหรือปรับปรุงให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

50 คะแนน ได้รับ …………………….…คะแนน

**รวม** ……………………..…คะแนน

ลงชื่อ……………………………………………..

(นายเชาวฤทธิ์ บุญมาทิต)

ตำแหน่ง ผู้อำนวยการสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

วันที่……………………………….

**หมายเหตุ** กรุณาให้ผู้บังคับบัญชาให้คะแนน โดยผู้ที่ผ่านการประเมินต้องได้รับคะแนนไม่ต่ำกว่า 80 คะแนน และให้ผู้บังคับบัญชาลงชื่อกำกับให้ครบถ้วน