บทที่ 5

สรุปผลงานวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาคุณลักษณะของแอนติบอดีในซีรัมของเป็ดกลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นด้วยโปรตีน OmpH เป็ดที่ป่วยเป็นโรคอหิวาต์สัตว์ปีกและเป็ดที่ได้รับวัคซีนป้องกันอหิวาต์สัตว์ปีกเทียบกับโปรตีนลูกผสม Omp H ของเชื้อ *P. multocida* สายพันธุ์ X-73 (สายพันธุ์อ้างอิง) ด้วยวิธี SDS-PAGE ซึ่งเป็นการแยกโปรตีนโดยอาศัยความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุล โดย SDS เมื่อรวมกับโปรตีนทำให้โครงสร้างของโปรตีนที่มี SDS จับอยู่มีประจุเป็นลบและสายของโปรตีนยืดตัวออกจากสภาพธรรมชาติกลายเป็นแท่งและอัตราส่วนประจุต่อมวลของโมเลกุลของโปรตีนทุกชนิดมีค่าเท่ากัน ฉะนั้น ใน SDS-PAGE นี้ โปรตีนจึงแยกกันด้วยความแตกต่างของขนาด (มวลโมเลกุล) เท่านั้น โดยโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากจะเคลื่อนที่ได้ช้ากว่าโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อย ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงใช้วิธี SDS-PAGE ในการหาน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนที่มีอยู่ในซีรัมของเป็ดได้

จากการนำโปรตีนลูกผสม OmpH ของเชื้อ *P. multocida* สายพันธุ์ X-73 มาทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เครื่องแยกโปรตีนอัตโนมัติ Model AE-6760 NATIVEN (ATTO) ต่อเข้ากับเครื่องรับแยกโปรตีน Fraction collector (ATTO) แล้วนำไปตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยวิธี SDS-PAGE พบว่าโปรตีนลูกผสม OmpH ที่สนใจมีขนาดประมาณ 39 กิโลดาลตัน ซึ่งมีการศึกษาก่อนหน้านี้ พบว่าโปรตีนขนาด 39 กิโลดาลตัน ซึ่งก็คือ outer membrane protein H (OmpH) ของเชื้อแบคทีเรีย *P. multocida* สายพันธุ์ X-73 นั้น เป็น cross reactive และ cross protective antigen ของเชื้อแบคทีเรีย*P. multocida* สายพันธุ์ก่อโรคอหิวาต์สัตว์ปีก (Sthitmatee et al., 2008) และยังพบว่าเป็นโปรตีนที่มีความสำคัญในการจับเกาะและแทรกตัวเข้าสู่เซลล์ของโฮสท์ภายหลังจากการติดเชื้อ (Borrathybay et al., 2003a; Alhaj et al., 2004a, b) ซึ่งจากการทดลองของ Ibrahim และคณะ ในปี ค.ศ.1998 พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *P. multocida* นั้นแสดงคุณสมบัติเป็น intracellular bacteria โดยพบว่าเชื้อแบคทีเรียสามารถพบได้ภายในเซลล์ต่างๆ ของโฮสท์ได้ภายหลังการจับเกาะบนผิวเซลล์ของโฮสท์โดยอาศัยโปรตีน OmpH

PAYAP UNIVERSITY

จากการศึกษาลักษณะเฉพาะของแอนติบอดีจากเป็ดต่อโปรตีนลูกผสม OmpH ในการทำปฏิกิริยาต่อเชื้อ *P. multocida* ที่คัดแยกจากเป็ดที่เป็นโรคด้วยวิธี Western blot พบว่าซีรัมของเป็ดทั้งที่ได้รับการฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วยโปรตีนลูกผสม OmpH ซีรัมของเป็ดที่ป่วยเป็นโรคอหิวาต์สัตว์ปีกและซีรัมของเป็ดที่ได้รับวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์สัตว์ปีกต่างก็ให้แถบโปรตีนที่ตรงกับแถบของโปรตีนลูกผสมที่ได้จากเครื่อง electroelutor (ประมาณ 39 KDa) อย่างชัดเจน แสดงถึงคุณลักษณะของโปรตีนลูกผสม OmpH ที่สามารถกระตุ้นให้เป็ดสามารถสร้างแอนติบอดีต่อโปรตีนได้ นอกจากนี้ยังพบว่าเป็ดที่ติดเชื้ออหิวาต์สัตว์ปีกและเป็ดที่ได้รับวัคซีนป้องกันโรคนี้จากกรมปศุสัตว์ต่างก็สามารถสร้างแอนติบอดีตอบสนองต่อโปรตีน OmpH ได้เช่นกัน ดังนั้นโปรตีนลูกผสม OmpH จึงมีคุณสมบัติเบื้องต้นเหมาะสมต่อการนำไปใช้เป็นแอนติเจน สำหรับการศึกษาพัฒนาวัคซีนเพื่อป้องกันและควบคุมโรคอหิวาต์สัตว์ปีกโดยเฉพาะในเป็ดได้ต่อไป

อย่างไรก็ตาม การพัฒนาวัคซีนต้นแบบเพื่อใช้ในการป้องกันและควบคุมโรคอหิวาต์สัตว์ปีกควรมีการศึกษาคุณลักษณะอื่นๆของโปรตีนลูกผสม OmpH เช่น ความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เป็ดสร้างแอนติบอดีต่อ OmpH ได้มากหรือน้อยด้วยวิธี ELISA และการทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันโรคของโปรตีนลูกผสมในเป็ด

PAYAP UNIVERSITY