วิทยาสาร
ทันตแพทยศาสตร์มหิดล
MAHIDOL DENTAL JOURNAL

ว.ทันต. มหิดล ปีที่ 24 หน้า 57-63, 2547

บทวิทยาการ
Original Article

Salivary Immunoglobulin A (IgA) Quantitation by ELISA

การวิเคราะห์หาปริมาณอิมมูโนโกลบุลินเอในน้ำลายด้วยเทคนิค ELISA

Abstract

Secretory immunoglobulin A (sIgA) is the dominant immunoglobulin isotype present in external secretions. This immune component lying on mucosal surfaces (oral cavity, respiratory system and intestinal tracts) is recognized as a first-line of defense against pathogenic microorganisms including bacteria and viruses. Many previous studies have demonstrated that the quantity and quality of sIgA play potential roles not only in prevention but also in pathogenesis of such tissues. As with other infections, oral infections, such as caries, periodontitis and candidiasis, conceptualized as multi-factorial diseases could also be partly modulated by this immune component. Consequently, the quantitative analysis of sIgA in saliva (salivary IgA) may provide information beneficial for understanding of the diseases. The quantitative analysis of salivary IgA is, however, costly and rarely available commercially. This study aims to develop a highly sensitive, specific and accurate method for determining the levels of total sIgA in saliva. An enzyme-linked immunosorbent assay or ELISA is the first choice. A modified double antibody sandwich ELISA has been optimized and utilized to evaluate the sIgA level in paraffin-stimulated saliva collected from primary school students in a Thai-Myanmar border province. Both monoclonal and polyclonal antibodies against human sIgA were employed as primary and secondary antibodies, respectively. Biotin-avidin system conjugate was utilized to enhance the reaction development. The serially diluted human IgA purified from colostrum was used as a standard solution to set up a standard curve. The level of total sIgA or salivary IgA was finally analyzed and made explicit using BIO-TEK MQX200 microplate reader in conjunction with KC4 program. This newly developed ELISA technique for salivary IgA determination contains acceptable performance characteristics: detecting limit (≥0.015 µg/ml), coefficient variation value (<10%) and recovery value (92%-110%). The levels of total salivary IgA detected from 120 children were in the range of 0.18 to 0.4 mg/ml. This household developed ELISA technique can be employed to quantitate salivary IgA practically and successfully.

Key words: Secretory and salivary IgA; Modified double antibody sandwich ELISA

Suwan Choonharuangdej
B.Sc. (Medical Technology), Ph.D. (Biological Sciences)
Cholticha Amornchat
D.D.S., M.Sc. (Microbiology)
Kalaya Tandhachoon
B.Sc. (Medical Technology), M.Sc. (Microbiology)
Department of Microbiology, Faculty of Dentistry, Mahidol University, 6 Yothi Street, Bangkok 10400, Thailand

สุวรรณ ชุณหเรืองเดช
ชลธิชา อมรฉัตร
กัลยา ตัณฑชุณห์
ภาควิชาจุลชีววิทยา
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
ถนนโยธี เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

บทคัดย่อ

Secretory IgA (sIgA) เป็นอิมมูโนโกลบุลินหรือภูมิคุ้มกันด้านสารน้ำที่พบในปริมาณมากที่สุดในสารคัดหลั่งของร่างกายเป็นกลไกทางธรรมชาติในการป้องกันระบบทางเดินหายใจ ระบบทางเดินอาหารและช่องปากจากการติดเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ จากการศึกษาต่างๆ พบว่า sIgA ที่พบในน้ำลายมีบทบาทสำคัญในการป้องกันการติดเชื้อในช่องปาก ดังนั้น ปริมาณของ sIgA ที่พบในน้ำลายอาจจะเป็นดัชนีตัวหนึ่งที่บ่งชี้ประสิทธิภาพในการป้องกันโรคติดเชื้อในช่องปาก ปัจจุบันชุดทดสอบสำหรับการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ sIgA ในน้ำลาย มีราคาแพงและไม่แพร่หลาย การวิจัยนี้จึงมุ่งในการนำเทคนิค ELISA มาประยุกต์ใช้ในการตรวจหาปริมาณของ sIgA ในน้ำลาย เนื่องจาก ELISA เป็นที่ยอมรับอย่างกว้างขวางว่าเป็นวิธีตรวจวิเคราะห์ที่มีความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) สูง น้ำลายที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์เก็บจากกลุ่มตัวอย่างที่เป็นเด็กนักเรียนในระดับประถมศึกษาตอนต้นในจังหวัดแถบชายแดนไทย-พม่า ปริมาณ sIgA ในน้ำลายที่ตรวจพบได้จากการวิเคราะห์โดยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงรุ่น BIO-TEK MQX200 ร่วมกับโปรแกรม KC4 และทำการเปรียบเทียบกับกราฟแสดงค่ามาตรฐาน (standard curve) ที่ได้จากสารละลายอิมมูโนโกลบุลินบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ วิธี ELISA ที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถวิเคราะห์หาอิมมูโนโกลบุลินเอได้ในปริมาณตั้งแต่ 0.015 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป และให้ผลการทดลองที่มีความแม่นยำและเที่ยงตรงที่เป็นที่ยอมรับได้ในเชิงสถิติ จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าปริมาณของอิมมูโนโกลบุลินเอที่พบในน้ำลายของเด็กนักเรียนในระดับประถมศึกษาตอนต้นในจังหวัดแถบชายแดนไทย-พม่า จำนวน 120 คน อยู่ในช่วงระหว่าง 0.18 ถึง 0.40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้น วิธี ELISA ที่พัฒนาขึ้นนี้ น่าจะนำมาใช้ในการวิเคราะห์หาอิมมูโนโกลบุลินเอในเชิงปริมาณได้อย่างมีประสิทธิภาพ สะดวกและรวดเร็ว

รหัสคำ: อิมมูโนโกลบุลินเอในน้ำลาย, เทคนิคอีไลซา