

ผลการศึกษาพบว่า ขบวนการ indirect sandwich ELISA ในห้องปฏิบัติการเสร็จสิ้นภายใน 8 ชั่วโมง ไม่พบ cross reaction กับฮอร์โมนชนิดอื่น ๆ ช่วงความไวของปฏิกิริยาอยู่ในช่วง 100 พิโคกรัม/100 ไมโครลิตร ถึง 250 นาโนกรัม/ 100 ไมโครลิตร และเปอร์เซ็นต์ค่าเกาะเกี่ยวที่ 50 % มีค่าเท่ากับ 10 นาโนกรัม/100 ไมโครลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์ Intra- และ Interassay อยู่ที่ 7.2 และ 13.2 % ตามลำดับ เมื่อทดสอบการทำงานของ strip ELISA พบว่า ใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาทั้งหมด 2 ชั่วโมง มีค่า cut off อยู่ที่ 5 นาโนกรัม/100 ไมโครลิตร ภายใต้อสภาพดังกล่าวเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี indirect sandwich ELISA ในห้องปฏิบัติการ พบว่ามีค่าตรวจวัดใกล้เคียงกัน 12 ตัวอย่าง จาก 15 ตัวอย่างคิดเป็น 80 % แต่มีค่าเป็น false positive จำนวน 3 ตัวอย่างคิดเป็น 20 %

การศึกษานี้สรุปได้ว่าวิธี indirect sandwich ELISA และ strip ELISA kit สามารถใช้ตรวจวัดระดับโปรเจคเตอรอนในน้ำนมโค และตรวจวัดการตั้งท้องภาคสนามได้อย่างถูกต้อง

The logo of Chiang Mai University is a circular emblem. In the center is a detailed illustration of an elephant standing and facing left. Above the elephant's head is a traditional Thai decorative element, possibly a crown or a ceremonial object. The elephant is surrounded by a circular border containing the university's name in Thai script at the top and 'CHIANG MAI UNIVERSITY 1964' in English at the bottom. There are also decorative floral motifs on either side of the elephant.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Determiration of Cows' Milk Progesterone by Monoclonal Antibody

Author Miss Surutwadee Pak-u-thai

Degree Master of Science (Agriculture) Animal Science

Thesis Advisor Committee	Assoc. Prof. Petai	Pongpiachan	Chairperson
	Assoc. Prof. Nucha	Simasatitkul	Member

ABSTACT

The objective of this study was to establish a new method for the determination of progesterone (P_4) in cow's milk by indirect sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in laboratory using mono- and polyclonal antibodies against P_4 and, in addition, to develop the strip ELISA kit for the pregnancy diagnosis in the field as an application of the laboratory method. Comparisons of P_4 titers between October-March and April-June interval and between breeds of cows, purebred Holstein Friesian (HF) and Thai native-Friesian crossbred (TF), were also made.

Sixty 30 ml milk samples (30 from HF and 30 from TF) were collected in the evening every Monday and Friday at Chiang Mai Livestock Research and Breeding Center over the period from calving until 135 days postpartum or until cows were proved to become pregnant. The cows were kept in free stalls in which electric fans and water sprinklers were prepared for the alleviation of heat stress on cows in the hot season. For all cows reproductive data such as numbers of days from calving to the first rise in P_4 concentration (DTFRP) and conception (DTC), number of A.I. service needed for conception (NAIS) and milk production were also collected.

The indirect sandwich ELISA was performed by the use of polyclonal anti- P_4 rabbit serum for culture-plate coating, monoclonal anti- P_4 antibody made by mouse hybridoma for

antigen capture and anti-mouse IgG goat antibody conjugated with horseradish peroxidase as second antibody. In the ELISA kit for the pregnancy diagnosis, thin strips of polyvinylidene fluoride (PVDF) filter paper were used as adsorbent of polyclonal antibody.

Whole process of the ELISA in the laboratory could be finished within 8 hours. No cross reaction with any other steroids was found. Good standard curve of the sigmoid form was obtained by plotting percentages of maximum binding against the log doses of P_4 over the range from 100 pg to 250 ng/100 μ l and the point of 50 % binding was 10 ng/100 μ l. Intra- and interassay coefficients of variation were 7.2 and 13.2 %, respectively. When the strip ELISA kit was tested, on the other hand, time for reaction was shortened to 2 hours in total and cut off point for pregnancy diagnosis was set at 5 ng/ml. Under this condition, the diagnosis fitted with results judged by full ELISA made in the laboratory in 13 of 15 samples (86.7 %), but showed false positive response in 2 cases (13.3 %).

It was concluded that both indirect sandwich ELISA and strip ELISA kit were well usable for the precise measurement of milk P_4 concentration and pregnancy diagnosis in the field, respectively.