วารสารชีวผลิตภัณฑ์

ปีที่ 8 ฉบับที่ 1 มีนาคม 2541

สารบัญ

- ระยะเวลาในการนึ่งฆ่าเชื้อของสารละลาย PBS ปริมาตร 5 และ 10 ลิตร ในขวดแก้ว โดยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำร้อน 7
  รังสรรค์ รักษกุลวิทยา

- การคัดเลือกปริมาณการใช้ที่เหมาะสมของสารลดแรงตึงผิว (Montanide 80) ในอีมัลชั่นวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยสุกรชนิดรวม 3 ไทป์ 17
  นริศ ว่องวัฒนากูล สินสมุทร นิลฉวี

- การตรวจหาเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร สเตรนไชน่า ในสุกรที่ฉีดวัคซีน 28
  กัญญา สุวินทรากร กมลทิพย์ ธัญพิมล

- การเปรียบเทียบความคุ้มโรคของวัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ในเป็ดอายุ 3 และ 8 สัปดาห์ 37
  วันชัย ตีรถะวรวรรณ

- ผลของเบซิลลัส โตโยอิ ในน้ำดื่มกระต่ายต่อปริมาณไนโตรเจนในอุจจาระ ปัสสาวะ อัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร 43
  ธิติ ศิริเจริญสุขศรี จันทกานต์ อรณนันท์

- กองบรรณาธิการ 53

The Journal of Veterinary Biologics

Volume 8 No. 1 March 1998

Contents

- The sterilization time of 5 and 10 liters PBS solution in glass bottles by autoclave 7

  Rangsan Rugskulvithaya

- Selection of optimum quantity of surfactant in swine trivalent foot and mouth diseases oil emulsion vaccine 17

  Narit Wongwattanakul Sinsamut Ninchavee

- Detection of swine fever vaccine virus, China strain in vaccinated pig 28

  Kunya Suvintarakorn Kamonthip Phumpimon

- The compartive potency test of fowl chorela vaccine in three and eight weeks old ducks 37

  Wanchai Teerataworawan

- Effect of Bacillus toyoi in rabbit drinking water, Nitrogen in urine and feces, growth rate and feed efficiency 43

  Thiti Siricharoensooksi Chantakarn Aranun

- Editrorial board 53

วารสารชีวผลิตภัณฑ์

The Journal of Veterinary Biologics

ปีที่ 8 ฉบับที่ 1 มีนาคม 2541 Volume 8 No. 1 March 1998

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเผยแพร่งานวิชาการด้านการผลิตชีวภัณฑ์
2. เพื่อเผยแพร่ความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการใช้วัคซีน
3. เพื่อสนับสนุนการศึกษา ค้นคว้า และการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับชีวผลิตภัณฑ์
4. เพื่อเพิ่มพูนความรู้ ความก้าวหน้าทางวิชาการ

ฉบับที่ 1 มีนาคม 2541 พิมพ์เผยแพร่ มีนาคม 2542 จำนวนพิมพ์ 400 เล่ม

วารสารชีวผลิตภัณฑ์

บรรณาธิการ	แอบ คงทน
ผู้ช่วยบรรณาธิการ	พยนต์ สินสุวงศ์วัฒน์
กองบรรณาธิการ	วัชรี สินสุวงศ์วัฒน์
	สมใจ กมลศิริพิชัยพร
	วรัญญู ชมเฟื่องแก้ว
	เดิมพล รัตนวงศ์

สำนักงาน	กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์
	พญาไท กรุงเทพฯ 10400
กำหนดออก	ปีละ 2 ฉบับ : เดือนมีนาคม และกันยายน
พิมพ์ที่	ศูนย์โรคปากและเท้าเปื่อย
	อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

The Journal of Veterinary Biologics

Editor	Ab Kongthon
Assistant editor	Payont Sinsuwonkwat
Editorial board	Watcharee Sinsuwonkwat
	Somjai Kamolsiripichaiporn
	Varunyu Chomphaungkew
	Dermpol Ratanawonk

Office	Division of Veterinary Biologics,
	Phyathai, Bangkok, Thailand, 10400
Publications	twice a year in March and September

..อแน..นำสำหรับผู้เขียน

วารสารชีวผลิตภัณฑ์ เป็นวารสารเผยแพร่งานวิชาการของกองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ กำหนดออกปีละ 2 ฉบับ คือ เดือน มีนาคม และกันยายน วัตถุประสงค์ เพื่อพิมพ์เผยแพร่งานทางด้านวิชาการของกองผลิตชีวภัณฑ์ และหน่วยงานอื่นที่คล้ายกัน งานวิชาการที่จะพิมพ์ในวารสารนี้ต้องผ่านการอนุมัติให้เผยแพร่ผลงานทางวิชาการแล้ว

เรื่องที่จะนำลง

1. งานวิจัย (Technical papers) : เป็นการเสนอผลการวิจัยที่ผู้เขียนได้ทำขึ้นเอง
2. บทความ (Articles) : เป็นบทความทางวิชาการ ที่รวบรวมข้อมูล ความคิดเห็นและประสบการณ์ของผู้เขียน
3. เรื่องอื่น ๆ ที่คณะผู้จัดทำพิจารณาเห็นสมควร

การส่งเรื่อง ส่งถึงกองบรรณาธิการวารสารชีวผลิตภัณฑ์ ศูนย์โรคปากและเท้าเปื่อย ปากช่อง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130 โทร. 044-311592 Fax. 044-312870

ต้นฉบับ

1. ต้นฉบับที่ส่งมาพิมพ์ในวารสารชีวผลิตภัณฑ์ ไม่ควรเป็นเรื่องที่เคยพิมพ์ หรือกำลังอยู่ระหว่างการพิจารณาเพื่อลงพิมพ์วารสารอื่น
2. ต้นฉบับเป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ บนกระดาษ A 4 ส่งมาพร้อมกับ Diskket โดยพิมพ์บทความด้วยโปรแกรม MS.word 6 ขนาดกั้นบน 5/4" ล่าง 1" ซ้าย 5/4" ขวา 3/4" พร้อมสำเนาอีก 1 ชุด
3. มีความยาวไม่เกิน 8 หน้า

การลำดับเรื่อง

1. **ชื่อเรื่อง** (Title) ควรตั้งชื่อให้สั้นและสื่อความหมายได้ดี
2. **ชื่อผู้เขียนและผู้ร่วมงาน** (Author and co-workers) เขียนชื่อนามสกุลเต็มทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษใต้ชื่อเรื่องพร้อมทั้งสถานที่ทำงานที่จะติดต่อได้สะดวกเป็นหมายเหตุ (foot note)
3. **บทคัดย่อ** (Abstract) เขียนสั้นให้ได้เนื้อความคลุมเรื่องทั้งหมดโดยเฉพาะวัตถุประสงค์ วิธีการและผล ไม่ควรเกิน 3% ของตัวเรื่อง มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ แต่ละภาษาเขียนแยกหน้าต่างหาก
4. **คำสำคัญ** (Key words) เป็นคำหรือข้อความสั้น ๆ ที่มีความหมายแสดงถึงความเป็นไปของการทดลองนั้น ๆ รวมกันแล้วไม่เกิน 4 คำ หากไม่สามารถแปลเป็นภาษาไทยได้ให้ใช้ภาษาไทยสะกดทับศัพท์ อยู่ใต้บทคัดย่อ
5. **เนื้อหา** (Text) สำหรับงานวิจัยประกอบด้วย

5.1 **บทนำ** (Introduction) อธิบายถึงปัญหาและวัตถุประสงค์และควรมีการตรวจเอกสาร (literature review)

5.2 **อุปกรณ์และวิธีการ** (Materials and Methods) อธิบายเครื่องมือ อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง วิธีการที่ใช้ถ้าคิดค้นขึ้นควรอธิบายอย่างละเอียด แต่ถ้าเป็นที่ทราบกันควรเขียนในลักษณะอ้างอิงถึง ถ้าเป็นเครื่องหมายตราหรือชื่อการค้า ควรทำเป็น foot note ไว้ที่ข้างล่างของหน้านั้น

5.3 **ผล** (Results) รายงานผลการทดลองเป็นคำบรรยาย ให้ละเอียดและเข้าใจง่าย โดยแบ่งเป็นหลาย ๆ ย่อหน้า และจัดข้อความที่มีเนื้อหาเดียวกันไว้ด้วยกัน หากเป็นไปได้ควรเสนอในรูปของตาราง หรือรูปภาพ หรือกราฟ พร้อมทั้งบรรยายประกอบ ทั้งนี้ตาราง รูป หรือกราฟ ไม่ควรแสดงผลที่เหมือนกัน

ตาราง (Tables) ควรพิมพ์ให้ชัดเจนเหมาะกับหน้า ต้องมีความหมายในตัวเอง และมีคำอธิบายตารางอยู่เหนือตารางนั้น ๆ

รูปภาพ (Figures) ควรเป็นภาพขาว-ดำ ภาพสีหากจำเป็นผู้เขียนต้องเสียค่าใช้จ่ายเอง อธิบายรายละเอียดไว้ใต้รูปนั้น ๆ

5.4 **วิจารณ์** (Discussion) เป็นการวิจารณ์ผลการทดลอง โดยมีจุดมุ่งหมาย เพื่อให้ผู้อื่นเห็นคล้อย ถึงหลักการที่แสดงออกมาจากผลการทดลอง หรือเพื่อสนับสนุน หรือคัดค้านทฤษฎีที่มีผู้เสนอมาก่อน หรือเพื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองและการตีความหมายของผู้อื่น ผู้เขียนควรพยายามเน้นถึงปัญหาหรือข้อโต้แย้งในสาระสำคัญของเรื่องที่กำลังกล่าวถึง ตลอดจนข้อเสนอแนะเพื่อการวิจัยในอนาคตและลู่ทางที่จะนำผลไปใช้เป็นประโยชน์

5.5 **สรุป** (Conclusion) เขียนใจความที่สำคัญและคุณค่าของงานเพื่อผู้อ่านจะได้เข้าใจได้ง่ายขึ้น

5.6 **กิตติกรรมประกาศ** (Acknowledgement) ควรมีในกรณีที่ได้รับความช่วยเหลือหรือความร่วมมือที่ได้การสนับสนุนงานค้นคว้าวิจัยนั้น ๆ

5.7 **เอกสารอ้างอิง** (References)

ก. **กรณีที่อ้างอิงในเนื้อเรื่อง** ควรอ้างอิงดังนี้คือ

1. กรณีที่อ้างจากการตรวจเอกสารโดยผู้อื่น ให้ใช้คำว่าอ้างถึงโดย (cited by)

2. กรณีผู้รายงานเอกสารเป็นคนไทย เมื่อเป็นประธานของประโยค เช่น นพพร (2539) หรือเมื่อรายงานงานอยู่กลาง หรือท้ายประโยค เช่น (นพพร, 2539), (วิไลและคณะ, 2532)

3. กรณีผู้รายงานเอกสารเป็นชาวต่างประเทศ เมื่อเป็นประธานของประโยค เช่น Lin และLee (1981), Kumagai และคณะ (1961) หรือเมื่อผู้รายงานอยู่กลางหรือท้ายประโยค เช่น (Lin and Lee, 1981) (Kumagai et al., 1961)

ข. **การเขียนเอกสารอ้างอิงท้ายเรื่อง** ควรขึ้นเอกสารอ้างอิงภาษาไทยก่อน เขียนเรียงตามลำดับพยัญชนะของผู้เขียน ถ้าเป็นภาษาอังกฤษใช้ชื่อสกุลตามด้วยชื่อย่อของผู้แต่ง แล้วตามด้วยชื่อเรื่อง ชื่อหนังสือ หรือชื่อย่อวารสาร ปีที่ ฉบับที่ และหน้าที่อ้างถึง ดังตัวอย่าง

กัญญา สุวินทรากร และอนุทิน หาญวีรพล 1991 (2534) การตรวจสอบหาไวรัสอหิวาต์สุกรไซน่าสเตรนชนิดผ่านกระต่าย โดยใช้เซลล์คัลเจอร์ เวชชสารสัตวแพทย์ 21(2) : 69-78

Johnson, R.H. and Collings, D.F., 1971. Transplacental infection of piglets with a porcine parvovirus. Res. Vet. Sci., 12 : 570-572.

หากเอกสารอ้างอิงเป็นตำราให้ระบุชื่อผู้เขียน ปีที่ตีพิมพ์ ชื่อเรื่อง ชื่อตำรา (พิมพ์ครั้งที่เท่าใด และบรรณาธิการ) สำนักพิมพ์ เมืองที่พิมพ์ หน้าแรกและหน้าสุดท้ายที่อ้างถึง ดังตัวอย่าง

Van Oirschot, J.T. 1986. Hog Cholera. In : Disease of Swine, 6th ed. Leman, A.D. ed., Iowa state university Press, Iowa. p. 293-297.

หมายเหตุ ชื่อทางวิทยาศาสตร์ทั้งภาษาอังกฤษและภาษาไทย ใช้ตัวอักษรที่ต่างจากตัวเรื่อง

การตรวจแก้ไข

คณะกรรมการขอสงวนสิทธิตรวจแก้ไขเรื่องที่ส่งมาพิมพ์ทุกเรื่อง ตามแต่จะเห็นควร ในกรณีที่จำเป็นจะส่งต้นฉบับเดิมหรือฉบับที่แก้ไขแล้ว ให้ผู้เขียนเพื่อตรวจความถูกต้องอีกครั้งหนึ่ง

ระยะเวลาในการนึ่งฆ่าเชื้อของสารละลาย PBS ปริมาตร 5 และ 10 ลิตร ในขวดแก้วโดยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำร้อน

รังสรรค์ รักษกุลวิทยา*

บทคัดย่อ

ศึกษาการเพิ่มอุณหภูมิภายใน chamber และสารละลาย PBS ที่บรรจุในขวดแก้วขนาด 5 และ 10 ลิตร ขณะนึ่งด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำร้อน โดยให้อุณหภูมิ chamber เริ่มต้นที่ 24°ซ. และอุณหภูมิสารละลาย PBS เริ่มต้นที่ 20°ซ. พบว่า chamber จะร้อนถึง 121°ซ. เมื่อใช้เวลา 9 นาที ส่วนในสารละลาย PBS ขนาด 5 และ 10 ลิตร ใช้เวลา 39 และ 55 นาที ตามลำดับ และได้ทำการหาระยะเวลาในการทำลายสปอร์ *Bacillus stearothermophilus* จำนวน 48 สปอร์/มล. ในสารละลาย PBS ที่ใส่ในขวดแก้วขนาด 5 และ 10 ลิตร เช่นกันพบว่าใช้เวลา 8 นาทีหลังจากอุณหภูมิเริ่มถึง 121°ซ.

เมื่อนำผลไปคำนวณหาเวลาในการนึ่งฆ่าเชื้อ (Sterilization time) ตาม Rubbo และ Gardner เพื่อหาเวลาในการนึ่งฆ่าเชื้อในสารละลาย PBS 5 และ 10 ลิตร ใช้เวลา 42 และ 58 นาที ตามลำดับ หลังจากอุณหภูมิ chamber เริ่มถึง 121°ซ.

คำสำคัญ : ระยะเวลาในการนึ่งฆ่าเชื้อ เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำร้อน

---

*ศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

บทนำ

การเตรียมสารเคมี อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารทดสอบ เพื่อใช้ในห้องปฏิบัติการและในขบวนการผลิตวัคซีน ต้องทำให้ปราศจากเชื้อ (Sterilization) วิธีการหนึ่งที่ใช้ คือการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำร้อน ที่ 121°ซ. (Rubbo and Gardner, 1965; Cruickshank, 1965; Baker and Breach, 1980; Fuerst, 1983; ชมรมโรคติดเชื้อแห่งประเทศไทย, 2536)

การเตรียมสารละลาย Phosphate buffer saline (PBS) สำหรับใช้ในโครงการผลิตวัคซีนป้องกันโรคสัตว์ปีกเพื่อสนับสนุนการส่งออก แต่ละครั้งมีปริมาตรมาก และเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำร้อน(Autoclave) ที่ใช้มีเทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิภายในเครื่อง (chamber) แต่ไม่มีเทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิในสารละลาย ดังนั้นขณะทำการนึ่งจึงไม่รู้ระดับอุณหภูมิที่แท้จริง ซึ่งมีผลให้การกำหนดเวลาในการนึ่งฆ่าเชื้อไม่เหมาะสม อาจน้อยเกินไปจนไม่สามารถทำลายจุลชีพได้ หรือมากเกินไปจนทำให้เสียค่าใช้จ่ายในการใช้พลังงานมาก การกำหนดเวลานึ่งฆ่าเชื้อที่ได้ผลดีและเหมาะสมที่สุด จำเป็นต้องรู้ Heat penetration time*(HPT) ของสารละลายและเวลาที่ใช้ในการทำลายจุลชีพที่อุณหภูมิกำหนดขณะบรรจุในภาชนะนั้นเพื่อนำไปหาค่า Sterilization time** ตาม Rubbo และ Gardner (1965)

จุดมุ่งหมายของการทดลองนี้เพื่อหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้ Autoclave นึ่งสารละลาย PBS ในขวดแก้วที่บรรจุ 5 และ10 ลิตรโดยเปรียบเทียบระดับอุณหภูมิ ณ เวลาที่เพิ่มขึ้นเมื่อวัดใน chamber และในสารละลาย PBS 5 และ 10 ลิตร รวมทั้งหาเวลาที่ใช้ในการทำลายสปอร์ *Bacillus stearothermophilus* 48สปอร์/มล.ในสารละลาย PBS 5 และ10 ลิตรเมื่อบรรจุในขวดดังกล่าว

---

* ระยะเวลาที่ความร้อนแทรกผ่านภาชนะ (สำหรับการทดลองนี้ คือขวดแก้ว) เข้าไปในสารละลายที่บรรจุอยู่ภายในจนสารละลายนั้นอุณหภูมิสูงถึงต้องการโดยเริ่มนับเมื่ออุณหภูมิ chamber ถึง 121°ซ. แล้ว

** ระยะเวลาในการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำร้อน (Sterilization time = Heat penetration time + Holding time[1] + Safety time[2])

[1] ระยะเวลาน้อยที่สุดที่ใช้ทำลายจุลชีพได้หมด เริ่มนับหลัง HPT

[2] ระยะเวลาที่เพิ่มเพื่อความแน่ใจว่าสามารถทำลายจุลชีพได้หมด ใช้ $^1/_2$ ของ Holding time

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำร้อน* แบบ 2 ประตู ระบบอัตโนมัติควบคุมด้วยไมโครคอมพิวเตอร์ที่มีจอภาพ แสดงการบันทึกเวลา อุณหภูมิ ความดันภายในตู้นึ่งระหว่างการทำงาน และพิมพ์ออกมาตรวจสอบได้ในแต่ละครั้งที่ใช้งาน แต่ไม่มีเทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิในสารละลายขณะนึ่งปริมาตรห้องนึ่ง 0.673 ลบ.ม. (กว้าง 60 ซม.Xยาว 122 ซม.Xสูง 92 ซม.)

2. สารละลาย PBS เตรียมได้จาก NaCl จำนวน80 กรัม KCl จำนวน2 กรัม$Na_2HPO_4 : 2H_2O$ จำนวน 5.7 กรัม และ KH_2PO_4 จำนวน 2 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น จนได้ปริมาตร 10 ลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย Magnetic stirror นาน 15-20 นาที (pH 6.9-7.1) ปริมาตรที่ใช้ทั้งหมด 820 ลิตร

3. ขวดแก้วชนิดฝาเกลียวทนความร้อน **สำหรับบรรจุสารละลาย PBS ขนาด 5 ลิตร 42 ขวด และ 10 ลิตร 58 ขวด

4. เทอร์โมมิเตอร์ชนิด Broken thermometer*** มีคุณสมบัติพิเศษสามารถวัดอุณหภูมิได้ ตั้งแต่ 0-150°ซ. และปรอทจะค้างที่อุณหภูมิสูงสุดของแต่ละครั้งการใช้งาน

5. แถบ (Strip) **** บรรจุสปอร์ของ *Bacillus stearothermophilus* $1.2x10^5$ สปอร์/แถบ จำนวน 36 แถบ เป็นindicator ในการทดสอบความสมบูรณ์การทำลายสปอร์

6. Casein soy bean broth เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อตรวจเชื้อ *Bacillus stearothermophilus* ที่หลงเหลืออยู่

วิธีการ

1. เตรียมอุปกรณ์ทุกอย่าง (ขวดแก้วฝาเกลียว น้ำกลั่น อาหารเลี้ยงเชื้อ) ให้สะอาดโดยการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วทดสอบให้แน่ใจว่าปราศจากเชื้อตามวิธีการของ DIFCO MANUAL (1953)

2. ใส่สารละลาย PBS บรรจุ 5 และ 10 ลิตร ตามปริมาตรของขวด อย่างละ 42 ขวด และ 58 ขวด ตามลำดับ

---

* เป็นของบริษัท Consolidated stills & Sterilizers U.S.A.ชนิด steromaster "MARK V" รุ่น SR

** ยี่ห้อ Duran Schott

*** เป็นของบริษัท LLOYD'S REGISTER QUALITY COMPANY

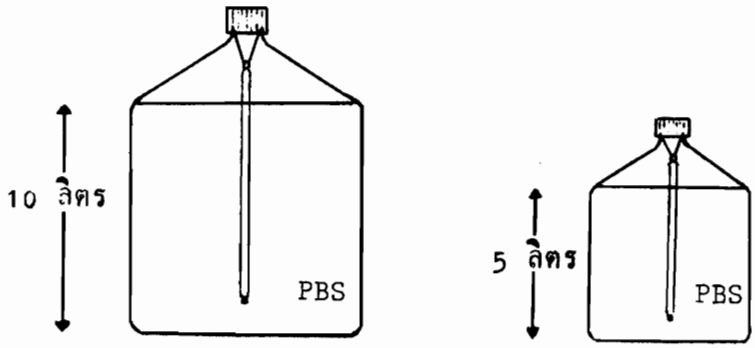
**** เป็นของบริษัท BAG-Biologisch Analysensystem GMBH

3. วิธีการเพื่อหา HPT

3.1 นำ Broken thermometer ใส่ลงในขวดสารละลาย PBS 5 และ 10 ลิตร อย่างละ 1 ขวดโดยให้กระเปาะของเทอร์โมมิเตอร์อยู่ในสารละลายตามรูปที่ 1 อ่านอุณหภูมิก่อนทำการนึ่ง

3.2 นำขวดบรรจุสารละลาย PBS ขนาด 5 และ 10 ลิตร พร้อมใส่เทอร์โมมิเตอร์อย่างละขวดต่อครั้งวางอยู่กลาง Autoclave ส่วนที่ว่างนำขวดใส่น้ำวางให้เต็มเครื่องเพื่อให้ใกล้เคียงกับการทำงานจริงตั้งอุณหภูมิเครื่อง 121°ซ. ความดัน 15 ปอนด์/นิ้ว เริ่มเดินเครื่องโดยตั้งเวลานึ่งเริ่มที่ 5 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาอ่านค่าอุณหภูมิและบันทึกผล

รูปที่ 1 การใช้ Broken thermometer ในขวดแก้วบรรจุสารละลาย PBS ขนาด 5 และ10 ลิตร



3.3. นำขวดสารละลาย PBS ขนาด 5 และ 10 ลิตรอย่างละขวด ทำเหมือนกับข้อ 3.2 โดยเพิ่มเวลาทดลองแต่ละครั้ง ๆ ละ 2 นาที จนกระทั่งอุณหภูมิในขวดทั้ง 2 ได้ 121°ซ. บันทึกอุณหภูมิจากปรอทไว้ทุกครั้ง

3.4. ทำการทดลอง ซ้ำ 2 ครั้ง

4. การหาระยะเวลาในการทำลายสปอร์

4.1 นำขวดสารละลาย PBS บรรจุ 5 และ 10 ลิตร ที่เตรียมไว้มาอย่างละ 6 ขวด แล้วใส่สปอร์ของ *Bacillus stearothermophilus* โดยใส่ในขวดขนาด 5 ลิตร จำนวน 2 แถบ และขวดขนาด 10 ลิตร จำนวน 4 แถบ แล้วกวนให้เข้ากันด้วย Magnetic stirror ซึ่งจะทำให้มีสปอร์จำนวน 48 สปอร์/มล. ในแต่ละขวด

4.2. นำสารละลาย PBS ที่ใส่แถบสปอร์แล้ว ขวดที่ 1 ทั้งปริมาตร 5 และ 10 ลิตร เป็นขวดควบคุมไม่ต้องนึ่งและนำไปตรวจหาเชื้อ *Bacillus stearothermophilus*

4.3. ส่วนที่เหลือแยกเป็น 5 คู่ คือ สารละลาย PBS มีสปอร์ ขนาดจุ 5 และ 10 ลิตร นำเข้า Autoclave โดยใช้เวลานึ่งต่างๆ กันคือ 6, 7, 8, 9และ 10 นาที ตามลำดับ โดยนับเวลาภายหลัง HPT

4.4. นำสารละลาย PBS มีสปอร์ที่นึ่งแล้วทั้งหมดมาตรวจเชื้อ *Bacillus stearothermophilus* ที่หลงเหลือ

5. การตรวจหาเชื้อ *Bacillus stearothermophilus*

โดยเพาะเลี้ยงใน Casein soy bean broth บ่มที่ 55-60°ซ. เป็นเวลา 7 วัน

ผลการทดลอง

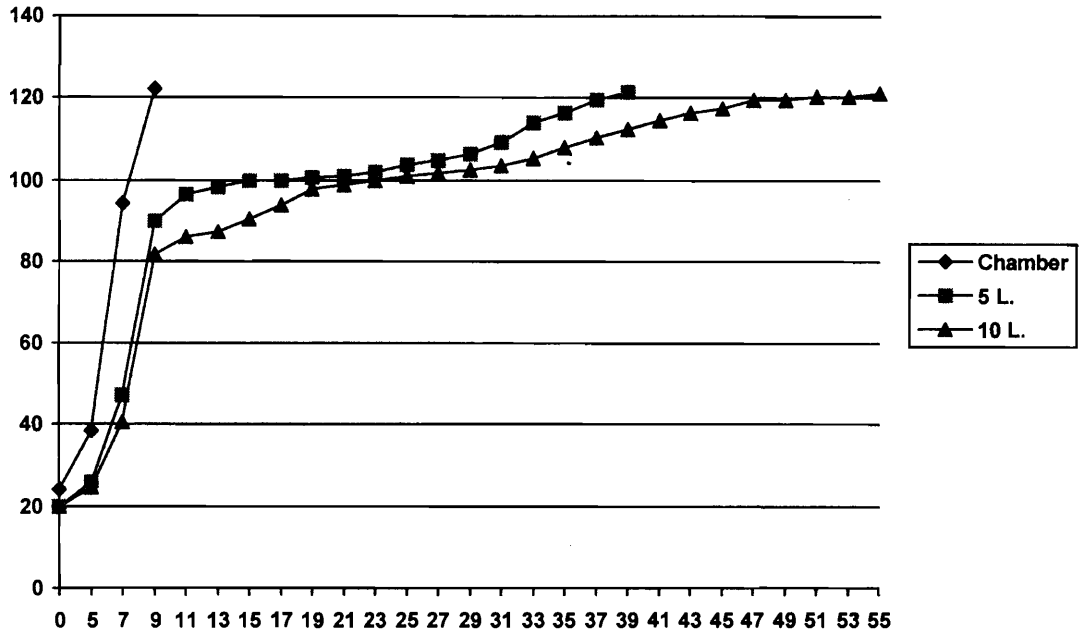
เมื่อใช้ Autoclave นึ่งสารละลาย PBS ในขวดแก้วขนาดบรรจุ 5 และ 10 ลิตรในระยะเวลาที่ค่อย ๆ เพิ่มขึ้นทุก 2 นาทีโดยทำการทดลองรวม 2 ครั้ง พบว่า ณ จุดที่เริ่มต้นอุณหภูมิใน chamber เป็น 24°ซ. แต่ในสารละลาย PBS 5 และ 10 ลิตร เป็น 20°ซ. เมื่อทดลองใช้เวลานึ่งเพิ่มขึ้นอุณหภูมิใน chamber เป็น 121°ซ. ใช้เวลา 9 นาที การนึ่งสารละลาย PBS ขนาด 5 ลิตร ใช้เวลาตั้งแต่เริ่มต้นจนถึง 121°ซ. นาน 39 นาที ส่วนสารละลาย PBS ขนาด 10 ลิตรใช้เวลา 55 นาที ตามตารางที่ 1 และรูปที่ 2

การใช้ Autoclave นึ่งสารละลาย PBS ที่มีสปอร์ *Bacillus stearothermophilus* ขนาด 48 สปอร์/มล. ขนาดบรรจุ 5 และ 10 ลิตรโดยใช้เวลา 6, 7, 8, 9 และ10 นาที ภายหลัง HPT และนำมาตรวจหาเชื้อด้วย Casein soy bean broth พบว่า ใช้เวลานึ่งทำลายสปอร์หมดที่ 8 นาทีทั้ง 2 ขวด ตามตารางที่ 2

ตารางที่ 1 อุณหภูมิ ขณะใช้ Autoclave ในสารละลาย PBSบรรจุ 5 และ 10 ลิตร ณ เวลาเริ่มต้นจนถึงอุณหภูมิ 121 °ซ.

เวลา (นาที)	อุณหภูมิ (ซ) ขณะใช้ Autoclave								
	ตู้นึ่ง			สารละลาย PBS 5 ลิตร			สารละลาย PBS 10 ลิตร		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย
0	24	24	24	20	20	20	20	20	20
5	38.3	38.5	38.4	25	27	26	24	25	24.5
7	94.4	94.5	94.45	46	48	47	40	41	40.5
9	122.15	122.4	122.275	89	91	90	80	83	82
11				96	97	96.5	85	87	86
13				98.5	98.5	98.5	88	87	87.5
15				100	100	100	90	91	90.5
17				100	100	100	93	95	94
19				101	100.5	100.75	96	100	98
21				101	101	101	98	100	99
23				102	102	102	99	101	100
25				104	104	104	101	101	101
27				105	105	105	101.5	102	101.75
29				107	106	106.5	102	103	102.5
31				109	110	109.5	102	105	103.5
33				112	116	114	105	106	105.5
35				115	118	116.5	108	108	108
37				119	120	119.5	110	111	110.5
39				121.5	122	121.5	110	115	112.5
41							113	116	114.5
43							115	118	116.5
45							117	118	117.5
47							119	120	119.5
49							119	120	119.5
51							120	120.5	120.25
53							120	121.0	120.5
55							121	121.5	121.25

รูปที่ 2 กราฟแสดงอุณหภูมิเฉลี่ยใน chamber, ในขวดแก้วบรรจุสารละลาย PBS 5 และ 10 ลิตร เมื่อใช้ Autoclave จากเริ่มต้นจนถึงอุณหภูมิ 121ซ.



ตารางที่ 2 ผลการตรวจหา *Bacillus stearothermophilus* ใน Casein soy bean broth หลังจากใช้ Autoclave นึ่งสารละลาย PBS ขนาดบรรจุ 5 และ 10 ลิตรที่มี 48 สปอร์/มล. นาน 6 , 7 , 8 , 9 และ 10 นาที ภายหลัง HPT

ขวดที่	ระยะเวลานึ่ง หลัง HPT (นาที)	ผลการตรวจหาเชื้อใน Casein soy bean broth สารละลาย PBS + สปอร์	
		ปริมาตร 5 ลิตร	ปริมาตร 10 ลิตร
Control	-	+	+
1	6	+	+
2	7	+	+
3	8	-	-
4	9	-	-
5	10	-	-

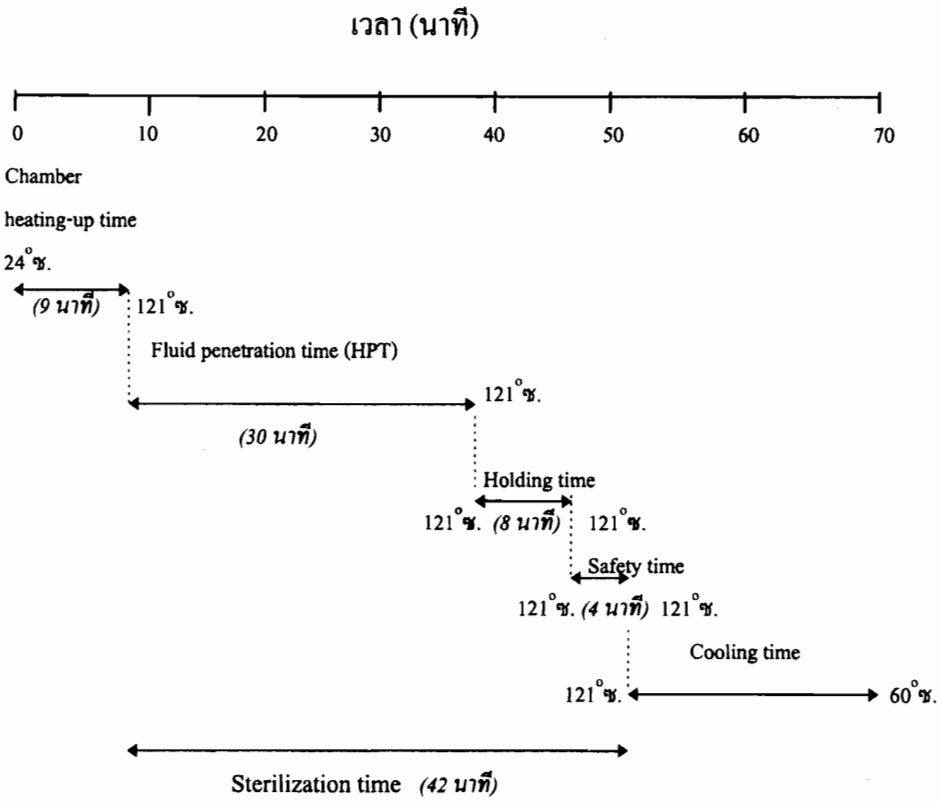
วิจารณ์

การใช้ Autoclave เพื่อนึ่งฆ่าเชื้อสารละลาย PBS บรรจุขวดแก้วขนาด 5 และ 10 จะได้ค่า HPT (คำนวณได้จากระยะเวลาเริ่มนึ่งจนถึง 121°ซ. หักออกด้วยเวลาที่ chamber ร้อนถึง 121°ซ.) เท่ากับ 30 (39-9) และ 46 (55-9) นาที ตามลำดับ ซึ่งจะสอดคล้องกับ Rubbo และ Gardner (1965) คือ ปริมาตรของเหลวมีอิทธิพลต่อ HPT โดยของเหลวปริมาตรมากจะมี HPT มากกว่าของเหลวปริมาตรน้อย

ส่วนค่า Holding time ซึ่งเป็นระยะเวลาที่ใช้ทำลาย สปอร์ของ *Bacillus stearothermophilus* 48 สปอร์/มล. ในสารละลาย PBS ขนาด 5 และ 10 ลิตร จะเท่ากัน คือ 8 นาที การใช้สปอร์นี้ในการทดลองเพราะเป็นสปอร์ของแบคทีเรียพวก Obligate thermophile คือทนความร้อนที่อุณหภูมิสูงได้ดังนั้นระยะเวลานี้ จึงสามารถทำลายจุลชีพอื่นๆได้

ดังนั้นการคำนวณหา Sterilization time ตาม Rubbo และ Gardner (1965) ของสารละลาย PBS มี 48 สปอร์/มล. ในขวดแก้วขนาดบรรจุ 5 ลิตร จะเท่ากับ 42(30+8+4) นาที ตามรูปที่ 3 ซึ่งใกล้เคียงกับ Rubbo และ Gardner (1965) ที่ทำใน Flask ขนาด 5 ลิตร ซึ่งใช้เวลา 40 นาที และของสารละลาย PBS มี 48 สปอร์/มล. ในขวดแก้วขนาดบรรจุ 10 ลิตร เท่ากับ 58 (46+8+4) นาที

รูปที่ 3 ตัวอย่างแผนภูมิแสดงระยะเวลาช่วงต่างๆ ของการนึ่ง PBS ขนาดบรรจุ 5 ลิตร มี 48 สปอร์/มล. ที่รวมเป็น Sterilization time ตาม Rubbo และ Gardner (1965)



สรุป

สรุปได้ว่าการทำให้ปราศจากเชื้อโดยใช้Autoclaveเครื่องเดียวกันนึ่ง PBS ในขวดแก้วชนิดเดียวกัน อุณหภูมิเริ่มต้นของสารละลายเท่ากัน เวลาที่ใช้มีแนวโน้มแปรผันตามปริมาตรของสารละลาย คือปริมาตรสารละลายยิ่งมากจะยิ่งใช้เวลามาก เพราะเวลาที่ใช้ในการเพิ่มอุณหภูมิจนสูงถึงอุณหภูมิที่ต้องการจะนานขึ้นเมื่อปริมาตรเพิ่มขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณวันเพ็ญ คูณพะวงศ์ คุณฉวี มณีรัตน์ คุณประเสริฐ ชุ่มขุนทด และคุณจิราวรรณ ศรีรังกูร ที่ได้มีส่วนช่วยเหลืองานทดลองครั้งนี้จนสำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

ชมรมโรคติดเชื้อแห่งประเทศไทย 2536 การทำให้ปราศจากเชื้อและการทำลายเชื้อ พิมพ์ครั้งที่ 5 โครงการตำราศิริราช คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพ ฯ หน้า 1-4

Baker, F.J. and Breach, M.R. 1980. Medical Microbiological Techniques. Butter worth & Co (Publishing) Ltd. p.41

Cruickshank, R.1965. Medical microbiology. 11th Edition E.& S.Living stone Ltd. p.680-694

Fuerst, R. 1983. Microbiology in Health and Disease, 15th Edition W.B. Saunders company. p.637-638

Rubbo, S. and Gardner, J.F. 1965. A review of sterilization and disinfection as applied to medical. industrial and laboratory practice.Chicago,Year Book Medical Publishers. p.66-69

Difco manual. 1953. Difco manual of dehydrated culture media and reagents for microbiological and clinical laboratory procedures. 9th Edition. Difco Laboratories incorporated. p.195-197

The Sterilization Time of 5 and 10 Liters PBS Solution in Glass Bottles by Autoclave

Rangsan Rugskulvithaya*

Abstract

The time used for autoclave to increase the temperature of chamber and 5,10 litres PBS solution in glass bottle for sterilization were studied. It was found that the time for chamber, 5 and 10 litres PBS solution to heat up to 121°C are 9,39 and 55 mimutes respectively, when starting temperature of the chamber is 24°C and PBS solution is 20°C the time used for killing spores of *Bacillus stearothermophilus* at concentration of 45 spores/ml. in 5, 10 litres of PBS solution is 8 minutes after the temperature reach 121°C.

According to Rubbo and Gardner's formula; the optimum time to sterilize 5, 10 litres of PBS solution are 42 and 58 minutes respectively.

Key words : Sterilization time, Autoclave

---

*Veterinary Biologics Center, Pakchong, Nakornratchasima 30130.

การคัดเลือกปริมาณการใช้ที่เหมาะสม ของสารลดแรงตึงผิว (Montanide 80) ในอีมัลชั่นวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยสุกรชนิดรวม 3 ไทป์

นริศ ว่องวัฒนากูล* สินสมุทร นิลฉวี*

บทคัดย่อ

การคัดเลือกปริมาณการใช้ที่เหมาะสมของสารลดแรงตึงผิวในอีมัลชั่นวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยสุกรชนิดรวม 3 ไทป์ จากการทดสอบการกระจายตัวของวัคซีนในน้ำที่ 4°ซ (Dilution Test) และการปั่นที่ 4°ซ (Centrifugation Test) การตรวจสอบคุณสมบัติของอีมัลชั่นที่มีคุณลักษณะที่เหมาะสมจากการตรวจหาค่าการนำไฟฟ้าของอีมัลชั่นวัคซีน ที่ 4°ซ (Conductivity Test) และความหนืดที่ 25°ซ (Viscosity Test) วัคซีนผสมโดยใช้เทคนิคการกลับวัตภาค ให้คุณลักษณะที่เหมาะสมของอีมัลชั่นชนิดน้ำมันในน้ำ (oil in water,o/w) ที่ 4°ซ คือมีความคงตัวไม่น้อยกว่า 1 ปี โดยไม่แยกชั้น ความหนืดต่ำ

จากการศึกษาพบว่า เมื่อใช้ Eumulgin M8 ปริมาณคงที่ ที่ 4% w/v อีมัลชั่นที่ดีเกิดขึ้นได้เมื่อ Montanide 80 ใช้ตั้งแต่ 4.0% - 7.2% w/v ให้ค่าการนำไฟฟ้า 3,200 - 4,400 microsiemen ให้ค่าความหนืด 10.4 - 13.9 centipoise

คำสำคัญ : สารลดแรงตึงผิว อีมัลชั่น วัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยสุกร

---

* ศูนย์โรคปากและเท้าเปื่อย อ.ปากช่อง นครราชสีมา 30130

บทนำ

ศูนย์โรคปากและเท้าเปื่อยเริ่มทำการผลิตวัคซีนสุกรชนิดน้ำมันในระดับอุตสาหกรรมในปีพ.ศ.2533 เนื่องจากสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มโรคได้สูงและนานกว่าวัคซีนชนิดน้ำแบบเดิม (Bahnemann and Mesquita, 1987; Barteling and Vreeswijk,1991; Mekercher,1986) ซึ่งวัคซีนนี้เป็นอีมัลชั่นชนิดน้ำมันในน้ำ (oil in water,o/w) ที่อุณหภูมิ 4°ซ การผลิตใช้เทคนิคการกลับวัตภาค (phase inversion technique) ซึ่งจะมีความคงตัวดีกว่าการผสมแบบอื่น(พิมพร,2534) โดยใช้สารทำอีมัลชั่นที่มีคุณสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิว 2 ชนิด คือ Arlacel A และ Eumulgin M8

วัคซีนที่ผลิตได้จะต้องมีคุณลักษณะที่เหมาะสมของอีมัลชั่น คือเป็นอีมัลชั่นชนิด o/w มีความคงตัวที่ 4°ซ ไม่น้อยกว่า 1 ปี โดยไม่แยกชั้นแบบ creaming, flocculation หรือ coalescence(นวลจิรา, 2527; พิมพร,2534) วัคซีนมีความหนืดต่ำ เพื่อฉีดง่ายและสะดวกในขั้นตอนการผลิตซึ่งใช้เครื่องบรรจุวัคซีนแบบกระบอกสูบและเครื่องนับปริมาตรแบบดิจิตอล

เมื่อนำ Montanide 80 มาใช้แทน Arlacel A จึงต้องทดลองหาปริมาณการใช้ Montanide 80 ที่เหมาะสม เนื่องจาก Montanide 80 มีค่า hydrophilic-lipophilic balance number (HLB number) 2.6 (Seppic,1987a) ต่างกับ Arlacel A ซึ่งมีค่า HLB number 4.3 (ICI,1985) สำหรับ Eumulgin M8 มีค่า HLB number 9 -11 (Henkel,1997)

การทดลองนี้ใช้สูตรวัตภาคน้ำมันที่มี Eumulgin M8 ปริมาณคงที่ที่ 4% w/v และให้ Montanide 80 เปอร์เซนต์แตกต่างกัน แล้วคัดเลือกปริมาณการใช้ที่เหมาะสม ด้วย Dilution Test ที่ 4°ซ Centrifugation Test ที่4°ซ ตรวจสอบคุณสมบัติของอีมัลชั่นที่มีคุณลักษณะที่เหมาะสมด้วย Conductivity Test ที่ 4°ซ Viscosity Test ที่ 25°ซ ซึ่งจะมีประโยชน์ในการผลิตวัคซีนในระดับอุตสาหกรรม

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียม sample batch vaccine

1. การเตรียมวัตภาคน้ำ (aqueous phase)

ประกอบด้วย chloroformed Van Bekkum medium และ antigen (inactivated purified concentrated FMD virus) ตามมาตรฐานศูนย์โรคปากและเท้าเปื่อย ปั่นผสมให้เข้ากัน แบ่งได้ 39 ตัวอย่าง ๆ ละ 400 ซีซี

2. การเตรียมวัตภาคน้ำมัน (oily phase)

ประกอบด้วย mineral oil[a] และสารทำอีมัลชั่นที่เป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ 2 ชนิด ได้แก่

[a] Exxon, France.

Montanide 80[b] ซึ่งคือสาร Mannide monooleate (Seppic,1987a; Seppic, 1987b; Seppic, 1991) เป็น lipophilic type surfactant ให้อีมัลชั่น w/o ใช้ปริมาตรตั้งแต่ 2 - 9% w/v และ Eumulgin M8[c] ซึ่งคือสาร Oleyl cetyl alcohol with 7 - 8 molecule ethylene oxide เป็น hydrophilic type surfactant ให้อีมัลชั่นชนิด o/w ใช้ 4% w/v เมื่อผสมกันแล้ว นึ่งใน autoclave อุณหภูมิ 121°ซ นาน 90 นาที นำออกมาปั่นข้างนอกขณะร้อนด้วย Magnetic stirrer เพื่อให้สารผสมละลายเข้ากันได้ทั้งหมด ปั่นทิ้งไว้จนเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง เตรียม 39 ตัวอย่าง ๆ ละ 400 ซีซี

3. **การผสมวัคซีน**

ปรับอุณหภูมิของทั้งสองวัตภาคให้เท่ากัน ส่วนผสมของทั้งสองวัตภาคใช้อัตราส่วนเท่ากัน โดยขณะที่ปั่นวัตภาคน้ำมันด้วย homogenizer ขนาดเล็ก ให้ถ่ายเทวัตภาคน้ำลงในวัตภาคน้ำมันอย่างช้า ๆ จนหมด ปั่นต่อไปจนเป็นอีมัลชั่นวัคซีนชนิด w/o เมื่อให้ความเย็น 4°ซ อีมัลชั่นวัคซีนจะกลับวัตภาคอย่างช้า ๆ เปลี่ยนไปเป็นอีมัลชั่นวัคซีนชนิด o/w ที่คงตัวที่ 4°ซ

การทดสอบอีมัลชั่น

Dilution test (**การทดสอบการกระจายตัว**) **ที่ 4°ซ** โดยหยดวัคซีนลงบนน้ำ ดูการกระจายตัว ถ้ากระจายตัวดี จะละลายในน้ำเป็นสีน้ำนม แสดงว่าเป็นอีมัลชั่นชนิด o/w ถ้าไม่กระจายตัว แต่จับตัวเป็นหยดน้ำมันลอยอยู่บนผิวน้ำ แสดงว่าเป็นอีมัลชั่นชนิด w/o

Centrifugation test (**การปั่น**) **ที่ 4°ซ** (Mekercher,1986; Bahnemann and Mesquita,1987) โดยปั่นวัคซีน 3,000 รอบ/นาที นาน 30 นาที (1,400 g) ดูการแยกชั้นด้วยตาเปล่า วัคซีนต้องไม่แยกชั้น ควรเป็นเนื้อเดียวกันเนียนละเอียด

Conductivity Test (**การตรวจหาค่าการนำไฟฟ้า**) **ที่ 4°ซ** โดยใช้เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า (COND meter, model CM-1K) โดยนำ probe (Type CV-101S, cell constant=0.985 x 1) ที่มีสายนำไฟฟ้าต่อกับเครื่องวัด จุ่มลงไปในตัวอย่างวัคซีนให้ท่วม sensor อ่านผลเมื่อเข็มชี้ค่าตัวเลขหยุดนิ่ง

Viscosity Test (**การตรวจหาค่าความหนืด**) **ที่ 25°ซ** โดยเครื่องวัดค่าความหนืด แบบ BROOKFIELD VISCOSITY รุ่น LDVD-III และ UL ADAPTER ใช้ sample ปริมาตร 16 ml.

ผลการทดลอง

จากการทดลองผลิต sample batch วัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยสุกรชนิดน้ำมัน จำนวน 39 ตัวอย่าง วัคซีนลำดับที่ 1 ถึง 10 ซึ่งใช้ Montanide 80 2.0 - 3.8% w/v แยกชั้นตั้งแต่ 50.0%, 42.5%, 8.7%, 7.7% ตามลำดับ วัคซีนลำดับที่ 11 ถึง 36 ซึ่งใช้ Montanide 80 4.0 - 9.0% w/v ทำ

[b] Seppic, France. [c] Henkel, Germany.

Centrifugation test แล้ว ไม่แยกชั้น แต่ทำ Dilution Test แล้ว วัคซีนลำดับที่ 28 ถึง 36 ซึ่งใช้ Montanide 80 7.4 - 9.0% w/v ให้คุณลักษณะที่ไม่เหมาะสมของอีมัลชั่น คือเป็นชนิด w/o ดังนั้นวัคซีนลำดับที่ 11 ถึง 27 ซึ่งใช้ Montanide 80 4.0 - 7.2% w/v เป็น Good emulsion สามารถให้คุณลักษณะที่เหมาะสมของอีมัลชั่นวัคซีนได้ทั้งหมด และให้ค่าการนำไฟฟ้าที่ 4°ซ คือ 3,200 - 4,400 microsiemen ความหนืดที่ 25°ซ มีค่า 10.4 - 13.9 centipoise นั่นคือ Montanide 80 สามารถใช้ได้ตั้งแต่ 4.0 - 7.2% w/v และใช้ Eumulgin M8 คงที่ที่ 4% w/v (ตามตารางที่ 1 และ Figure 1)

วิจารณ์

การผลิตอีมัลชั่นในการทดลองนี้ มีปัจจัยครบถ้วนที่ทำให้อีมัลชั่นมีความคงตัว (พิมพร, 2534) คือ สารทำอีมัลชั่นละลายได้ทั้งในน้ำและน้ำมันอย่างสมดุลย์กัน ต้องมีปริมาณเพียงพอในการทำให้เกิดฟิล์มหุ้มรอบหยดวัตภาคภายในได้ทั้งหมด การใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ (ในสภาวะความเป็นด่างจะคงสภาพได้ดี) 2 ชนิดร่วมกัน ชนิดที่มีค่า HLB number ต่ำ ได้แก่ Montanide 80 กับชนิดที่มีค่า HLB number สูง ได้แก่ Eumulgin M8 เทคนิคการผสมที่ทำให้เกิดการไหลวนแบบ turbulent flow ใช้อัตราเร็วในการผสมสูงพอเหมาะ อุณหภูมิผสมควรเท่ากัน หรือใกล้เคียงกัน เวลาผสมต้องมากพอที่จะทำให้สารทำอีมัลชั่นละลายอยู่ในวัตภาคทั้งสองได้ในสภาพสมดุลย์

การทดลองนี้ใช้ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชนิดของอีมัลชั่นครบถ้วน (พิมพร,2534) คือ ปริมาณของสองวัตภาคมีเท่ากัน (phase volume ratio = 50:50) ลำดับการผสม (order of mixing) ถูกต้อง และใช้เทคนิคการกลับวัตภาค ซึ่งจะมีความคงตัวดีกว่าการผสมแบบอื่น

เนื่องจาก Montanide 80 และ Eumulgin M8 ไม่ใช่สารในกลุ่มเดียวกัน ดังนั้นวิธีการคัดเลือกปริมาณสารทำอีมัลชั่นที่เหมาะสมในการทดลองนี้ จะไม่สามารถใช้วิธีการประเมินหาค่า HLB ผสม (Required HLB) โดยประมาณของวัตภาคน้ำมัน ที่เรียกว่า HLB method เช่นการคำนวนหาสัดส่วน หรือใช้วิธี Alligation (นวลจิรา, 2527; พิมพร, 2534) ซึ่งวิธีนี้ยังไม่ใช่วิธีที่จะทำให้เกิดอีมัลชั่นที่ดีที่สุด เพียงแต่ต้องการเตรียมอีมัลชั่นที่ดีที่สุดจากสารทำอีมัลชั่นคู่ที่มีอยู่ ซึ่งควรมีโครงสร้างทางเคมีเหมือนกัน เพื่อให้มีความอิ่มตัวของส่วนประกอบที่ชอบน้ำ และชอบน้ำมันในอันดับที่เหมือนกัน จึงจะมีผลให้อีมัลชั่นมีความคงตัว เช่นการใช้ Span 80 และ Tween 80

HLB method เป็นเพียงแนวทางหยาบ ๆ เท่านั้นในการเลือกใช้สารทำอีมัลชั่นที่เหมาะสม (นวลจิรา, 2527) ในทางปฏิบัติจริงจะต้องทดลองประเมินผลควบคู่ด้วย เพราะบางครั้งค่าที่ทำนายได้จะไม่ตรงกับคุณสมบัติของอีมัลชั่นที่ผลิตได้จริง คืออาจเตรียมได้อีมัลชั่นที่ไม่คงตัว เนื่องจากมีปัจจัยอื่น ๆ มาเกี่ยวข้อง เช่น ชนิด และความเข้มข้นของสารทำอีมัลชั่น และ HLB method ไม่ใช่ปัจจัยชนิดเดียวที่ใช้

ในการเลือกระบบสารทำอีมัลชั่นที่เหมาะสม แต่ยังมีปัจจัยอื่น ๆ เกี่ยวข้องด้วย คืออัตราการละลายในวัตภาคน้ำมันของสารทำอีมัลชั่น ซึ่งถ้าไม่ละลายแล้ว จะไม่เกิดอีมัลชั่นที่คงตัว (พิมพร, 2534)

Dilution Test ที่ 4°ซ สามารถระบุชนิดของอีมัลชั่นได้ แต่ถ้าเป็นชนิด o/w จะระบุไม่ได้ว่าอีมัลชั่นคงตัวหรือไม่ ต้องทำ Centrifugation Test ที่ 4°ซ ด้วย นอกจากนี้ยังใช้แยกอีมัลชั่นชนิด w/o ออกได้

Centrifugation Test ที่ 4°ซ เป็นการทดสอบความคงสภาพของอีมัลชั่นแบบเร่ง (accelerated storage test) โดยการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วสูง จะสามารถเร่งการตกตะกอนของอีมัลชั่นได้ตาม Stoke's equation (พิมพร, 2534) หลังการปั่นแล้วอีมัลชั่นใดคงสภาพอยู่ได้โดยไม่แยกชั้น แสดงว่าวัคซีนมีความคงตัวไม่น้อยกว่า 1 ปี ที่ 4°ซ โดยมีความหนืดต่ำด้วย กรณีอีมัลชั่นเริ่มมีความหนืดต่ำลง ๆ หรือมีแนวโน้มที่จะแยกชั้นได้ง่าย วิธีนี้จะคัด Bad emulsion ออกได้

Conductivity test ที่ 4°ซ ตรวจสอบชนิดของอีมัลชั่นได้ ชนิด o/w ซึ่งมีน้ำเป็นวัตภาคภายนอกจะนำไฟฟ้าได้ดี ชนิด w/o ซึ่งมีน้ำมันเป็นวัตภาคภายนอก ไม่สามารถนำไฟฟ้าได้ (นวลจิรา, 2527; พิมพร, 2534) วัคซีนลำดับที่ 1-10 ซึ่งใช้ Montanide 80 2.0 - 3.8% w/v แยกชั้น ไม่มีสภาพเป็นอีมัลชั่นให้ค่าการนำไฟฟ้าไม่แน่นอน วัคซีนลำดับที่ 28 และ 29 ซึ่งใช้ Montanide 80 7.4 และ 7.6% w/v ไม่สามารถกลับวัตภาคได้ทั้งหมด ยังเป็น w/o อยู่ มีสภาพการนำไฟฟ้าได้น้อยลง วัคซีนตั้งแต่ลำดับที่ 30 ซึ่งใช้ Montanide 80 7.8% w/v ขึ้นไป ไม่กลับวัตภาคเลย จึงแทบไม่นำไฟฟ้า ดังนั้นค่าการนำไฟฟ้าสามารถบอกได้ว่า อีมัลชั่นวัคซีนที่ 4°ซ มีความหนืดมากขึ้นตามค่าที่ลดลง หรือมีความเหลวมากขึ้นตามค่าที่เพิ่มขึ้น (Figure 1)

Viscosity Test ที่ 25°ซ ของอีมัลชั่นวัคซีนจะต้องมีค่าต่ำ เพื่อให้ฉีดง่าย และ สามารถใช้กับเครื่องบรรจุวัคซีนแบบกระบอกสูบ และเครื่องนับปริมาตรแบบดิจิตอลได้ (Figure 1)

วัคซีนลำดับที่ 1 ถึง 10 ซึ่งใช้ Montanide 80 2.0 - 3.8% w/v ให้คุณลักษณะที่ไม่เหมาะสมของอีมัลชั่นวัคซีน โดยมีความหนืดต่ำ แต่แยกชั้นง่าย เนื่องจาก Eumulgin M8 มีปริมาณเกินสมดุลย์

วัคซีนลำดับที่ 11 ถึง 27 ซึ่งใช้ Montanide 80 4.0 - 7.2% w/v ให้คุณลักษณะที่เหมาะสมของอีมัลชั่น เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวทั้ง 2 ชนิด มีปริมาณเพียงพอสมดุลย์กัน และควรผลิตอีมัลชั่นที่ดีที่สุดจากค่ากึ่งกลางของ Montanide 80 หรือค่าการนำไฟฟ้า เพื่อไม่ให้อีมัลชั่นหนืดเกินไป หรือเหลวเกินไปจนอาจแยกชั้นได้

วัคซีนลำดับที่ 28 ถึง 36 ซึ่งใช้ Montanide 80 7.4 - 9.0% w/v ให้คุณลักษณะที่ไม่เหมาะสมของอีมัลชั่นวัคซีน คือเป็นชนิด w/o เนื่องจาก Eumulgin M8 ซึ่งเป็นสารกลุ่ม polyoxyethylene ที่มีความสำคัญอย่างมากในระบบการผสมแบบเทคนิคการกลับวัตภาค มีปริมาณน้อยเกินไป จนทำให้ได้อีมัลชั่นที่มีความหนืดสูง ซึ่งก็คือมีสารทำอีมัลชั่นไม่สมดุลย์กัน หรือมีไม่เพียงพอ(พิมพร,2534)

เมื่อใช้สารลดแรงตึงผิวชุดการผลิตชุดใหม่ โดยเฉพาะ Eumulgin M8 ควรหาปริมาณที่เหมาะสมของสารลดแรงตึงผิวที่จะใช้ในอีมัลชั่น ก่อนผลิตในระดับอุตสาหกรรม

ข้อเสนอแนะในการศึกษาต่อไป ศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติของ Arlacel A กับ Montanide 80 หรือกับสารชนิดเดียวกันตัวอื่น ๆ ในด้านปริมาณการใช้ และต้นทุนการผลิตในช่วงจุดสมดุลย์ต่างๆ

สรุป

การคัดเลือกปริมาณการใช้ที่เหมาะสมของสารลดแรงตึงผิวในอีมัลชั่นวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยสุกรชนิดรวม 3 ไทป์จากการทดสอบการกระจายตัวของวัคซีนในน้ำที่ 4°ซ และการปั่นที่ 4°ซ การตรวจสอบคุณสมบัติของอีมัลชั่นที่มีคุณลักษณะที่เหมาะสมจากการตรวจหาค่าการนำไฟฟ้าของอีมัลชั่นวัคซีนที่ 4°ซ และความหนืดที่ 25°ซ วัคซีนผสมโดยใช้เทคนิคการกลับวัตภาค ให้คุณลักษณะที่เหมาะสมของอีมัลชั่นชนิดน้ำมันในน้ำ (oil in water,o/w) ที่ 4°ซ คือมีความคงตัวไม่น้อยกว่า 1 ปี โดยไม่แยกชั้น ความหนืดต่ำ

จากการศึกษาพบว่า เมื่อใช้ Eumulgin M8 ปริมาณคงที่ ที่ 4% w/v อีมัลชั่นที่ดีเกิดขึ้นได้เมื่อ Montanide 80 ใช้ตั้งแต่ 4.0% - 7.2% w/v ให้ค่าการนำไฟฟ้า 3,200 - 4,400 microsiemen ให้ค่าความหนืด 10.4 - 13.9 centipoise

เมื่อใช้สารลดแรงตึงผิวชุดการผลิตชุดใหม่ โดยเฉพาะ Eumulgin M8 ควรหาปริมาณการใช้ที่เหมาะสมของสารลดแรงตึงผิว ก่อนผลิตในระดับอุตสาหกรรม เพื่อป้องกันปัญหา Bad emulsion

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นายสัตวแพทย์พยนต์ สินสุวงศ์วัฒน์ ผู้อำนวยการศูนย์โรคปากและเท้าเปื่อย สัตวแพทย์หญิง วัชรี สินสุวงศ์วัฒน์ และนายวรัญญู ชมเฟื่องแก้ว ที่ให้คำปรึกษา

เอกสารอ้างอิง

นวลจิรา อนุสสรนิติสาร 2527 เภสัชกรรมเทคโนโลยีของยาน้ำกระจายตัวและยากึ่งแข็ง ภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กราฟิคอาร์ท กทม หน้า 50 - 125

พิมพร ลีลาพรพิสิฐ 2534 อีมัลชั่นทางเครื่องสำอางค์ (cosmetic emulsion) ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ หน้า 1 - 208

Bahnemann,H.G.and Mesquita,J.A. 1987. Oil adjuvant vaccine against Foot and Mouth Disease (Pan American FMD Center, Pan American Health Organization, Caixa, Postal 589 20001,Rio De Janeiro,Brasil) Bol. Centr. Panam.Fiebre Aftosa, 53 : 25 - 30

Barteling,S.J. and Vreeswijk,J. 1991. Development in FMD vaccine. Central Veterinary Institute, Virology Complex. PO Box 365,8200 AJ, Lelystad, The Netherlands. Vaccine Vol.9 : 75 - 88

Henkel Thai.Ltd.1997. Eumulgin M8. June 1997. p 1

ICI Americas Inc.1985. Imperial Chemical Industries PLC. Surfactants Product Data. 54418C.0285 / February 1985. p 1 - 3

Mekercher,P.D. 1986. Oil adjuvants : Their use in veterinary biologics In : Advances in carriers and adjuvants for veterinary biologics. The Iowa State University Press. p 1 - 6

Seppic.1987a. Division Cosmetique-Phamacie, Paris Cedex 07, France. Montanide 80, Monograph,Toxicity and Uses. Vac.14,June 1987. p 1 - 4

Seppic.1987b. Division Cosmetique-Phamacie, Paris Cedex 07, France. Montanide : Adjuvants,Properties and Uses. Vac.17, June 1987. p 1 - 8

Seppic.1991. Division Cosmetique-Phamacie, Paris Cedex 07, France. Montanide adjuvants for oil based vaccine and injectables. Toxicology Data. p/0044/GB/01/May 1991. p 1 - 12

ตารางที่ 1 ผลการคัดเลือกปริมาณการใช้ที่เหมาะสมของสารลดแรงตึงผิวในอีมัลชั่นวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยสุกรชนิดรวม 3 ไทป์ และการตรวจสอบคุณสมบัติของอีมัลชั่นที่มีคุณลักษณะที่เหมาะสมเมื่อใช้ Montanide 80 ปริมาตรต่าง ๆ กันในการผลิต

วัคซีนลำดับที่	% w/v MONTANIDE 80	CONDUCTIVITY TEST ที่ 4°ซ microsiemen	VISCOSITY TEST ที่ 25°ซ Centipoise	DILUTION TEST ที่ 4°ซ	CENTRI-FUGATION TEST ที่ 4°ซ	EMUL-SION ที่ 4°ซ
1	2.0	-	10.0	-	แยก 50.0%	NO
2	2.2	-	10.2	-	แยก 50.0%	NO
3	2.4	-	10.7	-	แยก 50.0%	NO
4	2.6	-	10.9	-	แยก 50.0%	NO
5	2.8	-	11.1	-	แยก 50.0%	NO
6	3.0	-	11.4	-	แยก 50.0%	NO
7	3.2	-	11.7	-	แยก 50.0%	NO
8	3.4	-	11.9	-	แยก 42.5%	NO
9	3.6	-	12.4	-	แยก 8.7%	NO
10	3.8	-	12.5	-	แยก 7.7%	NO
11	4.0	4,400	10.4	o/w	ไม่แยกชั้น	Good
12	4.2	4,400	10.7	o/w	ไม่แยกชั้น	Good
13	4.4	4,300	10.9	o/w	ไม่แยกชั้น	Good
14	4.6	4,300	11.0	o/w	ไม่แยกชั้น	Good
15	4.8	4,300	11.6	o/w	ไม่แยกชั้น	Good
16	5.0	4,300	11.2	o/w	ไม่แยกชั้น	Good
17	5.2	4,300	11.4	o/w	ไม่แยกชั้น	Good
18	5.4	4,200	11.9	o/w	ไม่แยกชั้น	Good
19	5.6	4,000	13.8	o/w	ไม่แยกชั้น	Good
20	5.8	4,000	13.6	o/w	ไม่แยกชั้น	Best
21	6.0	3,900	13.2	o/w	ไม่แยกชั้น	Best
22	6.2	3,900	11.4	o/w	ไม่แยกชั้น	Good

วัคซีนลำดับที่	% w/v MONTANIDE 80	CONDUCTIVITY TEST ที่ 4°ซ microsiemen	VISCOSITY TEST ที่ 25°ซ Centipoise	DILUTION TEST ที่ 4°ซ	CENTRI-FUGATION TEST ที่ 4°ซ	EMUL-SION ที่ 4°ซ
23	6.4	3,700	10.9	o/w	ไม่แยกชั้น	Good
23.5	6.5	3,700	11.0	o/w	ไม่แยกชั้น	Good
24	6.6	3,700	10.9	o/w	ไม่แยกชั้น	Good
24.5	6.7	3,600	11.4	o/w	ไม่แยกชั้น	Good
25	6.8	3,600	12.0	o/w	ไม่แยกชั้น	Good
25.5	6.9	3,500	13.6	o/w	ไม่แยกชั้น	Good
26	7.0	3,500	13.1	o/w	ไม่แยกชั้น	Good
27	7.2	3,200	13.9	o/w	ไม่แยกชั้น	Good
28	7.4	2,200	14.4	w/o	ไม่แยกชั้น	Bad
29	7.6	1,200	16.1	w/o	ไม่แยกชั้น	Bad
30	7.8	0.2	18.4	w/o	ไม่แยกชั้น	Bad
31	8.0	0.2	17.6	w/o	ไม่แยกชั้น	Bad
32	8.2	0.2	19.6	w/o	ไม่แยกชั้น	Bad
33	8.4	0.2	24.0	w/o	ไม่แยกชั้น	Bad
34	8.6	0.2	28.1	w/o	ไม่แยกชั้น	Bad
35	8.8	0.2	221.0	w/o	ไม่แยกชั้น	Bad
36	9.0	0.2	239.0	w/o	ไม่แยกชั้น	Bad

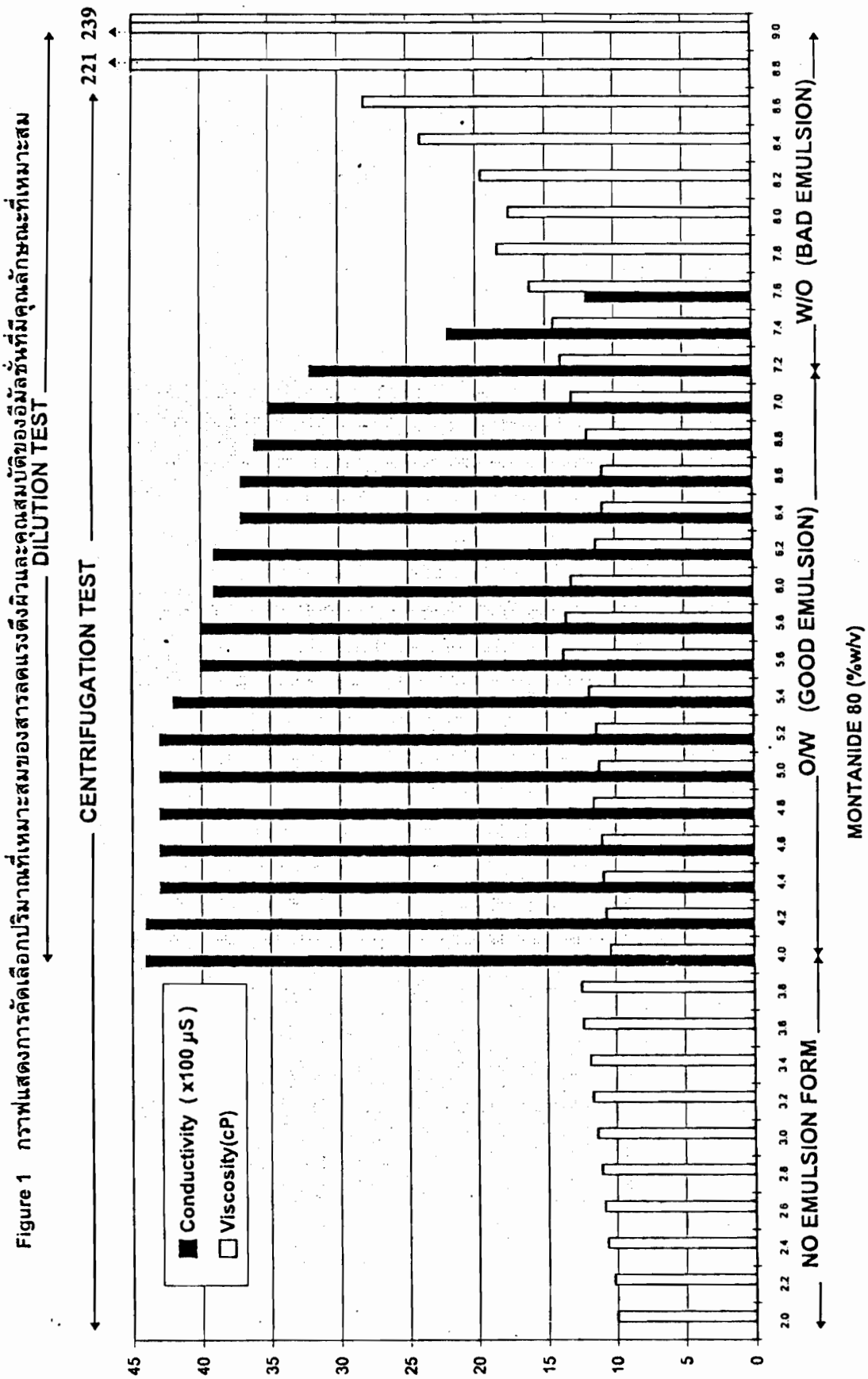


Figure 1 กราฟแสดงการคัดเลือกปริมาณที่เหมาะสมของสารลดแรงตึงผิวและคุณสมบัติของอีมัลชันที่มีคุณลักษณะที่เหมาะสม

Selection Of Optimum Quantity Of Surfactant (Montanide 80) In Swine Trivalent Foot And Mouth Disease Oil Emulsion Vaccine

Narit Wongwattanakul* Sinsamut Ninchavee*

Abstract

Selection of optimum quantity of surfactant in swine trivalent FMD oil emulsion vaccine were tested by Dilution Test at 4°C and Centrifugation Test at 4°C. Verification of optimum characteristics of oil in water emulsion (o/w) at 4°C were tested by Conductivity Test at 4°C and Viscosity Test at 25°C. The vaccine, formulated by phase inversion technique, had the optimum characteristics at 4°C : stable not less than 1 year without phase separation, low viscosity value.

By using Eumulgin M8 at 4% w/v, it was found that good emulsion occured when Montanide 80 4.0 - 7.2% w/v were used. Conductivity were 3,200 - 4,400 microsiemen. Viscosity were 10.4 - 13.9 centipoise.

Key words : Surfactant, Emulsion, Swine FMD Vaccine

---

* Foot and Mouth Disease Center, Pakchong, Nakornratchasima 30130.

การตรวจหาเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร สเตรนไชน่า ในสุกรที่ฉีดวัคซีน

กัญญา สุวินทรากร* กมลทิพย์ ธัญพิมล*

บทคัดย่อ

ทำการหาเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร สเตรนไชน่า จากเลือดและอวัยวะ ได้แก่ ม้าม ต่อมน้ำเหลือง ทอนซิล ไตของสุกรที่ฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกร นาน 7, 14, 21 และ 28 วันโดยวิธี Rabbit inoculation test, Swine inoculation test, Fluorescent antibody tissue section technique และ Fluorescent antibody cell culture technique พบว่าสามารถตรวจหาไวรัส สเตรนไชน่า ภายหลังจากฉีดวัคซีนนาน 7 วันจากอวัยวะ และนาน 14 วันจากเลือด ส่วนวิธีที่ให้ผลสูงสุดคือ Swine inoculation test

คำสำคัญ : การตรวจหา อหิวาต์สุกร (สเตรนไชน่า) สุกรที่ฉีดวัคซีน

---

*ศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ ปากช่อง นครราชสีมา 30130

คำนำ

วัคซีนอหิวาต์สุกร (swine fever vaccine, SV) ที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ เป็นวัคซีนเชื้อเป็นชนิดผ่านกระต่าย สเตรนไชน่า (China หรือ C strain) จากประเทศฮังการีเมื่อปี 2518 ซึ่งเป็น attennuated strain ไม่ทำให้เกิดโรคในสุกร เมื่อฉีดเข้าสุกรจะสามารถป้องกันโรคอหิวาต์สุกร (swine fever, SF) ได้ ภายหลังรับวัคซีนแล้ว 5 วัน (ฉาย, 2524) และมีความคุ้มอยู่ได้นานเกิน 1 ปี (สละ, 2529) แต่ทางงานผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรยังไม่เคยทำการศึกษาว่าไวรัสจากวัคซีนจะอยู่ในสุกรนานเท่าใด บางครั้งมีคำถามจากหน่วยงานที่วินิจฉัยโรค จึงทำให้ไม่สามารถให้คำตอบได้ ในการตรวจหาไวรัสเพื่อวินิจฉัยเชื้อ SF บางวิธีเช่น Fluoresent antibody technique (FAT) สามารถตรวจพบไวรัส สเตรนไชน่า เช่นเดียวกัน แม้จะตรวจหาได้ยาก (Mengeling and Torrey, 1967)

จุดประสงค์ของการทดลองนี้เพื่อตรวจหาไวรัส สเตรนไชน่า ในสุกรที่ฉีด SV ของกรมปศุสัตว์ ภายหลังฉีดแล้วนาน 7, 14, 21 และ 28 วัน โดยใช้วิธี Rabbit inoculation test (RIT), Swine inoculation test (SIT), Fluorescent antibody tissue section technique (FATST) และ Fluorescent antibody cell culture technique (FACCT)

อุปกรณ์และวิธีการ

สัตว์ทดลอง

สุกร : ปลอดภูมิคุ้มต่อ SF อายุ 2 เดือน จำนวน 40 ตัว สำหรับฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกร ชนิด สเตรนไชน่า เพื่อเก็บตัวอย่าง จำนวน 8 ตัว ตามตารางที่ 1 และใช้ใน SIT เพื่อหาไวรัสจากเลือด จำนวน 18 ตัว และจากอวัยวะ จำนวน 14 ตัว (ตามตารางที่ 2 และ 3)

กระต่าย : น้ำหนักตัวมากกว่า 2 กก.จำนวน 36 ตัว สำหรับใช้ใน RIT เพื่อหาไวรัสจากเลือด จำนวน 20 ตัว และจากอวัยวะ จำนวน 16 ตัว (ตามตารางที่ 2 และ 3)

ไวรัส

China strain : SV ชุด 23/39 โดยงานผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกร กรมปศุสัตว์

Swine fever virus (SF) : เชื้อพิษ ผลิตเมื่อ 26-2-39 มีปริมาณไวรัสต่อมล.เป็น 10^8 PID_{50} (50% Pig infective dose) โดยงานผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกร กรมปศุสัตว์

เซลล์เพาะเลี้ยง : ใช้ cell line คือ porcine kidney-15(PK-15) passage ที่ 58 จากสถาบันสุขภาพสัตว์และผลิตสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์

วิธีดำเนินการ

ใช้สุกร 8 ตัว ทุกตัวฉีดด้วย SV ขนาด 10 เท่า ของที่กำหนดให้ใช้ แบ่งเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 2 ตัว คือ กลุ่มที่ 1 เพื่อเก็บเลือดภายหลังฉีด SV นาน 7, 14, 21 และ 28 วัน ส่วนกลุ่มที่ 2-4 เพื่อเก็บอวัยวะภายหลังฉีด SV นาน 7,14 และ 21 วัน ตามลำดับ แล้วนำเลือดและอวัยวะที่เก็บไปตรวจหาไวรัส สเตรนไซน่า (ตามตารางที่ 1)

การเก็บเลือดและการนำไปใช้ : เจาะเลือดจาก jugular vein ครั้งละ 10 มล./ตัว โดยเขย่าให้เม็ดเลือดแดงแตกและแยกเอาส่วนที่เป็นของเหลวบรรจุ 2 มล./ขวด เก็บที่ -40°ซ. การนำไปใช้โดยละลายด้วย PBS 10 มล./ขวด ฉีดเข้ากระต่ายตัวละ 1 มล. และสุกรตัวละ 5 มล.

การเก็บอวัยวะและการนำไปใช้ : เก็บตัวอย่างอวัยวะ ได้แก่ ม้าม ต่อมน้ำเหลืองที่ลำไส้ ทอนซิล และไต

เก็บแยกแต่ละอวัยวะเพื่อตรวจหาไวรัสทาง FAT ส่วนหนึ่งทำ section เพื่อตรวจหาโดย FATST อีกส่วนหนึ่งนำมาบดย่อยเพื่อแยกเชื้อลงเซลล์ PK-15 สำหรับตรวจหาโดย FACCT

เก็บอวัยวะเพื่อตรวจหาไวรัสโดย RIT และ SIT โดยนำทุกอวัยวะๆ ละ 2 กรัม ของสุกรแต่ละตัวมาบดรวมในโกร่ง ใส่ PBS 15 มล. แล้วนำไปปั่นให้ตกตะกอน เก็บส่วนใสบรรจุ 2 มล./ขวด เก็บที่ -40°ซ. การนำไปใช้ โดยละลายด้วย PBS 10 มล./ขวด ฉีดเข้ากระต่ายตัวละ 1 มล. และสุกรตัวละ 5 มล.

ตารางที่ 1 การแบ่งกลุ่มสุกรที่ฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกร (SV) เพื่อเก็บเลือดและอวัยวะตรวจหาไวรัส สเตรนไชน่า ภายหลังรับวัคซีน 7, 14, 21 และ 28 วัน

กลุ่ม (Gr.)	เบอร์สุกรที่ฉีด SV	เก็บเลือดหรืออวัยวะภายหลังฉีด SV นาน (วัน)				ตรวจหา China strain โดยวิธี
		7	14	21	28	
1	6027	เลือด	เลือด	เลือด	เลือด	RIT & SIT
	6039	เลือด	เลือด	เลือด	เลือด	
2	0101	อวัยวะ	x	x	x	RIT, SIT, FATST, FACCT
	0800	อวัยวะ	x	x	x	
3	6110	-	อวัยวะ	x	x	RIT, SIT, FATST, FACCT
	6082	-	อวัยวะ	x	x	
4	6092	-	-	อวัยวะ	x	RIT, SIT, FATST, FACCT
	6107	-	-	อวัยวะ	x	

การตรวจหาไวรัส สเตรนไชน่า : โดยวิธี RIT, SIT, FATST และ FACCT

RIT : โดยฉีดตัวอย่างที่เก็บจากเลือดและอวัยวะเข้ากระต่าย และวันที่ 10 ฉีดด้วย seed สเตรนไชน่า บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิทุกวัน (กัญญา, 2529)

SIT : โดยฉีดตัวอย่างจากเลือดและอวัยวะเข้าสุกร หลังจากนั้น 14 วันฉีดพิษทับด้วย SF (สละ, 2529)

FATST : โดยตัดอวัยวะที่จะหาเชื้อไวรัสด้วย Cryostat แล้ว fix ด้วย acetone และย้อมด้วย anti-hog cholera fluorescein conjugate (anti HC.Fc) อ่านผลด้วยกล้องฟลูออเรสเซนต์ (Stair et al, 1963)

FACCT : เพาะเลี้ยงตัวอย่างจากอวัยวะใน PK-15 แล้วย้อมด้วย anti HC.Fc อ่านผลด้วยกล้องฟลูออเรส-เซนต์ (Mengeling et al, 1963)

ผล

การตรวจหาไวรัส สเตรนไชน่า จากเลือดสุกรที่ฉีด SV นาน 7, 14, 21 และ 28 วัน พบว่าโดย RIT ตรวจพบไวรัส 75% ในวันที่ 7 สำหรับโดย SIT ตรวจพบไวรัส 100% และ 25% ในวันที่ 7 และ 14 ตามลำดับ ตามตารางที่ 2

การตรวจหาไวรัส สเตรนไชน่า จากอวัยวะของสุกรที่ฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกรนาน 7, 14 และ 21 วัน โดย RIT ตรวจไม่พบไวรัส แต่โดย SIT พบที่ 7 วัน 100% การตรวจหาโดย FATST พบที่ 7 วัน ในทอนซิลของ 6082 และ 6107 ส่วนในอวัยวะอื่นคือ ม้าม ต่อมน้ำเหลือง ไต ตรวจไม่พบโดย FATST สำหรับการตรวจหาโดย FACCT ไม่พบไวรัสในอวัยวะใด ๆ ตามตารางที่ 3

ตารางที่ 2 การตรวจหาไวรัส สเตรนไชน่า จากเลือดของสุกรที่ฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกร (SV) นาน 7, 14, 21 และ 28 วัน

เบอร์สุกรที่ฉีด SV (Gr.I)	ระยะเวลาที่เก็บเลือดหลังฉีด SV (วัน)	ผลการตรวจหาไวรัส สเตรนไชน่า			
		วิธีฉีดเข้ากระต่าย (RIT)		วิธีฉีดเข้าสุกร (SIT)	
		ผล+/กระต่าย	% ผลบวก	ผล+/สุกร	% ผลบวก
6027	7	1/2	75%	2/2	100%
6039	7	2/2		2/2	
6027	14	0/2	0%	0/2	25%
6039	14	0/2		1/2	
6027	21	0/2	0%	0*/2	0%
6039	21	0/2		0*/2	
6027	28	0/2	0%	0*/2	0%
6039	28	0/2		0/2	
Control		2/2 (China strain) 0/2 (กระต่ายปกติ)		2/2 (เชื้อพิษ)	

* มีสุกร 1 ตัว ที่แสดงอาการป่วยด้วยโรคอหิวาต์สุกรแบบเรื้อรัง โดยตายภายหลังฉีดเชื้อพิษเกิน 30 วัน

ตารางที่ 3 การตรวจหาไวรัส สเตรนไซน่า จากอวัยวะของสุกรที่ฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกร (SV) นาน 7, 14 และ 21 วัน

เบอร์สุกรที่ฉีด SV	ระยะเวลาที่เก็บอวัยวะหลังฉีด SV (วัน)	ผลการตรวจหาไวรัส สเตรนไซน่า			
		RIT ผล+/ทั้งหมด	SIT ผล+/ทั้งหมด	FATST	FACCT
Gr.2 0101	7	0/2	2/2	-	-
0800	7	0/2	2/2	+▲	-
Gr.3 6110	14	0/2	0/2	-	-
6082	14	0/2	0/2	-	-
Gr.4 6092	21	0/2	0/2	-	-
6107	21	0/2	0*/2	-	-
Control		2**/2 0***/2	2****/2	-	-

* มีสุกร 1 ตัว ที่แสดงอาการป่วยด้วยโรคอหิวาต์สุกรแบบ subacute โดยตายภายหลังฉีดพิษทับนาน 25 วัน

** : Control เชื้อ China strain

*** : Control เชื้อพิษ

*** : Control กระต่ายปกติ

▲ : ที่ทอนซิล

วิจารณ์

การตรวจหาไวรัส สเตรนไชน่า จากเลือดและอวัยวะของสุกรหลังฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย สเตรนไชน่า เพื่อหาระยะเวลาที่ไวรัสนี้อยู่ในสุกร จากเลือดใช้วิธี RIT และ SIT ส่วนจากอวัยวะใช้วิธี RIT, SIT, FATST และ FACCT พบว่าวิธี SIT ให้ผล sensitive ที่สุดคือ พบไวรัสจากเลือดและอวัยวะภายหลังฉีดวัคซีนนาน 7 วัน 100% และนาน 14 วันจากเลือดพบ 25% ซึ่งใกล้เคียงกับ Terpsta, 1978 ที่รายงานว่าตรวจพบ C strain จนถึง 2 สัปดาห์หลังรับวัคซีนโดยวิธี direct-FAT สำหรับ Lin และ Lee, 1981 ตรวจพบ LPC strain ซึ่งมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับ China strain โดยวิธี FACCT ในทอนซิลจนถึง 10 วัน แต่ในเลือดตรวจไม่พบ

จากการทดลองครั้งนี้ วิธี RIT, FATST และ FACCT ให้ผลน้อยกว่า SIT อาจเนื่องจากไวรัส สเตรนไชน่า ในเลือดและอวัยวะมีปริมาณน้อย กัญญา, 2539 รายงานว่าการตรวจหาไวรัสนี้โดย RIT จะอ่านค่าได้ต่ำกว่า SIT ประมาณ 2 log ดังนั้นถ้าปริมาณไวรัสต่ำกว่า $10^2 SID_{50}$/มล. จะอ่านโดย RIT ไม่ได้ ส่วน Mengeling และ Torrey, 1967 ได้กล่าวว่าการตรวจหาไวรัส สเตรนไชน่า โดย FACCT ตรวจพบได้ยาก ผลในครั้งนี้การตรวจหาจากอวัยวะโดย RIT และ FACCT ไม่พบไวรัส และโดยFATST พบเฉพาะในทอนซิล โดยพบที่ระยะนาน 7 วัน 50% (1ใน2) อวัยวะอื่นคือ ม้าม ต่อมน้ำเหลืองที่ลำไส้ และไต ไม่พบ อนึ่งการตรวจโดย SIT ก็มีผลที่น่าสงสัยว่าอาจมีไวรัสเพราะจากเลือดและอวัยวะที่ 21 วัน และจากเลือดที่ 28 วัน ที่พบว่ามีสุกรทดสอบ SIT บางตัวแสดงอาการโรคอหิวาต์สุกรแบบเรื้อรังภายหลังฉีดพิษทับ ซึ่งสุกรที่แสดงอาการเรื้อรังนั้นเป็นไปได้ว่าอาจเนื่องมาจากสุกรนั้นรับไวรัส สเตรนไชน่า ที่มีปริมาณไวรัสน้อยมากจนไม่สามารถเพิ่มปริมาณที่จะกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มได้เพียงพอ แต่ทำให้ความรุนแรงของโรคน้อยลงและวิธี SIT ไม่ได้ตรวจหาตัวไวรัส สเตรนไชน่า โดยตรง แต่อ่านผลจากไวรัสจำนวนหนึ่งที่เข้าไปกระตุ้นให้สร้างภูมิคุ้มกันในสุกรได้ ดังนั้นวิธีการตรวจหาไวรัส สเตรนไชน่า ที่ sensitive กว่าวิธี SIT อาจได้ผลที่ต่างกัน

สรุป

เมื่อฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกร ของกรมปศุสัตว์ ซึ่งเป็นไวรัสเชื้อเป็นชนิด สเตรนไชน่า ให้สุกร ขนาด 10 เท่าของที่กำหนดให้ใช้ จะตรวจพบไวรัสนี้ในสุกรได้จนถึง 14 วันหลังฉีดวัคซีน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ น.สพ.สละ กองสมัคร ที่ช่วยกรุณาให้คำแนะนำ สพญ.วาสนา ภิญโญชนม์ และ สพญ.สุจิรา ปาจริยานนท์ ที่ช่วยให้ผลทาง FAT และเจ้าหน้าที่ในงานผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรทุกท่าน ที่ช่วยในการเก็บ specimen และดูแลสัตว์ทดลองทำให้การทดลองนี้สำเร็จด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กัญญา สุวินทรากร 2539 การตรวจหาปริมาณไวรัสอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย สเตรนไชน่า โดยวิธีฉีดกระต่าย การประชุมสัมมนาทางวิชาการกองผลิตชีวภัณฑ์ ครั้งที่ 3 2-5 กรกฎาคม 2539 : 61-69

ฉาย จอมเกาะ 2524 วัคซีนโรคไวรัสในสุกร 1. วัคซีนอหิวาต์สุกรกับการสร้างภูมิคุ้มกันในสุกรวิทยาภูมิคุ้มกัน วัคซีนและการประยุกต์ใช้ทางสัตวแพทย์ จัดพิมพ์โดยสัตวแพทย์สมาคมแห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมป์ บัณฑิตการพิมพ์ กรุงเทพ ฯ : 123-129

สละ กองสมัคร 2529 วัคซีนและสารวินิจฉัยโรคอหิวาต์สุกรในประเทศไทย เอกสารวิชาการกองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ ถ.พญาไท กรุงเทพฯ.: 36-39

Lin, T.C. and Lee, C.T.1981. An overall report and the development of a highly safe and potent lapinized hog cholera control in Taiwan : NSC Special Publication 5 : 26-38

Mengeling, W.L.and Torrey, J.P.1967. Evaluation of the fluorescent antibody cell culture test for hog cholera diagnosis. Amer.J.vet.Res, 28 : 1653-1659

Mengeling, W.L.; Pirtle, E.C.; and Torrey, J.P.1963. Identification of hog cholera viral antigen by immunofluorescence. Application as a diagnostic and assay method. Can. J. Comp. Med, 27 : 249

Stair, E.L. ; Rhodes, M.B. ; Aiken, J.M. ; Underdahl, N.R. ; and Young, G.A.1963. A hog cholera virus-fluorescent antibody system. Its potential use in study of embryonic infection. Proc; Soc Exp Biol Med 113 : 656

Terpstra, C.1978. Detection of C-strain virus in pigs following vaccination against swine fever. Tijdschr Diergeneeskd 103 : 678

Detection of Swine Fever Vaccine Virus, China Strain in Vaccinated Pig

Kunya Suvintarakorn* Kamonthip Thunpimon*

Abstract

The swine fever virus, China strain were detected from blood and organs (spleen, mesenteric lymph node, tonsil, kidney) at 7, 14, 21 and 28 days after inoculated pigs with swine fever vaccine, China strain, using four detected methods; rabbit inoculation test, swine inoculation test, fluorescent antibody tissue section technique and fluorescent antibody cell culture technique. The results indicated that the virus was detected from organs and blood at seven and fourteen days post-vaccination respectively. Swine inoculation test was found to be the most sensitive test.

Keywords : Detection, swine fever (China strain), vaccinated pig

---

*Veterinary Biologics center, Pakchong, Nakhonratchasima 30130.

การเปรียบเทียบความคุ้มโรคของวัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ ในเป็ดอายุ 3 และ 8 สัปดาห์

วันชัย ตีรถะวรวรรณ *

บทคัดย่อ

การทดสอบความคุ้มโรคของวัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ ที่ผลิตจากเชื้อ *Pasteurella multocida* serotype 8 : A ในเป็ดอายุ 3 และ 8 สัปดาห์ โดยการฉีดพิษทับหลังจากฉีดวัคซีน 2 สัปดาห์ พบว่ามีความคุ้มโรคตามมาตรฐานเช่นเดียวกัน คือ 83.33% และ 90% ตามลำดับ

คำสำคัญ : วัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ ความคุ้มโรค เป็ด

---

* ศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา 30130

คำนำ

โรคอหิวาต์เป็ด-ไก่ (Fowl cholera) เป็นโรคที่เกิดขึ้นในสัตว์ปีกหลายชนิด เกิดจากเชื้อ *Pasteurella multocida* สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคในเป็ดและไก่ คือ serotype A (Carter and Runnel, 1975) ทำให้เกิดการระบาดทั่วโลกและมีรายงานว่าเป็นสาเหตุที่สำคัญและพบมากที่สุดในสัตว์ปีกที่เป็นโรคอหิวาต์ในประเทศไทย (พรเพ็ญและคณะ, 2528) ส่วนใหญ่พบในเป็ด โรคนี้ทำความสูญเสียทางเศรษฐกิจให้แก่ผู้เลี้ยง

การป้องกันโรคนี้ทำได้โดยให้วัคซีนแก่สัตว์ วัคซีนที่ใช้มีทั้งวัคซีนเชื้อตาย (killed bacterins) (Carter, 1950 ; Heddleston, 1962) และวัคซีนเชื้อเป็นที่อ่อนแรง (Attenuated vaccine) (Bierer and Derieux, 1972 ; Rice et al, 1978) ในประเทศไทยมีการผลิตวัคซีนป้องกันโรคนี้ที่ศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ ซึ่งเป็นวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมจากเชื้อ *Pasteurella multocida* Serotype 8 : A สายพันธุ์ท้องถิ่น วิธีการผลิตตลอดจนมาตรฐานของวัคซีนเป็นไปตามวิธีของ Office International des Epizooties (OIE) ปี ค.ศ. 1992 โดยแนะนำให้เกษตรกรฉีดวัคซีนในเป็ดอายุ 8-12 สัปดาห์ แต่เกษตรกรมักนิยมฉีดวัคซีนชนิดนี้พร้อมกับวัคซีนกาฬโรคเป็ดเมื่ออายุ 3-4 สัปดาห์ วัตถุประสงค์ของการทดลองครั้งนี้เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนในการให้ความคุ้มโรคในเป็ดอายุ 3 สัปดาห์ โดยเปรียบเทียบกับเป็ด อายุ 8 สัปดาห์ และเป็นแนวทางในการแนะนำการใช้วัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ แก่เกษตรกรผู้เลี้ยงเป็ด

อุปกรณ์ และ วิธีการ

อุปกรณ์

1. วัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ ชุดที่ 28/41 ผลิตโดยศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ เป็นวัคซีนเชื้อตาย ชนิด whole cell bacterin เตรียมจากเชื้อ *Pasteurella multocida* serotype 8 : A เพาะเลี้ยงเชื้อใน Tryptose phosphate broth[1] (TPB) และ inactivate เชื้อด้วยฟอร์มาลิน 0.5% โดยปริมาตร มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 1×10^{10} CFU/ml

2. เป็ดทดลอง เป็ดพันธุ์ผสมกากีแคมเบลล์ จำนวน 80 ตัว คือ อายุ 3 และ 8 สัปดาห์อย่างละ 40 ตัว

3. เชื้อพิษ เป็นเชื้อชนิดเดียวกันกับที่ผลิตวัคซีน (homologous strain) โดยใช้เชื้อซึ่งเจริญใน TPB ที่อุณหภูมิ 37°ซ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

---

[1] Biotec, UK

วิธีการ

1. การฉีดวัคซีน ฉีดวัคซีนเข้ากล้ามเนื้อขนาดที่กำหนดให้ใช้ในท้องที่ คือ 1 มล/ตัว (1 โด๊ส) ให้เป็ดกลุ่มอายุละ 30 ตัว

2. การฉีดพิษทับ ภายหลังทำวัคซีน 2 สัปดาห์ ทำการฉีดพิษทับทั้ง 60 ตัว พร้อมทั้งเป็ดที่เหลือกลุ่มอายุละ 10 ตัว ที่ใช้เป็นกลุ่มควบคุมเชื้อพิษ โดยทำการฉีดเข้ากล้ามเนื้อขาหลังตัวละ 1 มล. ซึ่งมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 100 LD_{50}

3. การอ่านผล สังเกตอาการและบันทึกผลภายหลังฉีดพิษทับนาน 7 วัน โดยเป็ดต้องมีความคุ้มโรคไม่น้อยกว่า 70% (OIE,1992)

ผลการทดลอง

เมื่อทำการฉีดวัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ 1 โด๊สให้เป็ดอายุ 3 และ 8 สัปดาห์ กลุ่มละ 30 ตัว หลังจากนั้น 2 สัปดาห์ หาความคุ้มโดยฉีดพิษทับพร้อมกลุ่มควบคุมเชื้อพิษ พบว่าความคุ้มโรคเป็น83.33% และ 90% ตามลำดับดังตารางที่ 1 โดยทุกตัวในกลุ่มควบคุมตายภายใน 2 วัน

ตารางที่ 1 ความคุ้มโรคของวัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ ในเป็ดอายุ 3 และ 8 สัปดาห์ ภายหลังฉีดพิษทับ

เป็ดทดลอง		ผลหลังการฉีดพิษทับ	
อายุ	กลุ่ม	จำนวนรอด/ทั้งหมด	เปอร์เซนต์
3 สัปดาห์	ฉีดวัคซีน	25/30	83.33%
	ควบคุม	0/10	0%
8 สัปดาห์	ฉีดวัคซีน	27/30	90%
	ควบคุม	0/10	0%

วิจารณ์

การฉีดวัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ ในเป็ดอายุ 3 สัปดาห์ ซึ่งเป็นอายุที่น้อยกว่าที่แนะนำให้เกษตรกรใช้ (แนะนำที่ 8-12 สัปดาห์) สามารถให้ความคุ้มโรค 83.33% ถึงแม้จะน้อยกว่าในเป็ด อายุ 8 สัปดาห์ ซึ่งให้ความคุ้ม 90% แต่ได้มาตรฐานความคุ้มโรคของ OIE (1992) สาเหตุที่เป็ดอายุ 3 สัปดาห์ ให้ความคุ้มโรคน้อยกว่า

อาจเป็นเพราะปัญหาภูมิคุ้มกันจากแม่ (Maternal antibody) หรือความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันของลูกเป็ดเอง ซึ่งเป็นเรื่องที่ควรจะต้องศึกษาต่อไป ส่วนในเป็ดอายุ 6-8 สัปดาห์ ก็สามารถให้ภูมิคุ้มกันได้ผลตามมาตรฐานเช่นกัน (เกรียงศักดิ์และคณะ, 2530 ; อารีรัตน์และคณะ, 2530) จากการทดลองครั้งนี้สามารถแนะนำให้เกษตรกรใช้วัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ ได้ตั้งแต่อายุ 3 สัปดาห์ขึ้นไป ซึ่งเป็นการลดช่องว่างของการติดเชื้อโรคอหิวาต์เป็ด-ไก่ได้ และเป็นเรื่องที่ควรศึกษาต่อไปว่าเมื่อฉีดวัคซีนชนิดนี้พร้อมกับวัคซีนกาฬโรคเป็ดเมื่ออายุ 3 สัปดาห์ยังสามารถให้ความคุ้มโรคทั้ง 2 โรคได้หรือไม่เพียงใด

สรุป

วัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ เมื่อฉีดในเป็ดอายุ 3 สัปดาห์ ก็สามารถให้ความคุ้มโรคได้มาตรฐานเช่นเดียวกับเป็ดที่อายุ 8 สัปดาห์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสัตวแพทย์หญิง รัชนี อัตถิ ที่ให้คำแนะนำ และช่วยให้งานทดลองนี้สำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

เกรียงศักดิ์ สายธนู อารีรัตน์ พงษ์โสภิดา วิมลมาศ ลิปิพันธ์ พิณทิพย์ พงษ์เพ็ชร โสมทัต วงศ์สว่าง สันติ ถุงสุวรรณ และ เกรียงศักดิ์ พูนสุข 2530 วัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ และ กาฬโรคเป็ด 1. การศึกษาเปรียบเทียบแอ้ดจูแวนท์ เพื่อเตรียมวัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ สำหรับเป็ด : รายงานเบื้องต้น เวชชสารสัตวแพทย์ 17 (1) : 41-49

พรเพ็ญ พัฒนโสภณ สมาน พิพิธกุล ทิพา ตันติเจริญยศ และ นิดารัตน์ ไพรคณะฮก 2528 การศึกษาซีโรทัยป์ของเชื้อ *พาสเตอเรลล่า มัลโตซิด้า* สัตวแพทยสาร 36: 385-393

อารีรัตน์ ลออปักษา สันติ ถุงสุวรรณ เกรียงศักดิ์ สายธนู โสมทัต วงศ์สว่าง เกรียงศักดิ์ พูนสุข และ นิคม ชัยศิริ 2530 วัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ และ กาฬโรคเป็ด : 6. ภูมิคุ้มกันในเป็ดหลังจากฉีดแบคทีรินเตรียมด้วยวิธีต่างๆ กันจากเชื้อ พาสเตอเรลล่า มัลโตซิด้า เวชชสารสัตวแพทย์ 17(4) : 315-323

Bierer , B.W. and Derieux, W.T. 1972. Immunologic response to turkeys in an avirulent *Pasteurella multocida* vaccine in the drinking water. Poultry Sci. 51: 408-416.

Carter , G.R. 1950. Studies on *Pasteurella multocida* chicken embryo vaccine : 1. The comparative immunizing value of broth bacterins and chicken embryo vaccine in mice. Am. J. Vet. Res. 11: 252-255.

Carter , G.R. and Runnel , S.W. 1975. Identification of type A strain of *Pasteurella multocida* using *staphylococcal hyaluronidase.* Veterinary Record. 96:434-438.

Heddleston , K.L. 1962. Studies on pasteurelosis. V. Two immunologic types of *Pasteurella multocida* associated with fowl cholera. Avain Dis. 6:315-321.

Office International des Epizooties. 1992. Fowl Cholera, in: Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccine. 2nd Edition. Office International des Epizooties, Paris. p. 596-599.

Rice, J.T., Dick, J.W. and Bierer, B.W. 1978. Subcutaneous vaccination of chickens with alive, avirulent *Pasteurella multocida* vaccine Poultry Sci. 57:1514-1518.

The Comparative Potency Test of Fowl Cholera Vaccine in Three and Eight Weeks Old Ducks

Wanchai Teerataworawan *

Abstract

The comparative potency test of fowl cholera vaccine prepared from *Pasteurellamultocida* serotype 8 : A, was carried out in three and eight weeks old ducks. The result showed that the vaccine protected ducks in both groups. The protection of vaccine against direct challenge after 14 days of vaccination was 83.33% and 90% in three and eight weeks old ducks respectively.

Key words : Fowl cholera vaccine, potency, duck

---

* Veterinary Biologics Center, Pakchong, Nakhonratchasima 30130.

ผลของเบซิลลัส โตโยอิ ในน้ำดื่มกระต่ายต่อปริมาณไนโตรเจนในอุจจาระ ปัสสาวะ อัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร

ธิติ ศิริเจริญสุขศรี* จันทกานต์ อรณนันท์**

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของเบซิลลัส โตโยอิ ในกระต่ายอายุ 5 สัปดาห์ที่ได้รับเชื้อ จำนวน $3x10^{10}$ สปอร์ต่อวันจากน้ำดื่ม พบว่าปริมาณเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนที่ขับออกในอุจจาระรวมกับปัสสาวะเมื่อเทียบกับปริมาณไนโตรเจนที่ได้รับในรูปของโปรตีน เป็น 2.53 ส่วนกลุ่มควบคุมเป็น 2.94

ในการทดลองนี้กระต่ายมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารเป็น 1.26 กก./ตัว 18 กรัม/ตัว/วัน และ 2.17 ตามลำดับ ขณะที่กระต่ายกลุ่มควบคุมเป็น 1.04 กก./ตัว 14.86 กรัม/ตัว/วัน และ 2.3 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

คำสำคัญ : เบซิลลัส โตโยอิ น้ำดื่มกระต่าย

* ฝ่ายเพาะเลี้ยงสัตว์ทดลอง ศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

** กลุ่มงานวิเคราะห์อาหารสัตว์ กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ กรุงเทพมหานคร 10400

คำนำ

ฝ่ายเพาะเลี้ยงสัตว์ทดลอง ศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ เลี้ยงกระต่ายเพื่อผลิตและทดสอบคุณภาพวัคซีน ทำการเลี้ยงในกรงตับทึบ 3 ด้าน ด้านหน้ามีฝาโปร่งสำหรับปิด-เปิด ใต้กรงมีถาดสแตนเลสรองรับมูล เป็นผลให้การระบายอากาศไม่ดี มีการสะสมไนโตรเจน ซึ่งเกิดจากอุจจาระและปัสสาวะ เมื่อทำปฏิกิริยากับน้ำเกิดเป็นก๊าซแอมโมเนีย ซึ่งระคายเคืองต่อระบบทางเดินหายใจ อาจเกิดภาวะตับอักเสบ รวมทั้งให้ผลผลิตต่ำ (มาลินี, 2527) ได้แก้ไขด้วยการใช้พัดลมช่วยระบายอากาศ ทำความสะอาดโรงเรือน เก็บอุจจาระและปัสสาวะบ่อยขึ้นแต่ปริมาณก๊าซแอมโมเนียยังคงสูง

<u>เบซิลลัส</u> <u>โตโยอิ</u> เดิมมีชื่อว่า <u>เบซิลลัส</u> <u>ซีเรียส</u> (Chikuson-Shuppan-Sha, 1987) สามารถสร้างสปอร์และเจริญได้ทั้งสภาวะมีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน พบได้ในดิน มีการนำเชื้อนี้มาใช้เป็น probiotic* (Lilly and Stiwell, 1965) สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหาร คงทนในอาหาร น้ำย่อยในกระเพาะ และสภาพแวดล้อม (Kozasa, 1978) สามารถระงับและกำจัดแบคทีเรียที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย เช่น E. coli คงความสมดุลย์ของแบคทีเรียในลำไส้ เช่น Lactobacillus ลดปริมาณแอมโมเนียในลำไส้และกระแสเลือด (Kozasa, 1978)

จากการศึกษาพบว่าเชื้อ<u>เบซิลลัส</u> <u>โตโยอิ</u> สามารถลดปริมาณก๊าซแอมโมเนียได้โดยนำมาผสมอาหาร (Kozasa, 1986) ฝ่ายเพาะเลี้ยงสัตว์ทดลอง เคยทำการทดลองพ่นสปอร์ของเชื้อนี้ลงบนอาหาร แต่พบว่ามีการปนเปื้อนเชื้อรา จึงได้ทดลองนำเชื้อนี้ผสมน้ำให้กระต่ายกิน เพื่อศึกษาปริมาณไนโตรเจนในอุจจาระและปัสสาวะ อัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เชื้อ<u>เบซิลลัส</u> <u>โตโยอิ</u> ในรูปสปอร์**
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptose agar***
3. กระต่ายพันธุ์นิวซีแลนด์ไวท์ เพศผู้ อายุ 5 สัปดาห์ น้ำหนักประมาณ 600 กรัม จำนวน 20 ตัว เลี้ยงในกรง ๆ ละตัว

---

* การอยู่ร่วมกันของสิ่งมีชีวิต 2 ชนิด มีการสร้างประโยชน์ให้แก่กันและกัน

** บริษัท อาซาฮี เคมิคอล จำกัด

*** บริษัท Merck

4. ขวดน้ำ ขนาดบรรจุ 500 ซีซี จำนวน 20 ขวด ใช้ใส่น้ำสะอาดผสมเชื้อ เบซิลลัส โตโยอิ ให้กระต่ายกลุ่มทดลองกิน 10 ขวด และใส่น้ำสะอาดให้กระต่ายกลุ่มควบคุมกิน 10 ขวด

5. อาหารกระต่าย เป็นอาหารสำเร็จรูปอัดเม็ด โดยมีเปอร์เซ็นต์ส่วนประกอบดังนี้ โปรตีน 18.24 ไขมัน 4.45 กาก 11.58 และความชื้น 11.24

6. กรงเลี้ยงกระต่าย ขนาดกว้าง 45 ซม. ยาว 51 ซม. สูง 27 ซม. พื้นเป็นตะแกรงสี่เหลี่ยม มีถาดรองมูลห่างจากพื้นกรง 2 ซม. เจาะเป็นช่องขนาด 2 มม. ต่อท่อให้ปัสสาวะไหลลงขวดขนาด 200 มล. ซึ่งบรรจุสารละลายกรดซัลฟูริคเข้มข้น 35 เปอร์เซ็นต์ ใช้ 10 เปอร์เซ็นต์ในน้ำ

7. สารละลาย Phosphate Buffer Saline (PBS) pH 7.2 ใช้ล้างเชื้อ เบซิลลัส โตโยอิ ออกจากผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ

8. ตาชั่งขนาด 7 กก. ซึ่งมีความละเอียด 50 กรัม

9. อุปกรณ์ตรวจหาไนโตรเจน Kjeldhal apparatus

10. ตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20^{0}ซ ใช้เก็บตัวอย่างอุจจาระและปัสสาวะกระต่าย

วิธีการ

1. ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อเบซิลลัส โตโยอิ บน tryptose agar อุณหภูมิ 37^{0}ซ นาน 24 ชม. หลังจากนั้นล้างเก็บเชื้อด้วย PBS เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วัน เพื่อให้เชื้อสร้างสปอร์สมบูรณ์ หาจำนวนสปอร์ viable count โดยวิธี Spread plate technique (Baker, 1967)

2. แบ่งกระต่ายออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว กระต่ายกลุ่มได้รับเชื้อให้กินน้ำผสมสปอร์ของเชื้อ เบซิลลัส โตโยอิ จำนวน $2x10^{8}$ สปอร์ต่อน้ำดื่ม 1 มล. กลุ่มควบคุมให้กินน้ำสะอาดจากขวด ทั้งสองกลุ่มได้รับน้ำวันละ 150 มล.ต่อตัว

3. ชั่งน้ำหนักกระต่ายก่อนเริ่มทำการทดลอง สัปดาห์ละครั้งในวัน เวลาเดียวกัน นาน 10 สัปดาห์

4. หาประสิทธิภาพการใช้อาหาร (อัตราการแลกเนื้อ : ปริมาณอาหารที่กินในการเพิ่มน้ำหนักตัว 1 กก.) จากการให้กระต่ายกินอาหารสำเร็จรูปอัดเม็ดทุกวัน ระหว่างเวลา 09.00-15.00 น. โดยชั่งน้ำหนักอาหารส่วนที่เหลือ เพื่อหาส่วนที่กระต่ายกิน

5. การเก็บอุจจาระ ทุกวันก่อนให้น้ำและอาหาร กระต่ายแต่ละตัวจะถูกเก็บอุจจาระเพื่อชั่งน้ำหนัก และ ใช้ 20 เปอร์เซ็นต์บดให้ละเอียด เก็บที่อุณหภูมิ -20^{0}ซ (เมธา, 2533) เก็บครบ 7 วัน บรรจุ 1 ขวด เปลี่ยนขวดรวบรวมตัวอย่างเก็บตัวอย่างอุจจาระสัปดาห์ถัดไป ทำระยะเวลานาน 10 สัปดาห์ ส่งตัวอย่างไปยังศูนย์วิจัยอาหารสัตว์ปากช่อง เพื่อตรวจหาปริมาณไนโตรเจนในอุจจาระโดยวิธี Kjeldhal (Author and Vogel, 1961)

6. การเก็บปัสสาวะ ทุกวันก่อนให้น้ำและอาหารเก็บปัสสาวะกระต่ายแต่ละตัว จำนวน 20 เปอร์-เซ็นต์ เก็บที่ -20^{0}ซ ทำการรวบรวมและส่งตรวจหาปริมาณไนโตรเจนเช่นเดียวกับอุจจาระ

7. วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิธี t-test และ F-test เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณไนโตรเจน ในอุจจาระและปัสสาวะ อัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหาร

ผลการทดลอง

การให้กระต่ายกินน้ำที่มีเชื้อเบซิลลัส โตโยอิ จำนวน $3x10^{10}$ สปอร์ต่อวัน นาน 10 สัปดาห์ ระหว่างนั้นเก็บอุจจาระและปัสสาวะมาหาปริมาณไนโตรเจน พบว่ากระต่ายกลุ่มได้รับเชื้อมีค่าเฉลี่ยไนโตรเจนที่ขับออกมาในอุจจาระเท่ากับ 0.085 กรัมต่อตัว (กลุ่มควบคุม 0.089 กรัมต่อตัว) และในปัสสาวะมีค่าเฉลี่ยไนโตรเจนที่ขับออกมาเท่ากับ 1.69 กรัมต่อตัว (กลุ่มควบคุมเป็น 1.91 กรัมต่อตัว) (ตารางที่ 1) เมื่อเทียบกับปริมาณไนโตรเจนที่ได้รับในรูปของโปรตีน เปอร์เซ็นต์ค่าไนโตรเจนที่ขับออกมาในอุจจาระเท่ากับ 0.16 (กลุ่มควบคุมเท่ากับ 0.15%) ส่วนเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนที่ขับออกเท่ากับ 2.38 (กลุ่มควบคุม 2.79%) เมื่อรวมเปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยไนโตรเจนที่ขับออกทั้งอุจจาระและปัสสาวะเทียบกับที่ได้รับ จะเท่ากับ 2.53 (กลุ่มควบคุม 2.94%) ซึ่งกระต่ายกลุ่มได้รับเชื้อมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง เท่ากับ 1.26 กก. (กลุ่มควบคุม 1.04 กก.) อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย 18 กรัม/ตัว/วัน (กลุ่มควบคุม 14.86 กรัม/ตัว/วัน) และประสิทธิภาพการใช้อาหารเท่ากับ 2.17 (กลุ่มควบคุม 2.3) (ตารางที่ 2) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

วิจารณ์

การให้กระต่ายได้รับเชื้อ เบซิลัส โตโยอิ จำนวน $3x10^{10}$ สปอร์ต่อวัน จากน้ำดื่ม พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ปริมาณไนโตรเจนขับออกในอุจจาระและปัสสาวะน้อยกว่ากระต่ายกลุ่มควบคุม เท่ากับ 0.41 (2.94-2.53) เปอร์เซ็นต์ปริมาณไนโตรเจนขับออกในปัสสาวะน้อยกว่ากระต่ายกลุ่มควบคุม เท่ากับ 0.41 (2.79-2.38) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระดับความเชื่อมั่น 0.05 ($p< 0.05$) (ตารางที่ 1) เนื่องจากเชื้อ เบซิลลัส โตโยอิ ทำให้กระต่ายมีอัตราการย่อยได้สูงกว่ากระต่ายกลุ่มควบคุม (Hattori et al., 1984) ปรับสภาพจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารให้อยู่ในลักษณะสมดุลย์ (Oda et al., 1972) ผลิตเอนไซม์ได้หลายชนิด เช่น amylase protease วิตามินบี (Mori, 1979) มีการดูดซึมไนโตรเจนไปใช้ได้มากขึ้น (Shimura et al., 1977) ไนโตรเจนส่วนที่เหลือจากการดูดซึมถูกใช้โดยเชื้อเบซิลลัส โตโยอิ เปลี่ยนไนโตรเจนเป็นกรดอะมิโน (Urling et al, 1993) ทำให้ปริมาณไนโตรเจนในลำไส้ อุจจาระและปัสสาวะลดลง

กระต่ายกลุ่มได้รับเชื้อและกระต่ายกลุ่มควบคุมมีน้ำหนักเพิ่มตลอดการทดลอง เท่ากับ 1.26 กก. และ 1.04 กก. ประสิทธิภาพการใช้อาหารเท่ากับ 2.17 และ 2.30 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ($p< 0.05$) (ตารางที่ 2) เนื่องจากเชื้อเบซิลลัส โตโยอิ มีความคงทนทั้งในน้ำ อาหาร และสภาพความเป็นกรดในกระเพาะ (เยาวมาลย์, 2535 , 2537 ; Kozasa, 1986, 1988) ปรับสมดุลย์แบคทีเรียในระบบทางเดินอาหาร ยับยั้งและกำจัดแบคทีเรียที่เป็นอันตราย เช่น E. coli เพิ่มจำนวนแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ เช่น Lactobacillus (Hattori et al., 1984; Kimura et al., 1978; Kobayashi, 1978) เพิ่มอัตราการเจริญเติบโต มีการกินอาหารเพิ่มขึ้น (Yamanaka and Kametaka, 1993) และปรับปรุงประสิทธิภาพการใช้อาหาร (Chikusan-Shuppan-Sha, 1987; Kosaza, 1986, 1988; Lilly and Stillwell, 1965)

สรุป

การให้กระต่ายได้รับเชื้อเบซิลลัส โตโยอิ จำนวน $3x10^{10}$ สปอร์ต่อวันจากน้ำดื่ม ทำให้ปริมาณไนโตรเจนที่ขับออกในอุจจาระและปัสสาวะรวมกันน้อยกว่ากลุ่มควบคุม เท่ากับ 0.40 เปอร์เซ็นต์ ส่วนน้ำหนักตัวเพิ่มตลอดการทดลองเพิ่มขึ้น 220 กรัมต่อตัว ประสิทธิภาพการใช้อาหารเพิ่มขึ้น 0.13 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กระต่ายกลุ่มได้รับเชื้อมีสุขภาพสมบูรณ์ แข็งแรง ให้ผลผลิตดีกว่ากลุ่มควบคุม

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ น.สพ.โสภณ ท้วมแสง สพ.ญ.ทาริกา ประมูลสินทรัพย์ น.สพ.อัตพงศ์ นาคะปักษิณ คุณศรัณยา วิทยานุภาพยืนยง คุณอุดร ศรีแสง และคุณวัลภา เขียววิชัย ที่ช่วยให้คำแนะนำ ค้นเอกสาร วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในอุจจาระและปัสสาวะกระต่าย รวมทั้งพนักงานฝ่ายเพาะเลี้ยงสัตว์ทดลอง ช่วยปฏิบัติงานในการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

มาลินี ลิ้มโภคา 2527 พิษวิทยาและปัญหาที่พบในสัตว์ พิมพ์ครั้งที่ 2 โรงพิมพ์จรัลสนิทวงศ์ กรุงเทพมหานคร หน้า 305-306

เมธา วรรณพัฒน์ 2533 โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง หจก. ฟันนี่พับบลิซซิ่ง กรุงเทพมหานคร หน้า 434

เยาวมาลย์ ค้าเจริญ และสาโรช ค้าเจริญ 2535 การใช้โตโยเซอริน (Toyocerin) เป็นสารเร่งการเจริญเติบโตในไก่ไข่ สาสน์ไก่และการเกษตร ปีที่ 40 ฉบับที่ 9 กันยายน 2535 หน้า 37-40

เยาวมาลย์ ค้าเจริญ เชิดชัย รัตนเศรษฐากุล และวราภรณ์ ศกุลพงศ์ 2537 ผลของโปรไบโอติก <u>เบซิลลัสโตโยอิ</u> ในอาหารพ่อแม่พันธุ์ไก่เนื้อ ต่อสมรรถภาพการผลิต และการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน วารสารสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ปีที่ 4 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม-ธันวาคม 2539 หน้า 107-114

Author, I. and Vogel, D.Sc. 1961. A text book of Quantitative Inorganic Analysis Longmans. Third edition. 254-257

Baker, F.J. 1967. Handbook of bacteriological technique 2nd edition, Butterworth & Co. (Publishers) Ltd. London. 210-211

Chikuson-Shuppun-Sha. 1987. Probiotics(seikin-zai/seikin-rui).Feeding. 27(7) : 111-113

Hattori, Y., Kozasa, M. and Brenes, J. 1984. Effect of Toyocerin powder <u>Bacillus</u> <u>toyoi</u> on the Intestinal flora of rabbits. Proceedings of the 3th World Rabbit Congress, Roma. 279-286

Kimura, M. 1978. Application of Growgen as feed additive for domestic animals and fowls. Feed and Feed Industry .18(12) : 33-36

Kobayashi, A. 1978. Koralac B : Dried Animal-originated Bifidobacteria preperation. Feed and Feeding Industry.18(2) : 37-40

Kozasa, M. 1978. Probiotic Toyocerin for feed additive use. Feed and Feed Industry. 18(12) : 45-48

Kozasa, M. 1986. Probiotics <u>Bacillus</u> <u>toyoi</u> as growth promoter for animal feeding. Microbiology-Aliments-Nutrition. 4 : 121-13

Kozasa, M. 1988. Probiotics (viable bacteria preparations) for animal feeding. Fine Chemical. 17(8) : 37-49

Lilly, D.M. and Stiwell, R.H. 1965. Probiotics: growth-promoting factors produced by micro-organisms. J. Bact. 89 : 747

Mori, S. 1979. Miyarisan a probiotic. Feed and Feed Industry. 19(2) : 43-57

Oda, S., Nakano, K., Kanno, K., Yasukara, T., Miyata, M. and Ochai, H. 1972. Influence of oral administration of Bacillus toyoi on pathoginic E. coli in the a limentary tract of piglets with colibacillosis. The 73th Meeting of the Japanese Society of Veterinary Science, Tokyo

Shimura, T., Hoshino, Y., Yamane, Y., Hayano, K. and Kozasa, M. 1977. Studies on safety of Bacillus toyoi safety test in swine. Jui-Chikusan-Shimpo Journal of Veterinary Medicine. 738-740

Urling, HAP., Bijker, PGH., Logtestijin, JG. and Van-Logestin, JG. 1993. Fermentation of raw poultry by products for animal nutrition., Journal of Animal Science. 71(9) : 2420-2426

Yamanaka, M. and Kametaka, M. 1993. Collection urine and measurement of nitrogen metabolism in conventional and germ f ree mice by rearing method using chopped filter paper for bedding, Journal of the Japannese-Society of Nutrition and Food Science. 46(6) : 507-511

ตารางที่ 1 ปริมาณไนโตรเจนที่ขับออกมาในอุจจาระและปัสสาวะกระต่ายกลุ่มควบคุมและกลุ่มได้รับเชื้อ

สัปดาห์ที่	ปริมาณไนโตรเจน (กรัม/ตัว)						เปอร์เซ็นค่าเฉลี่ยไนโตรเจนที่ขับออกเทียบกับที่ได้รับในรูปโปรตีน					
	อุจจาระ		ปัสสาวะ		รูปโปรตีนที่กระต่ายได้รับ		จากอุจจาระ		จากปัสสาวะ		รวม	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1	0.08	0.075	0.93	0.7	36.66	29.64	0.22	0.25	2.53	2.36	2.75	2.61
2	0.095	0.095	0.76	0.58	26.9	19.06	0.35	0.5	2.83	3.04	3.18	3.54
3	0.1	0.095	1.35	1.26	57.57	54.26	0.17	0.18	2.34	2.32	2.51	2.5
4	0.08	0.07	1.7	1.83	82.99	74.69	0.1	0.09	2.05	2.45	2.15	2.54
5	0.085	0.08	1.84	1.7	71.74	75.61	0.12	0.11	2.56	2.25	2.68	2.36
6	0.09	0.075	2.01	1.89	87.1	85.82	0.1	0.09	2.31	2.2	2.41	2.29
7	0.085	0.09	2.29	1.92	78.25	97.68	0.11	0.09	2.93	1.97	3.04	2.06
8	0.09	0.085	2.52	2.29	87.73	94.94	0.1	0.09	2.87	2.41	2.97	2.5
9	0.09	0.085	2.77	2.28	73.33	92.75	0.12	0.09	3.78	2.46	3.9	2.55
10	0.09	0.1	2.97	2.47	80.71	107.43	0.11	0.09	3.68	2.3	3.79	2.39
รวม	0.885	0.85	19.1	16.92	682.98	731.88	1.5	1.58	27.89	23.76	29.39	25.34
เฉลี่ย	0.089	0.085	1.91	1.69	68.3	73.19	0.15	0.16	2.79	2.38	2.94	2.53

1 : กลุ่มควบคุม 2 : กลุ่มได้รับเชื้อ

ตารางที่ 2 ผลการกินเชื้อเบซิลลัส โตโยอิ ในน้ำดื่มต่อการเจริญเติบโตของกระต่าย

กระต่าย		น้ำหนักตัวเฉลี่ย (กก.)		ปริมาณการกินอาหารตลอดการทดลอง (กก.)	น้ำหนักตัวเพิ่มตลอดการทดลองเฉลี่ย (กก.)	อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย (กรัม/ตัว/วัน)	ประสิทธิภาพการใช้อาหารเฉลี่ย
กลุ่ม	จำนวนตัว	เริ่มต้น	สิ้นสุด				
ได้รับเชื้อ	10	0.612	1.876	2.734	1.26	18	2.17
ควบคุม	10	0.615	1.655	2.392	1.04	14.86	2.30

Effect of Bacillus toyoi in Rabbit Drinking Water, Nitrogen in Urine and Feces,Growth Rate and Feed Efficiency

Thiti Siricharoensooksi* **Chantakarn Aranun****

Abstract

The effect of $3x10^{10}$ Bacillus toyoi spores per day in 5 week old rabbit drinking water was studied. It was found that percent nitrogen in feces and urine compared with nitrogen received from food of treatment and control group were 2.53 and 2.94 respectively.

In this experiment, weight gain, growth rate and feed efficiency for treatment groups were 1.26 kg./ rabbit, 18 gm/rabbit/day and 2.17, while control group were 1.04 kg/rabbit, 14.86 gm/rabbit/day and 2.3 respectively which had some significantly difference.

Key words : Bacillus toyoi , rabbit drinking water

---

* Veterinary Biologics Center Pakchong, Nakornratchsima 30130.

** Animal Nutrition Laboratory, Animal Nutrition Division, Department of Livestocks, Phayathai, Bangkok, 10400.

จากกองบรรณาธิการ

วารสารชีวผลิตภัณฑ์ ฉบับที่ 1 เดือนมีนาคม 2541 ของปีที่ 8 กว่าจะรวบรวมได้ครบเล่มเกินเวลาที่กำหนดเกือบครบปี เพราะทุกเรื่องต้องผ่านคณะกรรมการตรวจสอบผลงานทางวิชาการของกองผลิตชีวภัณฑ์ ซึ่งแต่ละเรื่องต้องใช้เวลาพอสมควร แต่ทั้ง 5 เรื่อง มีความหลากหลาย มีผลการทดลองที่ให้ความรู้ที่น่าสนใจจากวัคซีนไวรัสและแบคทีเรีย รวมทั้งเรื่องราวเกี่ยวกับการใช้ Autoclave นึ่งสารละลายปริมาณมาก และผลของเบซิลลัส โตโยอิ ในน้ำดื่มกระต่าย ก็น่าสนใจเช่นกัน

กองบรรณาธิการคาดว่าวารสารฉบับหน้าคงจะออกสู่สายตาท่านอีกไม่นานหลังจากนี้

กองบรรณาธิการ