วารสารชีวผลิตภัณฑ์

ปีที่ 22 ฉบับที่ 1 มีนาคม 2556

สารบัญ

- **จากกองบรรณาธิการ** 6
- **ประสิทธิภาพของวัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อเป็น สเตรน ลาโซต้า ภายหลังการให้วัคซีนโดยวิธีต่าง ๆ ในไก่** 7
  กมลทิพย์ ธัญพิมล อัตพงศ์ นาคะปักษิณ
- **เปรียบเทียบประสิทธิภาพของวัคซีนกาฬโรคเป็ดในเป็ดพันธุ์กากีแคมเบลและพันธุ์บาร์บารี** 17
  กมลทิพย์ ธัญพิมล ดิถี ประเสริฐสุวรรณ
- **การผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ A Lopburi/2012** 25
  สมเกียรติ เพชรวาณิชกุล สมเกียรติ ศรีพิสุทธิ์
  กิ่งกานต์ บุญสุยา สีโย วิไล ลินจงสุบงกช
- **ระดับแอนติบอดีในโคนมในพื้นที่หลังฉีดวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย 2 ครั้ง และ 3 ครั้งต่อปี** 37
  สุกิจ ประทุมชัย อมรรัตน์ สวัสดิ์สิงห์ กิ่งกานต์ บุญสุยา สีโย
- **ระดับแอนติบอดีต่อวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยของโคเนื้อในจังหวัดมุกดาหารและสกลนคร** 47
  อมรรัตน์ สวัสดิ์สิงห์ สุกิจ ประทุมชัย กิ่งกานต์ บุญสุยา สีโย

The Journal of Veterinary Biologics

Volume 22 No.1 March 2013

Contents

- **The editorial** 6
- **Efficacy of Newcastle disease vaccine, La Sota strain, administration by different routes in chickens** 7
  Kamonthip Thunpimon Attapong Nakapaksin
- **Comparison of duck plague vaccine efficacy in Khaki Campbell and Barbary ducks** 17
  Kamonthip Thunpimon Dithi Prasertsuwan
- **Production of FMD vaccine type A Lopburi/2012** 25
  Somkiet Petvanichakul Somkiet Sripisuth
  Kingkarn Boonsuya Seeyo Wilai Linchongsubongkoch
- **Antibody titers in dairy cows after regular vaccination with foot and mouth disease vaccine, twice and three times a year under field condition** 37
  Sukit Prathumchai Amornrut Sawatsing Kingkarn boonsuya seeyo
- **Antibody titer against foot and mouth disease vaccine of beef cattle in Mukdahan and Sakon Nakhon provinces** 47
  Amornrat Sawatsing Sukit Prathumchai Kingkarn boonsuya seeyo

วารสารชีวผลิตภัณฑ์

The Journal of Veterinary Biologics

---

http://www.dld.go.th/biologic

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเผยแพร่งานวิชาการด้านชีวผลิตภัณฑ์
2. เพื่อเผยแพร่ความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการใช้ชีวผลิตภัณฑ์
3. เพื่อสนับสนุนการศึกษา ค้นคว้า และการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับชีวผลิตภัณฑ์
4. เพื่อเพิ่มพูนความรู้ ความก้าวหน้าทางวิชาการ

วารสารชีวผลิตภัณฑ์

The Journal of Veterinary Biologics

ที่ปรึกษาบรรณาธิการ	นิเทศ	เลิศลิมชลาลัย	**Advisory board**	Niteth	Lertlimchalalai
บรรณาธิการ	รัชนี	อัตถิ	**Editor**	Ratchanee	Atthi
หัวหน้ากองบรรณาธิการ	สหวัชร์	อึ้งวนิชบรรณ	**Editorial director**	Sahawatchara	Ungvanijban
กองบรรณาธิการ	วิไล	ลินจงสุบงกช	**Editorial board**	Wilai	Linchongsubongkoch
	จารุณี	สาตรา		Jarunee	Satra
	นพพร	พัฒนประสิทธิ์		Nopporn	Patanaprasit
	กมลทิพย์	ธัญพิมล		Kamonthip	Thunpimon
	วรพร	อ่ำเงิน		Woraporn	Amngoen
ฝ่ายจัดการวารสาร	สมเกียรติ	เลิศวิมลลักษณ์	**Manager**	Somkiat	Lerdwimonluk

สำนักงาน สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ กรมปศุสัตว์
อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130
โทรศัพท์ 0-4431-1476 ต่อ 123
โทรสาร. 0-4431-5931

Office: Bureau of Veterinary Biologics,
Pakchong, Nakhon Ratchasima,
Thailand 30130
Tel. 0-4431-1476 extension 123
Fax. 0-4431-5931

กำหนดออก ปีละ 2 ฉบับ เดือนมีนาคม และกันยายน

Publications: Twice a year in March and September

จัดพิมพ์โดย สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

ข้อแนะนำสำหรับผู้เขียน

วารสารชีวผลิตภัณฑ์ กำหนดออกปีละ 2 ฉบับ คือ เดือนมีนาคม และกันยายน

1. เรื่องที่จะนำลง

1.1 ผลงานวิจัย (Research article) เป็นการเสนอผลการวิจัยที่ผู้เขียนได้ทำขึ้นเอง มีการกำหนดปัญหาและวัตถุประสงค์ที่ชัดเจน มีการรวบรวมข้อมูล วิเคราะห์ สรุปและอภิปรายผลการวิจัยอันนำไปสู่ความก้าวหน้าทางวิชาการ

1.2 บทความทางวิชาการ (Technical article) เป็นงานเขียนขนาดสั้น ซึ่งมีการกำหนดประเด็นที่ชัดเจนโดยผู้เขียนเรียบเรียงจากผลงานทางวิชาการของตนเอง หรือของผู้อื่นในลักษณะที่เป็นการวิเคราะห์ วิจารณ์ หรือเสนอแนวความคิดใหม่ ๆ จากพื้นฐานทางวิชาการนั้นๆที่รวบรวมข้อมูลความคิดเห็นและประสบการณ์ ของผู้เขียน

1.3 บทความปริทรรศน์ (Review article) คือบทความที่รวบรวมผลงาน หรือแนวคิดเรื่องใดเรื่องหนึ่งโดยเฉพาะ ซึ่งเคยลงตีพิมพ์มาแล้ว นำมาวิเคราะห์ วิจารณ์ เพื่อให้เกิดความกระจ่างในเรื่องนั้นยิ่งขึ้น

1.4 เรื่องอื่น ๆ ที่คณะบรรณาธิการวารสารพิจารณาเห็นสมควร

2. การจัดทำต้นฉบับ

2.1 ต้นฉบับที่จะเผยแพร่ในวารสารชีวผลิตภัณฑ์ต้องได้รับการอนุมัติให้เผยแพร่จากต้นสังกัด และต้องไม่เป็นเรื่องที่เคยเผยแพร่หรืออยู่ระหว่างการพิจารณาเพื่อเผยแพร่ในสื่ออื่น

2.2 การพิมพ์ผลงานทางวิชาการ

2.2.1 ตัวพิมพ์ ใช้ตัวอักษร Angsana New แบบปกติ ขนาด 15 ชื่อหัวข้อใหญ่ เช่น **ชื่อเรื่อง บทคัดย่อ บทนำ อุปกรณ์และวิธีการ ผล วิจารณ์ สรุป กิตติกรรมประกาศ และ เอกสารอ้างอิง** ใช้ตัวอักษรแบบหนา (Bold) ขนาด 17 ส่วนหัวข้อย่อย เช่น **คำสำคัญ ตาราง รูปภาพ** เป็นต้น พิมพ์โดยใช้ตัวอักษรแบบหนา ขนาด 15

2.2.2 กระดาษที่ใช้พิมพ์ ใช้กระดาษ A4 พิมพ์หน้าเดียว จำนวนไม่เกิน 10 หน้า

2.2.3 การเว้นที่ว่างขอบกระดาษ ด้านบนที่ 6.5 ซม. และด้านซ้ายที่ 4.5 ซม. ส่วนด้านขวาและล่างที่ 1.5 ซม.

2.2.4 การลำดับหน้า ใช้หมายเลข 1,2,3…... ที่กึ่งกลางหน้า ด้านบน และใช้ตัวอักษรปกติ ขนาด 15

2.2.5 ตาราง รูปภาพ แผนภูมิ กราฟ จัดพิมพ์แยกหน้าเฉพาะ และจัดวางหลังเอกสารอ้างอิง โดยมีรายละเอียดดังนี้

- ตาราง ระบุเลขที่ของตาราง (table number) ชื่อของตาราง (table title) หัวตาราง (table heading) และที่มาของตาราง (ถ้ามี) ให้ทำเป็นภาษาอังกฤษหรือภาษาไทยทั้งตาราง พิมพ์อยู่ในหน้าเดียวกันทั้งหมด ถ้าตารางมีความยาวเกิน 1 หน้า ให้พิมพ์ส่วนที่เหลือในหน้าถัดไปโดยพิมพ์เลขที่ตารางและตามด้วยคำว่า (ต่อ) คำบรรยายตารางให้เขียนไว้ด้านบนของตาราง
- รูปภาพ แผนภูมิ กราฟ ควรเป็นภาพขาวดำ และทำเช่นเดียวกับตาราง แต่คำบรรยายให้เขียนไว้ด้านล่าง

2.2.6 การพิมพ์ชื่อวิทยาศาสตร์ของสิ่งมีชีวิต ชื่อวิทยาศาสตร์เป็นไปตามการตั้งชื่อระบบทวินาม (Binomial nomenclature) พิมพ์ด้วยตัวเอน เช่น *Escherichia coli* ในกรณีไม่ระบุชื่อสปีชีส์หรือต้องการกล่าวถึงหลายสปีชีส์ เช่น *Salmonella spp.*

3. ต้นฉบับเพื่อพิจารณาเผยแพร่ในวารสารชีวผลิตภัณฑ์

3.1 จัดทำต้นฉบับผลงานทางวิชาการ (original manuscript) และสำเนา (photocopied manuscript) อีกจำนวน 3 ชุด พร้อมแผ่นบันทึกไฟล์ข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์ ที่ระบุรายละเอียดชื่อผลงาน ชื่อเจ้าของผลงาน และที่อยู่พร้อมเบอร์โทรศัพท์

3.2 ส่งต้นฉบับทั้งหมดพร้อมเอกสารนำส่งถึง

กองบรรณาธิการวารสารชีวผลิตภัณฑ์
สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130
โทรศัพท์ 0-4431-1476 ต่อ 122, 123 โทรสาร 0-4431-5931

3.3 ไม่ส่งคืนต้นฉบับ

3.4 ต้นฉบับที่ส่งให้พิจารณาจะมีใบตอบรับให้เจ้าของผลงาน และจะแจ้งผลการพิจารณาให้ทราบภายใน 2 เดือน

3.5 ผลงานทางวิชาการที่ได้รับการเผยแพร่ในวารสาร เจ้าของผลงาน (เฉพาะชื่อแรก) จะได้รับวารสารชีวผลิตภัณฑ์ จำนวน 1 เล่ม พร้อม reprint จำนวน 5 ชุด

4. การลำดับเรื่อง

4.1 ชื่อเรื่อง (Title) ตั้งชื่อให้สั้นและสื่อความหมายได้ดี

4.2 ชื่อผู้เขียนและผู้ร่วมงาน (Author and co-workers) เขียนชื่อนามสกุลเต็มทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ วางกึ่งกลางใต้ชื่อเรื่อง พร้อมทั้งสถานที่ทำงานที่ติดต่อได้สะดวก พิมพ์เป็นเชิงอรรถ

4.3 บทคัดย่อ (Abstract) สั้นได้เนื้อความคลุมเรื่องทั้งหมด โดยเฉพาะวัตถุประสงค์ วิธีการ และผลการทดลองความยาวไม่ควรเกิน 15 บรรทัด ภาษาไทยและภาษาอังกฤษเขียนแยกหน้า

4.4 คำสำคัญ (Key words) คำหรือข้อความสั้น ๆ ที่มีความหมายแสดงถึงความเป็นไปของการทดลองนั้น ๆ ไม่เกิน 5 คำสำคัญ โดยพิมพ์อยู่ใต้บทคัดย่อ

4.5 เนื้อหา (Text) สำหรับผลงานวิจัยประกอบด้วย

4.5.1 บทนำ (Introduction) บรรยายถึงความเป็นมาและวัตถุประสงค์ รวมทั้งควรมีการทบทวนวรรณกรรม (literature review) ประกอบ

4.5.2 อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and Methods) ถ้าเป็นการคิดค้นขึ้นใหม่ควรอธิบายอย่างละเอียด แต่ถ้าเป็นที่ทราบกัน ควรเขียนในลักษณะอ้างอิงถึง ถ้าเป็นชื่อการค้าให้ทำเป็นเชิงอรรถ

4.5.3 ผล (Results) บรรยายผลการทดลองให้เข้าใจง่าย อาจเสนอเป็นตาราง รูปภาพ หรือกราฟ พร้อมคำบรรยายประกอบ

4.5.4 วิจารณ์ (Discussion) วิจารณ์ถึงหลักการที่แสดงออกมาจากผลการทดลอง เพื่อสนับสนุน หรือคัดค้านทฤษฎีที่มีผู้เสนอมาก่อน เพื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองและการตีความหมายของผู้อื่น เน้นถึงปัญหาข้อโต้แย้งในสาระสำคัญของเรื่องที่กำลังกล่าวถึง และการนำผลไปใช้ให้เป็นประโยชน์

4.5.5 สรุป (Conclusion) เขียนใจความที่สำคัญและคุณค่าของงานเพื่อผู้อ่านเข้าใจได้ง่ายขึ้น

4.5.6 กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement) ระบุแหล่งสนับสนุนทุนวิจัย เครื่องมืออุปกรณ์ และความช่วยเหลือจากบุคคลต่าง ๆ

4.5.7 เอกสารอ้างอิง (References)

ก. การอ้างอิงในเนื้อเรื่อง

1. <u>วารสารหรือหนังสือ</u> เมื่ออยู่ต้นประโยค เช่น นพพร (2539), Lin and Lee (1981) เมื่ออยู่กลางหรือท้ายประโยค เช่น (วิไลและคณะ, 2532; Kumakai *et al*., 1961) กรณี อ้างอิงเอกสารหลายเรื่องที่เขียนโดยผู้แต่งคนเดียวกันและปีที่พิมพ์ซ้ำกัน ให้ใช้ a b c หรือ d ตามหลังปีที่พิมพ์สำหรับเอกสารภาษาต่างประเทศ และใช้ ก ข ค หรือ ง ตามหลังปีที่พิมพ์ สำหรับเอกสารภาษาไทย เช่น เจือ และคณะ (2516ก), Katz (1984a)
2. <u>บุคคลหรือข้อมูลที่ไม่เคยลงพิมพ์มาก่อน</u> ให้อ้างเฉพาะในเนื้อเรื่องเท่านั้น ไม่ต้องนำไปรวมในรายชื่อเอกสารอ้างอิง เช่น .....similar results (Layton, R. B. and

Weathers, C. C., unpublished data), ...for other bacteria (Jones, A. X., personal communication)

3. <u>เอกสารที่หน่วยงานเป็นผู้จัดทำ</u> ให้ระบุชื่อหน่วยงานเต็มในการอ้างถึงครั้งแรก และระบุชื่อย่อที่เป็นทางการหลังเครื่องหมายจุลภาค (,) การอ้างถึงครั้งต่อไปให้ใช้ชื่อย่อนั้น กรณีที่ไม่มีชื่อย่อ ให้ระบุชื่อหน่วยงานเต็มทุกครั้ง เช่น (องค์การรับส่งสินค้าและพัสดุภัณฑ์, ร.ส.พ., 2519)

ข. การเขียนเอกสารอ้างอิงท้ายเรื่อง เริ่มจากเอกสารอ้างอิงภาษาไทยเขียนเรียงตามลำดับพยัญชนะของผู้เขียน เอกสารอ้างอิงภาษาอังกฤษเขียนเรียงลำดับชื่อสกุลตามด้วยชื่อย่อของผู้เขียน

1) <u>วารสาร</u> ระบุชื่อผู้เขียน ตามด้วยปี ชื่อเรื่อง ชื่อย่อวารสาร ปีที่ ฉบับที่ และหน้าที่อ้างถึง เช่น

สายพิณ ขุมทรัพย์ สุรพล ขุมทรัพย์ และจาตุรนต์ พลราช 2544 การเจริญเติบโตของเซลล์ IFFA-3 ชนิดแขวนลอยในมีเดียมที่มีกรดอะมิโนและวิตามินผสมสำเร็จ วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 11(1-2): 27-35

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

กรณีอ้างอิงเอกสารหลายเรื่องที่เขียนโดยผู้แต่งคนเดียวกันและปีที่พิมพ์ซ้ำกัน ให้ใช้ a b c หรือ d ตามหลังปีที่พิมพ์ สำหรับเอกสารภาษาต่างประเทศ และใช้ ก ข ค หรือ ง ตามหลังปีที่พิมพ์ สำหรับเอกสารภาษาไทย เช่น

Carter, G.R. 1963a. A discussion of recent developments relating to *Pasteurella hemolytica* with special reference to strains pathogenic for cattle. Can. Vet. J. 4(7): 170–174.

Carter, G.R. 1963b. Immunological differentiation of type B and E strains of *Pasteurella multocida*. Can. Vet. J. 4(3): 61–63.

2) <u>หนังสือ</u> ระบุชื่อผู้เขียน ปีที่พิมพ์ ชื่อเรื่อง บรรณาธิการ (ถ้ามีบรรณาธิการหลายคนให้อ้างทุกคน) ชื่อหนังสือ ครั้งที่พิมพ์ สำนักพิมพ์ เมืองที่พิมพ์ ประเทศ หน้าแรกและหน้าสุดท้ายที่อ้างถึง สำหรับหนังสือภาษาอังกฤษ ถ้าอ้างเพียง 1 หน้า ใช้ p. ถ้าอ้างอิงหลายหน้าใช้ pp. เช่น

กองแผนงาน กรมปศุสัตว์ 2543 ข้อมูลจำนวนปศุสัตว์ในประเทศไทย โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด กรุงเทพฯ หน้า 81

ไพโรจน์ จ๋วงพานิช 2520 โรคอ้อยที่เกิดจากเชื้อรา ใน เกษม สุขสถาน และอุดม พูลเกษ บรรณาธิการ หลักการทำไร่อ้อย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ หน้า 141-145

Office International des Epizooties. 2000. Principles of Veterinary Vaccine Production. *In* Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, 4th ed. OIE. Paris, France. p. 42.

Dutta, S. K., Shankarappa, B. and Mattingly-Napier, B. 1991. Antigenic analysis of *Ehrlichia risticii* isolates. *In* Plowright, W., Rossdale, P. D., Wade, J. F. (ed.), Equine Infectious Diseases VI Proceedings of the Sixth International Conference 7-11 July 1991. R&W Publication (Newmarket) Limited. Suffolk, UK. pp. 61-65.

Van Oirschot, J. T. 1986. Hog Cholera. *In* Leman, A. D. (ed.), Diseases of Swine, 6th ed. Iowa State University Press. Iowa. pp. 293-297.

3) <u>เว็บไซต์</u> ระบุชื่อผู้เขียน ปีที่พิมพ์ ชื่อเรื่อง ชื่อหนังสือ (ถ้ามี) แหล่งที่มาและวันที่เข้าถึง เช่น

จันทรา แป้นตุ้ม จุฑาพร ศรีวิพัฒน์ วรวิทย์ แสงสิงแก้ว และพึ่งพิศ ดุลยพัชร์ 2541 อาหารจากข้าวโพด คู่มือส่งเสริมการเกษตรที่ 43 แหล่งที่มา http://www.ku.ac.th/agri/cornn/corn.htm 27 มีนาคม 2541

Boscos, C. M. 2004. Canine TVT: Clinical findings, Diagnosis and Treatment. The 29th World Congress of the World Small Animal Veterinary Association. 6-9 October 2004. Rhodes, Greece. Available from http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx [Accessed 10 January 2006].

จากกองบรรณาธิการ

ผลงานวิชาการที่ตีพิมพ์ในวารสารชีวผลิตภัณฑ์ฉบับที่ 1 มีนาคม 2556 ปีที่ 22 นี้ประกอบด้วยเนื้อหาที่เป็นประโยชน์ต่อผู้ใช้วัคซีนที่ผลิตโดยสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ ผลงานวิชาการทั้ง 5 เรื่องนี้ทุกเรื่องสามารถใช้ประกอบการตอบคำถามเกี่ยวกับการใช้วัคซีนในพื้นที่ได้ เพราะเป็นผลงานที่มีจุดเริ่มต้นจากคำถามของผู้ใช้วัคซีน ได้แก่ ผลของการให้วัคซีนนิวคาสเซิลด้วยวิธีต่างๆ ผลของวัคซีนกาฬโรคเป็ดที่ใช้ในเป็ดต่างสายพันธุ์ ตลอดจนเรื่องของโปรแกรมการใช้วัคซีนในพื้นที่โดยเฉพาะวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยสำหรับโค ซึ่งมักมีการใช้วัคซีนที่เกินความจำเป็นด้วยความไม่มั่นใจในคุณภาพ ผลงานเหล่านี้จะช่วยการตัดสินใจในการใช้วัคซีนอย่างมีประสิทธิภาพลดการใช้วัคซีนที่เกินความจำเป็น นอกจากนี้ยังจะได้รับความรู้จากผลงานการศึกษาพัฒนาวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ A จากเชื้อที่เพาะแยกได้จากการระบาดในปีที่ผ่านมา ซึ่งก่อนจะนำมาผลิตเป็นวัคซีนจะต้องผ่านการปรับตัวของเชื้อในเซลล์ให้เหมาะกับการเพิ่มจำนวนมากๆ เสียก่อนเพื่อการผลิตเป็นวัคซีน

กองบรรณาธิการได้จัดเตรียมบทความสั้นที่เป็นเกร็ดความรู้ที่ได้จากประสบการณ์การทำงานไว้สำหรับผู้อ่านในฉบับหน้าแล้วตามที่ได้แจ้งไว้ในวารสารฉบับที่แล้ว ซึ่งยังไม่นำมาตีพิมพ์ในฉบับนี้เนื่องจากข้อจำกัดของเรื่องงบประมาณการตีพิมพ์ของวารสารฉบับนี้ แต่ขอยืนยันว่าจะมีคอลัมน์ที่บรรจุเกร็ดความรู้ไว้ในฉบับหน้าอย่างแน่นอน

ท้ายนี้ทางกองบรรณาธิการวารสารขอเชิญชวนนักวิชาการทั้งภายในและภายนอกสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ ส่งผลงานทางวิชาการทั้งที่เป็นงานวิจัย งานทดลอง หรือบทความทางวิชาการที่จะเป็นประโยชน์เกี่ยวข้องกับงานทางชีวภัณฑ์สัตว์มาตีพิมพ์ในวารสารชีวผลิตภัณฑ์ ฉบับต่อๆไปด้วย

ขอขอบคุณ

สพ.ญ.รัชนี อัตถิ

บรรณาธิการ

ประสิทธิภาพของวัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อเป็น สเตรน ลาโซต้า ภายหลังการให้วัคซีนโดยวิธีต่าง ๆ ในไก่

กมลทิพย์ ธัญพิมล[1] อัตพงศ์ นาคะปักษิณ[1]

บทคัดย่อ

ศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อเป็น สเตรน ลาโซต้า ในไก่ปลอดเชื้อเฉพาะและไก่ฟาร์ม เมื่อให้โดยวิธีหยอดตา พ่นเป็นละอองและละลายน้ำดื่มในไก่อายุ 7 วัน หาค่าระดับแอนติบอดีและความคุ้มโรคจากการฉีดเชื้อพิษทับ ภายหลังการให้วัคซีน 14 วัน และ 28 วัน พบว่าภายหลังการให้วัคซีน 14 วัน ทั้งไก่ปลอดเชื้อเฉพาะและไก่ฟาร์มที่ได้รับวัคซีนโดยการหยอดตาและการพ่นเป็นละออง มีระดับแอนติบอดีสูงกว่าไก่ที่ได้รับวัคซีนโดยการละลายน้ำดื่ม ($p<0.05$) ผลความคุ้มโรคต่อการฉีดเชื้อพิษทับไวรัสนิวคาสเซิลในไก่ปลอดเชื้อและไก่ฟาร์มที่ได้รับวัคซีนทุกวิธีภายหลังการให้วัคซีน 14 และ 28 วัน ไม่น้อยกว่า 90% ในขณะที่ไก่ที่ไม่ได้รับวัคซีนตายภายใน 6 วัน สรุปได้ว่าการให้วัคซีนโดยการหยอดตา พ่นเป็นละอองและละลายน้ำดื่มสามารถกระตุ้นให้ไก่ปลอดเชื้อเฉพาะและไก่ฟาร์มสร้างความคุ้มโรคได้ ตามมาตรฐานองค์การโรคระบาดสัตว์ระหว่างประเทศ

คำสำคัญ: วัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อเป็น สเตรน ลาโซต้า วิธีการให้วัคซีน ไก่ฟาร์ม

[1]สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

บทนำ

โรคนิวคาสเซิลเป็นโรคติดต่อในไก่ที่ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างร้ายแรงในอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ เกิดจากเชื้อไวรัสนิวคาสเซิลซึ่งมีสารพันธุกรรมชนิด RNA มีปลอกหุ้ม (enveloped) จัดอยู่ในสกุล Avulavirus วงศ์ Paramyxoviridae (Mayo, 2002) ความรุนแรงของโรคจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิด อายุของสัตว์ สเตรนของไวรัส และปัจจัยอื่นๆ ไวรัสสเตรนอ่อนสามารถทำให้เกิดโรครุนแรงได้ถ้าเกิดร่วมกับการมีเชื้ออื่นอยู่ในตัวสัตว์ หรือภายใต้สภาวะแวดล้อมที่ไม่ดี ส่วนไวรัสสเตรนรุนแรงอาจทำให้ไก่ที่มีความไวรับต่อเชื้อตายได้ถึง 100 % (Alexander and Senne, 2008) การป้องกันโรคโดยพื้นฐานประกอบด้วยการจัดการที่ดี ระบบความปลอดภัยทางชีวภาพของฟาร์ม และการให้วัคซีนป้องกันโรค

วัคซีนนิวคาสเซิลที่ใช้อยู่ในปัจจุบันมีทั้งวัคซีนชนิดเชื้อเป็นและเชื้อตาย สำหรับวัคซีนเชื้อเป็นสามารถกระตุ้นให้เกิดทั้งภูมิคุ้มกันเฉพาะที่ (local immunity) และภูมิคุ้มกันในกระแสเลือดและสารคัดหลั่ง (humoral immunity) ส่วนวัคซีนเชื้อตายจะกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันในกระแสเลือดและสารคัดหลั่งเป็นหลัก วัคซีนเชื้อเป็นที่ใช้กันอย่างแพร่หลายคือวัคซีนเชื้อเป็นที่ผลิตจากไวรัสสเตรนอ่อน เช่น ฮิชเนอร์ บี 1, ลาโซต้า, โคลน 30 และ วีจี/วีเอ เพราะมีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันโรค (Rauw *et al*., 2009) อย่างไรก็ตามการให้วัคซีนเชื้อเป็นในปัจจุบันยังมีข้อจำกัดเนื่องจากลูกไก่ที่เพิ่งฟักจะมีแอนติบอดีที่ได้รับจากแม่ (maternal derived antibody, MDA) ที่ส่งผ่านมาทางไข่แดงอยู่ในซีรัมทำให้สามารถป้องกันเชื้อไวรัสได้ (Kramer and Cho., 1970 ; Hamal *et al*., 2006) ซึ่งจะมีผลยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัสในวัคซีนเชื้อเป็น ทำให้การสร้างภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อวัคซีนยืดระยะเวลาออกไปหรืออาจสร้างภูมิคุ้มกันได้เพียงระดับหนึ่งถ้าดูจากระดับแอนติบอดีในกระแสเลือด (Bell *et al*., 1991 ; Westbury *et al*., 1984) วิธีการให้วัคซีนเชื้อเป็นที่ได้ผลดีที่สุดคือการให้วัคซีนเมื่อ MDA ในไก่ลดลงซึ่งจะทำให้สามารถตอบสนองต่อการสร้างภูมิคุ้มโรคได้ดี แต่เนื่องจากยังคงพบ MDA ในฝูงไก่ไม่เท่ากัน จึงไม่สามารถให้วัคซีนเมื่อ MDA ลดลงทั้งฝูงได้ (Rauw *et al*., 2009) ดังนั้นในพื้นที่ที่มีอุบัติการณ์ของโรคอยู่จึงยังคงต้องให้วัคซีนในไก่ตั้งแต่อายุยังน้อยเพื่อป้องกันการเกิดโรคในฝูงต่อไป นอกจากปัจจัยของ MDA แล้ว วิธีการให้วัคซีนก็มีผลต่อการสร้างระดับแอนติบอดีของไก่ด้วยเช่นกัน ซึ่งวิธีการให้วัคซีนเชื้อเป็นสามารถทำได้หลายวิธี เช่น หยอดตา หยอดจมูก ละลายน้ำดื่ม หรือ พ่นเป็นละออง เป็นต้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับคำแนะนำการใช้ของผู้ผลิตวัคซีน นอกจากนี้การพิจารณารูปแบบของการให้วัคซีนขึ้นอยู่กับขนาดของฟาร์ม และปัญหาการเกิดโรคในพื้นที่ ซึ่งวิธีการให้วัคซีนโดยการหยอดตาหรือหยอดจมูกไม่สะดวกสำหรับฟาร์มที่มีไก่จำนวนมาก เนื่องจากต้องใช้แรงงานคนในการจับสัตว์และการต้อนไก่ในวงแคบ ๆ ทำให้ไก่เครียดหรือเบียดกันจนเกิด

การสูญเสียขึ้น และใช้ระยะเวลานานในการทำวัคซีน ผู้เลี้ยงไก่ส่วนใหญ่จึงนิยมให้วัคซีนโดยวิธีการละลายน้ำหรือพ่นเป็นละอองเพราะสะดวก ประหยัดแรงงานและเวลามากกว่า

วัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อเป็นสเตรน ลาโซต้า ที่ผลิตโดยสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ สามารถให้ความคุ้มโรคต่อการฉีดเชื้อพิษทับในไก่ปลอดเชื้อเฉพาะซึ่งไม่มี MDA ได้ตามมาตรฐาน (OIE, 2009) ไม่ว่าจะให้ด้วยวิธีการหยอดตาหรือจมูก พ่นเป็นละออง หรือละลายน้ำดื่ม (ข้อมูลไม่ได้ตีพิมพ์เผยแพร่) ดังนั้นจึงทำการศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนเมื่อให้โดยวิธีการดังกล่าวในไก่ฟาร์มเพื่อให้ทราบผลของวัคซีนเมื่อให้ในไก่ที่มี MDA ว่าจะสามารถให้ความคุ้มโรคได้ดีเช่นเดียวกับไก่ปลอดเชื้อเฉพาะหรือไม่ ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลในการแนะนำวิธีใช้วัคซีนที่เหมาะสมและเสริมสร้างความมั่นใจให้กับเกษตรกรผู้ใช้วัคซีนต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

สัตว์ทดลอง

1.ไก่ปลอดเชื้อเฉพาะโรคตามระบุ 18 โรค สายพันธุ์ LSL จากสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ อายุ 1 วัน จำนวน 160 ตัว

2. ไก่ฟาร์มพันธุ์ Hisex Brown ซื้อจากฟาร์มเอกชน อายุ 1 วัน จำนวน 160 ตัว นำมาเลี้ยงที่สำนัก-เทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ จนอายุ 7 วัน จึงเริ่มทำการทดลอง

วัคซีน

วัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อเป็นสเตรน ลาโซต้า ชนิดดูดแห้ง ชุดที่ 3/55 ผลิตโดยสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ ขนาดบรรจุ 100 โด๊ส มีปริมาณไวรัสไม่น้อยกว่า 10^6 fifty percent embryo infectious dose (EID_{50})/โด๊ส

ไวรัส

1.ไวรัสนิวคาสเซิลสเตรนรุนแรง สายพันธุ์ท้องถิ่น มีความรุนแรง $10^{9.1}$ fifty percent chicken lethal dose (CLD_{50})/มล. เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ - 80°ซ ใช้เป็นเชื้อพิษทับ

2.ไวรัสนิวคาสเซิลสเตรน เอฟ เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ - 80°ซ ใช้เป็นแอนติเจนในการทดสอบด้วยวิธี haemagglutination inhibition (HI)

เม็ดเลือดแดงไก่

เตรียมโดยเจาะเลือดจากไก่ปลอดเชื้อเฉพาะ ผสมสารละลาย Alsever's ในปริมาตรที่เท่ากัน ล้างด้วย 0.01M phosphate buffered saline (PBS) pH 7.0-7.2 โดยการปั่นเหวี่ยงที่ 500 x g เป็นเวลา 5 นาที จำนวน 3 ครั้ง แล้วเติม PBS ทำให้เป็นเม็ดเลือดแดง 1 % (V/V)

การเตรียมและให้วัคซีน

ละลายวัคซีนนิวคาสเซิลจำนวน 6 ขวด ด้วยน้ำกลั่น ให้ได้ปริมาตร 100 โด๊ส/มล. แบ่งวัคซีนเพื่อใช้ในการทดลองให้วัคซีนไก่ด้วยวิธีต่างๆ ดังนี้

1. การหยอดตา ผสมวัคซีน 1 มล. ในน้ำกลั่น 2 มล.นำไปหยอดตาไก่ตัวละ 30 ไมโครลิตร

2. การพ่นเป็นละออง ผสมวัคซีนด้วยอัตราส่วน วัคซีนต่อน้ำกลั่น เท่ากับ 1:100 ปริมาตรทั้งหมด 80 มล. นำไปพ่นเป็นละอองให้ไก่

3. การละลายน้ำดื่ม ผสมวัคซีนด้วยอัตราส่วน วัคซีนต่อน้ำกลั่น เท่ากับ 1:100 ปริมาตรทั้งหมด 1,200 มล. โดยคิดปริมาตรน้ำให้ไก่กิน 15 มล. /ตัว นำไปเทใส่ในที่ให้น้ำไก่กิน

แบ่งไก่ปลอดเชื้อเฉพาะและไก่ฟาร์มอายุ 7 วัน ออกเป็นชนิดละ 4 กลุ่ม ๆ ละ 40 ตัว ดังนี้ กลุ่มที่ 1 ให้วัคซีนโดยการหยอดตา กลุ่มที่ 2 ให้วัคซีนโดยการพ่นเป็นละออง กลุ่มที่ 3 ให้วัคซีนโดยการละลายน้ำดื่มโดยให้ไก่อดน้ำก่อนให้วัคซีนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง และกลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มควบคุมไม่ได้รับวัคซีน

การให้เชื้อพิษทับ

แบ่งไก่ทดลองแต่ละกลุ่มออกเป็นกลุ่มละ 20 ตัว ภายหลังการให้วัคซีน 14 และ 28 วัน ให้เชื้อพิษทับไวรัสนิวคาสเซิลปริมาณ 10^6 CLD_{50} ต่อตัว โดยการหยอดตาในไก่ทุกกลุ่ม บันทึกอาการป่วยและตายเป็นเวลา 14 วัน ไก่ที่ได้รับวัคซีนต้องไม่แสดงอาการป่วยหรือตายด้วยโรคนิวคาสเซิลจำนวนไม่น้อยกว่า 90 % ในขณะที่ไก่กลุ่มควบคุมต้องตายภายใน 6 วัน (OIE, 2009)

การตรวจทางซีรัมวิทยา

ก่อนการทดลองสุ่มเจาะเลือดไก่ปลอดเชื้อเฉพาะและไก่ฟาร์มกลุ่มละ 20 ตัว หลังให้วัคซีน 14 และ 28 วัน หรือก่อนการฉีดพิษทับทุกกลุ่ม นำซีรัมมาตรวจหาแอนตีบอดีต่อไวรัสนิวคาสเซิล ด้วยวิธี HI แบบ micro method (Allan and Gough, 1974) โดยเติมสารละลาย PBS ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ลงในไมโครเพลทแบบพลาสติกก้นรูปตัวยูจำนวน 12 หลุม โดยมีหลุมที่ 12 เป็น negative control แล้วเติมซีรัมปริมาตร 25 ไมโครลิตร เจือจางซีรัมแบบ 2-fold dilution ที่ความเจือจาง 1:2 ถึง 1: 2,048 จากนั้นเติมแอนติเจน (4 HA unit) ปริมาตร 25 ไมโครลิตรลงไปจนถึงหลุมที่ 11 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที เติมเม็ดเลือดแดงความเข้มข้น 1% (V/V) ปริมาตร 25 ไมโครลิตรลงในทุกหลุม เคาะเพลทเบา ๆ ให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 40 นาที อ่านผลระดับแอนติบอดีต่อไวรัสนิวคาสเซิลที่ค่าความเจือจางของซีรัมสูงสุดที่สามารถยับยั้งการจับกลุ่มตกตะกอนของเม็ดเลือดแดงได้อย่างสมบูรณ์

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

หาค่าเฉลี่ยเรขาคณิตของระดับแอนติบอดี (Geometric mean titer, GMT) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) และหาความแตกต่างของระดับแอนติบอดีในไก่แต่ละกลุ่มต่อวัคซีนนิวคาสเซิลโดยวิธี t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ผล

ในไก่ปลอดเชื้อเฉพาะไม่พบแอนติบอดีต่อไวรัสนิวคาสเซิลก่อนให้วัคซีน และพบว่าภายหลังให้วัคซีน 14 และ 28 วัน ไก่กลุ่มที่ 1 และ 2 มีค่าเฉลี่ยระดับแอนติบอดีไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ส่วนไก่กลุ่มที่ 3 หลังให้วัคซีน 14 วันมีค่าเฉลี่ยน้อยกว่ากลุ่มที่ 1 และ 2 ($p<0.05$) ขณะที่หลังให้วัคซีน 28 วัน มีค่าเฉลี่ยสูงกว่า (ตารางที่ 1) ผลความคุ้มโรคในไก่กลุ่มที่ 1-3 ภายหลังการให้วัคซีน 14 และ 28 วัน พบว่าไก่ทุกกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีความคุ้มโรคไม่น้อยกว่า 90% (ตารางที่ 2)

ในไก่ฟาร์มพบว่าไก่มีระดับแอนติบอดีที่ได้รับจากแม่ (maternal derived antibody, MDA) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ ($\log_2$) 6.10 และพบว่าภายหลังให้วัคซีน 14 วันไก่กลุ่มที่ 1 และ 2 มีค่าเฉลี่ยระดับแอนติบอดีไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) และสูงกว่ากลุ่มที่ 3 ($p<0.05$) แต่ภายหลังให้วัคซีน 28 วัน ไก่กลุ่มที่ 2 และ 3 มีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) และสูงกว่ากลุ่มที่ 1 ($p<0.05$) (ตารางที่ 3) ผลความคุ้มโรคในไก่กลุ่มที่ 1-3 ภายหลังการให้วัคซีน 14 และ 28 วัน พบว่าไก่ทุกกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีความคุ้มโรคไม่น้อยกว่า 90% (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยเรขาคณิตของระดับแอนติบอดีของไก่ปลอดเชื้อเฉพาะต่อไวรัสนิวคาสเซิล สเตรนลาโซต้า ภายหลังการให้วัคซีนเป็นเวลา 14 วัน และ 28 วัน

กลุ่มที่	วิธีให้วัคซีน	ค่าเฉลี่ยเรขาคณิตของระดับแอนติบอดี ($\log_2$) ± SD		
		ก่อนให้วัคซีน	หลังให้วัคซีน 14วัน (อายุไก่ 21 วัน)	หลังให้วัคซีน 28 วัน (อายุไก่ 35 วัน)
1	หยอดตา	0.00 ± 0.00	7.25 ± 1.68 $^{A, a}$	6.25 ± 0.85 $^{A, b}$
2	พ่นเป็นละออง	0.00 ± 0.00	6.75 ± 1.45 $^{A, a}$	5.70 ± 1.22 $^{A, b}$
3	ละลายน้ำดื่ม	0.00 ± 0.00	5.25 ± 0.97 $^{B. a}$	7.10 ± 0.97 ^{B,b}
4	ไม่ได้ให้วัคซีน	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

ตัวอักษรA, B ที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตัวอักษร a, b ที่ต่างกันในแต่ละแถวหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 2 ความคุ้มโรคในไก่ปลอดเชื้อเฉพาะต่อเชื้อพิษทับไวรัสนิวคาสเซิล ภายหลังการให้วัคซีน 14 วัน และ 28 วัน

กลุ่มที่	วิธีให้วัคซีน	ความคุ้มโรค (%)	
		หลังให้วัคซีน 14 วัน (อายุไก่ 21 วัน)	หลังให้วัคซีน 28 วัน (อายุไก่ 35 วัน)
1	หยอดตา	100	95
2	พ่นเป็นละออง	90	90
3	ละลายน้ำดื่ม	90	95
4	ไม่ได้ให้วัคซีน	0	0

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยเรขาคณิตของระดับแอนติบอดีของไก่ฟาร์มต่อไวรัสนิวคาสเซิล สเตรน ลาโซต้าภายหลังการให้วัคซีน14 วัน และ 28 วัน

กลุ่มที่	วิธีให้วัคซีน	ค่าเฉลี่ยเรขาคณิตของระดับแอนติบอดี ($\log_2$) ± SD		
		ก่อนให้วัคซีน	หลังให้วัคซีน 14วัน (อายุไก่ 21 วัน)	หลังให้วัคซีน 28 วัน (อายุไก่ 35 วัน)
1	หยอดตา	6.10 ± 1.21	7.25 ± 1.59 $^{A, a}$	5.40 ± 0.88 $^{A, b}$
2	พ่นเป็นละออง	6.10 ± 1.21	7.60 ± 1.57 $^{A, a}$	6.95 ± 0.89 $^{B, b}$
3	ละลายน้ำดื่ม	6.10 ± 1.21	5.85 ± 0.99 $^{B\ a}$	6.60 ± 1.39 $^{B, b}$
4	ไม่ได้ให้วัคซีน	6.10 ± 1.21	4.45 ± 1.32	1.50 ± 0.51

A, B ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

a, b ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 4 ความคุ้มโรคในไก่ฟาร์มต่อเชื้อพิษทับไวรัสนิวคาสเซิล ภายหลังการทำวัคซีน 14 วันและ 28 วัน

กลุ่มที่	วิธีให้วัคซีน	ความคุ้มโรค (%)	
		หลังให้วัคซีน 14 วัน (อายุไก่ 21 วัน)	หลังให้วัคซีน 28 วัน (อายุไก่ 35 วัน)
1	หยอดตา	95	95
2	พ่นเป็นละออง	95	90
3	ละลายเป็นน้ำดื่ม	90	95
4	ไม่ได้ให้วัคซีน	20	0

วิจารณ์

จากผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าเมื่อให้วัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อเป็นสเตรน ลาโซต้า ที่ผลิตโดยสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ เพียงครั้งเดียวโดยวิธีต่างๆ สามารถกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีในไก่ปลอดเชื้อเฉพาะที่ไม่มี MDA และไก่ฟาร์มอายุ 7 วัน ที่มี MDA ได้เช่นเดียวกัน โดยไก่ทั้ง 2 ชนิดกลุ่มที่ 1 และ 2 จะมีระดับค่าเฉลี่ยแอนติบอดีภายหลังการให้วัคซีน 14 วัน สูงกว่ากลุ่มที่ 3 ($p<0.05$) แสดงว่าการให้วัคซีนโดยวิธีการหยอดตาและพ่นเป็นละอองหยาบสามารถกระตุ้นให้ไก่สร้างแอนติบอดีต่อไวรัสนิวคาสเซิลได้ในระดับสูงเร็วกว่าวิธีให้โดยการละลายน้ำดื่ม แต่อย่างไรก็ตามไก่ทั้ง 2 ชนิดที่ได้รับวัคซีนทุกกลุ่มมีความคุ้มโรคต่อการฉีดเชื้อพิษทับไวรัสนิวคาสเซิลภายหลังการให้วัคซีน 14 และ 28 วันไม่น้อยกว่า 90% โดยวัคซีนสามารถเอาชนะ MDA และสามารถกระตุ้นให้ไก่สร้างแอนติบอดีในระดับที่สามารถให้ความคุ้มโรคได้ตามมาตรฐานกำหนด (OIE, 2009) โดยสอดคล้องกับ Rehmani (1996) ที่พบว่าวัคซีนนิวคาสเซิลสเตรน ลาโซต้า สามารถเอาชนะ MDA ที่มีระดับสูงในไก่ได้ดีกว่าวัคซีนสเตรนฮิชเนอร์ บี 1 และ วี 4 และ พบว่าการให้วัคซีนนิวคาสเซิลสเตรน ลาโซต้า เพียงครั้งเดียวโดยวิธีการหยอดตาและละลายน้ำในไก่อายุ 12 วัน สามารถให้ความคุ้มโรคในไก่ต่อเชื้อพิษทับไวรัสนิวคาสเซิลได้ไม่น้อยกว่า 90 % ภายใน 14 วัน

สำหรับไก่กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับวัคซีน พบว่าหลังฉีดเชื้อพิษทับในไก่ชุดแรก (อายุ 21 วัน) ไก่ปลอดเชื้อเฉพาะตายหมดทุกตัวภายใน 6 วันหลังฉีดเชื้อพิษ ในขณะที่ไก่ฟาร์มรอด 20 % โดยมีค่าเฉลี่ย MDA เท่ากับ 4.45 และหลังการฉีดเชื้อพิษทับไก่ชุดที่สอง (อายุ 35 วัน) ไก่ทั้ง 2 ชุดตาย 100% โดยไก่ฟาร์มมีค่าเฉลี่ย MDA เท่ากับ 1.5 แสดงให้เห็นว่าแม้ว่าไก่ฟาร์มยังมีค่า MDA เมื่อมีโรคระบาดเกิดขึ้นสามารถก่อความเสียหายได้เป็นอย่างมาก ดังนั้นจึงไม่ควรให้วัคซีนช้าเกินไป ตามคำแนะนำของสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ ระบุให้ใช้วัคซีนในไก่อายุ 7 – 10 วัน ซึ่งเป็นอายุที่เหมาะสม และวัคซีนสามารถป้องกันโรคได้แม้ไก่จะมี MDA เหลืออยู่

การให้วัคซีนโดยการหยอดตา พ่นเป็นละออง และละลายน้ำดื่ม ให้ผลความคุ้มโรคที่ดีเช่นเดียวกัน ซึ่งการให้วัคซีนโดยการหยอดตาหรือจมูกนั้นเป็นวิธีการที่สามารถควบคุมให้ไก่ได้รับวัคซีนในปริมาณที่เท่ากันอย่างทั่วถึง ในขณะที่การให้โดยวิธีการพ่นเป็นละอองและละลายน้ำดื่มจะสะดวกกว่า แต่อาจไม่สามารถควบคุมให้ไก่ได้รับวัคซีนในปริมาณที่เท่ากันอย่างทั่วถึงได้ ทั้งนี้ขึ้นกับอุปกรณ์และวิธีปฏิบัติ การพ่นเป็นละอองจะให้ผลดีในโรงเรือนเลี้ยงไก่แบบปิดที่สามารถควบคุมอากาศให้นิ่งได้ในระหว่างการให้วัคซีน ในโรงเรือนไก่ที่เป็นแบบเปิดวัคซีนที่พ่นออกมาอาจกระจายออกสู่ภายนอกได้ แต่อย่างไรก็ตามมีการทดลองให้วัคซีนได้ในวันที่ลมสงบ พบว่าไก่ส่วนใหญ่จะมีภูมิคุ้มโรคได้ แต่จะไม่ดีเท่าในโรงเรือนปิด (Allan *et al*., 1978) และผลของการให้โดยการพ่นเป็นละอองอาจทำให้ไก่อายุน้อยหรือไก่ที่มีโรคระบบ

ทางเดินหายใจอยู่ก่อนแสดงอาการทางระบบหายใจได้ ซึ่งในการทดลองครั้งนี้คัดเลือกไก่ที่มีสุขภาพแข็งแรงและไม่พบอาการดังกล่าว ส่วนการให้วัคซีนโดยการละลายน้ำดื่มนั้นนอกจากจะต้องเตรียมที่ให้น้ำไก่อย่างเพียงพอ และให้ไก่อดน้ำเป็นเวลาอย่างน้อย 2 ชั่วโมงก่อนให้วัคซีน จะต้องให้ไก่กินน้ำที่ผสมวัคซีนให้หมดภายในเวลาไม่เกิน 2 ชั่วโมง นอกจากนั้น น้ำที่นำมาใช้ผสมวัคซีนต้องไม่ปนเปื้อนสารที่ทำลายไวรัสได้ เพราะอาจทำให้ปริมาณไวรัสในวัคซีนลดน้อยลง ไม่เพียงพอที่จะกระตุ้นการสร้างความคุ้มโรค สารเหล่านี้ ได้แก่ Chlorine และ Quaternary ammonium ที่มีปริมาณเพียง 1 ppm ก็สามารถลดปริมาณไวรัสลงได้อย่างมาก จึงไม่ควรใช้น้ำที่มีการปนเปื้อน Chlorine สูง ในกรณีที่ไม่สามารถหาน้ำบริสุทธิ์ได้ การเติมหางนมผงลงในอัตราส่วนความเข้มข้น 1:400 จะสามารถยับยั้งผลจาก Chlorine และ Quaternary ammonium ได้ในปริมาณ 5 และ 15 ppm ตามลำดับ (Gentry and Braune, 1972) หรือใช้วิธีพักน้ำให้ Chlorine ระเหยก่อนนำมาใช้

สรุป

วัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อปีนสเตรน ลาโซต้า ที่ผลิตโดยสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์สามารถให้ในไก่ฟาร์มอายุ 7 วันโดยการหยอดตา พ่นเป็นละออง และละลายน้ำดื่มได้โดยวัคซีนสามารถให้ความคุ้มโรคได้ตามมาตรฐาน OIE อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนในฟาร์มไก่ เพื่อดูผลของการให้วัคซีนนี้เมื่อมีการให้วัคซีนอื่นร่วมด้วยตามโปรแกรมการให้วัคซีนของฟาร์มต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นายสัตวแพทย์พรชัย ศรีดามา คณะกรรมการพัฒนาวิชาการและเจ้าหน้าที่ฝ่ายทดสอบคุณภาพวัคซีนสัตว์ปีกทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลืองานทดลองครั้งนี้ให้สำเร็จเรียบร้อยด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

Alexander, D. J. and Senne, D. A. 2008. Newcastle disease, Other avian paramyxoviruses, and pneumovirus infections. *In* Disease of poultry. 12th ed. Saif Y. M., Fadly A. M., Glisson I. R., MeDougald L. R. , Nolan L. K. and Swayne D. E. eds. Blackwell Publishing Professional. Iowa, USA. pp.75 – 100.

Allan, W. H. and Gough, R. E. 1974. A standard haemagglutination inhibition test for Newcastle disease. A comparison of macro and micro methods. Vet. Rec. 95:120 – 123.

Allan, W. H., Lancaster, J. E. and Toth, B. 1978. Newcastle disease vaccines, their production and use. Food and Agricultural Organization of the United Nations. Rome, Italy.

Bell, I. G, Nicholls, P. J., Norman, C., Cooper, K. and Cross G. M. 1991. The serological responses of chickens to mass vaccination with a live V4 Newcastle disease virus vaccine in the field and the laboratory. 1. Meat chickens. Aust. Vet. J. 68(3):85-89.

Gentry, R. F. and Braune, M. O. 1972. Prevention of virus inactivation during drinking water vaccination of poultry. Poult. Sci. 51:1450-1456.

Hamal, K. R., Burgess, S. C., Pevzner, I. Y. and Erf, G. F. 2006. Maternal antibody transfer from dams to their egg yolks, egg whites, and chicks in meat lines of chickens. Poult. Sci. 85:1364-1372.

Kramer, T. T. and Cho, H. C. 1970. Transfer of immunoglobulins and antibodies in the hen's egg. Immunology. 19:157-167.

Mayo, M. A. 2002. A summary of taxonomic changes recently approved by ICTV. Arch. Virol. 147:1655-1656.

Office International des Epizooties, OIE. 2009. Newcastle disease. *In* Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Chapter 2.3.14. pp. 1-19.

Rauw, F., Gardin, Y., Palya, V., Borm S. V., Gonze, M., Lemaire, S., Van den Berg, T. and Iambrecht, B. 2009. Humoral, cell-mediated and mucosal immunity induced by oculo - nasal vaccination of one-day-old SPF and conventional layer chicks with two different live Newcastle disease vaccines.Vaccine. 27:3631-3642.

Rehmani, S. F.1996. Newcastle disease vaccination: A comparison of vaccines and routes of administration in Pakistan. Prev.Vet. Med. 25:241-248.

Westbury, H. A., Parsons, G., and Allan, W. H. 1984. Comparison of the immunogenicity of Newcastle disease virus strains V4, Hitchner Bl and La Sota in chickens. 2. Tests in chickens with maternal antibody to the virus. Aust. Vet. J. 61 (1):10-13.

Efficacy of Newcastle disease vaccine, La Sota strain, administration by different routes in chickens

Kamonthip Thunpimon[1] Attapong Nakapaksin[1]

Abstract

A study on the efficacy of Newcastle disease vaccine, La Sota strain, in specific- pathogen- free (SPF) chickens and farm chickens administration by three different routes:- eye-drop, spray and drinking water, in 7- day-old chickens were carried out. Antibody titer and efficacy of the vaccine 14 and 28 days post administration were evaluated. The results showed that both SPF and farm chickens administration via eye-drop and spray, 14 days post vaccination, produced antibody titer higher than drinking water route ($P<0.05$). The protection against virulent Newcastle disease virus, 14 and 28 days post administration, in all vaccinated chickens were not less than 90% while all the control died within 6 days. In conclusion, the vaccine administration by eye-drop, spray and drinking water can protect both SPF and farm chickens according to the OIE standard.

Key words: Newcastle disease vaccine, La Sota strain, routes of administration, farm chicken

[1]Bureau of Veterinary Biologics, Pakchong, Nakhon Ratchasima. 30130

เปรียบเทียบประสิทธิภาพของวัคซีนกาฬโรคเป็ดในเป็ดพันธุ์กากีแคมเบลและพันธุ์บาร์บารี

กมลทิพย์ ธัญพิมล[1] ดิถี ประเสริฐสุวรรณ[1]

บทคัดย่อ

ศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนกาฬโรคเป็ดโดยการฉีดวัคซีน 1 ครั้ง ในเป็ดพันธุ์กากีแคมเบลและพันธุ์บาร์บารีอายุ 3 สัปดาห์ และฉีดวัคซีน 2 ครั้ง ห่างกัน 21 วันในเป็ดพันธุ์บาร์บารี พบว่าภายหลังได้รับวัคซีน 14 วัน เป็ดพันธุ์กากีแคมเบลและพันธุ์บาร์บารีที่ได้รับวัคซีน 1 ครั้ง มีค่า neutralization index (NI) เท่ากับ 3.50 และ 1.70 และความคุ้มโรคเท่ากับ 100 และ 30 % ตามลำดับ ส่วนในเป็ดพันธุ์บาร์บารีที่ได้รับการฉีดวัคซีน 2 ครั้ง มีค่า NI หลังได้รับวัคซีนครั้งแรก 14 และ 21 วัน เท่ากับ 1.72, 1.90 ตามลำดับและภายหลังการฉีดวัคซีนครั้งที่สอง 14 วันเท่ากับ 1.96 ความคุ้มโรคหลังฉีดวัคซีนครั้งที่สองเท่ากับ 70% ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวัคซีนกาฬโรคเป็ดกระตุ้นให้เป็ดพันธุ์บาร์บารีสร้างภูมิคุ้มกันโรคได้ต่ำกว่าเป็ดพันธุ์กากีแคมเบล อาจเป็นเพราะปริมาณโด๊สที่ฉีดไม่เหมาะสมหรือความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันของเป็ดเอง ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อกำหนดปริมาณและโปรแกรมการฉีดวัคซีนที่เหมาะสมในเป็ดพันธุ์บาร์บารีต่อไป

คำสำคัญ: วัคซีนกาฬโรคเป็ด ประสิทธิภาพวัคซีน เป็ดพันธุ์กากีแคมเบล เป็ดพันธุ์บาร์บารี

[1]สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

บทนำ

โรคกาฬโรคเป็ด (duck plague หรือ duck virus enteritis) เกิดจากเชื้อ Herpesvirus เป็นโรคติดเชื้อเฉียบพลันและสามารถติดต่อได้อย่างรวดเร็ว (Sandhu and Leibovitz, 1997) ทำให้เกิดการสูญเสียอย่างมากต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ปีก จำพวกเป็ด ห่าน และหงส์ เมื่อเกิดการระบาดของโรคแล้วจะทำให้สัตว์มีอัตราการป่วยและอัตราการตายสูงได้ถึง 100 % (อุราศรี, 2542) ในฝูงเป็ดไข่ที่ติดเชื้อพบอัตราการผลิตไข่ลดลง 20-100% และการฟักไข่เป็นตัวอ่อนก็ลดลงด้วย (Jansen, 1968; Burgress and Yuill,1980) ดังนั้นการฉีดวัคซีนให้สัตว์จึงเป็นวิธีการสำคัญในการสร้างภูมิคุ้มกันโรค (Zander *et al*., 1997) สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ ผลิตวัคซีนกาฬโรคเป็ดเชื้อเป็น โดยทดสอบความคุ้มโรคในเป็ดพันธุ์กากีแคมเบล ก่อนนำวัคซีนไปใช้ในท้องที่ ซึ่งให้ผลความคุ้มโรคไม่น้อยกว่า 90% ตามมาตรฐานอาเซียน (ASEAN Secretariat, 1998)

ปัจจุบันเป็ดที่นิยมเลี้ยงเป็นการค้าในประเทศไทย แบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ เป็ดไข่ และเป็ดเนื้อ สายพันธุ์เป็ดไข่ที่นิยมคือ พันธุ์กากีแคมเบล และสายพันธุ์ที่พัฒนาจากพันธุ์กากีแคมเบล เช่น เป็ดพันธุ์กบินทร์บุรี เป็นต้น สายพันธุ์เป็ดเนื้อที่นิยม ได้แก่ เป็ดพันธุ์ปักกิ่ง (Pekin) เป็ดพันธุ์มัสโควี (Muscovy) เป็ดพันธุ์บาร์บารี (Barbary) เป็ดพันธุ์ปั๊วฉ่าย เป็นต้น ซึ่งสายพันธุ์ที่ต่างกันอาจให้การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแตกต่างกัน มีรายงานการศึกษาภูมิคุ้มโรคของวัคซีนไข้หวัดนกในเป็ดพันธุ์ปักกิ่งและมัสโควี ซึ่งเป็นสายพันธุ์เดียวกับเป็ดพันธุ์บาร์บารี พบว่าให้ความคุ้มโรคแตกต่างกัน (Cagle *et al*., 2011) และการศึกษาภูมิคุ้มโรคของวัคซีนอหิวาต์เป็ดไก่ พบว่าสายพันธุ์บาร์บารีให้ความคุ้มโรคไม่ดีเท่าสายพันธุ์กากีแคมเบล (ผดุงวิทย์ และสวนีย์, 2547)

ดังนั้นจึงศึกษาเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวัคซีนกาฬโรคเป็ด ในเป็ดพันธุ์กากีแคมเบลและเป็ดพันธุ์บาร์บารี เพื่อเป็นข้อมูลในการระบุขนาดและโปรแกรมการฉีดวัคซีนที่เหมาะสมในท้องที่และเป็นทางเลือกสำหรับสายพันธุ์เป็ดที่ใช้ในการควบคุมคุณภาพวัคซีนต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

วัคซีนกาฬโรคเป็ด

เป็นวัคซีนเชื้อเป็นสเตรน Jansen ชนิดทำแห้งขนาดบรรจุขวดละ 200 โด๊ส ผลิตโดยสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ มีปริมาณไวรัสไม่น้อยกว่า $10^{3.5}$ fifty percent tissue culture infective dose ($TCID_{50}$)/โด๊ส

สัตว์ทดลอง

1. เป็ดพันธุ์กากีแคมเบล คละเพศ อายุ 3 สัปดาห์ ไม่เคยได้รับวัคซีนมาก่อน จำนวน 30 ตัว

2. เป็ดพันธุ์บาร์บารี คละเพศ อายุ 3 สัปดาห์ ไม่เคยได้รับวัคซีนมาก่อน จำนวน 60 ตัว

ไวรัส

ไวรัสกาฬโรคเป็ด สายพันธุ์ท้องถิ่น เก็บในสภาพทำแห้ง ใช้ในการฉีดพิษทับ

การเตรียม Primary chicken embryo fibroblast cells

เตรียมจากตัวอ่อนของไข่ไก่ฟัก อายุ 11 วัน ตามวิธีของ Graham (1980) โดยเพาะเลี้ยงเซลล์ในไมโครเพลทชนิด 96 หลุม บ่มที่ 37°C 5% CO_2 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ให้เซลล์เต็มพื้นที่มากกว่า 90% เพื่อใช้ตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสกาฬโรคเป็ด

การทดสอบประสิทธิภาพวัคซีน

1. เปรียบเทียบความคุ้มโรคในเป็ดพันธุ์กากีแคมเบลและพันธุ์บาร์บารี หลังการฉีดวัคซีน 1 ครั้ง โดยใช้เป็ดพันธุ์กากีแคมเบลและพันธุ์บาร์บารีสายพันธุ์ละ 30 ตัว นำมาแบ่งกลุ่มและฉีดวัคซีนดังนี้

   กลุ่มที่ 1 เป็ดพันธุ์กากีแคมเบลจำนวน 20 ตัว ฉีดวัคซีนเข้ากล้ามเนื้อขาตัวละ 1 มล.

   กลุ่มที่ 2 เป็ดพันธุ์บาร์บารี จำนวน 20 ตัว ฉีดวัคซีนเข้ากล้ามเนื้อขาตัวละ 1 มล.

   กลุ่มที่ 3 เป็ดพันธุ์กากีแคมเบล จำนวน 10 ตัว เป็นกลุ่มควบคุมไม่ฉีดวัคซีน

   กลุ่มที่ 4 เป็ดพันธุ์บาร์บารี จำนวน 10 ตัว เป็นกลุ่มควบคุมไม่ฉีดวัคซีน

   หลังจากฉีดวัคซีนเป็นเวลา 14 วัน ฉีดเชื้อพิษทับโดยใช้ไวรัสกาฬโรคเป็ดปริมาณ 10^2 LD_{50}/ตัว ฉีดเข้ากล้ามเนื้อขา ในเป็ดทุกกลุ่ม สังเกตอาการและนับจำนวนเป็ดตายเป็นเวลา 14 วัน

2. ความคุ้มโรคในเป็ดพันธุ์บาร์บารีหลังการฉีดวัคซีน 2 ครั้ง

   โดยใช้เป็ดพันธุ์บาร์บารีจำนวน 30 ตัว นำมาแบ่งกลุ่มและฉีดวัคซีน ดังนี้

   กลุ่มที่ 1 เป็ดพันธุ์บาร์บารี จำนวน 20 ตัว ฉีดวัคซีนเข้ากล้ามเนื้อขาตัวละ1 มล. 2 ครั้ง ห่างกัน 21 วัน

   กลุ่มที่ 2 เป็ดพันธุ์บาร์บารี จำนวน 10 ตัว เป็นกลุ่มควบคุมไม่ฉีดวัคซีน

   หลังจากฉีดวัคซีนครั้งที่ 2 เป็นเวลา 14 วัน ฉีดเชื้อพิษทับโดยใช้ไวรัสกาฬโรคเป็ดปริมาณ 10^2 LD_{50}/ตัว ฉีดเข้ากล้ามเนื้อขา ในเป็ดทุกกลุ่ม สังเกตอาการและนับจำนวนเป็ดตาย เป็นเวลา 14 วัน

   การแปลผล : เป็ดที่ได้รับวัคซีนต้องรอดอย่างน้อย 90% ในขณะที่เป็ดกลุ่มควบคุมตายทั้งหมดจึงถือว่าวัคซีนให้ความคุ้มโรค (ASEAN secretariat, 1998)

การตรวจหาระดับแอนติบอดี

เจาะเลือดเป็ดทุกตัวก่อนฉีดวัคซีนเข็มแรก และหลังฉีดวัคซีน 14 วัน และเจาะเลือดในเป็ดที่ฉีดวัคซีน 2 ครั้งก่อนฉีดวัคซีนเข็มที่ 2 ที่ 21 และ 35 วัน เก็บซีรัมเพื่อหาระดับแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสกาฬโรคเป็ดโดยหาค่า neutralization index (NI) ด้วยวิธี serum neutralization (SN) ใน primary chicken embryo fibroblast cells (Beard, 1980) โดยนำตัวอย่างซีรัมมา inactivate ที่อุณหภูมิ 56°C เป็นเวลา 30 นาที เจือจางซีรัมอัตราส่วน 1:10 ใน tryptose phosphate broth หลังจากนั้นนำซีรัมไป neutralize กับไวรัส ที่เตรียมโดยเจือจางไวรัสปริมาณ 10^7 $TCID_{50}$ โดยวิธี 10- fold dilutions ตั้งแต่ 10^{-1} – 10^{-5} ในปริมาตรที่เท่ากันที่อุณหภูมิ 37°C เมื่อครบ 60 นาที จากนั้นนำสารละลายผสมไวรัสและซีรัม 50 ไมโครลิตรใส่ในเซลล์ที่เตรียมในไมโครเพลทโดยมีหลุมที่ใส่ไวรัสเป็น virus control และหลุมที่ใส่มีเดียมเลี้ยงเซลล์เป็น negative control นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 5 วัน อ่านผลค่าไวรัสที่เหลืออยู่โดยดูจากการเกิด cytopathic effects คำนวณหาค่า virus titer ของ serum-virus mixture และ virus control ตามวิธีของ Reed and Muench (1938) ผลต่างระหว่างค่า virus titer ของ serum-virus mixture และ virus control ที่ได้คือค่า NI

ผล

พบว่าเป็ดพันธุ์กากีแคมเบลและพันธุ์บาร์บารีที่ได้รับวัคซีนเพียงครั้งเดียวมีความคุ้มโรค หลังได้รับวัคซีน 14 วัน เท่ากับ 100% และ 30 % ตามลำดับ และค่าเฉลี่ย NI ก่อนและหลังฉีดวัคซีน 14 วัน ในเป็ดพันธุ์กากีแคมเบลเท่ากับ 0.72 และ 3.50 และเป็ดพันธุ์บาร์บารีเท่ากับ 0.22 และ 1.70 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ในเป็ดพันธุ์บาร์บารีที่ได้รับวัคซีน 2 ครั้ง พบว่ามีความคุ้มโรคเท่ากับ 70 % ค่าเฉลี่ย NI หลังฉีดวัคซีน 14, 21 และ 35 วัน เท่ากับ 1.72, 1.90 และ 1.96 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์ความคุ้มโรคและค่าเฉลี่ย NI ในเป็ดพันธุ์กากีแคมเบลและเป็ดพันธุ์บาร์บารีที่ฉีดวัคซีน 1 ครั้ง

กลุ่มที่	สายพันธุ์เป็ด	ค่าเฉลี่ยเรขาคณิต NI		ความคุ้มโรค
		วันที่ 0	14	(%)
1	กากีแคมเบล	0.72	3.50	100
2	บาร์บารี	0.22	1.70	30
3	กากีแคมเบล (Control)	0.72	-	0
4	บาร์บารี (Control)	0.22	-	0

ตารางที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์ความคุ้มโรคและค่าเฉลี่ย NI ในเป็ดพันธุ์บาร์บารีที่ฉีดวัคซีน 2 ครั้ง

กลุ่มที่	สายพันธุ์เป็ด	ค่าเฉลี่ยเรขาคณิต NI				ความคุ้มโรค
		วันที่ 0	14	21	35	(%)
1	บาร์บารี	0.24	1.72	1.90	1.96	70
2	Control	0.24	-	-	-	0

วิจารณ์และสรุป

โรคกาฬโรคเป็ดเป็นโรคติดต่อร้ายแรงในเป็ดที่สามารถป้องกันได้โดยการให้วัคซีน ปกติในเป็ดที่ไม่เคยได้รับเชื้อไวรัสกาฬโรคเป็ดจะมีค่า NI เท่ากับ 0-1.5 ส่วนเป็ดที่ถือว่ามีภูมิคุ้มโรคต่อเชื้อไวรัสกาฬโรคเป็ดหรือผ่านการเป็นโรคมาแล้วจะมีค่า NI มากกว่าหรือเท่ากับ 1.75 (Asplin, 1970 ; Dardiri and Hess, 1967) จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าก่อนให้วัคซีนเป็ดพันธุ์กากีแคมเบลและเป็ดพันธุ์บาร์บารีมีค่าเฉลี่ย NI เท่ากับ 0.72 และ 0.22 ตามลำดับ อยู่ในระดับที่ถือว่าไม่มีภูมิคุ้มกันต่อโรคกาฬโรคเป็ด เมื่อให้วัคซีนครั้งเดียวพบว่าเป็ดพันธุ์กากีแคมเบลมีค่าเฉลี่ย NI เท่ากับ 3.5 อยู่ในระดับที่ให้ความคุ้มโรคได้ โดยเป็ดมีความคุ้มโรคต่อการฉีดเชื้อพิษทับ 100 % ในขณะที่เป็ดพันธุ์บาร์บารีมีค่าเฉลี่ย NI เท่ากับ 1.70 น้อยกว่าระดับที่ถือว่าให้ความคุ้มโรคได้ และเป็ดมีความคุ้มโรคภายหลังการฉีดเชื้อพิษทับเพียง 30% แต่เมื่อได้รับวัคซีน 2 ครั้งห่างกัน 21 วัน พบว่า มีค่าเฉลี่ย NI ในวันที่ 21 และ 35 เท่ากับ 1.90 และ 1.96 ตามลำดับ และเป็ดมีความคุ้มโรค 70% ซึ่งต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐาน (ASEAN secretariat, 1998) แสดงให้เห็นว่าการให้วัคซีนในเป็ดพันธุ์บาร์บารี ควรให้มากกว่า 1 ครั้ง การทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาอื่นๆ โดย ผดุงวิทย์และสวนีย์ (2547) ได้ทำการศึกษาความคุ้มโรคของวัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ชนิดเชื้อตาย และพบว่าเป็ดพันธุ์พื้นเมืองผสมกากีแคมเบลที่ให้วัคซีนเพียงครั้งเดียวมีความคุ้มโรคสูง ขณะที่เป็ดเนื้อสายพันธุ์บาร์บารีที่ให้วัคซีนเพียงครั้งเดียวไม่มีความคุ้มโรค แต่เมื่อให้วัคซีนสองครั้งเป็ดมีความคุ้มโรคตามมาตรฐานอาเซียนกำหนด นอกจากนี้ยังมีการศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนกาฬโรคเป็ดในเป็ดพันธุ์เชอร์รี (นรินทร์ และคณะ, 2544) และการศึกษาวัคซีนกาฬโรคเป็ดในห่าน (สุวรรณี และคณะ, 2535) พบว่าการฉีดวัคซีนครั้งเดียวในเป็ดพันธุ์เชอร์รีและในห่าน อัตราความคุ้มโรคต่ำ เมื่อให้วัคซีน 2 ครั้งอัตราความคุ้มโรคสูงขึ้น ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากสายพันธุ์เป็ดที่อาจทำให้การสร้างภูมิคุ้มกันโรคแตกต่างกัน หรืออาจเนื่องจากขนาดโด๊สที่ใช้ยังไม่เหมาะสม ดังนั้นหากจะนำวัคซีนไปใช้ในเป็ดพันธุ์ดังกล่าวให้ได้ผลดีควรมีการศึกษาเพิ่มเติมทั้งขนาดโด๊สที่เหมาะสมและโปรแกรมที่ควรให้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณนิตยา เมตตา คณะกรรมการพัฒนาวิชาการและเจ้าหน้าที่ฝ่ายทดสอบคุณภาพวัคซีนอหิวาต์สุกรและกาฬโรคเป็ดทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลืองานทดลองครั้งนี้ให้สำเร็จเรียบร้อยด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

นรินทร์ อุประกรินทร์ นำดี แซ่เฮง ปรีดา เลิศวัชระสารกุล วิไลรัตน์ ฉ่ำสิงห์ ภัทรา มูลจิตร สุชาติ สงวนพันธุ์ วรวิทย์ วัชชวัลคุ 2544 ประสิทธิภาพของวัคซีนเชื้อเป็น ในการป้องกัน Duck enteritis virus สายพันธุ์ KU- KPS43 การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39 หน้า 427-435

สุวรรณี ท้วมแสง โสภณ ท้วมแสง และนันทนา โปษณเจริญ 2535 การศึกษาวัคซีนกาฬโรคเป็ด : การใช้วัคซีนกาฬโรคเป็ดชนิดเชื้อเป็นในห่าน วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 3(2): 40-42

ผดุงวิทย์ รักทอง และสวนีย์ ตระการรังสี 2547 การศึกษาผลการทดสอบความคุ้มโรคของวัคซีนอหิวาต์เป็ดไก่ในเป็ด 2 สายพันธุ์ การประชุมสัมมนาวิชาการปศุสัตว์ ครั้งที่ 19 หน้า 133-134

อุราศรี ตันตสวัสดิ์ 2542 แนวทางการป้องกันโรคสำคัญในเป็ดและห่าน กรมปศุสัตว์ หน้า 29

Asplin, F. D. 1970. Examination of sera from wild fowl for antibodies against the viruses of duck plague, duck hepatitis and duck influenza. Vet. Rec. 87: 182-183.

ASEAN Secretariat. 1998. ASEAN standard requirements for inactivated fowl cholera vaccine. *In* Manual of ASEAN standard for animal vaccine, Livestock publication Series No. 2A. Penebar Swadaya, Indonesia. pp. 22- 23.

Beard, C. W.1980. Serologic procedures. *In* Isolation and identification of avian pathogens. 2nd ed. Creative Printing Company, Inc. New York. pp. 129-135.

Burgess, E. C. and Yuill, T. M. 1980. Vertical transmission of duck plague virus (DPV) by apparently healthy DPV carrier water fowl. Avian Dis. 25(1) : 795-800.

Cagle, C., To T. L., Nguyen, T., Wasilenko, J., Adams, C. S., Cardona, J. C., Spackman, E., Suarez, L. D., and Pantin-Jackwood, J. M. 2011. Pekin and Muscovy ducks respond differently to vaccination with a H5N1 highly pathogenic avian influenza (HPAI) commercial inactivated vaccine. Vaccine. 29 (38): 6549-6559.

Dardiri, A. H. and Hess, W. R. 1975. Duck viral enteritis (Duck plague) characteristics and immune response of the host. Am. J. Vet. Res. 36(4): 535-538.

Graham, H. 1980. Cell culture methods. *In* Isolation and identification of avian pathogens. 2nd ed. Creative Printing Company Inc. New York. pp. 112-119.

Jansen, J. 1968. The interference phenomenon in the development of resistance against duck plague. J. Comp Pathol. Ther. 74 : 3-7.

Reed, L. J. and Muench, H. 1938. A simple method for estimating fifty percent end points. Am. J. Hyg. 27: 493 – 497.

Sandhu, T. and Leibovitz, L. 1997. Duck virus enteritis (Duck plague). *In* Diseases of poultry. 10th ed. Calnek B. W. ed. Iowa State University Press. Iowa. pp. 675-683.

Zander, D. V., Bermudez, A. J. and Mallison, E. T. 1997. Principle of disease prevention : diagnosis and control. *In* Disease of Poultry. 10th ed. Calnek B. W. ed. Iowa State University Press. Iowa. pp. 21-25.

Comparison of duck plague vaccine efficacy in Khaki Campbell and Barbary ducks

Kamonthip Thunpimon[1] Dithi Prasertsuwan[1]

Abstract

A Comparison of duck plague vaccine efficacy, single vaccination in Khaki Campbell and Barbary ducks, 3-week-old, and twice vaccination 21 days apart in Barbary ducks were studied. The results showed that neutralization index (NI) of Khaki Campbell and Barbary ducks 14 days after single vaccination were 3.5 and 1.70, respectively and the percentage of protection were 100 and 30, respectively. Further study with twice vaccination in Barbary ducks showed NI of 1.72 and 1.90 at 14 and 21 days after first vaccination respectively, and 1.96 at 14 days after second vaccination. The percentage of protection after second vaccination was 70. In conclusion, the efficacy of duck plague vaccine was lower in Barbary duck comparing to Khaki Campbell duck, which may be due to the genetic difference or the dose of vaccination . Thus, there should be more study to determine an appropriate dose and vaccination program in Barbary duck.

Key words: duck plague vaccine, vaccine efficacy, Khaki Campbell duck, Barbary duck

[1]Bureau of Veterinary Biologics, Pakchong, Nakhon Ratchasima. 30130

Production of FMD vaccine type A Lopburi/2012

Somkiet Petvanichakul[1] Somkiet Sripisuth[1]
Kingkarn Boonsuya Seeyo[2] Wilai Linchongsubongkoch[3]

Abstract

Antigenic variation of type A foot and mouth disease (FMD) virus causing outbreak in Thailand in 2012 was investigated. All viruses had r values greater than 0.40 to A22/Iraq/64 but no antigenic binding reaction to other reference viruses (A Sakolnakorn/97, A118/87 and A132/87). This evidence demonstrated a highly significant antigenic diversity in recent field viruses. Thus, the current vaccine using A Sakolnakorn/97 and A118/87 would not be able to protect these new type A strains. Therefore, it was recommended to select a field virus as a new candidate seed vaccine virus and the field virus from Lopburi province (A Lopburi/2012) was selected as the representative virus. This virus was immediately adapted and propagated into tissue culture cell and then scaled up to the large bioreactor tank for further vaccine formulation. The virus titer of $10^7 TCID_{50}$/ml and 146S antigen content of 2.1 µg/ml were obtained. The finish product was tested for vaccine potency in cattle; the result gave a high potency of 18.20 PD_{50}/dose indicating protection. The mean of virus neutralization (VN) titer in vaccinated animals at 21 days post vaccination was 2.244 (log) or 1:175. In conclusion, this developed new vaccine type A Lopburi/2012 would be able to replace an existing vaccine for enhancing the control and prevention of new type A outbreak in the field.

Key words: FMD vaccine, A Lopburi, r vaule

---

[1] Bureau of Veterinary Biologics, Department of Livestock Development, Pakchong, Nakhon Ratchasima 30130

[2] Regional Reference Laboratory for FMD in Southeast Asia, Pakchong, Nakhon Ratchasima 30130,

[3] FMD Expert and Consultant of Department of Livestock Development

Introduction

Foot and mouth disease (FMD), a highly contagious disease of cloven-hoofed animals, is important in Thailand and South East Asia region. Serotypes O and A are considered endemic in Thailand, causing significant economic losses primarily due to lower production of affected animals and subsequent constrain of international trading. Rapid and accurate diagnosis plays an important role in the prevention of disease spread and can ensure that appropriate vaccines are selected for the use against circulating field strains. Identification of virus type by standard ELISA typing test (Roeder and Le Blance Smith, 1987) and antigenic differentiation (Rweyemamu,1984) were required before selection of an appropriate vaccine. The antigenic variation is of importance to both epidemiological investigation and immunoprophylaxis campaigns.. In Thailand, the 2-dimentional virus neutralization (VNT) as described by Doughty *et al*. (1995) and liquid phase blocking ELISA (LP ELISA) as described by Linchongsubongkoch *et al*. (2000) are used to investigate the antigenic variation or r value in order to determine the serological relationship between reference virus vaccine strains and field isolate viruses.

Linchongsubongkoch *et al*. (2008) reported that the r value of type O viruses that had caused outbreaks during 1997-2007 and 2008-2009 (data not published) as well as the outbreaks in 2010-2012 (Linchongsubongkoch *et al*., 2012) were serologically related to O189/87 vaccine strain while type A viruses had antigenic diverse more than type O viruses. Type A viruses in 1997-1998 were closely related to A Sakolnakorn/97 vaccine strain (Linchongsubongkoch *et al*, 2000), whereas type A viruses during 2001-2007 and during 2008-2009 were closely related to A118/87 vaccine strain. Re-emerging of A Sakolnakorn/97 related viruses were found during 2010-2011. In late 2011 to 2012, the viruses were demonstrated an antigenic change from the current vaccine strains either A Sakolnakorn/97 or A118/87. These viruses were highly matched with A22/Iraq/64 reference vaccine strain from World Reference Laboratory (WRL) (data not published).

To trace the origin of the virus from the outbreak in Lopburi province in 2012, the virus was submitted to WRL, Pirbright, United Kingdom (UK) for genetic characterization by nucleotide sequencing. The phylogenetic tree analysis showed the sequence lineage defined as Asia topotype similar to A Sakolnakorn/97 and A118/87 vaccine strains (WRL report and data not published). Even though the genetic analysis of the recent type A virus showed similarity among previous type A viruses in Thailand, the r value was much closer to A22/Iraq/64 than A Sakolnakorn/97 or A118/87. Hence, the current vaccine

produced from both A Sakolnakorn/97 and A118/87 may insufficiently protect animals from new type A 2012 infection. Therefore, it is required to select a field virus as a vaccine seed for further industrial vaccine production.

The objective of this study is to determine r value of field viruses from outbreaks in 2012, adapt vaccine seed virus, propagate the virus in suspension cell, produce the vaccine and evaluate the potency in cattle.

Materials and Methods

FMD viruses

Field viruses

Field isolate viruses in 2012, obtained from the Regional Reference Laboratory for FMD in Southeast Asia (RRL), were isolated by inoculating primary lamb kidney cells for 2-3 passages and further 4-5 passages in baby hamster kidney cell 21 clone 13 ($BHK_{21}C_{13}$). The cell culture supernatant was confirmed for the virus serotype by an ELISA technique as described by Roeder and Le Blanc Smith (1987). The reference vaccine and field isolate viruses were titrated by indirect sandwich ELISA method (Kitching *et al*.,1988) to select the working dilution that will be used to perform r vaule by liquid phase blocking ELISA as the method described by Linchongsubongkoch *et al*. (2012).

Reference viruses for r value determination.

A118/87 and A Sakolnakorn/97 were obtained from the Bureau of Veterinary Biologics; A132/87 and A22 Iraq/64 were obtained from RRL.

Virus for vaccine production

A Lopburi/2012 was selected as a candidate vaccine strain for further adaptation in $BHK_{21}C_{13}$ monolayer and suspension.

Virus for potency test

A Lopburi/2012 virus was prepared by inoculating the cattle for increasing the virulence. The infectivity was 10^6 $TCID_{50}$/ml by titration in primary lamb kidney cell.

Cell cultures

Primary lamb kidney cell was obtained from the lamb with body weight about 20 kg and was used for field viruses propagation and titration. Both $BHK_{21}C_{13}$ monolayer and suspension from foot and mouth disease vaccine production unit were used for virus adaptation.

Serological relationship of field and reference vaccine strains

Nine field isolate type A viruses from 2012 were used for r value investigation and were compared with various reference vaccine strains; A118/87, A sakolnakorn/97, A132/87 and A22/Iraq/64, respectively, as method described by Linchongsubongkoch *et al*. (2012). The criteria for r value interpretation were described by Samuel *et al*. (1990) as follows:

r = 0-0.139 highly significant serological variation from the reference strain;

r = 0.20-0.39 significant difference from the reference strain, but protection may be satisfactory if using a sufficiently potent vaccine.;

r = 0.40-1.0 not significantly different from vaccine strain.

Adaptation and propagation of seed virus vaccine strain

A field isolate virus (A Lopburi/2012), from the outbreak in Lopburi province in February 2012, was selected as a new candidate vaccine strain by initial propagation in primary lamb kidney cell . Briefly, virus in the field tissue sample was extracted and inoculated in primary lamb kidney cell. The culture was incubated for 24 hours until cytopathic effect (CPE) was observed. Then the cell was broken by freeze-thawed technique, centrifuged and transferred the supernatant into a new passage. If the CPE was not observed in 24 hours, the culture was incubated for further 24 hours and subjected to freeze – thawing, centrifugation and transferring supernatant to the next passage. After 2 passages of inoculating in primary lamb kidney cell, the virus was propagated in $BHK_{21}C_{13}$ monolayer cell grown in T – flask (25 cm^2) for 5 passages and subsequently in roller bottle (490 cm^2) for 3 passages. In each passage, at least 80% of CPE was observed in 24 – 48 hours in $BHK_{21}C_{13}$ monolayer cell culture before transferring 1 – 5 ml culture medium into the new cell culture of the next passage. Afterwards, the virus was adapted in $BHK_{21}C_{13}$ suspension cell (100 ml) for 24 hours when CPE was observed and the virus was further increased infectivity in $BHK_{21}C_{13}$ suspension cell in a 2-litre bioreactor for 2 passages and 300-litre bioreactor for 1 passage with 24 hours incubation per passage.

The adapted virus was propagated in 2000-litre bioreactor as method described by the vaccine production unit of the Bureau of Veterinary Biologics (data not published) and World Organization of

Animal Health, OIE (2012). Briefly, a healthy $BHK_{21}C_{13}$ suspension cell culture (5 x 10^5 cells/ml) was cultivated in a growth medium with 5% calf bovine serum at 37 ^oC and stirred at 150 rpm for 2 days until the cell density reached 2 x 10^6 cells/ml. The growth medium was then discarded and replaced by maintenance medium without bovine serum before adding the 30-litre of adapted seed virus. The CPE was observed within 18-24 hours. Culture sample was collected for determination of the virus amount (146S antigen) and infectivity ($TCID_{50}$). The viral suspension was clarified with continuous centrifugation[1], partially purified with crossflow filtration[2] and concentrated with polyethylene oxide. The purification was 100 folds reduction from 2,000 liters. Finally, the virus was inactivated by the addition of Binary Ethyleneimine (BEI) and held for 17 hours at 4^OC before storing at -196 ^oC as antigen to be used for vaccine formulation.

Vaccine formulation

The monovalent vaccine was formulated by mixing the antigen with aluminium hydroxide gel and other excipients. Final antigen concentration in 1 dose is 4 micrograms.

Quality control

In-process quality control

The virus measurement was carried out for determining TCID50 by the virus titration in primary lamb kidney cell and 146S content by sucrose gradient ultracentrifugation and measuring UV absorbance at 459 nanometer. Virus titration was calculated as method described by Reed and Muench (1938). The inactivated antigen was tested for complete inactivation by culturing in primary lamb kidney cell for 3 passages.

Vaccine quality control

The vaccine was tested for sterility, safety and potency as complied with the standard method (OIE, 2012). Briefly, the sterility was done by inoculating the vaccine into fluid thioglycollate, tryptic soy and sabouraud media, no bacterial and fungal contamination should be found. Safety test, 2 cattles were vaccinated with double doses of the vaccine and observed for 10 days. The potency was performed by vaccination 3 groups of 5 cattles each. Cattles in each group were vaccinated with 1, 1/4 and 1/16 dose of vaccine, respectively. After vaccination for 21 days, blood were collected and all cattles were challenged

---

[1] Robatel, France

[2] Carbosep, France

with homologous virus via intra-dermolingual route. The cattles were observed for lesions for 8 days. Unprotected cattle show lesions at sites other than the tongue while control cattle must develop lesions on at least three feet. The fifty percent protective dose (PD_{50}) method was calculated as described by Karber (1931), the vaccine should contain at least $3PD_{50}$/dose.

Results

Serological relationship of field and reference vaccine strains

All of type A viruses in 2012 from Lopburi, Ratchaburi, Kanchanburi, Mukdaharn provinces showed a good matching with only A22/Iraq/64 and no antigenic binding reaction to other reference viruses, A118/87, A Sakolnakorn/97 and A132/87 (table 1). As a result, sample 3/2012 from Lopburi province, the first sample found good matching with A22/Iraq/64, was selected as a representative of field viruses for further seed virus vaccine adaptation.

Adaptation and propagation of seed vaccine virus for production

The adaptation and propagation of A Lopburi/2012 virus in $BHK_{21}C_{13}$ monolayer cell, the last passage, resulted the high virus titer of $10^7 TCID_{50}$/ml and 146S antigen of 1.5 µg/ml. The virus was then further adapted into suspension cell for 5 passages in order to increase virus titer and capacity.

Quality control

In- process quality control

The viral suspension at the last passage in 2,000-litre bioreactor of which the virus titer of 10^7 $TCID_{50}$ /ml and 146S antigen of 2.1 µg/ml was used for further purification process (figure1). Virus was completely inactivated and the final amount of antigen was 138 µg/ml in 20,000 ml. as stock antigen.

Vaccine quality control

Formulated monovalent vaccine A Lopburi/2012 had no any contamination and was safe when tested in cattle. The vaccine had high potency at 18.20 PD_{50}/dose. The mean of prechallenge VN titer was 2.244 (log) (ranged from 1.86 - 2.58 log) or 1:175 in animals received 1 dose vaccination.

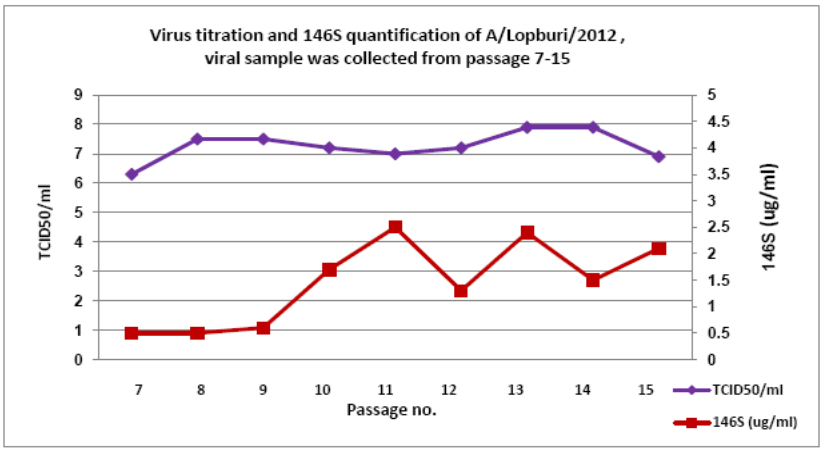
Table 1. Result of r value of FMDV type A field isolate viruses in 2012 comparing to four reference virus vaccine strains as homologous system, A118/87, A Sakolnakorn/97, A132/87 and A 22/Iraq/64

Sample no.	Province	r value by LP ELISA			
		A118/87	A/Sakolnakorn/97	A/132/87	A22/Iraq/64
3/2012	Lopburi	0.11	no binding reaction by titration		1.30
4/2012	Lopburi	0.15	"……..……....…"		1.39
6/2012	Ratchaburi	0.075	"……..……..…"		1.19
11-1/2012	Kanchanaburi		no binding reaction by titration		2.43
12-1/2012	Kanchanburi		"……..…..……"		1.99
14-2/2012	Ratchaburi		"……..……"		1.99
15/2012	Mukdaharn		"……..……"		2.65
16-1/2012	Ratchaburi		"……..……"		0.66
17-1/2012	Kanchanaburi		"……..……"		0.88

Table 2. Antibody titer obtained in experimental cattles at 21 days post vaccination with FMD vaccine strain A Lopburi /2012 by virus neutralization (VN) test, and potency test by a challenge with 10^6 $TCID_{50}$ /ml intra-dermolingual inoculation (OIE Terrestrial Manual, 2012)

Cattle no.	Antibody titer (Log) at dilution 1:1	Mean VN titer (log)	No. of animal protected/total at dilution 1:1
118	1.86		
119	2.58		
120	2.22	2.244 (1:175)*	5/5
121	2.22		
122	2.34		

Remark: *mean of antibody titer by VNT indicating the protective level at least 1:175, this result was corresponding to the OIE standard in term of cut-off for immunological protection by vaccination should be > 1:64



Remark * viral passage no. 15 was used in formulating as a new vaccine in large scale in bioreactor tank, virus titer = 10^7 $TCID_{50}$/ml, 146S antigen = 2.1 µg/ml

Figure 1. The adaptation of A Lopburi/2012 and continuing viral propagation into suspension cell culture, viral sample was taken during each passage for virus titration and 146S antigen measurement before further vaccine formulation step.

Discussion and conclusion

The majority of type A field isolate viruses from the outbreaks in the year 2011 were matched with A Sakolnakorn/97 rather than A118/87 and A132/87 by double sandwich ELISA typing (Boonsuya Seeyo *et al.*, 2012). In contrast to the year 2012, field isolate viruses were matched with A22/Iraq/64 rather than A Sakolnakorn/97, A118/87 and A132/87 (Table 1). From our results, we observed that most of field viruses gave the r values of greater than 1. This may be caused by an intrinsic factor of antibody and virus. Similar result was also observed from type A SUD/2/84, A IRN/2/97 and A TUR/20/2006 viruses (Sebhatu *et al.*, 2012). The origin of the virus from the first outbreak in Lopburi province was investigated by genetic characterization. The phylogenetic tree showed that A Lopburi/2012 was clustered in Asia topotype including A118/87 and A Sakolnakorn/97 (WRL unpublished data). This result implied continuous mutation of the virus in infected host and being endemic in Thailand. Since the FMDV is an RNA virus, the quasispecies population occurs during serial passages in an animal to maintain the survival of virus population (Morelli *et al.*, 2013). Finally, the virus would not bind or react with antibodies raised

from A118/87 and A Sakolnakorn/97. Therefore, the vaccine produced from A 118/87 and A Sakolnakorn/97 may not sufficiently protect and immediate actions was required especially the production of new strain virus vaccine and implementing control measures in the field.

The virus adaptation was successfully done with $BHK_{21}C_{13}$ monolayer and suspension cell cultures and overall process took about 2 months. It is satisfactory that the A Lopburi/2012 virus could be adapted quite fast to produce an emergency vaccine for the disease control. However, the adaptation of other virus strains may take different time which may be due to their infective ability, host range and the susceptibility of cell culture. The ongoing study should emphasize on the adaptation of other strains of virus. In this study, we found that after purification and concentration the virus antigen cultured from 2,000 –litre bioreactor, the virus lost approximately 38%. The technical handling of instruments and also the characteristic of virus itself such as heat resistance may be the reasons of the antigen loss. Though, the vaccine produced from A Lopburi/2012 gave good protection with homologous virus challenge, the cross protection test against other type A viruses should be performed. By principle, a criteria for seed selection of new vaccine strain was described by Rweyemamu (1978): (a) be right serological specificity, (b) grow rapidly and regularly in cell culture, (c) give rise to high virus yield, (d) give high content of immunogen and provoke protective immunity in vaccinated animals, (e) the antigen must be stable for at least over one year in refrigerating temperature. The A Lopburi/2012 seed virus vaccine was considered suitable for vaccine production because of the rapid propagation in primary lamb kidney cell and high infectivity in suspension cell cultures. Therefore the authors would suggest that the vaccine should be tested for keeping quality over a year and the seromonitoring of vaccinated animals should be conducted in order to assess the efficacy of the field vaccination.

The FMD virus is still endemic in South East Asia countries which poses a high risk of transmission in livestock population. The intensive actions are required such as investigation of infected animal, identification of serotype and genotype of field isolate viruses, elimination of virus at the source of infection, vaccination with high potent virus vaccine and prevention of transmission. These actions needed the cooperation of field veterinarian, diagnostic laboratory, vaccine producer and farmer in order to eliminate FMDV from SEA countries.

Acknowledgements

The authors wish to thank Dr. Viriya Kaewthong and Dr. Chaiya Sa-ngaprakhon of the Bureau of Veterinary Biologics for their kind supports of the technical information and potency testing .Also we wish to thank Miss Janya Samanit and Miss Chalinee Deeplang of the Regional Reference Laboratory for FMD in South East Asia for their kind contribution in preparing field isolate viruses, confirm antigen typing and assisting in r vaule testing.

References

Boonsuya Seeyo, K., Samanit, J. and Linchongsubongkoch, W. 2012. FMD antigenic profiling ELISA. Proceedings the Thailand – Japan Joint Conference on Animal Health: The 25th Year Anniversary of NIAH. 91-95.

Doughty, W. J., Runt, R. A., Linchongsubongkoch, W., Gleeson, L. J. and Kongthon, A. 1995. Serological comparison of type A foot and mouth disease virus isolates from Thailand. Rev. Sci. Tech. Int. Epiz. 14(3): 547-555.

Kitching, P., Rendle, R. and Ferris, N. P. 1988. Rapid correlation between field isolates and vaccine strains of foot and mouth disease virus. AFRC Institute for Animal Health, Pirbright, Woking, Surrey, UK. pp. 403-408.

Karber, G. 1931. Beitrag zur kollektiven behandlung pharmakologischer reihenversuche. Archive for Experimentelle Pathologie Phamakologie. 162: 480-483.

Linchongsubongkoch, W., Rumlumdoan, S., Kamolsiripichaiporn, S. and Janukit, T. 2000. Antigenic variation of foot and mouth disease viruses from field outbreak in Thailand. Proceedings in 38th Kasetsart University Annual Conference. 207-214.

Linchongsubongkoch,W., Udon, R., and Samanit, J. (2008). Antigenic evolution of foot and mouth disease virus strains in Thailand. J. Thai Vet. Med. Assoc. 59: 80-89.

Linchongsubongkoch, W., Boonsuya Seeyo, K., Petvanichakul, S., Samanit, J. 2012. Vaccine matching strain characterization of foot and mouth disease virus in South East Asia during 2010-2012. Proceedings Health: The 25th Year Anniversary of NIAH. 47-51.

Morelli, M. J., Wright, C. F., Knowles, N. J., Juleff, N., Paton, D. J., King, D. P. and Haydon, D. T. 2013. Evolution of foot-and-mouth disease virus intra-sample sequence diversity during transmission in bovine host. Vet. Res. 44(12).

World organization of animal health, (OIE). 2012. Foot and mouth disease. *In* Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. pp. 145-173.

Reed, L. and Muench, H. 1938. A Simple method of estimating 50 percent end–points. Amer. J. Hyg. 27: 493-497.

Roder, P. L. and Le Blanc Smith, P. M. 1987. Detection and typing of foot and mouth disease virus by enzyme linked immunosorbent assay: a sensitive, rapid and reliable technique for primary diagnosis. Res. Vet. Sci. 43: 225-232.

Rweyemamu, M. M. 1978. The selection of vaccine strains of foot and mouth disease virus. Br. Vet. J. 134: 63-67.

Samuel, A. R., Ouldridge E. J., Arrowsmith, A. E. M., Kitching, R. P. and Knowles, N. J. 1990. Antigenic analysis of serotype O of foot and mouth disease virus isolates from the Middle East 1981- 1988. Vaccine. 8: 390-396.

Sebhatu, T. T., Moormann, R. J. M., Weerdmeester, K., van Hemert-Kluitenberg, F. and Dekker, A. 2012. Antibody titers in FMD virus serotype A strains: comparison of methodologies to predict cross-protection. *In* 2012 Open Session of the EuFMD Standing Technical Committee. Jerez, Spain. Available from http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/eufmd/docs/open_session2012/Appendices/29_Antibody_titres_in_fmdv_serotype_A_strains_comparison_of_methodologies_to_predict_cross_protection_t_tesfaalem.ppd [Accessed 1 May 2012].

การผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ A Lopburi/2012

สมเกียรติ เพชรวาณิชกุล[1] สมเกียรติ ศรีพิสุทธิ์[1]
กิ่งกานต์ บุญสุยา สีโย[2] วิไล ลินจงสุบงกช[3]

บทคัดย่อ

ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางแอนติเจนของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์เอที่ระบาดในพื้นที่ปี พ.ศ. 2556 พบว่า 100% ของไวรัสที่ศึกษาทั้งหมดมีค่า r vaule มากกว่า 0.40 ต่อไวรัสวัคซีน A22/Iraq/64 และพบว่าไม่เกิดปฏิกิริยาจำเพาะทางแอนติเจนกับไวรัสวัคซีน A Sakolnakorn/97 A118/87 และ A132/87 แสดงให้เห็นว่าไวรัสในพื้นที่มีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางแอนติเจนไปจากไวรัสวัคซีนในปัจจุบัน ดังนั้นวัคซีนที่ใช้ในปัจจุบันที่ผลิตจาก A Sakolnakorn/97 และ A118/87 อาจไม่สามารถให้ความคุ้มโรคในพื้นที่ได้ จึงมีการคัดเลือกไวรัสวัคซีนสายพันธุ์ใหม่จากเชื้อพื้นที่ที่ระบาดในขณะนั้น โดยใช้ไวรัส A Lopburi/2012 เป็นตัวแทนของไวรัสพื้นที่เพื่อพัฒนาการเพาะเลี้ยงและเพิ่มปริมาณไวรัสในเซลล์แบบแขวนลอยสำหรับผลิตเป็นวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์เอสายพันธุ์ใหม่ พบว่าสามารถเพาะเลี้ยงไวรัสได้ปริมาณไวรัสเท่ากับ 10^7 $TCID_{50}$/ml และปริมาณ 146S แอนติเจนเท่ากับ 2.1 µg/ml เมื่อนำมาผลิตเป็นวัคซีนให้ความคุ้มโรคในโคทดลองมีค่าสูงถึง 18.20 PD_{50}/dose บ่งชี้ว่าวัคซีนให้ความคุ้มโรค ผลของการตรวจระดับแอนติบอดีหลังฉีดวัคซีน 21 วัน โดยวิธี virus neutralization test (VNT) ให้ค่าเฉลี่ยระดับแอนติบอดีเท่ากับ 2.44 (log) หรือ 1:175 สรุปได้ว่าวัคซีนไทป์เอสายพันธุ์ A Lopburi/2012 ที่ผลิตมีความคุ้มโรคและกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีได้ในระดับสูง สามารถนำไปใช้แทนวัคซีนไทป์เอในปัจจุบันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมและป้องกันโรคจากเชื้อไวรัสไทป์เอที่ระบาดในพื้นที่ได้

คำสำคัญ: วัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย เอ ลพบุรี อาร์-แวลู

[1] สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ ปากช่อง นครราชสีมา 30130

[2] ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ปากช่อง นครราชสีมา 30130

[3] ผู้เชี่ยวชาญด้านโรคปากและเท้าเปื่อย ที่ปรึกษากรมปศุสัตว์

ระดับแอนติบอดีในโคนมในพื้นที่หลังฉีดวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย 2 ครั้ง และ 3 ครั้งต่อปี

สุกิจ ประทุมชัย[1] อมรรัตน์ สวัสดิ์สิงห์[1] กิ่งกานต์ บุญสุยา สีโย[2]

บทคัดย่อ

ศึกษาระดับแอนติบอดีต่อวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยเชื้อตาย ชนิดรวม 3 ไทป์ ของสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ ในแม่โครีดนมพันธุ์ผสมโฮสไตน์ฟรีเชียนไม่จำกัดอายุจากฟาร์มเอกชนในพื้นที่จังหวัดสระบุรี และจังหวัดกาญจนบุรี โดยโคนมได้รับการฉีดวัคซีนเป็นประจำทุกปี และไม่มีประวัติป่วยเป็นโรคปากและเท้าเปื่อย ในแต่ละจังหวัดแบ่งโคเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ฉีดวัคซีน 2 ครั้ง ห่างกัน 6 เดือน และ กลุ่มที่ 2 ฉีดวัคซีน 3 ครั้ง ห่างกัน 4 เดือน ตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ โอ เอ และ เอเชียวัน ด้วย Virus neutralization test ก่อนและหลังฉีดวัคซีนทุกเดือน นาน 12 เดือน พบว่า โคทั้งสองกลุ่มมีแอนติบอดีต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ โอ เอ และเอเชียวันตลอดการทดลอง สรุปได้ว่าการฉีดวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยเชื้อตาย ชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์เจลและซาโปนินเป็นแอดจูแวนท์สำหรับ โค กระบือ แพะ แกะ ชนิดรวม 3 ไทป์ ปีละ 2 ครั้ง และ 3 ครั้งต่อปี สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ไม่แตกต่างกัน

คำสำคัญ: วัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย ระดับแอนติบอดี โคนม

---

[1] สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

[2] ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อยภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

บทนำ

โรคปากและเท้าเปื่อยเป็นโรคระบาดสัตว์ที่ส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจการปศุสัตว์ไทยและการค้ากับต่างประเทศอย่างมาก มีการแพร่ระบาดอย่างกว้างขวางและรวดเร็ว ติดต่อกันได้หลายทาง เกษตรกรที่เลี้ยงโคนมให้ความสำคัญในการควบคุมและป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อยเป็นอย่างมาก หากพบการเกิดและแพร่ระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อยในโคนมจะส่งผลกระทบอย่างรุนแรงต่ออุตสาหกรรมนมไทย ทำให้ผลผลิตน้ำนมลดลง ไม่ได้คุณภาพตามมาตรฐาน ไม่สามารถส่งนมได้ ทำให้รายได้ของเกษตรกรลดลงอย่างเห็นได้ชัด จึงจำเป็นต้องมีมาตรการควบคุมและป้องกันโรคอย่างมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะการใช้วัคซีนที่มีคุณภาพเพื่อควบคุมและป้องกันการเกิดโรคระบาด

กรมปศุสัตว์ โดยสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ มีข้อแนะนำให้ฉีดวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์เจลและซาโปนินเป็นแอดจูแวนท์ สำหรับป้องกันโรคในโค กระบือ แพะ แกะ ปีละ 2 ครั้ง (ทุก 6 เดือน) ในกรณีที่สัตว์โตเต็มวัยและเคยได้รับวัคซีนมาก่อน (สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์, 2553) ซึ่งสอดคล้องกับ Doel (2003) ที่รายงานว่าวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์เจลและซาโปนินเป็นแอดจูแวนท์ สามารถให้ความคุ้มโรคในโคได้นานประมาณ 6 เดือน แต่การสร้างภูมิคุ้มกันและระยะเวลาความคุ้มโรคก็มีปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้องด้วยโดยเฉพาะตัวสัตว์เองที่ตอบสนองต่อการให้วัคซีนได้ไม่เท่ากันทุกตัว เนื่องจากภาวะเครียดจากสภาพแวดล้อมหรือสภาวะทางกายภาพ เช่น ตั้งท้อง เจ็บป่วย ขาดอาหาร น้ำ เป็นต้น (สันนิภา, 2549) การฉีดวัคซีนเป็นเพียงการป้องกันโรควิธีหนึ่งเท่านั้น ซึ่งจำเป็นต้องดำเนินการควบคู่ไปกับการจัดการภายในฟาร์มที่ดี เช่น มีการดูแลรักษาความสะอาดภายในฟาร์มให้ถูกหลักสุขาภิบาล มีโปรแกรมการฉีดวัคซีนป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อยให้กับสัตว์อย่างสม่ำเสมอ หากมีสัตว์เลี้ยงใหม่ที่จะนำเข้าเลี้ยงร่วมฝูง ต้องแยกเลี้ยงไว้ดูอาการของโรคอย่างน้อย 10 วัน รวมถึงการป้องกันพาหะนำโรคเข้าสู่ฟาร์ม เช่น คน สัตว์ สิ่งของ ด้วยการฉีดพ่นน้ำยาฆ่าเชื้อทุกครั้ง และไม่ให้บุคคลภายนอกเข้าฟาร์มโดยไม่จำเป็น เป็นต้น จึงจะสามารถป้องกันไม่ให้เกิดโรคภายในฟาร์มได้ จากปัญหาที่ยังพบการเกิดโรคปากและเท้าเปื่อยในโคนมในบางท้องที่ ทำให้หลายฟาร์มได้ปรับเปลี่ยนโปรแกรมการฉีดวัคซีนป้องกันโรคเป็น ฉีดกระตุ้นปีละ 3 ครั้ง ห่างกัน 4 เดือน เป็นการเพิ่มค่าใช้จ่าย ดังนั้นหากฉีดวัคซีนปีละ 2 ครั้ง ห่างกัน 6 เดือน ตามคำแนะนำของสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ และมีการจัดการฟาร์มที่ดี สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้เพียงพอสำหรับการป้องกันโรค ก็ไม่จำเป็นต้องเพิ่มการฉีดวัคซีนเป็นปีละ 3 ครั้ง จึงทำการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบระดับแอนติบอดีในโคนมในพื้นที่หลังฉีดวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย 2 ครั้ง และ 3 ครั้งต่อปี สำหรับใช้เป็นข้อมูลการวางโปรแกรมการฉีดวัคซีนในโคนม และสร้างความเชื่อมั่นให้เกษตรกรผู้ใช้วัคซีน

อุปกรณ์และวิธีการ

โคนม

แม่โครีดนมพันธุ์ผสมโฮสไตน์ฟรีเชียนไม่จำกัดอายุ ที่มีประวัติการฉีดวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยเชื้อตาย ชนิดรวม 3 ไทป์ ของสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ จากฟาร์มเอกชน ในพื้นที่จังหวัดสระบุรี และจังหวัดกาญจนบุรี ซึ่งมีการฉีดวัคซีนปีละ 2 และ 3 ครั้งเป็นประจำทุกปีและไม่มีประวัติป่วยเป็นโรคปากและเท้าเปื่อย

วัคซีน

วัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยเชื้อตาย ชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์เจลและซาโปนินเป็นแอดจูแวนท์สำหรับ โค กระบือ แพะ แกะ ชนิดรวม 3 ไทป์ ที่ผลิตโดยสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์

การฉีดวัคซีนและเก็บตัวอย่างซีรัม

แบ่งโคนมออกเป็น 2 กลุ่ม ฉีดวัคซีนเข้าใต้ผิวหนัง ตัวละ 2 มล. ดังนี้

	สระบุรี (ตัว)	กาญจนบุรี (ตัว)
กลุ่มที่ 1 ฉีดวัคซีน 2 ครั้ง ห่างกัน 6 เดือน	30	30
กลุ่มที่ 2 ฉีดวัคซีน 3 ครั้ง ห่างกัน 4 เดือน	30	30

เจาะเลือดเพื่อเก็บซีรัมในโคทดลองทุกตัว ก่อนและหลังฉีดวัคซีน ทุกเดือน นาน 12 เดือน

การตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยโดย Virus neutralization test (VNT)

นำซีรัมที่ได้ไปตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ โอ เอ และ เอเชียวัน ด้วย Virus neutralization test (VNT) (ฝ่ายทดสอบคุณภาพวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย กรมปศุสัตว์, 2553; OIE, 2009) โดยนำซีรัมมา inactivate ที่อุณหภูมิ 56 °ซ เป็นเวลา 30 นาที แล้วเจือจางซีรัมแบบ 3-fold dilution ในไมโครเพลทก้นแบน และ นิวทรัลไลซ์ด้วยไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ปริมาณ 320 TCID50/ml โดยใช้ปริมาตรเท่ากับซีรัม (50 µl) ที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ในตู้บ่มเชื้อคาร์บอนไดออกไซด์ หลังจากนั้นเติม secondary lamb kidney cells หลุมละ 150 µl บ่มต่อเป็นเวลา 72 ชั่วโมง อ่านผลพยาธิสภาพของเซลล์ (cytopathic effect, CPE) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดหัวกลับ คำนวณค่า log VNT titer ตามวิธีของ Karber (1931) ซึ่งสามารถแปลผลได้ดังนี้ โคที่มีความคุ้มโรค 70 % มีค่าระดับแอนติบอดีต่อไทป์ โอ เอ และ เอเชียวัน เท่ากับ 1.42, 1.22 และ 1.54 ตามลำดับ (นพพร และ คณะ, 2543) นำข้อมูลมาหาค่าเฉลี่ยเลขคณิตและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

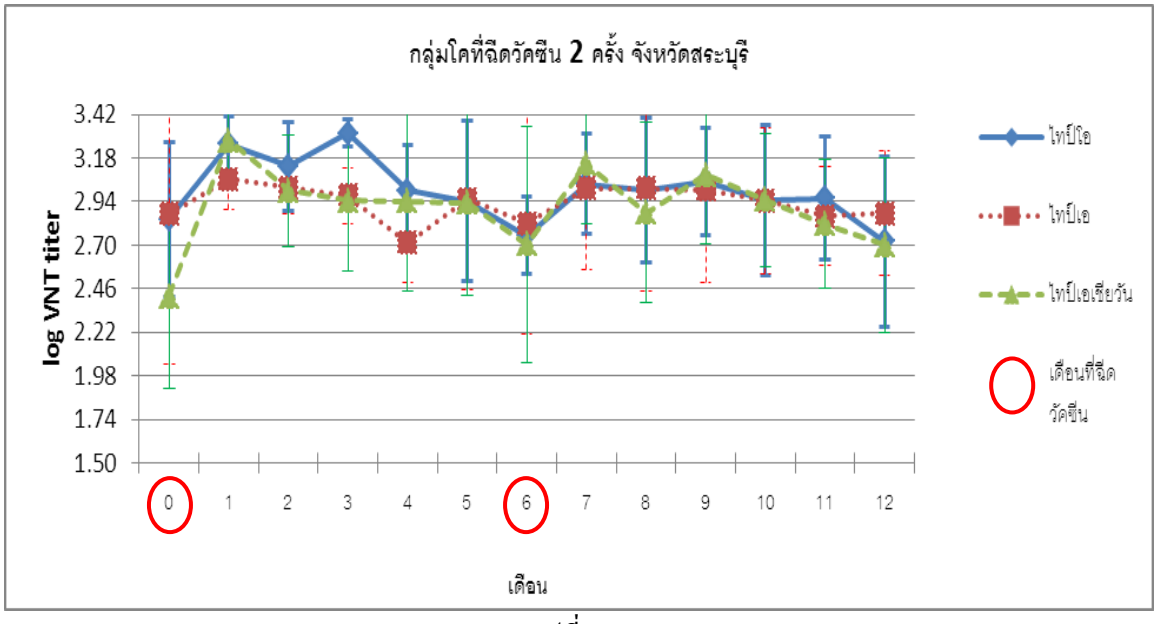
ผล

กลุ่มที่ 1

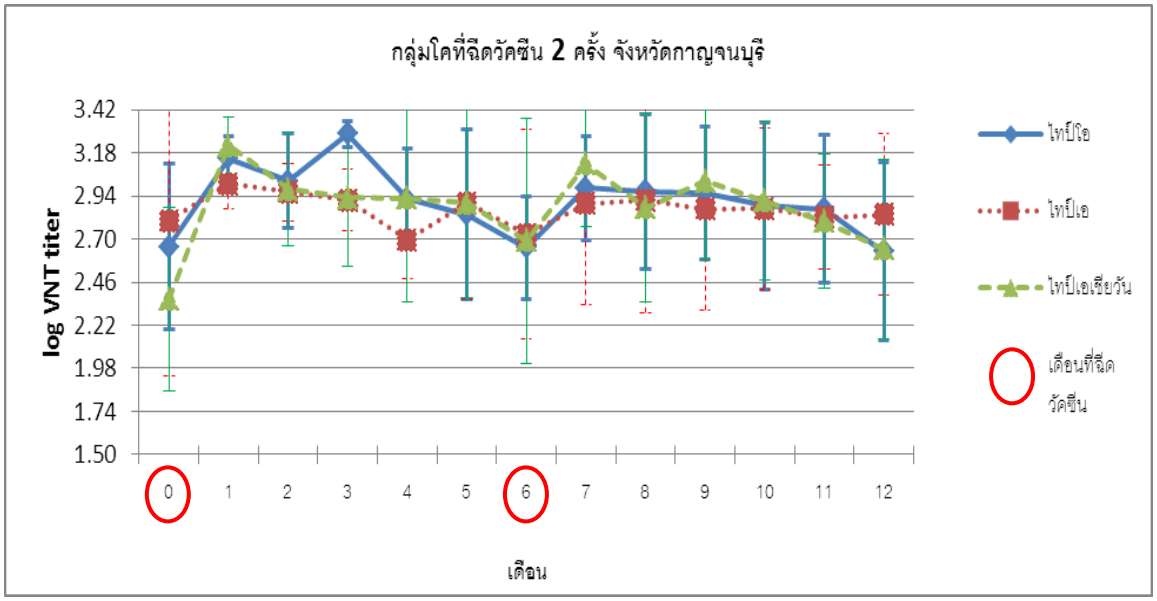
พบว่าระดับแอนติบอดีต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ โอ เอ และเอเชียวัน เฉลี่ยก่อนฉีดวัคซีนเข็มแรก ในจังหวัดสระบุรี มีค่า log VNT titer เท่ากับ 2.84, 2.87 และ 2.42 ตามลำดับ ในจังหวัดกาญจนบุรี มีค่า log VNT titer เท่ากับ 2.66, 2.80 และ 2.36 ตามลำดับ เมื่อฉีดวัคซีนเข็มแรกจะกระตุ้นให้ร่างกายสัตว์สร้างแอนติบอดีต่อไทป์ โอ เอ และเอเชียวัน เฉลี่ยสูงกว่าก่อนฉีดวัคซีน และระดับแอนติบอดีจะคงที่หรือค่อยๆ ลดลง จนเมื่อมีการฉีดวัคซีนเข็มที่สองระดับแอนติบอดีจะเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้ง และจะคงที่หรือค่อยๆ ลดลงตามลำดับ ทั้งสองจังหวัด ดังแสดงในรูปที่ 1

กลุ่มที่ 2

พบว่าระดับแอนติบอดีต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ โอ เอ และเอเชียวัน เฉลี่ยก่อนฉีดวัคซีนเข็มแรก ในจังหวัดสระบุรี มีค่า log VNT titer เท่ากับ 2.98, 3.30 และ 3.11 ตามลำดับ และในจังหวัดกาญจนบุรี มีค่า log VNT titer เท่ากับ 2.94, 3.29 และ 3.10 ตามลำดับ และหลังฉีดวัคซีน มีลักษณะเช่นเดียวกับกลุ่มที่ 1 ดังแสดงในรูปที่ 2

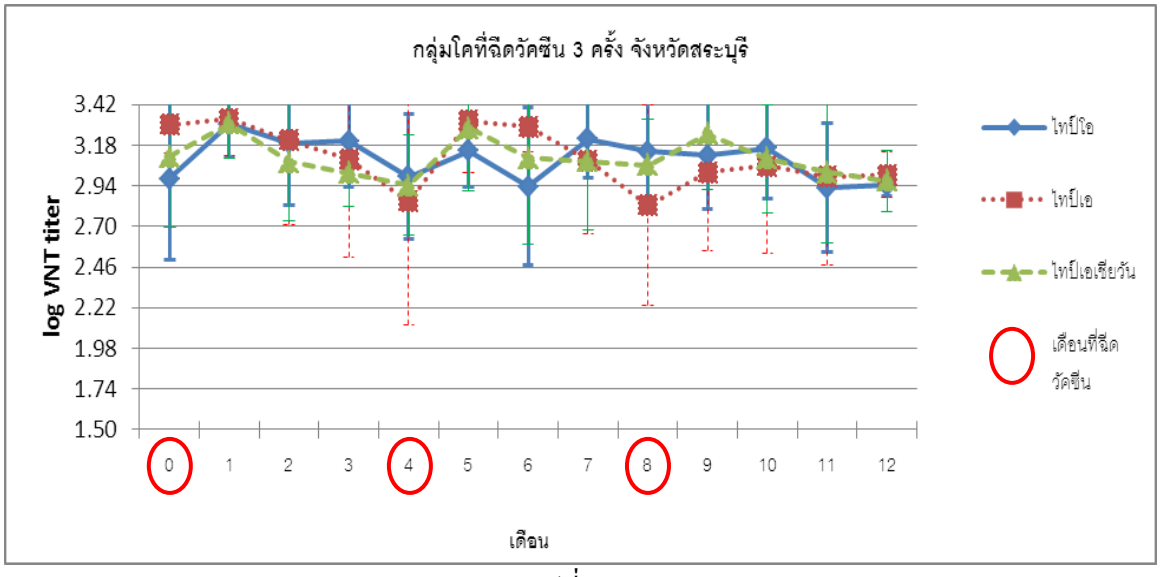


รูปที่ 1a

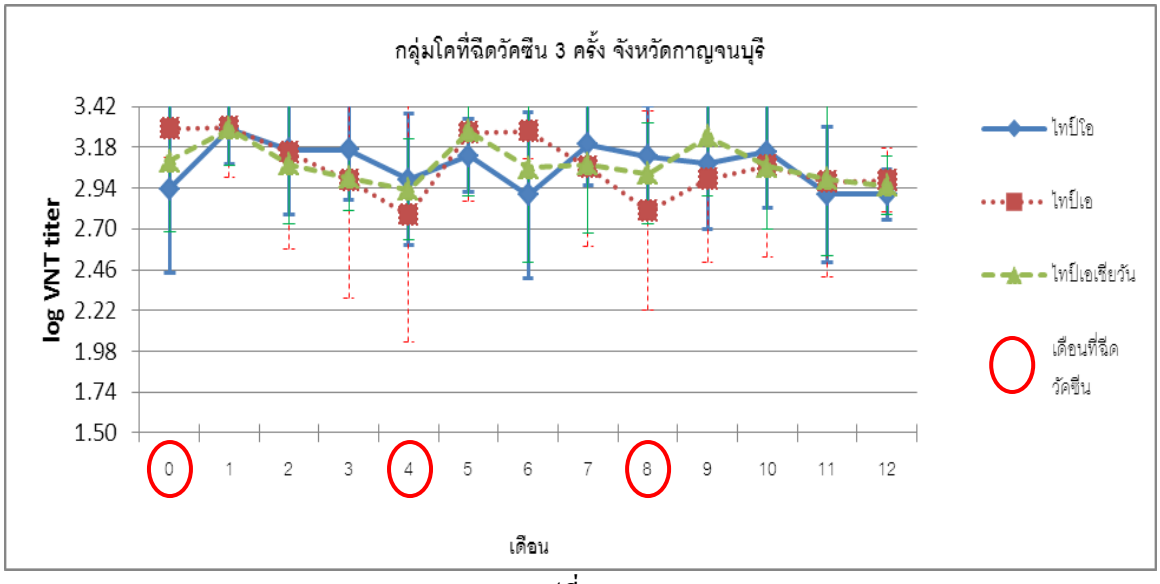


รูปที่ 1b

รูปที่ 1 ระดับแอนติบอดีต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ โอ เอ และเอเชียวัน โดยวิธี VNT ของกลุ่มโคที่ฉีดวัคซีน 2 ครั้ง



รูปที่ 2a



รูปที่ 2b

รูปที่ 2 ระดับแอนติบอดีต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ โอ เอ และเอเชียวัน โดยวิธี VNT ของกลุ่มโคที่ฉีดวัคซีน 3 ครั้ง

วิจารณ์

สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ (2553) ผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย เชื้อตาย ชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์เจลและ ซาโปนินเป็นแอดจูแวนท์ สำหรับ โค กระบือ แพะ แกะ ชนิดรวม 3 ไทป์ (ไทป์ โอ เอ และเอเชียวัน) เพื่อใช้ในการควบคุม และป้องกันโรค แนะนำให้ฉีดวัคซีนครั้งแรกตั้งแต่อายุ 4-6 เดือน ฉีดครั้งที่ 2 หลังจากฉีดครั้งแรก 3-4 สัปดาห์ และฉีดซ้ำทุก 6 เดือน ซึ่งอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์เจลที่ผสมในวัคซีน เป็นแอดจูแวนท์ แบบ Depot จะผสมรวมอยู่กับแอนติเจน และค่อยๆ ปล่อยแอนติเจนออกมาทีละน้อย โดยช่วยป้องกันไม่ให้แอนติเจนถูกย่อยสลายภายในร่างกายได้เร็วเกินไป เป็นการเพิ่มโอกาสในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้ดีขึ้น ปัจจุบันได้รับความนิยมในการนำมาใช้ในวัคซีนในสัตว์มากที่สุด และซาโปนินซึ่งเป็นสารที่สกัดได้จากเปลือกไม้ (*Quillaia saponaia*) ที่ผสมในวัคซีน เป็นแอดจูแวนท์ แบบ Immunostimulatory มีฤทธิ์กระตุ้นการสร้างไซโตคายน์ที่จำเป็นต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้เพิ่มประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของวัคซีนแอนติเจน (สันนิภา, 2549)

มีการศึกษาระดับแอนติบอดีต่อวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์เจลและซาโปนินเป็นแอดจูแวนท์ในโคซึ่งให้ผลการศึกษาที่แตกต่างกัน โดย Auge de Mell *et al.* (1975) และ Auge de Mell and Gomes (1977) ศึกษาระดับแอนติบอดีต่อวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ โอ, เอ และ ซี

ด้วยวิธี mouse protection test พบว่ามีค่าเฉลี่ย expected percentage of protection (EPP) ทั้ง 3 ไทป์ในระดับป้องกันโรคน้อยกว่า 2 เดือน และ Cloete *et al.* (2008) ศึกษาระดับแอนติบอดีต่อวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ SAT 1A, SAT 1B, SAT 2A, SAT 2B และ SAT 3 ด้วยวิธี VNTs พบว่าไทป์ SAT 1A, SAT 1B และ SAT 2A มีระดับแอนติบอดีนาน 2 เดือน ส่วน ไทป์ SAT 2B และ SAT 3 มีระดับแอนติบอดีนาน 6 เดือน ส่วน วัชรี และ ไชยา (2553) ศึกษาผลการฉีดวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยชนิดไตรวาเลนท์ในโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนตามโปรแกรมของสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ มีระดับแอนติบอดีที่ให้ความคุ้มโรค 70 % ต่อไทป์ โอ, เอ และ เอเชียวัน ได้นานประมาณ 6 เดือน สอดคล้องกับ Doel (2003) ที่กล่าวว่าวัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์เจลและซาโปนินเป็นแอดจูแวนท์ ให้ความคุ้มโรคในโคประมาณ 6 เดือน แต่ความถี่ของการฉีดวัคซีนให้พิจารณาจากสภาวะการระบาดของโรค ชนิดของวัคซีน และ คุณภาพวัคซีน การศึกษาครั้งนี้ก็เป็นเช่นเดียวกัน คือ วัคซีนสามารถกระตุ้นให้โคมีระดับแอนติบอดีต่อไทป์ โอ เอ และ เอเชียวัน สูงกว่า 1.42, 1.22 และ 1.54 ตามลำดับ ตลอดการทดลอง ทั้งการฉีดวัคซีน 2 ครั้งและ 3 ครั้ง ต่อปี ซึ่งเป็นระดับแอนติบอดีที่สามารถให้ความคุ้มโรค 70 % (นพพร และ คณะ, 2543) ซึ่ง OIE (2009) ได้กำหนดผลการทดสอบความคุ้มโรคของวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยว่า หากทดสอบในโคจำนวน 16 ตัว จะต้องให้ความคุ้มโรคไม่น้อยกว่า 75 % และ หากทดสอบในโคจำนวน 30 ตัว จะต้องให้ความคุ้มโรคไม่น้อยกว่า 70 % จึงจะถือว่าวัคซีนผ่านการทดสอบและสามารถให้ความคุ้มโรคได้ นอกจากนี้ยังได้กำหนดค่ามาตรฐานไว้ว่า ถ้าค่า log VNT titer < 1.2 หรือ 1:16 แปลผลเป็นลบ คือ ไม่มีแอนติบอดี และ ถ้าค่า log VNT titer ≥ 1.65 หรือ 1:45 แปลผลเป็นบวก คือ มีแอนติบอดีระดับ positive titer ซึ่งการศึกษาครั้งนี้พบว่าตลอดการทดลองโคทั้งสองกลุ่มมีระดับแอนติบอดีในระดับ positive titer และมีระดับแอนติบอดีที่สามารถให้ความคุ้มโรคมากกว่า 70 % ต่อทั้ง 3 ไทป์ ทั้งนี้เนื่องจากมีการทำวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยอย่างสม่ำเสมอ และมีการจัดการภายในฟาร์มที่ดี ดังนั้นการฉีดวัคซีนให้โคปีละ 2 ครั้ง จึงเพียงพอต่อการกระตุ้นให้โคสร้างแอนติบอดีสำหรับการป้องกันโรค และไม่จำเป็นต้องฉีดวัคซีนปีละ 3 ครั้ง

สรุป

การฉีดวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยเชื้อตาย ชนิดรวม 3 ไทป์ ของสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ ปีละ 2 ครั้ง และ 3 ครั้ง อย่างสม่ำเสมอ ร่วมกับการจัดการฟาร์มที่ดี สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ไม่แตกต่างกัน และเพียงพอต่อการป้องกันโรค

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นายสัตวแพทย์ปรีชา วงษ์วิจารณ์ ที่ผลักดันให้ดำเนินโครงการนี้ คณะกรรมการบริหารเงินทุนหมุนเวียนเพื่อผลิตวัคซีนจำหน่าย กรมปศุสัตว์ ที่ได้อนุมัติเงินทุนในการศึกษาวิจัย ฟาร์มโคนมทั้ง 4 ฟาร์ม ได้แก่ สมจิตรฟาร์ม สมนึกฟาร์ม APP ฟาร์ม และ น้ำฝนฟาร์ม รวมถึงเจ้าหน้าที่ของหน่วยงานในสังกัด ปศุสัตว์เขต ที่ 1 และ 7 ทุกท่านที่ให้ความร่วมมือในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ฝ่ายทดสอบคุณภาพวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย ที่ให้ความช่วยเหลือในการตรวจหาระดับแอนติบอดี โดยวิธี VNT และคณะกรรมการพัฒนาวิชาการ สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ที่ให้คำแนะนำและแก้ไขต้นฉบับ

เอกสารอ้างอิง

ฝ่ายทดสอบคุณภาพวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย 2553 มาตรฐานวิธีปฏิบัติงาน การทดสอบ Serum neutralization test, SOP-QCF-038 ฝ่ายทดสอบคุณภาพวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ กรมปศุสัตว์

นพพร พัฒนประสิทธิ์ สมเกียรติ เพชรวาณิชกุล และวิไล ลินจงสุบงกช 2543 ความสัมพันธ์ระหว่างนิวทรัลไลซิงแอนติบอดีและเปอร์เซนต์ความคุ้มโรคภายหลังการฉีดวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยในโคและสุกร วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 10 (1-2): 29-39

วัชรี สินสุวงศ์วัฒน์ และ ไชยา สง่าประโคน 2553 ผลการฉีดวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยชนิดไตรวาเลนท์ 2 และ 3 ครั้ง ในโคและสุกรที่ไม่เคยได้รับวัคซีนมาก่อน วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 19 (1-2): 11-19

สันนิภา สุรทัตต์ 2549 วิทยาภูมิคุ้มกันทางสัตวแพทย์ภาคปฏิบัติโรงพิมพ์ตีรณสาร กรุงเทพฯ หน้า 121-133

สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ 2553 คู่มือการใช้วัคซีนและสารทดสอบโรคในปศุสัตว์ โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด กรุงเทพฯ หน้า 18-19

Auge de Mello, P., Astudillo, V., Gomes, I. and Campos Garcia, J. T. 1975. Field application of inactivated oil adjuvanted foot and mouth disease vaccine: vaccination and revaccination of young cattle. Bltn. Centro. Paname. Fiebre. Aftosa. 19-20: 39-47.

Auge de Mello, P. and Gomes, I. 1977. Anamnestic response in cattle after revaccination with oil adjuvanted foot and mouth disease vaccines. Bltn. Centro. Paname. Fiebre. Aftosa. 27-28: 55-60.

Cloete, E., Dungu, B., Van staden, L. I., Ismail-cassim, N. and Vosloo, W. 2008. Evaluation of different adjuvants for foot and mouth disease vaccine containing all the SAT serotypes. Onder. J. Vet. Res. 75: 17-31.

Doel, T. R. 2003. Review FMD Vaccine. Virus Research. 91: 81-99.

Karber, G. 1931. Beitrag zur Kollectiven Buchandlung Pharmakologischa Reihenversuche. Arch. Exp. Pathol. Pharm. 162:480. Cited by Cruickshank, R. 1965. *In* Medical Microbiology, 11th edition, E&S Livingstone Ltd, London.

Office International des Epizooties (OIE). 2009. Foot and mouth disease. *In* Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Chapter 2.1.5. pp. 1-29.

Antibody titers in dairy cows after regular vaccination with foot and mouth disease vaccine, twice and three times a year under field condition

Sukit Prathumchai[1] Amornrut Sawatsing[1] Kingkarn boonsuya seeyo[2]

Abstract

Antibody titers after vaccination with trivalent inactivated foot and mouth disease (FMD) vaccine, produced by the Bureau of Veterinary Biologics, were studied in Holstein Friesian crossbreed lactating cows of all ages in the farms, in Saraburi and Kanchanaburi provinces, where re-vaccination at regular intervals were practiced and FMD outbreak had never been found. In each province, sixty cows were equally divided into two groups, one received twice vaccination a year at 6-month interval and the other received three-time vaccination a year at 4-month interval. Serum antibody titers to FMD virus type O, A and Asia 1 were determined by virus neutralization test before and every month after vaccination for 12 months. All cows in both groups were found to have antibody titers against FMD type O, A and Asia 1 throughout the study. The results indicated that vaccination cows with trivalent aluminum hydroxide gel and saponin adjuvant FMD vaccine either twice or three times a year induced no different antibody titer levels.

Key words: foot and mouth disease vaccine, antibody titer, dairy cattle

---

[1] Bureau of Veterinary Biologics, Pakchong, Nakhon Ratchasima 30130

[2] Regional Reference Laboratory for Foot and Mouth Disease in South East Asia, Pakchong, Nakhon Ratchasima 30130

ระดับแอนติบอดีต่อวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยของโคเนื้อในจังหวัดมุกดาหารและสกลนคร

อมรรัตน์ สวัสดิ์สิงห์[1] สุกิจ ประทุมชัย[1] กิ่งกานต์ บุญสุยา สีโย[2]

บทคัดย่อ

ศึกษาระดับแอนติบอดีต่อวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย ในโคเนื้ออายุประมาณ 1 ปี ของเกษตรกรรายย่อยในพื้นที่จังหวัดมุกดาหาร และจังหวัดสกลนคร จังหวัดละ 30 ตัว โดยฉีดวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยเชื้อตาย ชนิดรวม 3 ไทป์ (ไทป์โอ เอ และเอเชียวัน) 2 ครั้ง ห่างกัน 14 วัน ปล่อยเลี้ยงตามปกติตลอดการทดลอง ตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ โอ เอ และ เอเชียวัน ด้วยวิธี Virus neutralization test ก่อนและหลังฉีดวัคซีนทุกเดือน นาน 6 เดือน พบว่าโคทั้งสองกลุ่มมีแอนติบอดีต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ โอ เอ และเอเชียวันในระดับที่ให้ความคุ้มโรคหลังจากฉีดวัคซีนจนถึงเดือนที่ 6 การศึกษาครั้งนี้ยืนยันประสิทธิภาพของวัคซีนในพื้นที่ได้

คำสำคัญ: วัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย ระดับแอนติบอดี โคเนื้อ

---

[1] สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

[2] ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อยภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

บทนำ

โรคปากและเท้าเปื่อย (Foot and mouth disease , FMD) เป็นโรคระบาดสัตว์ที่มีความรุนแรง และมีการแพร่กระจายอย่างรวดเร็วในสัตว์กีบคู่ทุกชนิด (โค กระบือ แพะ แกะ สุกร ฯลฯ) ส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจอย่างกว้างขวาง ทุกประเทศทั่วโลกจะกีดกันทางการค้าสัตว์กับประเทศที่มีการระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อย ประเทศไทยเป็นสมาชิกองค์การค้าโลก การซื้อขายสินค้าเกษตรทุกชนิดให้กับประเทศคู่ค้าจะต้องมีสุขอนามัยที่ได้มาตรฐานตามที่องค์การค้าโลก (World trade organization, WTO) กำหนด ในการค้าสัตว์ (โค กระบือ แพะ แกะ สุกร ฯลฯ) ระหว่างประเทศ คือ สัตว์ต้องมาจากประเทศที่ปลอดจากโรคปากและเท้าเปื่อย กรมปศุสัตว์ในฐานะที่เป็นหน่วยงานของรัฐที่มีหน้าที่รับผิดชอบด้านสุขภาพสัตว์และผลิตสัตว์ได้ดำเนินการควบคุมและป้องกันการระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อยมาโดยตลอด โดยมีเป้าหมายที่จะกำจัดโรคนี้ให้หมดไปจากประเทศไทย ดังนั้นจึงได้วางมาตรการในการควบคุมและป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อยไว้อย่างเคร่งครัด เพื่อเฝ้าระวังการเกิดโรคปากและเท้าเปื่อย ซึ่งการฉีดวัคซีนเพื่อป้องกันการเกิดโรคเป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันให้กับสัตว์ แต่พบว่าในปัจจุบันยังมีการระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อยในพื้นที่ประเทศไทย ทั้งที่กรมปศุสัตว์มีมาตรการป้องกันโรคโดยการฉีดวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยเป็นประจำทุกปี ปีละ 2 ครั้ง โดยใช้วัคซีนที่ผลิตจากสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ ซึ่งผ่านการทดสอบคุณภาพก่อนนำออกไปใช้ในพื้นที่ การระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อยจึงส่งผลให้เกษตรกรขาดความเชื่อมั่นในประสิทธิภาพของวัคซีน

ดังนั้นเพื่อเป็นการยืนยันและสร้างความมั่นใจในคุณภาพของวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยว่าสามารถให้ความคุ้มโรคในพื้นที่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงดำเนินการศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนเมื่อใช้ในโคของเกษตรกรที่เลี้ยงในสภาพเป็นจริง โดยการตรวจวัดระดับแอนติบอดีของโคเนื้อหลังฉีดวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย โดยเลือกจังหวัดมุกดาหารและสกลนครในการทดลอง เพราะสามารถควบคุมการเคลื่อนย้ายสัตว์ได้ตลอดการทดลอง

อุปกรณ์และวิธีการ

โค

โคเนื้อพันธุ์ผสมคละเพศอายุประมาณ 1 ปี สุขภาพแข็งแรง เลี้ยงโดยเกษตรกรรายย่อยในพื้นที่จังหวัดมุกดาหาร และจังหวัดสกลนคร จังหวัดละ 30 ตัว รวม 60 ตัว โคทุกตัวได้รับการถ่ายพยาธิก่อนฉีดวัคซีน และปล่อยเลี้ยงตามปกติตลอดการทดลอง

วัคซีน

วัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยเชื้อตาย สำหรับ โค กระบือ แพะ แกะ ชนิดรวม 3 ไทป์ (ไทป์โอ เอ และ เอเชียวัน) ชุด T53H ที่ผลิตโดยสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์

การฉีดวัคซีนและเก็บตัวอย่างซีรัม

โคทุกตัวได้รับการฉีดวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยเข้าใต้ผิวหนังตัวละ 2 มล. 2 ครั้ง ห่างกัน 14 วัน และเจาะเลือดเพื่อเก็บซีรัมก่อนฉีดวัคซีน และหลังฉีดวัคซีนเข็มแรก ทุกเดือน นาน 6 เดือน

วิธีการตรวจวิเคราะห์

นำซีรัมที่ได้ไปตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ โอ เอ และ เอเชียวัน ด้วยวิธี Virus neutralization (VN) test (ฝ่ายทดสอบคุณภาพวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย กรมปศุสัตว์, 2553; OIE, 2009) โดยนำซีรัมมา inactivate ที่อุณหภูมิ 56 °ซ นาน 30 นาที แล้วเจือจางซีรัมแบบ 3-fold dilution ในไมโครเพลทก้นแบน และ นิวทรัลไลซ์ด้วยไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ปริมาณ 320 TCID50/ml โดยใช้ปริมาตรเท่ากับซีรัม (50 µl) ที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ในตู้บ่มเชื้อคาร์บอนไดออกไซด์ หลังจากนั้นเติม secondary lamb kidney cells หลุมละ 150 µl บ่มต่อเป็นเวลา 72 ชั่วโมง อ่านผลพยาธิสภาพของเซลล์ (cytopathic effect, CPE) คำนวณค่า log VNT titer ตามวิธีของ Karber (1931) นำข้อมูลมาหาค่าเฉลี่ยเลขคณิต และแปลผลตามนพพรและคณะ (2543) โคที่มีความคุ้มโรค 70 % มีค่าระดับแอนติบอดีต่อไทป์ โอ เอ และ เอเชียวัน เท่ากับ 1.42, 1.22 และ 1.54 ลำดับ

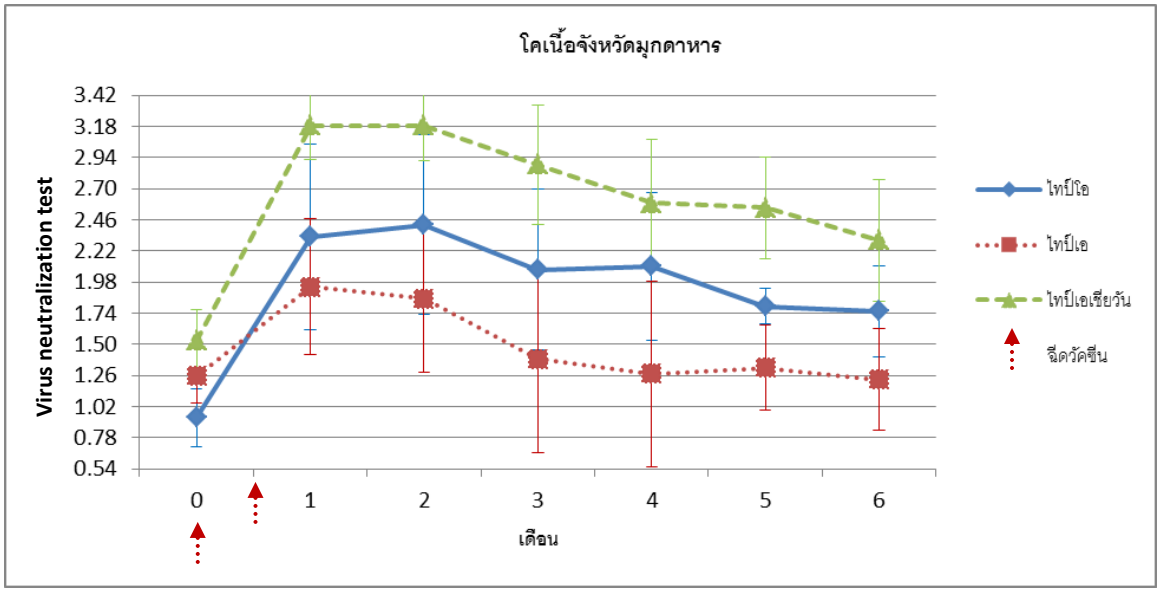
ผล

โคเนื้อจังหวัดมุกดาหาร

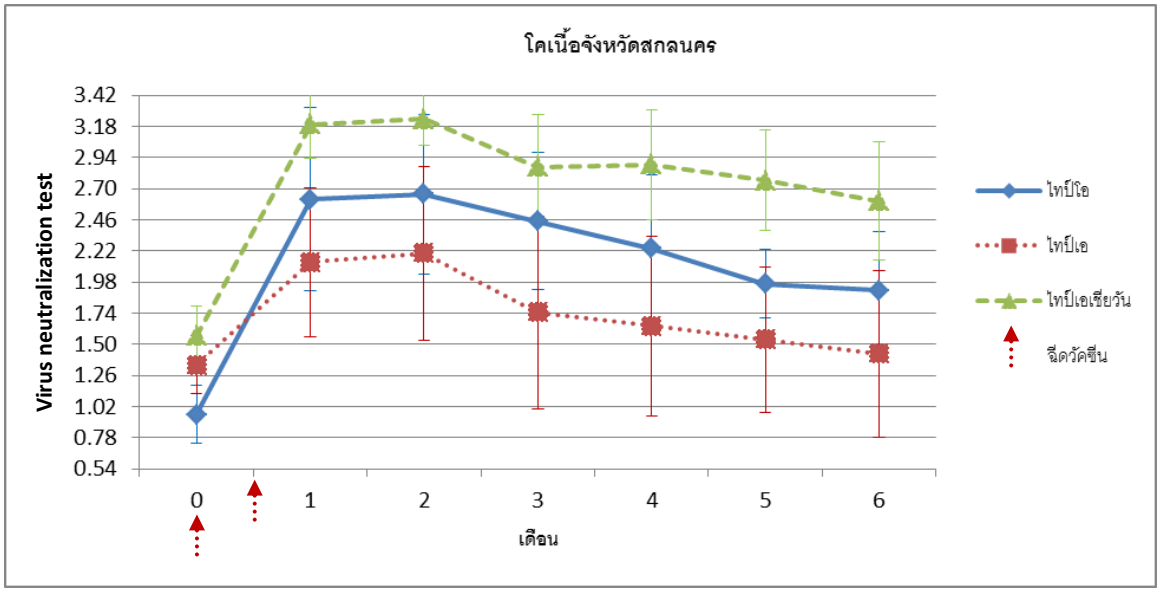
พบว่าโคมีระดับแอนติบอดีต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์โอ เอ และเอเชียวัน เฉลี่ยก่อนฉีดวัคซีนเข็มแรก เท่ากับ 0.93, 1.26 และ 1.53 ตามลำดับ หลังจากฉีดวัคซีนครั้งที่ 1 และ ฉีดกระตุ้นในวันที่ 14 พบว่าแอนติบอดีต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์โอ เอ และเอเชียวันเพิ่มสูงขึ้น และจะเริ่มลดลงในเดือนที่ 3 และลดลงต่ำสุดในเดือนที่ 6 ดังแสดงในรูปที่ 1

โคเนื้อจังหวัดสกลนคร

พบว่าโคมีระดับแอนติบอดีต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์โอ เอ และเอเชียวัน เฉลี่ยก่อนฉีดวัคซีนเข็มแรก เท่ากับ 0.96, 1.34 และ 1.56 ตามลำดับ และหลังฉีดวัคซีน มีลักษณะเช่นเดียวกับโคเนื้อจังหวัดมุกดาหาร ดังแสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 1 ระดับแอนติบอดีต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์โอ เอ และเอเชียวัน โดยวิธี Virus neutralization test ของกลุ่มโคเนื้อจังหวัดมุกดาหาร



รูปที่ 2 ระดับแอนติบอดีต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์โอ เอ และเอเชียวัน โดยวิธี Virus neutralization test ของกลุ่มโคเนื้อจังหวัดสกลนคร

วิจารณ์

จากการศึกษาของ นพพร และ คณะ (2543) ถึงความสัมพันธ์ระหว่างระดับนิวทรัลไลซิ่งแอนติบอดีและเปอร์เซ็นต์ความคุ้มโรคภายหลังจากการฉีดวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยชนิดไตรวาเลนท์ในโค พบว่าโคที่ให้ความคุ้มโรค 70 % มีค่าระดับแอนติบอดีต่อไทป์ โอ เอ และ เอเชียวัน เท่ากับ 1.42, 1.22 และ 1.54 ตามลำดับ ซึ่ง OIE (2009) ได้กำหนดผลการทดสอบความคุ้มโรคของวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยว่า หากทดสอบในโคจำนวน 16 ตัว จะต้องให้ความคุ้มโรคไม่น้อยกว่า 75 % และ หากทดสอบในโคจำนวน 30 ตัว จะต้องให้ความคุ้มโรคไม่น้อยกว่า 70 % จึงจะถือว่าวัคซีนผ่านการทดสอบและสามารถให้ความคุ้มโรคได้ เนื่องจากโคที่ใช้ศึกษาครั้งนี้เป็นโคที่ไม่ทราบประวัติการฉีดวัคซีน จึงพบว่าโคมีระดับแอนติบอดีก่อนฉีดวัคซีนในแต่ละไทป์แตกต่างกัน คือ โคมีระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไทป์เอ และเอเชียวันอยู่ในระดับมีความคุ้มโรคมากกว่า 70 % เล็กน้อย ทั้งสองกลุ่ม ขณะที่ไทป์โอมีความคุ้มโรคต่ำกว่า 70 % ทั้งสองกลุ่ม การที่โคมีระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไทป์โอต่ำกว่า 70 % ทั้งสองกลุ่มนั้น อาจเกิดจากการตอบสนองต่อไวรัสไทป์โอที่ต่ำของตัวโคเองในช่วงก่อนการทดลอง เพราะโคยังมีระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไทป์เอ และเอเชียวันในระดับคุ้มโรค แต่หลังจากฉีดวัคซีนและฉีดกระตุ้นในสัปดาห์ที่ 2 พบว่าระดับแอนติบอดีต่อไทป์โอ เอ และเอเชียวัน เพิ่มขึ้นในระดับให้ความคุ้มโรคมากกว่า 70 % ทั้ง 2 กลุ่ม ในเดือนที่ 1 และ 2 จากนั้นจะค่อยๆ ลดลงเป็นลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Pay (1984) และการศึกษาของ วัชรีและไชยา (2553) ที่พบว่าระดับแอนติบอดีจะเพิ่มสูงขึ้นภายใน 1 เดือนเมื่อมีการฉีดกระตุ้น ในเดือนที่ 6 ซึ่งเป็นเดือนสุดท้ายของการศึกษาโคทั้งสองกลุ่มมีระดับแอนติบอดีลดลงต่ำที่สุด แต่ยังมีภูมิคุ้มกันโรคได้ทั้ง 3 ไทป์

จากรูปที่ 1 และ 2 แสดงว่าวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยที่ฉีดให้โคเนื้อที่เลี้ยงในจังหวัดมุกดาหารและจังหวัดสกลนครสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดีไม่แตกต่างกัน ซึ่งอาจเนื่องมาจากมีลักษณะการเลี้ยงที่คล้ายกัน แต่การสร้างภูมิคุ้มกันและระยะเวลาความคุ้มโรคก็มีปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้องด้วยโดยเฉพาะตัวสัตว์เองที่ตอบสนองต่อการให้วัคซีนได้ไม่เท่ากันทุกตัว เนื่องจากภาวะเครียด จากสภาพแวดล้อมหรือสภาวะทางกายภาพ (สันนิภา, 2549)

จากผลการทดลอง วัคซีนสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันในระดับป้องกันโรคได้นาน 6 เดือน สอดคล้องกับ Doel (2003) แต่เพื่อให้การป้องกันโรคมีประสิทธิภาพ เกษตรกรต้องฉีดวัคซีนให้กับโคตามโปรแกรมของสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ (2553) อย่างสม่ำเสมอ โดยฉีดวัคซีนขนาด 2 มล. ต่อตัว เข้าใต้ผิวหนังครั้งแรกเมื่อโคอายุ 4-6 เดือน และฉีดกระตุ้นหลังจากฉีดครั้งแรก 2-4 สัปดาห์ หลังจากนั้นฉีดวัคซีนทุก 6 เดือน แต่การฉีดวัคซีนเป็นเพียงวิธีหนึ่งในการป้องกันโรค ซึ่งจำเป็นต้องดำเนินการควบคู่ไปกับการดำเนินการตามหลักสุขาภิบาลที่ดี เช่น มีการดูแลรักษาความสะอาดบริเวณที่เลี้ยงสัตว์ ป้องกันพาหะ

นำโรคเข้าสู่บริเวณที่เลี้ยงสัตว์ด้วยการฉีดพ่นน้ำยาฆ่าเชื้อทุกครั้ง และไม่ให้บุคคลภายนอกเข้ามาบริเวณที่เลี้ยงสัตว์โดยไม่จำเป็น เป็นต้น จึงจะสามารถป้องกันไม่ให้เกิดโรคได้

สรุป

ในสภาพการเลี้ยงโคเนื้อในพื้นที่การฉีดวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยเชื้อตาย ชนิดรวม 3 ไทป์ ตามคำแนะนำของสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันในระดับที่ป้องกันโรคได้นาน 6 เดือน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนายสัตวแพทย์ปรีชา วงษ์วิจารณ์ ที่ริเริ่มโครงการนี้ขึ้นมา คณะกรรมการบริหารเงินทุนหมุนเวียนเพื่อผลิตวัคซีนจำหน่าย กรมปศุสัตว์ ที่ได้อนุมัติเงินทุนในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ เกษตรกรผู้เลี้ยงโคเนื้อ และเจ้าหน้าที่ประจำสำนักงานปศุสัตว์จังหวัดสกลนครและจังหวัดมุกดาหารทุกท่านที่ให้ความร่วมมือในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ฝ่ายทดสอบคุณภาพวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย ที่ให้ความช่วยเหลือในการตรวจหาระดับแอนติบอดี โดยวิธี Virus neutralization test และคณะกรรมการพัฒนาวิชาการที่ให้คำแนะนำและแก้ไขต้นฉบับ

เอกสารอ้างอิง

ฝ่ายทดสอบคุณภาพวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย 2553 มาตรฐานวิธีปฏิบัติงาน การทดสอบ Serum neutralization test, SOP-QCF-038. ฝ่ายทดสอบคุณภาพวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ กรมปศุสัตว์

นพพร พัฒนประสิทธิ์ สมเกียรติ เพชรวาณิชกุล และวิไล ลินจงสุบงกช 2543 ความสัมพันธ์ระหว่างนิวทรัลไลซิงแอนติบอดีและเปอร์เซนต์ความคุ้มโรคภายหลังการฉีดวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยในโคและสุกร วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 10 (1-2): 29-39

วัชรี สินสุวงศ์วัฒน์และไชยา สง่าประโคน 2553 ผลการฉีดวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยชนิดไตรวาเลนท์ 2 และ 3 ครั้งในโคและสุกรที่ไม่เคยได้รับวัคซีนมาก่อน วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 19 (1-2) : 11-19

สันนิภา สุรทัตต์ 2549 วิทยาภูมิคุ้มกันทางสัตวแพทย์ภาคปฏิบัติโรงพิมพ์ตีรณสาร กรุงเทพฯ หน้า 121-133

สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ 2553 คู่มือการใช้วัคซีนและสารทดสอบโรคในปศุสัตว์ โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด กรุงเทพฯ หน้า 18-19

Doel, T. R., 2003. Review FMD Vaccine. Virus Research. 91: 81-99.

Karber, G., 1931. Beitrag zur Kollectiven Buchandlung Pharmakologischa Reihenversuche. Arch. Exp. Pathol. Pharm. 162:480. Cited by Cruickshank, R. 1965. *In* Medical Microbiology, 11th edition, E&S Livingstone Ltd, London.

Office International des Epizooties (OIE). 2009. Foot and mouth disease. *In* Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Chapter 2.1.5. pp. 1-29.

Pay, T. W. F. 1984. Factor influencing the performance of foot and mouth disease vaccine under field condition. Applied Virology. Academic Press. pp. 73-86.

Antibody titer against foot and mouth disease vaccine of beef cattle in Mukdahan and Sakon Nakhon provinces

Amornrat Sawatsing[1] Sukit Prathumchai[1] Kingkarn boonsuya seeyo[2]

Abstract

Antibody titer levels against foot and mouth disease were studied in beef cattle in Mukdahan and Sakon Nakhon provinces. In each province, thirty village cattle about one year of age were vaccinated and boosted 14 days apart with inactivated foot and mouth disease vaccine, trivalent (type A, O and Asia1). During the experiment, all cattle were raised in usual condition. Serum antibody titers were determined by virus neutralization test before vaccination and monthly until 6 months after vaccination. The result indicated that all vaccinated cattle in both provinces showed high titers of protective level throughout 6-month observation period. This result confirmed vaccine efficacy in the field condition.

Key words: foot and mouth disease vaccine, antibody titer, cattle

[1] Bureau of Veterinary Biologics, Pakchong Nakhon Ratchasima 30130

[2] Regional Reference Laboratory for Foot and Mouth Disease in South East Asia, Pakchong Nakhon Ratchasima 30130