

๑๗๗

วารสารชีวผลิตภัณฑ์

ปีที่ 7 ฉบับที่ 1 มีนาคม 2540

The Journal of Verterinary Biologics Vol. 7 No.1 March 1997

- การศึกษาประสิทธิภาพวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ลาโซต้าสเตรน
ในไก่เนื้อ.....1
- การศึกษาระดับแอนติบอดีต่อ รีโอไวรัส ที่ถ่ายทอดจากพ่อแม่พันธุ์
ในไก่เนื้อ และอิทธิพลจากการเลี้ยง การจัดการฟาร์ม.....11
- การตรวจสอบการปนเปื้อน เชื้อมัยโคพลาสมาในวัคซีน.....19
- การตรวจสอบการปนเปื้อน เชื้อราและแบคทีเรียในวัคซีน.....25
- การเตรียมวัคซีนรวมฝีดาษไก่และนิวคาสเซิลเชื้อเป็น.....31

เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการของ กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์

ISSN 0858 - 1134

วารสารชีวผลิตภัณฑ์

บรรณาธิการ	แอบ คงทน
บรรณาธิการผู้ช่วย	พยนต์ สินสุวรรณวัฒน์
กองบรรณาธิการ	สมใจ กมลศิริพิชัยพร สหวัชร อึ้งวนิชบรรณ ไชยา สง่าประโคน เดิမ်พล รัตนวงศ์
สำนักงาน วัตถุประสงค์	กองผลิตภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ พญาไท กรุงเทพฯ ฯ 1. เพื่อเผยแพร่งานวิชาการ ด้านการผลิตภัณฑ์ 2. เพื่อเผยแพร่ความรู้ ความเข้าใจเกี่ยวกับการใช้วัคซีน ป้องกันโรคสัตว์
กำหนดออก พิมพ์ที่	ปีละ 2 ฉบับ คือ เดือน มีนาคม และเดือน กันยายน ศูนย์โรคปากและเท้าเปื่อย อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

THE JOURNAL OF VETERINARY BIOLOGICS

Editor in chief	Ab Kongthon
Assistance Editor	Payont Sinsuwonkwat
Editorial Board	Somjai Kamolsiripichaiporn Sahawatchara Ungvanijban Chaiya Sangaprakon Dermopol Ratanawonk
Business Office	Division of Veterinary Biologics Phyathai Bangkok Thailand

The Journal of Veterinary Biologics is a publication of the Division of Veterinary Biologics, Department of Livestock Development intended to make available the results of technical work in the veterinary biological science. The Journal of Veterinary Biologics edition is issued 2 times per year in March and September.

คำแนะนำสำหรับผู้เขียน

วารสารชีวผลิตภัณฑ์ เป็นวารสารเผยแพร่งานวิชาการของ กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ กำหนดออกปีละ 2 ฉบับ คือ เดือนกันยายน และเดือนมีนาคม วัตถุประสงค์เพื่อพิมพ์เผยแพร่ผลงานทางด้านการวิชาการของกองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ และหน่วยงานอื่น ๆ ที่คล้ายคลึงกัน เรื่องที่ผู้เขียนจะส่งมาพิมพ์ในวารสารชีวผลิตภัณฑ์นั้นแยกได้เป็น 2 ประเภท ตามลำดับความสำคัญ คือ

1. งานวิจัย (Technical papers) เป็นงานเสนอผลการวิจัยที่ผู้เขียนได้กระทำขึ้นเอง
2. บทความ (Articles) เป็นความหมายทางวิชาการ ที่รวบรวมข้อมูลความคิดเห็น และประสบการณ์ของผู้เขียน

การเตรียมต้นฉบับ

1. ต้นฉบับ ควรพิมพ์ติดบนกระดาษขนาด 8.8×11 นิ้ว พิมพ์หน้าเดียว ความยาวประมาณ 30 บรรทัดต่อหน้า มีความยาวทั้งหมดไม่เกิน 8 หน้าพิมพ์ โดยประมาณ

2. ชื่อเรื่อง บอกทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ควรกระชับรัดกุมและตรงกับเนื้อเรื่อง

3. ชื่อผู้เขียน ใช้ภาษาไทยและภาษาอังกฤษ บอกชื่อเต็มและสถานที่ทำงาน

4. บทคัดย่อ (Abstract) ให้เขียนนำหน้าตัวเรื่องเป็นการสรุปสาระสำคัญของเรื่อง โดยเฉพาะวัตถุประสงค์ วิธีการและผลไม่ว่าเกิน 200 คำ หรือ 3% ของเรื่อง ควรเขียนทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

5. เนื้อหา (Text) สำหรับงานวิจัยควรประกอบด้วยหัวข้อเรื่องต่อไปนี้

5.1 คำนำ (Introduction) เพื่ออธิบายถึงปัญหาและวัตถุประสงค์ และอาจรวบรวมการตรวจเอกสาร (Literature review) เข้าไว้ด้วยกัน

5.2 อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and method) ควรประกอบด้วย

5.2.1 คำอธิบายเกี่ยวกับเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

5.2.2 คำอธิบายถึงวิธีการที่ใช้ทดลอง แต่ไม่จำเป็นต้องอธิบายวิธีการที่ถือว่าเป็นแบบฉบับซึ่งเป็นที่เข้าใจกันดีโดยทั่วไปอยู่แล้ว

5.3 ผล (Results) เป็นการเสนอผลการทดลอง ไม่ควรอธิบายยาวกว่าความจำเป็นถ้ามี ตาราง กราฟ หรือรูปภาพ ก็ให้มีเนื้อหาและคำอธิบายเป็นภาษาอังกฤษ

5.4 วิจารณ์ (Discussion) เป็นการวิจารณ์ผลการทดลอง โดยมีจุดมุ่งหมายดังนี้

5.4.1 เพื่อให้ผู้อ่านเห็นคล้าย ถึงหลักการที่แสดงออกมาจากผลการทดลอง

5.4.2 เพื่อสนับสนุนหรือคัดค้านทฤษฎีที่มีผู้เสนอมาก่อน

5.4.3 เพื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองและการตีความหมายของผู้อื่น

5.4.4 สรุปสาระสำคัญและประจักษ์พยานของผลการทดลอง ผู้เขียนควรพยายามเน้นถึงปัญหาหรือข้อโต้แย้งในสาระสำคัญของเรื่องที่กล่าวถึง ตลอดจนข้อเสนอนี้เพื่อการวิจัยในอนาคต และดูทางที่จะนำไปใช้เป็นประโยชน์

5.5 คำขอบคุณ (Acknowledgement) อาจมีหรือไม่ก็ได้ เป็นการแสดงความขอบคุณแก่ผู้ที่ช่วยเหลือให้งานวิจัยและเตรียมเอกสาร ลุล่วงไปด้วยดี แต่มีได้เป็นคู่ร่วมงานด้วย

5.6 เอกสารอ้างอิง (Literature cited)

5.6.1 การเรียงลำดับเอกสาร ไม่ต้องมีเลขที่กำกับ หรืออาจมีก็ได้ ให้เรียงลำดับชื่อผู้แต่งหรือผู้รายงานตามตัวอักษร เริ่มด้วยเอกสารภาษาไทยก่อน แล้วคือด้วยเอกสารภาษาอังกฤษ เอกสารอ้างอิงหลายเรื่องที่มีผู้แต่งคนเดียว หรือชุดเดียวกันให้เรียงตามลำดับปีของเอกสาร ถ้ามีเอกสารอ้างอิงหลายเรื่องโดยผู้แต่งคนเดียว หรือชุดเดียวกันภายในปีเดียวกัน ให้ใส่อักษร ก, ข,.... ในเอกสารภาษาไทย และ a, b,.... ในเอกสารภาษาต่างประเทศไว้หลังปีของเอกสาร

5.6.2 การเขียนชื่อผู้เขียน กรณีเอกสารภาษาไทย ให้ใช้ชื่อเต็ม โดยชื่อตัวนำหน้าตามด้วยชื่อสกุล ในกรณีที่ผู้แต่งไม่ได้เขียนชื่อเต็ม หรือไม่อาจหาชื่อเต็มของผู้แต่ง อนุโลมให้ใช้ชื่อย่อได้ กรณีเอกสารภาษาต่างประเทศ ให้ใช้อักษรละตินโดยเอาชื่อสกุลขึ้นก่อน ตามด้วยชื่ออื่น ๆ สำหรับชื่อสกุลให้เขียนชื่อเต็ม ส่วนชื่ออื่น ๆ ให้เขียนเฉพาะตัวอักษรแรก ยกเว้นกรณีที่จำเป็นต้องเขียนเต็ม เช่น Van, De, Der, Von เป็นต้น

5.6.3 หลักเกณฑ์ที่สำคัญของการเขียนเอกสารอ้างอิงมีดังนี้

- (1) ชื่อเมือง ชื่อรัฐ และชื่อประเทศให้เขียนเต็ม
- (2) การอ้างหมายเลขหน้าของวารสารต่างประเทศ ถ้าอ้างเพียง 1 หน้า ใช้ p. หน้าตัวเลข ถ้าอ้างหลายหน้าใช้ pp. หน้าตัวเลขสำหรับวารสารภาษาไทยให้ใช้ น. หน้าตัวเลข ทั้งกรณีอ้างหน้าเดียวและหลายหน้า
- (3) ชื่อวิทยาศาสตร์สิ่งมีชีวิตให้ใช้ตัวเอน หรือขีดเส้นใต้
- (4) คำว่า in vitro, in vivo หรือคำอื่นที่คล้ายคลึงกันให้ใช้ตัวเอน หรือขีดเส้นใต้
- (5) เอกสารที่ไม่ใช่วารสาร ต้องบอกจำนวนหน้าด้วย โดยใช้ p. หลังตัวเลขแสดงจำนวนหน้า และให้ใช้ น. หลังตัวเลขลำดับเอกสารภาษาไทย
- (6) ชื่อ Journal ต้องเขียนด้วยคำย่อ ยกเว้นชื่อที่ย่อไม่ได้
- (7) ชื่อเรื่องภาษาอังกฤษที่เรื่อนั้นอ้างถึงอีกทอดหนึ่งทุกคำ จะต้องขึ้นต้นด้วยตัวพิมพ์ใหญ่ (capital letter) ยกเว้นคำที่เป็นคำนำหน้านาม (article) คำสันธาน (conjunction) และคำบุพบท (preposition) ในบางกรณีเช่นชื่อ species ซึ่งขึ้นด้วยตัวพิมพ์เล็กอยู่แล้วให้ขึ้นต้นด้วยตัวพิมพ์เล็ก แต่หากคำเหล่านี้เป็นคำแรกของชื่อเรื่องให้ขึ้นต้นด้วยตัวพิมพ์ใหญ่ ส่วนเอกสารที่ผู้เขียนอ้างถึงหากมิใช่หนังสือตำราให้พิมพ์เช่นเดียวกับชื่อเรื่องในวารสาร
- (8) ชื่อ conference ให้เขียนเต็ม

6. ภาพประกอบ (Illustration)

6.1 ภาพถ่ายควรเป็นภาพขาว-ดำ ภาพสีหากจำเป็นจึงใช้และผู้เขียนต้องเสียค่าใช้จ่ายเอง ขนาดภาพอย่างต่ำควรเป็นขนาดโปสเตอร์ (3.5 × 5 นิ้ว)

6.2 ภาพเขียน เขียนด้วยหมึกอินเดียบนกระดาษอาร์ตหนาพอควร ตัวหนังสือควรเขียนด้วย Lettering guide

การส่งต้นฉบับ

สิ่งที่ กองบรรณาธิการวารสารชีวผลิตภัณฑ์

ศูนย์โรคปากและเท้าเปื่อย ปากช่อง

อ. ปากช่อง

จ. นครราชสีมา 30130

การตรวจแก้ไข

คณะกรรมการขอสงวนสิทธิ์ตรวจแก้ไขเรื่องที่ส่งมาพิมพ์ทุกเรื่อง ตามแต่จะเห็นสมควร ในกรณีที่จำเป็นจะส่งต้นฉบับเดิม หรือฉบับที่แก้ไขแล้วกลับคืนมาซึ่งผู้เขียน เพื่อตรวจความถูกต้องอีกครั้งหนึ่ง

ข้อกำหนดอื่น ๆ

ถ้าผู้เขียนท่านใดส่งต้นฉบับเกิน 8 หน้าพิมพ์ จะต้องเสียค่าใช้จ่ายเองในส่วนที่เกินหน้าละ 200 บาท (กรณีได้รับพิจารณาจากคณะกรรมการ) โดยคณะกรรมการจะแจ้งให้ทราบเพื่อทำความเข้าใจกับเจ้าของเรื่องก่อน

การศึกษาประสิทธิภาพวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ลาโซต้าสเตรน ในไก่เนื้อ

THE EFFECTIVENESS OF NEWCASTLE DISEASE VACCINE LA SOTA STAIN

IN BROILER

จำเรียง อววรรณกุล¹ สุนีจิต กองทน¹

Jumriang Orawannukul Suneejit Kongthon

ABSTRACT

The effectiveness of Newcastle disease (ND) vaccine La sota strain were determined by measure the levels of antibodies used Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) technique in 720 broilers at the age of 1, 21 and 35 days old from 24 farms which locate in the eastern and central regions. There were 2 designs of the studies namely, single vaccination and repeated vaccination. For single vaccination, batches of broilers from 10 farms were vaccinated by lived ND La sota strain when their ages were 7-10 days. Whereas 14 farms were repeated vaccination in which the broilers were firstly inoculated by inactivated vaccine at 5 days old. Then it was boosted by lived vaccine when they were 7 days old. The batches of 30 blood specimen were collected due to the consecutive of 1, 21 and 35 days old in both designs. For single dose vaccination, the levels of antibodies at 1-day old with an average of 4391.60 (SD± 2944.77). The antibody levels found at 21 day old was 1.6 (SD± 5.06). The level was then developed from 21 days and reached to the average of 517.30 (SD± 429.92) at 35-day old. Both changes of antibody level, the decline of maternal antibody to 21-day old level as well as an increment level from 21-day to 35-day samples were statistically significant with $p < 0.001$ and $p < 0.004$ respectively. For repeated vaccination group, the antibody levels changed in the same as found in those of single vaccination. Maternal antibody levels averaged at 3765.64 (SD± 871.59). While the antibody level at 21 day old was 2.64 (SD± 6.72), the antibody levels arrived at the mean of 789.57 (SD± 431.08) at 35 day old. Like single dose vaccination, the drop of maternal antibody from one end to an increment level of the other end were statistically significant with $p < 0.000$ and $p < 0.000$. It is worth to note that the changed of antibodies level of 1 day old and 35 day old chickens of both group were statistically significant ($p < 0.003$ and $p < 0.000$).

Key words : Antibody, Newcastle disease virus, ELISA

¹ศูนย์ควบคุมคุณภาพชีวภัณฑ์ กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์

In addition, the levels induced by both lived and inactivated vaccine in the repeated program developed better than those of single vaccination. Moreover, after challenge with ND virus it was indicated that the vaccinated group did not showed any clinical signs and mortality. While all of the non-vaccinated chickens died within 10 days.

บทคัดย่อ

ทำการศึกษาประสิทธิภาพวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ลาโซต้าสเตรน โดยวัดระดับแอนติบอดีในซีรัม โดยใช้เทคนิค Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ในไก่เนื้อจำนวน 720 ตัว เมื่ออายุ 1 วัน 21 วัน และ 35 วัน จากฟาร์มของเกษตรกรในท้องที่ภาคกลางและภาคตะวันออก จำนวน 24 ฟาร์ม โดยแบ่งไก่ออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 จำนวน 10 ฟาร์ม ได้รับวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ชนิดเชื้อเป็น ลาโซต้าสเตรนเพียงครั้งเดียว เมื่ออายุ 7-10 วัน กลุ่มที่ 2 จำนวน 14 ฟาร์ม ได้รับวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลสองครั้ง ครั้งแรกได้รับวัคซีนชนิดเชื้อตายลาโซต้าสเตรนเมื่ออายุ 5 วัน ครั้งที่สองได้รับวัคซีนชนิดเชื้อเป็นลาโซต้าสเตรนเมื่ออายุ 7 วัน ทำการเก็บตัวอย่างเลือดฟาร์มละ 30 ตัวอย่าง พบว่าไก่กลุ่มที่ 1 เมื่ออายุ 1 วัน มีระดับแอนติบอดี เฉลี่ยเท่ากับ 4391.60 (SD± 2944.77) ไก่อายุ 21 วันมีระดับแอนติบอดีเฉลี่ยเท่ากับ 1.60 (SD± 5.06) และเมื่อไก่อายุ 35 วันมีระดับแอนติบอดีเฉลี่ยเท่ากับ 517.30 (SD± 429.92) เมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดีระหว่างไก่อายุ 1 วันกับ 21 วัน และไก่อายุ 21วันกับ 35 วัน พบว่าการลดลงของระดับแอนติบอดีระหว่างไก่อายุ 1-21 วัน และการเพิ่มขึ้นของระดับแอนติบอดีระหว่างไก่อายุ 21-35 วัน มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.001$ และ $p < 0.004$ ตามลำดับ ไก่กลุ่มที่ 2 มีการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดีเช่นเดียวกับกลุ่มที่ 1 โดยในไก่อายุ 1 วันจะมีระดับแอนติบอดีเฉลี่ยเท่ากับ 3765.64 (SD± 871.59) ไก่อายุ 21 วันมีระดับแอนติบอดีเฉลี่ยเท่ากับ 2.64 (SD± 6.72) และไก่อายุ 35 วันมีระดับแอนติบอดีเฉลี่ยเท่ากับ 789.57 (SD± 431.08) เมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดีระหว่าง อายุ 1 วันกับ 21 วันและอายุ 21วันกับ 35 วัน พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.000$ และ $p < 0.000$) สำหรับการเปลี่ยนแปลงระหว่างอายุ 1 วันกับ 35 วัน พบว่าไก่ทั้ง 2 กลุ่มมีระดับแอนติบอดีเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกัน ($p < 0.003$ และ $p < 0.000$) ในการศึกษา ยังพบว่าการให้วัคซีนป้องกันโรค 2 ครั้ง ครั้งแรกให้วัคซีนชนิดเชื้อตาย ครั้งที่สองให้วัคซีนเชื้อเป็น จะทำให้ไก่มีระดับแอนติบอดีสูงกว่าไก่ที่ได้รับวัคซีนชนิดเชื้อเป็นเพียงครั้งเดียว และจากการสังเกตไก่หลังให้เชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล นาน 2 สัปดาห์ พบว่าไก่ที่ได้รับวัคซีนไม่แสดงอาการป่วยหรือตาย ส่วนไก่กลุ่มควบคุมจะตายหมดภายใน 10 วัน

คำนำ

โรคนิวคาสเซิล เป็นโรคติดต่อที่สำคัญอย่างยิ่งต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ทั้งในประเทศ และต่างประเทศ (จำเรียง และคณะ, 2536, Hanson R.P. *et al.*, 1978, Bell I.G. *et al.*, 1991 and Halvorson *et al.*, 1991) ก่อให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจมากมาย โรคนิวคาสเซิลมีสาเหตุเกิดจาก เชื้อไวรัสในกลุ่ม Paramyxovirus ไก่ได้รับเชื้อโดยการหายใจหรือเชื้อไวรัสปะปนไปกับอาหารและน้ำ เมื่อได้รับเชื้อไวรัสประมาณ 5-6 วัน ไก่จะแสดงอาการทางระบบหายใจและระบบทางเดินอาหาร บางรายมีอาการทางประสาทร่วมด้วย แต่บางรายก็ไม่แสดงอาการให้เห็น โรคนี้พบเป็นได้กับไก่ทุกอายุ แต่ลูกไก่จะมีอัตราการป่วยและอัตราการตายสูง บางรายสูงถึง 100% (Hanson R.P. *et al.*, 1978 , Whiteman *et al.*, 1983) ปัจจุบันโรคนี้นี้ยังไม่มียารักษาให้หายได้โดยตรง การให้วัคซีนป้องกันโรคเป็นวิธีเดียวที่จะป้องกันและทำให้ไก่ปลอดภัยจากโรคนี้ได้ วัคซีนที่ใช้ในปัจจุบันมีทั้งชนิดเชื้อเป็น (Live vaccine) และชนิดเชื้อตาย (Killed vaccine หรือ Inactivated vaccine) ในแต่ละปีมีการนำเข้าวัคซีนเหล่านี้จำนวน 1,646 ล้านโด๊ส คิดเป็นมูลค่า 82 ล้านบาท (ข้อมูลจากสมาคมผู้ค้าเวชภัณฑ์และเคมีภัณฑ์สำหรับสัตว์) ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงเห็นสมควร ทำการศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ลาโซดัสเตรน ในไก่เนื้อ อายุ 1 วัน 21 วัน และ 35 วันในท้องที่ ระดับแอนติบอดีที่ตรวจได้จะมีความสัมพันธ์กับระดับภูมิคุ้มกันโรคหลังได้รับวัคซีน โดยใช้เทคนิค ELISA ซึ่งเป็นเทคนิคที่สามารถตรวจหาแอนติบอดีที่ได้ผลรวดเร็ว และแม่นยำ (Little K.S. *et al.*, 1988 and Crowther John R. ,1995)

อุปกรณ์และวิธีการ

ไก่ทดลองได้แก่ไก่เนื้อคละเพศ อายุ 1 วัน ซึ่งเลี้ยงโดยเกษตรกรในท้องที่ เขตภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 24 ฟาร์ม แบ่งไก่ออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 จำนวน 300 ตัวอย่าง (10 ฟาร์ม) กลุ่มที่ 2 จำนวน 420 ตัวอย่าง (14 ฟาร์ม) สำหรับการฉีดเชื้อพิษหัด จะทำการสุ่มตัวอย่างไก่จากกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 กลุ่มละ 30 ตัว และมีกลุ่มควบคุมอีก 30 ตัว (ไก่ที่ไม่ได้รับวัคซีน)

วัคซีน ใช้วัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ลาโซดัสเตรนชนิดเชื้อเป็น (Live vaccine) และชนิดเชื้อตาย (Inactivated vaccine) ไก่กลุ่มที่ 1 ได้รับวัคซีนชนิดเชื้อเป็นเพียงอย่างเดียว เมื่ออายุ 7-10 วัน โดยหยอดตาและจุมักตัวละ 0.05 ซี.ซี. ไก่กลุ่มที่ 2 ได้รับวัคซีนสองครั้ง ครั้งแรกได้รับวัคซีนเชื้อตาย เมื่ออายุ 5 วัน โดยฉีดเข้าใต้ผิวหนัง ตัวละ 0.5 ซี.ซี. ครั้งที่สองได้รับวัคซีนชนิดเชื้อเป็น เมื่ออายุ 7 วัน โดยหยอดตาและจุมักตัวละ 0.05 ซี.ซี.

การให้เชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ใช้เชื้อไวรัสสเตอร์นทงถิ่นซึ่งแยกจากไก่ป่วยและตายด้วยโรคนี้ โดยมีปริมาณไวรัส $1.0 \times 10^{7.5}$ EID₅₀ / ซี.ซี. ให้โดยหยอดจมูกไก่กลุ่มที่ 1 กลุ่มที่ 2 และกลุ่มควบคุม กลุ่มละ 30 ตัว ตัวละ 100 ไมโครลิตร เมื่อไก่อายุ 35 วัน สังเกตอาการไก่หลังให้เชื้อพิษพิษนาน 2 สัปดาห์

การเก็บตัวอย่างเลือด ก่อนให้วัคซีนจะทำการเจาะเลือด (ไก่อายุ 1 วัน) จำนวน 30 ตัวต่อฟาร์ม เพื่อตรวจหาระดับแอนติบอดีที่ถ่ายทอดจากพ่อแม่พันธุ์ โดยเจาะที่หัวใจตัวละ 0.6-0.8 ซี.ซี. จากนั้นจะเจาะเลือดครั้งที่สองเมื่ออายุ 21 วันและครั้งที่สามเมื่ออายุ 35 วัน โดยเจาะเลือดที่เส้นเลือดดำที่ปีก ตัวละ 1-1.5 ซี.ซี. ฟาร์มละ 30 ตัวเช่นเดียวกัน นำเลือดตั้งทิ้งไว้ให้แข็งตัว แยกซีรัมโดยนำไปปั่นด้วยความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที นาน 15 นาที นำซีรัมไปตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อไป

การตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อนิวคาสเซิลไวรัส โดยวิธี ELISA ตามเทคนิคของ Crowther John R. (1995) และใช้ ELISA kit ที่ผ่านการทดสอบมาตรฐานแล้ว นำซีรัมซึ่งได้แก่ ซีรัมตัวอย่าง Positive Serum และ Negative Serum เจือจางด้วย dilution buffer ในอัตราส่วน 1 ต่อ 15 นำซีรัมที่เจือจางไปใส่ใน test plate ซึ่ง coated ด้วยเชื้อไวรัส หลุมละ 50 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำ test plate มาล้างด้วย wash solution 3 ครั้ง จากนั้นเติม diluted conjugate หลุมละ 100 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำไปล้างด้วย wash solution 3 ครั้ง เติม ABTS substrate หลุมละ 100 ไมโครลิตร นำ test plate ไปอ่านผลด้วยเครื่อง ELISA reader ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนมิเตอร์ การตรวจซีรัมแต่ละตัวอย่างจะทำซ้ำสองครั้ง ผลที่อ่านได้นำไปเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐาน (Geometric Mean ELISA Titer) ซึ่งค่า Geometric Mean ND ELISA Titer มากกว่าหรือเท่ากับ 1,000 ถือว่ามีระดับแอนติบอดีสูงและสามารถป้องกันโรคได้

นำข้อมูลที่ได้รับไปวิเคราะห์อย่างเป็นระบบโดยใช้โปรแกรม SPSS/PC+ และเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดี ระหว่างไก่อายุ 1 วันกับ 21 วัน อายุ 21 วันกับ 35 วัน และ อายุ 1 วันกับ 35 วัน โดยใช้สถิติ Paired t-test

ผลการทดลอง

จากการศึกษาประสิทธิภาพวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ลาโซต้าสเตอร์น ชนิดเชื้อเป็นและชนิดเชื้อตายในไก่เนื้อ พบว่าไก่กลุ่มที่ 1 (ตารางที่ 1) ซึ่งได้รับวัคซีนชนิดเชื้อเป็นเพียงครั้งเดียวเมื่ออายุ 7-10 วัน มีระดับแอนติบอดีระหว่าง 796-10971 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4391.60 (SD± 2944.77) ไก่อายุ 21 วัน มีระดับแอนติบอดีระหว่าง 0-16 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.60 (SD± 5.06) และไก่อายุ 35 วัน มีระดับแอนติบอดีระหว่าง 35-1304 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 517.30 (SD± 429.92) ไก่กลุ่มที่ 2 (ตารางที่ 2) ซึ่งได้รับวัคซีน 2 ครั้ง ครั้งแรกได้รับวัคซีนชนิดเชื้อตายเมื่ออายุ 5 วัน ครั้งที่ 2 ได้รับวัคซีนชนิดเชื้อเป็นเมื่ออายุ 7 วัน พบว่า ไก่อายุ 1 วัน มีระดับแอนติบอดีระหว่าง 2035-5136 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3765.64 (SD± 871.59) ไก่อายุ 21 วัน มีระดับแอนติบอดีระหว่าง 0-19 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.64 (SD± 6.72) ไก่อายุ 35 วัน มีระดับแอนติบอดีระหว่าง 255-1549 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 789.57 (SD± 431.08) เมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดีระหว่างไก่อายุ

1 วัน กับ 21 วัน ไก่อายุ 21 วันกับ 35 วัน และไก่อายุ 1 วัน กับ 35 วัน พบว่าระดับแอนติบอดีของไก่ทั้ง 2 กลุ่มมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3และตารางที่ 4) และหลังจากให้เชื้อพิษทับใน ไก่ทั้ง 2 กลุ่มและกลุ่มควบคุม เมื่ออายุ 35 วัน พบว่าไก่ทั้ง 2 กลุ่มที่ได้รับวัคซีนไม่แสดงอาการป่วยหรือตาย แต่อย่างใด ส่วนไก่กลุ่มควบคุมมีอาการป่วยและตายหมดภายใน 10 วันหลังได้รับเชื้อพิษ

ตารางที่ 1 ค่า Geometric Mean ND Titer ในไก่เนื้ออายุ 1 วัน 21 วัน และ 35 วัน ซึ่งได้รับวัคซีน ป้องกันโรคนิวคาสเซิลชนิดเชื้อเป็น 1 ครั้ง เมื่ออายุ 7-10 วัน

ฟาร์มที่	Geo. Mean ND ELISA Titer		
	อายุ 1 วัน	อายุ 21 วัน	อายุ 35 วัน
จำนวนฟาร์ม(N)	10	10	10
จำนวนตัวอย่างเลือด/ฟาร์ม	30	30	30
ฟาร์มที่ 1	2528	0	272
ฟาร์มที่ 2	2142	0	1156
ฟาร์มที่ 3	3318	0	623
ฟาร์มที่ 4	796	0	286
ฟาร์มที่ 5	4745	0	277
ฟาร์มที่ 6	5859	0	380
ฟาร์มที่ 7	2748	0	117
ฟาร์มที่ 8	3806	0	1304
ฟาร์มที่ 9	10971	0	35
ฟาร์มที่ 10	7003	16	723
Mean $\pm$ SD	4391.60 $\pm$ 2944.77	1.60 $\pm$ 5.06	517.30 $\pm$ 429.92

ตารางที่ 2 ค่า Geometric Mean ND Titer ในไก่เนื้ออายุ 1 วัน 21 วัน และ 35 วัน ซึ่งได้รับวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล 2 ครั้ง ครั้งแรกได้รับวัคซีนชนิดเชื้อตายเมื่ออายุ 5 วัน ครั้งที่สองได้รับวัคซีนชนิดเชื้อเป็นเมื่ออายุ 7 วัน

ฟาร์มที่	Geo. Mean ND ELISA Titer		
	อายุ 1 วัน	อายุ 21 วัน	อายุ 35 วัน
จำนวนฟาร์ม(N)	14	14	14
จำนวนตัวอย่างเลือด/ฟาร์ม	30	30	30
ฟาร์มที่ 1	3322	0	1385
ฟาร์มที่ 2	2035	19	1549
ฟาร์มที่ 3	5123	0	486
ฟาร์มที่ 4	4378	0	666
ฟาร์มที่ 5	5136	0	273
ฟาร์มที่ 6	4465	0	710
ฟาร์มที่ 7	3906	0	482
ฟาร์มที่ 8	2910	0	649
ฟาร์มที่ 9	3464	0	255
ฟาร์มที่ 10	3435	18	327
ฟาร์มที่ 11	2791	0	956
ฟาร์มที่ 12	3609	0	780
ฟาร์มที่ 13	3994	0	1314
ฟาร์มที่ 14	4131	0	1222
Mean $\pm$ SD .	3765.64 $\pm$ 871.59	2.64 $\pm$ 6.72	789.57 $\pm$ 431.08

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดีระหว่างไก่อายุ 1 วันกับ 21 วัน อายุ 21 วัน กับ 35 วัน และ อายุ 1 วันกับ 35 วัน ในไก่ที่ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิลชนิดเชื้อเป็น 1 ครั้ง เมื่ออายุ 7-10 วัน

อายุไก่	จำนวนฟาร์ม(N)	Mean $\pm$ SD	Difference Mean $\pm$ SD	p value
day 1 VS day 21	10	4391.6 $\pm$ 2944.8 1.6 $\pm$ 5.1	4390.0 $\pm$ 2943.2	0.001
day 21 VS day 35	10	1.6 $\pm$ 5.1 517.3 $\pm$ 429.9	515.5 $\pm$ 429.1	0.004
day 1 VS day 35	10	4391.6 $\pm$ 2944.8 517.3 $\pm$ 429.9	3874.3 $\pm$ 3085.5	0.003

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดีระหว่างไก่อายุ 1 วันกับ 21 วัน อายุ 21 วัน กับ 35 วัน และ อายุ 1 วันกับ 35 วัน ในไก่ที่ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล 2 ครั้ง ครั้งแรกได้รับวัคซีนชนิดเชื้อตายเมื่ออายุ 5 วัน ครั้งที่สองได้รับวัคซีนชนิดเชื้อเป็นเมื่ออายุ 7 วัน

อายุไก่	จำนวนฟาร์ม(N)	Mean $\pm$ SD	Difference Mean $\pm$ SD	p value
day 1 VS day 21	14	3765.6 $\pm$ 871.6 2.6 $\pm$ 6.7	3763.0 $\pm$ 875.0	0.000
day 21 VS day 35	14	2.6 $\pm$ 6.7 789.6 $\pm$ 431.1	786.9 $\pm$ 430.0	0.000
day 1 VS day 35	14	3765.6 $\pm$ 871.6 789.6 $\pm$ 431.1	2976.1 $\pm$ 1141.9	0.000

วิจารณ์

จากการศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ลาโซต้าสเตรน ในไก่เนื้อ 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ให้วัคซีนชนิดเชื้อเป็นเพียงอย่างเดียว เมื่ออายุ 7-10 วัน และกลุ่มที่ 2 ให้วัคซีนเชื้อตายเมื่ออายุ 5 วัน และให้วัคซีนเชื้อเป็นซ้ำอีกครั้งเมื่ออายุ 7 วัน ทำการตรวจหาระดับแอนติบอดีก่อนให้วัคซีน (ไก่อายุ 1 วัน) , หลังให้วัคซีน 11-14 วัน (ไก่อายุ 21 วัน) และหลังให้วัคซีน 25-28 วัน (ไก่อายุ 35 วัน) จากนั้นทำการฉีดเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิลเมื่ออายุ 35 วัน สังเกตอาการไก่อาน 2 สัปดาห์ พบว่า ไก่อายุ 1 วัน กลุ่มที่ 1 มีระดับแอนติบอดีระหว่าง 796-10971 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4391.60 (SD± 2944.77) ไก่กลุ่มที่ 2 มีระดับแอนติบอดีระหว่าง 2035-5136 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3765.64 (SD± 871.59) จะเห็นได้ว่าลูกไก่มีระดับแอนติบอดี ก่อนช่วงสูงทั้งนี้เนื่องจาก ได้รับถ่ายทอดจากพ่อแม่พันธุ์ที่ได้รับ การฉีดวัคซีนมาก่อนซึ่ง Thayer S.G. et al.(1983) ได้รายงานว่าลูกไก่ที่ฟักมาจากพ่อแม่พันธุ์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรค นิวคาสเซิลที่ถูกต้อง และเหมาะสมจะสามารถถ่ายทอดแอนติบอดีไปยังลูก และระดับแอนติบอดีที่ลูกได้รับจะมีระดับใกล้เคียงกับระดับแอนติบอดีของพ่อแม่พันธุ์ขณะวางไข่ นอกจากนี้จะเห็นว่าระดับแอนติบอดีมีระดับที่แตกต่างกันด้วย เนื่องจากโปรแกรมการให้วัคซีนในพ่อแม่พันธุ์แตกต่างกัน (Little K.S. et al ., 1988) เมื่อไก่อายุ 21 วัน ระดับแอนติบอดี ไก่กลุ่มที่1 และกลุ่มที่2 จะค่อยๆลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.001 และ p<0.000) โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.60 (SD± 5.06) และ 2.64 (SD± 6.72) ตามลำดับ ซึ่ง Thayer S.G. et al. (1983) และ Mallison et al. (1985) ได้ศึกษาพบว่า ระดับแอนติบอดีที่ได้รับถ่ายทอดจากพ่อแม่พันธุ์จะค่อยๆลดลงภายใน 21 วัน เมื่อไก่อายุ 35 วัน ระดับแอนติบอดีจะค่อยๆเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.004 และ p<0.000) โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 517.30 (SD± 429.92) และ 789.57 (SD± 431.08) ซึ่งตรงกับรายงานของ King J. Danial . (1987) ที่ได้ศึกษาพบว่าระดับแอนติบอดีที่ลูกได้รับถ่ายทอดจากพ่อแม่พันธุ์จะมีระดับสูงและจะค่อยๆลดลงจนกระทั่งอายุ 21 วัน และจากนั้นจะค่อยๆเพิ่มขึ้นเนื่องจากไก่ได้รับวัคซีนป้องกันโรค เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับแอนติบอดีในไก่กลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 หลังได้รับวัคซีนจะเห็นว่าระดับแอนติบอดีในไก่กลุ่มที่ 2 มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ 1 ทั้งนี้เนื่องจากไก่กลุ่มที่ 2 ได้รับวัคซีนป้องกันโรค 2 ครั้ง ซึ่งมีทั้งชนิดเชื้อเป็นและชนิดเชื้อตาย วัคซีนชนิดเชื้อตายจะมีน้ำมันเป็นส่วนผสมทำให้เชื้อไวรัสในวัคซีนค่อยๆถูกปล่อยออกมาและไปกระตุ้นการสร้างแอนติบอดี (Thayer S.G. et al. 1983) และจากการสังเกตอาการไก่อาน 2 สัปดาห์ พบว่าไก่ที่ได้รับวัคซีนทั้ง 2 กลุ่มไม่มีอาการป่วยหรือตาย แสดงว่าระดับแอนติบอดีที่ไก่ได้รับหลังให้วัคซีนสามารถป้องกันการติดเชื้อไวรัส นิวคาสเซิลได้

		1.125±3.085	31	23 yab
000.0	0.15411±1.0103	3.175±3.2673	31	1 yab
		1.125±3.085	31	23 yab

สรุป

จากการศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ลาโซต้าสเตรน อายุ 1 วัน 21 วัน และ 35 วัน จำนวน 720 ตัว โดยแบ่งไก่ออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ได้รับวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลลาโซต้าสเตรนชนิดเชื้อเป็นเพียงครั้งเดียว เมื่ออายุ 7-10 วัน กลุ่มที่ 2 ได้รับวัคซีนป้องกันโรค 2 ครั้ง ครั้งแรกได้รับวัคซีนชนิดเชื้อตายเมื่ออายุ 5 วัน ครั้งที่สอง ได้รับวัคซีนชนิดเชื้อเป็น เมื่ออายุ 7 วัน ก่อนให้วัคซีนไก่ (อายุ 1 วัน) ได้ทำการเจาะเลือดตรวจหาระดับแอนติบอดีที่ถ่ายทอดจากพ่อแม่พันธุ์ พบว่าไก่กลุ่มที่ 1 มีระดับแอนติบอดีระหว่าง 796-10971 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4391.60 ($SD \pm 2944.77$) ไก่กลุ่มที่ 2 มีระดับแอนติบอดีระหว่าง 2035-5136 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3765.64 ($SD \pm 871.59$) เมื่อไก่อายุ 21 วัน กลุ่มที่ 1 จะมีระดับแอนติบอดีระหว่าง 0-16 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.60 ($SD \pm 5.06$) กลุ่มที่ 2 มีค่าระหว่าง 0-19 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.64 ($SD \pm 6.72$) เมื่อไก่อายุ 35 วัน กลุ่มที่ 1 มีระดับแอนติบอดีระหว่าง 35-1304 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 517.30 ($SD \pm 429.92$) กลุ่มที่ 2 มีระดับแอนติบอดีระหว่าง 255-1549 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 789.57 ($SD \pm 431.08$) เมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดีระหว่างไก่อายุ 1 วัน กับ 21 วัน ไก่อายุ 21 วันกับ 35 วัน และไก่อายุ 1 วัน กับ 35 วัน พบว่าในไก่ทั้ง 2 กลุ่มมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นกัน นอกจากนี้ยังพบว่าไก่ที่ได้รับวัคซีนชนิดเชื้อตายร่วมกับวัคซีนชนิดเชื้อเป็นจะมีระดับแอนติบอดีสูงกว่าไก่ที่ได้รับวัคซีนชนิดเชื้อเป็นเพียงอย่างเดียว และระดับ แอนติบอดีที่ได้รับสามารถป้องกันโรคได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณสมบูรณ์ วัชรพงษ์พันธ์ บริษัท กรุงสยาม จำกัด บริษัท เกษตรชล จำกัด บริษัท อรุณการเกษตร จำกัด บริษัท พงษ์ศักดิ์การเกษตร จำกัด จงเจริญฟาร์ม นางสาว วงเดือน พุทธโคตร ว่าที่ร้อยตรีสุพจน์ วณิชย์สุวรรณ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือจนทำให้การศึกษาครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- จำเรียง และคณะ (2536) อุบัติการณ์ของโรคไวรัสในสัตว์ปีกปี 2531 - 2535 ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการปศุสัตว์ ครั้งที่ 12 ประจำปี 2536 หน้า 163 - 172.
- Bell I. G., Nicolls 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 in the laboratory. 1. Meat chickens. Australian Veterinary Journal vol. 68 no. 3, pp 85 - 89 .
- Crowther John R. (1995). In : ELISA Theory and Practice. Humana Press , Totowa, New Jersey, U.S.A. pp 131 - 149.
- Halvorson D.A., Shaw D., Sivanandan V., Barbour E. K., Maheshkumar S., Newman J. A., and Newman L. (1991). Serological Response in Broiler Chick to Different Commercial Newcastle Disease and Infectious Bronchitis Vaccines. Avian Diseases 35 : 978 - 981.
- Hanson R.P., (1978). Newcastle Disease. In : Diseases of Poultry 7th Edition Iowa State University Press/AMES, IOWA, USA, pp 513 - 535.
- King J. Daniel. (1987). Serological Profiles of Commercial Broiler Breeders and Their Progeny. 2. Newcastle Disease Virus. Avian Diseases, vol. 30, no. 4, pp 724 - 727.
- Little K.S., Thayer S. G., Fletcher O. J., and Riddell C. (1988). A Study of Breeder Vaccination Programmes and Problems in the Broiler Progeny in Saskatchewan Utilizing Enzyme - Linked Immunosorbent Assay. Avian Diseases : 32, pp 114 - 120.
- Mallison E.T., Snyder D.B., Morquardt W.W., Russek-Cohen E., Savage P.K., Allen D.C., and Vancy F.S. (1985). Presumptive diagnosis of subclinical infectious utilizing computer assisted analysis of sequential Enzyme Linked Immunosorbent Assays against multiple antigens. Poultry Science. 64(9) : 1661-1669.
- Thayer S.G., Eidson C.S., and Kleven S.H. (1983). Multivalent Inactivated Virus Oil Emulsion Vaccines in Broiler Breeder Chickens. I. Newcastle Disease Virus and Infectious Bursal Disease Virus Bivalent Vaccines. Poultry Science : 62 , pp 1978 - 1983. III. Trivalent Newcastle Disease, Infectious Bursal Disease, and Arthritis/Tenosynovitis Viruses Vaccine in Primed Breeders. Poultry Science : 62, pp 1991 - 1997.
- Whiteman C. E. and Bickford A.A. (1983). Newcastle disease. In: Avian Disease Manual. 2nd ed. American Association of Avian Pathologists , Kennett Square press, Pennsylvania , U.S.A. pp 50-67.

การศึกษาระดับแอนติบอดีต่อ รีโอไวรัส ที่ถ่ายทอดจากพ่อแม่พันธุ์ในไก่เนื้อ
และอิทธิพลจากการเลี้ยง การจัดการฟาร์ม

**MATERNAL TRANSFERRED ANTIBODY AGAINST REOVIRUS IN BROILERS
AND MANAGEMENT INFLUENCING THE STATUS OF ANTIBODY**

จำเรียง อรวรรณกุล¹ สุเนจิต คงทน¹

Jumriang Orawannukul Suneejit Kongthon

ABSTRACT

The maternal transferred antibody against reovirus was investigated in broilers aged 1, 21 and 35 days. This covered 720 broilers from 24 farms in the central and the eastern regions. Blood sample was collected and investigate for antibody level by Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). The average levels of antibody titer against reovirus assessed at 1, 21 and 35 days of age resulted as 3874.0 (SD±1638.8) 83.5 (SD±100.7) and 773.3 (SD±304.4) respectively. Paired t-test was used to compare the changes between the titers of 1 and 21 days of age and those of 21 and 35 days old. This test showed statistically significant differences at $p < 0.000$. Demographic variables and basic management were also studied. The results showed that a business of broiler raising was shared by farmers and investors. The farmers took care of land, labor and power supplies such as water and electricity whereas investors provided day old chick, feed, vaccine, necessary veterinary drug and technical support. Among 24 farmers who mostly looked after chicken, 19 were female and 5 were male. Their average age was 41.6 years. The majority educational background were elementary school. Technical management of housing seemed well with the stocking density averaged at 9.04 chickens per square meter. The housing were cleaned and stopped for 3 weeks before new batches of raising started. Feed conversion ratio was 1.37 at 21 and 1.62 at 35 days old respectively. However, Chi-square test used demographic and technical management variable in associated with the changes of antibody titer did not demonstrated any significant influences.

Key words : Antibody, Reovirus, ELISA

¹ศูนย์ควบคุมคุณภาพชีวภัณฑ์ กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์

เสียชีวิตในไก่พ่อแม่พันธุ์ไก่เนื้อที่ได้รับเชื้ออีโวลรัส โดยวัดความสูญเสียจาก จำนวนไข่ การฟักเป็นตัว การขายไข่ ค่าใช้จ่ายในการจัดซื้อวัคซีน อัตราการตาย ค่าใช้จ่ายสำหรับจัดซื้อยารักษา และการชะงักการเจริญเติบโตของไก่ พบว่ามีการสูญเสียประมาณ 48,000 เหย็ดสหรัฐ หรือประมาณ 1,248,000 บาท ต่อไก่ 1 ฟอง (8,750 ตัว) เนื่องจากปัจจุบันยังไม่นิยมฉีดวัคซีนป้องกันโรคนี้ในไก่เนื้อ แต่อาศัยแอนติบอดี ที่ถ่ายทอดจากพ่อแม่พันธุ์เพียงอย่างเดียว ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงทำการศึกษาระดับแอนติบอดีต่ออีโวลรัส ที่ถ่ายทอดจากพ่อแม่พันธุ์และอิทธิพลจากการเลี้ยง การจัดการที่อาจมีผลต่อระดับแอนติบอดีในไก่เนื้อ ทั้งนี้เพื่อจะได้ทราบถึงสถานะภาพและการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดีที่ไก่ได้รับจากพ่อแม่พันธุ์ ตั้งแต่แรกเกิดจนถึงอายุ 35 วัน

อุปกรณ์และวิธีการ

ฟาร์มเป้าหมายคือ ฟาร์มเลี้ยงไก่เนื้อในพื้นที่ภาคกลางและภาคตะวันออก จำนวน 24 ฟาร์ม ฟาร์มละ 30 ตัวอย่าง

ข้อมูลเกี่ยวกับผู้เลี้ยงและการจัดการฟาร์ม ได้แก่ ข้อมูลเกี่ยวกับผู้เลี้ยง เช่นระดับการศึกษา เพศ อายุ ลักษณะการลงทุน ข้อมูลเกี่ยวกับการจัดการฟาร์ม เช่น โรงเรือน การให้น้ำ-อาหาร การกกลูกไก่ การฟักไข่ น้ำหนักไก่ ปริมาณอาหารที่ไก่กิน อัตราการเจริญเติบโต ฯลฯ โดยมีเจ้าของฟาร์ม และ/หรือ ผู้เลี้ยงไก่เป็นผู้ให้ข้อมูล โดยใช้แบบสอบถาม คณะผู้วิจัยได้จัดทำแบบสอบถาม ซึ่งก่อนนำแบบสอบถามไปเก็บข้อมูลในฟาร์มได้นำไปทดสอบ (Pretest questionnaire) ก่อน จากนั้นได้ปรับปรุงคำถามให้เหมาะสม และจัดทำคู่มือลกรหัส การเก็บข้อมูลในทุกฟาร์มจะอยู่ในความดูแลและกำกับโดยนายสัตวแพทย์ นำข้อมูลที่ได้จากแบบสอบถามมาลงรหัสตามคู่มือ ทำการตรวจสอบความถูกต้องของรหัส แล้วจึงนำไปวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม dBase III และ SPSS/PC+ และใช้สถิติ Paired t-test และ Chi-square test

การเก็บตัวอย่างเลือดและการตรวจหาระดับแอนติบอดีต่ออีโวลรัส โดยวิธี ELISA ตามเทคนิคของ Crowther John R. (1995) และใช้ ELISA kit ที่ผ่านการทดสอบมาตรฐานแล้ว โดยทำการเจาะเลือดจากไก่เนื้ออายุ 1 วัน 21 วัน และ 35 วัน จำนวน 720 ตัว จาก 24 ฟาร์ม ฟาร์มละ 30 ตัว การเจาะเลือดไก่ทั้ง 3 อายุ ของแต่ละฟาร์ม จะเจาะในฝูงเดียวกัน ไก่อายุ 1 วัน เจาะเลือดจากหัวใจ ตัวละ 0.6-0.8 ซีซี. ไก่อายุ 21 วัน และ 35 วัน เจาะเลือดจากเส้นเลือดดำที่ปีก ตัวละ 1-1.5 ซีซี. นำเลือดตั้งทิ้งไว้ให้แข็งตัว แยกซีรัมโดยนำไปปั่นความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที นาน 15 นาที นำซีรัมตัวอย่าง positive serum และ negative serum มาเจือจางด้วย dilution buffer ในอัตราส่วน 1 ต่อ 15 นำซีรัมที่เจือจางใส่ใน test plate ซึ่ง coated ด้วย เชื้ออีโวลรัส โดยใส่หลุมละ 50 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำ test plate มาล้างด้วย wash solution 3 ครั้ง จากนั้นเติม diluted conjugate หลุมละ 100 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำไปล้างด้วย wash solution 3 ครั้ง เติม ABTS substrate หลุมละ 100 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที นำมาเติม diluted stop solution หลุมละ 100 ไมโครลิตร จากนั้นจึงนำ test plate ไปอ่านผล ด้วยเครื่อง ELISA reader ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร การตรวจซีรัมแต่ละตัวอย่างจะทำซ้ำ 2 ครั้ง แล้วนำผล

การตรวจไปอ่านเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐาน (Geometric Mean ELISA Titer) ซึ่งค่า Geometric Mean Reovirus Titer มากกว่าหรือเท่ากับ 2,000 ถือว่ามีระดับแอนติบอดีสูงและเป็นระดับที่สามารถป้องกันโรคได้ นำผลของระดับแอนติบอดีไปวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม dBase III และ SPSS/PC+ ใช้สถิติ Paired t-test เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดีระหว่างไก่อายุ 1 วันกับ 21 วัน และอายุ 21 วันกับ 35 วัน และใช้สถิติ Chi-square test ในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ ระหว่างการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดีกับปัจจัยการเลี้ยงดูและการจัดการ

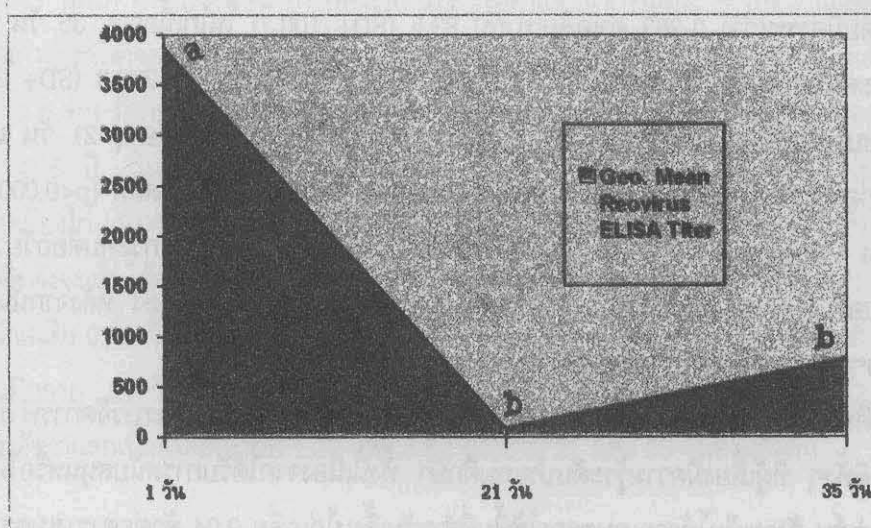
ผล

จากการศึกษาพบว่า ระดับแอนติบอดีต่อรีโอไวรัสซึ่งได้รับถ่ายทอดจากพ่อแม่พันธุ์เพียงอย่างเดียว พบว่าในไก่อายุ 1 วันมีระดับแอนติบอดีระหว่าง 1406-6558 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3874.0 (SD±1638.8) ไก่อายุ 21 วันมีระดับแอนติบอดีระหว่าง 0-363 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 83.5 (SD ± 100.7) และไก่อายุ 35 วันมีระดับแอนติบอดีระหว่าง 238-1457 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 773.3 (SD ±304.4) นอกจากนี้ยังพบว่าระดับแอนติบอดีในไก่อายุ 1 วันจะค่อยๆ ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.000$) จนกระทั่งถึงอายุ 21 วัน จากนั้นระดับแอนติบอดีจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกัน ($p<0.000$) ตามตารางที่ 1 และรูปที่ 1 ในด้านการเลี้ยงและการจัดการพบว่า การเลี้ยงไก่เนื้อส่วนหนึ่งมีการลงทุนร่วมกันระหว่างเกษตรกรกับนักลงทุน โดยเกษตรกรจะลงทุนด้าน ที่ดิน โรงเรือน แรงงาน น้ำและไฟฟ้า เป็นต้น ส่วนนักลงทุนจะลงทุนในด้านลูกไก่ อาหาร วัคซีน เวชภัณฑ์สัตว์และผู้ให้คำแนะนำในการเลี้ยง การป้องกันและการรักษาโรค (ผู้ดูแลฟาร์ม) เกษตรกรผู้เลี้ยงไก่จำนวน 24 คน เป็นหญิง 19 คนเป็นชาย 5 คน มีอายุเฉลี่ย 41.6 ปี จำนวน 20 คนจบการศึกษาชั้นประถมศึกษา (ป.1-ป.6) และอีก 4 คน จบชั้นมัธยมศึกษาตอนต้น พื้นที่ที่ใช้ในการเลี้ยงไก่เฉลี่ย 9.04 ไร่ต่อตารางเมตร พันธุ์ไก่เนื้อที่เลี้ยง 17 รายเป็นไก่พันธุ์อาร์เบอร์เอเคอร์ 2 รายเป็นไก่พันธุ์รอส 3 รายเป็นไก่พันธุ์ฮัมบาร์ด และ 2 รายเลี้ยงไก่พันธุ์ค็อก น้ำหนักลูกไก่อายุ 1 วันเฉลี่ยเท่ากับ 0.04 กิโลกรัมต่อตัว เมื่อไก่อายุ 21 วัน มีน้ำหนักเฉลี่ย 0.71 กิโลกรัมต่อตัว และ ไก่อายุ 35 วันมีน้ำหนักเฉลี่ย 1.49 กิโลกรัมต่อตัว สำหรับอาหารที่ไก่กินพบว่า ไก่อายุ 21 วันกินอาหารเฉลี่ย 0.96 กิโลกรัมต่อตัว ไก่อายุ 35 วันกินอาหารเฉลี่ย 2.41 กิโลกรัมต่อตัว ส่วนอัตราแลกเนื้อเมื่อไก่อายุ 21 วันมีอัตราแลกเนื้อเฉลี่ย 1.37 ในขณะที่ไก่อายุ 35 วัน มีอัตราแลกเนื้อเฉลี่ย 1.62 ดังแสดงในตารางที่ 2 จากการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติ Chi-square test พบว่าการเลี้ยงดูและการจัดการไม่มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดีแต่อย่างใด

ตารางที่ 1 ค่า Geometric Mean Reovirus ELISA Titer ในไก่เนื้ออายุ 1 วัน 21 วัน 35 วัน

ฟาร์มที่	Geo. Mean Reo. ELISA Titer			ฟาร์มที่	Geo. Mean Reo. ELISA Titer		
	อายุ 1 วัน	อายุ 21 วัน	อายุ 35 วัน		อายุ 1 วัน	อายุ 21 วัน	อายุ 35 วัน
1	2460	150	1122	13	6466	93	612
2	4076	245	1015	14	5197	27	872
3	2050	73	654	15	5004	30	615
4	3710	104	636	16	1406	0	537
5	5408	0	993	17	2104	0	238
6	3237	0	1402	18	2008	67	860
7	5588	287	770	19	1814	0	677
8	6233	165	658	20	5711	40	406
9	4517	39	519	21	6558	0	486
10	2366	189	1057	22	2462	31	560
11	4658	75	796	23	2957	13	523
12	4334	363	1457	24	2652	14	1094

รูปที่ 1 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของค่า Geometric Mean Reovirus ELISA Titer ในไก่เนื้อระหว่างอายุ 1 วัน 21 วัน และ 35 วัน

a $p < 0.000$ b $p < 0.000$

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักไก่ ปริมาณอาหารที่ไก่กิน และอัตราแลกเนื้อในไก่อายุ 1 วัน 21 วัน 35 วัน

	น้ำหนักไก่ต่อตัว(กก.)			น้ำหนักอาหารต่อตัว(กก.)		อัตราแลกเนื้อ	
อายุไก่ (วัน)	1	21	35	21	35	21	35
จำนวนฟาร์ม	24	24	24	24	24	24	24
จำนวนตัวอย่างต่อฟาร์ม	30	30	30	30	30	30	30
ค่าเฉลี่ย(X)	0.04	0.71	1.49	0.96	2.41	1.37	1.62
ค่ามาตรฐาน*		0.59	1.28	0.81	2.19	1.37	1.71

* ค่ามาตรฐานได้จาก การจัดการฟาร์มสัตว์ปีก (มานิตย์ เทวรักษ์พิทักษ์ , 2536)

อัตราแลกเนื้อ = ปริมาณอาหารที่ไก่กิน(กก.) / น้ำหนักไก่(กก.)

วิจารณ์

จากการศึกษาระดับแอนติบอดีต่อรีโอไวรัสในไก่เนื้อที่ได้รับถ่ายทอดจากพ่อแม่พันธุ์เพียงอย่างเดียว พบว่า (ตารางที่ 1) ในไก่อายุ 1 วัน มีจำนวน 2 ฟาร์มที่มีระดับแอนติบอดีต่ำกว่า 2000 คือฟาร์มที่ 16 และ 19 ซึ่ง Giambrone J.J. et al. (1985,1991) ได้รายงานว่าลูกไก่ที่มีระดับแอนติบอดีต่อรีโอไวรัสต่ำสืบเนื่องมาจากพ่อแม่พันธุ์ได้รับการฉีดวัคซีนที่ไม่เหมาะสม หรือพ่อแม่พันธุ์ได้รับวัคซีนเมื่ออายุมากเกินไป แต่อย่างไรก็ตามค่าเฉลี่ยของระดับแอนติบอดีต่อรีโอไวรัส (รูปที่ 1) ในลูกไก่อายุ 1 วันมีค่าเท่ากับ 3874.0 (SD±1638.8) ซึ่งถือว่าเป็นค่าที่สูงและอยู่ในระดับที่สามารถป้องกันโรคได้ ในไก่อายุ 21 วัน พบว่าระดับแอนติบอดีลดลงโดยมีค่าระหว่าง 0-363 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 83.5 (SD± 100.7) ในไก่เนื้ออายุ 35 วัน พบว่าระดับแอนติบอดีจะค่อยๆเพิ่มขึ้น โดยมีค่าระหว่าง 238-1457 หรือ ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 773.3 (SD± 304.4) และเมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดีระหว่างไก่อายุ 1 วัน กับไก่อายุ 21 วัน และไก่อายุ 21 วัน กับไก่อายุ 35 วัน(รูปที่ 1) พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.000$) ซึ่งตรงกับรายงานของ Montgomery R.D. et al.(1984) ได้กล่าวว่าเชื้อรีโอไวรัสจะมีผลกระทบต่ออวัยวะที่ทำหน้าที่สร้างแอนติบอดี (Lymphoid organ) ช่วงระยะหนึ่งจึงทำให้ระดับแอนติบอดีลดลง หลังจากนั้นระดับแอนติบอดีจะค่อยๆเพิ่มขึ้นเนื่องจาก Lymphoid organ กลับทำงานได้ตามปกติ

จากการศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับผู้เลี้ยงและการจัดการฟาร์ม พบว่าวิธีเลี้ยงและการจัดการฟาร์มส่วนใหญ่อยู่ในระดับที่ต่ำๆ ที่ผู้เลี้ยงมีความรู้ระดับประถมศึกษา ทั้งนี้เนื่องจากการได้รับการสนับสนุนหรือได้รับคำแนะนำจากผู้ดูแลฟาร์ม ดังจะเห็นได้จากเกษตรกรใช้พื้นที่สำหรับเลี้ยงไก่เฉลี่ย 9.04 ตัวต่อตารางเมตร ระยะเวลาในการพักเล้าหลังจำหน่ายไก่ใช้เวลา 3 สัปดาห์ ซึ่งตรงกับรายงานของมานิตย์ เทวรักษ์พิทักษ์ (2536) ที่ได้รายงานว่าการเลี้ยงไก่พันธุ์เนื้อในประเทศไทยควรใช้พื้นที่ในการเลี้ยง 7.5-10 ตัวต่อตารางเมตรและควรมี

การพักเล้าหลังจำหน่ายไก่ใหญ่แล้ว 3 สัปดาห์ขึ้นไป สำหรับน้ำหนักไก่ ปริมาณอาหารที่กิน การศึกษา(ตารางที่ 2) ไก่อายุ 1 วันมีน้ำหนักเฉลี่ย 0.04 กิโลกรัมต่อตัว ไก่อายุ 21 วันมีน้ำหนักเฉลี่ย 0.71 กิโลกรัมต่อตัว และไก่อายุ 35 วันมีน้ำหนักเฉลี่ย 1.49 กิโลกรัมต่อตัว ปริมาณอาหารที่กิน ไก่อายุ 21 วันกินอาหารเฉลี่ย 0.96 กิโลกรัมต่อตัว และไก่อายุ 35 วันกินอาหารเฉลี่ย 2.41 กิโลกรัมต่อตัว ส่วนอัตราแลกเนื้อของไก่อายุ 21 วันมีอัตราแลกเนื้อ 1.37 และไก่อายุ 35 วันมีอัตราแลกเนื้อ 1.62 เมื่อเปรียบเทียบค่าดังกล่าวกับค่าที่ มานิตย์ เทวรักษ์พิทักษ์ (2536) ได้ศึกษาไว้พบว่า น้ำหนักไก่และปริมาณอาหารที่กินในการศึกษาครั้งนี้ มีค่าสูงกว่า ทั้งนี้เนื่องจากปัจจุบันสายพันธุ์ไก่เนื้อได้มีการพัฒนาให้โตเร็วขึ้น จึงทำให้ไก่มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น และกินอาหารเพิ่มมากขึ้น แต่ย่นระยะเวลาในการเลี้ยงน้อยลง จากเดิมเคยใช้เวลาเลี้ยงไก่อาน 1 - 60 วัน แต่ในปัจจุบันลดลงเหลือ 1 - 47 วัน แต่ได้อัตราแลกเนื้อใกล้เคียงกัน

สรุป

จากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าระดับแอนติบอดีต่อรีโอไวรัส ของลูกไก่อายุ 1 วัน มีระดับแอนติบอดีเฉลี่ย 3874 ($SD \pm 1638.4$) ซึ่งถือว่าอยู่ในระดับที่สูงและสามารถป้องกันโรคได้ ไก่อายุ 21 วันมีระดับแอนติบอดีเฉลี่ยเท่ากับ 83.5 ($SD \pm 100.7$) และไก่อายุ 35 วันมีระดับแอนติบอดีเฉลี่ยเท่ากับ 773.3 ($SD \pm 304.4$) เมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดีต่อรีโอไวรัสระหว่างไก่อายุ 1 วันกับไก่อายุ 21 วัน และระหว่างไก่อายุ 21 วันกับไก่อายุ 35 วัน พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.000$) และพบว่า การเลี้ยงและการจัดการฟาร์มไม่มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดีต่อรีโอไวรัส ปัจจุบันการเลี้ยงไก่เนื้อส่วนหนึ่งเป็นการร่วมลงทุนระหว่างเกษตรกรกับผู้ลงทุน โดยเกษตรกรจะลงทุนในด้าน ที่ดิน โรงเรือน แรงงาน ค่าน้ำและค่าไฟฟ้า ส่วนผู้ร่วมลงทุนจะให้การสนับสนุนทางด้าน ลูกไก่ อาหาร วัคซีน ยารักษาโรค และผู้ให้คำแนะนำการเลี้ยง การป้องกันและการรักษาโรค รวมทั้งด้านการตลาดที่จะรองรับไก่เนื้อเมื่อโตเต็มที่ เกษตรกรผู้เลี้ยงไก่จำนวน 24 คนเป็นเพศหญิง 19 คน และเพศชาย 5 คน มีการศึกษาระดับชั้นประถมศึกษา จำนวน 20 คน ระดับมัธยมศึกษาตอนต้น 4 คน มีอายุเฉลี่ย 41.6 ปี ในด้านการเลี้ยงและการจัดการฟาร์ม พบว่า เกษตรกรได้ดำเนินการในระดับที่ดี ใช้พื้นที่สำหรับเลี้ยงไก่ 9.04 ตัวต่อตารางเมตร มีการพักเล้าหลังจำหน่ายไก่ 3 สัปดาห์ จึงทำให้ได้อัตราการแลกเนื้อที่ดี ดังจะเห็นได้จาก น้ำหนักลูกไก่อายุ 1 วัน มีน้ำหนักเฉลี่ย 0.04 กิโลกรัมต่อตัว ไก่อายุ 21 วันมีน้ำหนักเฉลี่ย 0.71 กิโลกรัมต่อตัว และไก่อายุ 35 วันมีน้ำหนักเฉลี่ย 1.49 กิโลกรัมต่อตัว ปริมาณอาหารที่กินเมื่ออายุ 21 วันเฉลี่ย 0.96 กิโลกรัมต่อตัว และไก่อายุ 35 วันกินอาหารเฉลี่ย 2.41 กิโลกรัมต่อตัว สำหรับอัตราแลกเนื้อเฉลี่ยเท่ากับ 1.37 และ 1.62 เมื่ออายุ 21 และ 35 วันตามลำดับ

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ศึกษาวิจัยขอขอบคุณ คุณสมบูรณ์ วัชรพงษ์พันธ์ เจ้าของฟาร์มทุกท่าน นางสาวนงลักษณ์ ชลสินธุ์ นางสาววงเดือน พุทธโคตร นายสุรศักดิ์ เสวก และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือจนทำให้ การศึกษาวิจัยครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- มานิตย์ เทวรักษ์พิทักษ์. 2536. การจัดการฟาร์มสัตว์ปีก. หน้า 107-130.
- Crowther John R.1995. In : ELISA Theory and Practice. Humana Press.Totowa, New Jersey. pp. 131-149.
- Dobson K.N.,and Glisson J.R.1992. Economic Impact of a Documented Case of Reovirus infection in Broiler Breeders. Avian Diseases . 36 : 788 - 791.
- Giambrone J.J.1985. Control of reovirus associated disease in chickens by vaccination of pullets. Poult. Digest . 44 : 96 - 100.
- Giambrone J.J.,and Clay R.P.1986. Evaluation of Broiler Breeder Pullet Vaccination Programs of Preventing clinical Reovirus Infections in the Progeny. Poultry Science. 65: 457 - 461.
- Giambrone J.J. and Hathcock T.L.1991. Efficacy of Coarse-Spray Administration of a Reovirus Vaccin in Young Chickens. Avian Diseases . 35 : 204 - 209.
- Giambrone J.J., Hathcock T.L., and Lockaby S.B.1991. Effect of a Live Reovirus Vaccine on Reproduction Performance of Broiler Breeder Hens and Development of Viral Tenosynovitis in Progeny. Avian Diseases. 35 : 380 - 383.
- Montgomery R.D.,Villegas P.,Dawe D.L.,and Brown J.1984. Effect of Avian Reoviruses on Lymphoid Organ Weights and Antibody Response in Chickens. Avian Diseases. 29 : 552 - 560.
- Olson N.O.1978. Reovirus infections. In : Diseases of Poultry,7th ed. Iowa State University Press / AMES.IOWA, USA, pp 641 - 647.
- Rekik M.R., Silim A., and Bernier G.1991. Serological and pathogenic characterization of avian reoviruses isolated in Quebec. Avian Pathology. 20 : 607 - 617.
- Rekik M.R., and Silim A.1992. Comparison of a Vaccine Strain and Field Isolates of Avian Reovirus by T1-Oligonucleotide Mapping. Avian Diseases . 36 : 237 - 246.
- Vander Heide L. 1977. Viral arthritis/ tenosynovitis : a review. Avian Pathol. 6 : 271 - 284.

การตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อมัycoplasma ในวัคซีน

TEST FOR MYCOPLASMA CONTAMINATION IN VACCINES

พัฒน์ สุนามะ¹ จารุณี สาตรา¹ สุณีจิต กองทน¹

Patanee Sunama Jarunee Satra Suneejit Kongthon

ABSTRACT

During 1992 -1996, the Veterinary Biologics Assay Center received 453 live attenuated vaccine samples and tested for mycoplasma contamination. All 370 vaccine samples produced by Department of Livestock Development which comprised of 119 samples of Newcastle disease vaccine, 80 samples of infectious bronchitis vaccine, 59 samples of fowl pox vaccine, and 112 samples of duck plague vaccine were not contaminated with mycoplasma. While 2 out of 83 imported vaccine samples which comprised of one sample of Transmissible gastroenteritis vaccine and one sample of swine fever vaccine were contaminated with mycoplasma.

บทคัดย่อ

ระหว่างปี พ.ศ. 2535 - พ.ศ. 2539 ศูนย์ควบคุมคุณภาพชีวภัณฑ์ได้รับตัวอย่างวัคซีนเชื้อเป็นจำนวน 453 ตัวอย่างเพื่อทำการตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อมัycoplasma เป็นวัคซีนที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ จำนวน 370 ตัวอย่าง ประกอบด้วย วัคซีนนิวคาสเซิล 119 ตัวอย่าง วัคซีนหลอดลมอักเสบ 80 ตัวอย่าง วัคซีนไข้หวัดใหญ่ 59 ตัวอย่าง และวัคซีนกาฬโรคเป็ด 112 ตัวอย่าง ตรวจสอบไม่พบการปนเปื้อนเชื้อมัycoplasma ขณะที่วัคซีนซึ่งนำเข้าจากต่างประเทศจำนวน 83 ตัวอย่าง ตรวจพบการปนเปื้อนของเชื้อมัycoplasma 2 ตัวอย่าง ซึ่งประกอบด้วยวัคซีนกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กสัตว์ 1 ตัวอย่าง และวัคซีนอหิวาต์สุกร 1 ตัวอย่าง

¹ศูนย์ควบคุมคุณภาพชีวภัณฑ์ กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130
โทรศัพท์ 044-313297 โทรสาร 044-313298

คำนำ

ในขั้นตอนการผลิตวัคซีนเชื้อเป็นเพื่อใช้ป้องกันโรคต่าง ๆ สำหรับสัตว์ปีก สัตว์ใหญ่ สัตว์เล็ก และสัตว์เลี้ยง บางครั้งอาจมีการปนเปื้อนเชื้อมัคโคพลาสมา ซึ่งเชื้อที่ปนเปื้อนบางชนิดสามารถทำให้สัตว์ที่ได้รับวัคซีนเกิดโรคแทรกซ้อนได้ เช่น สุกรอาจเกิดโรคในระบบทางเดินหายใจ ทำให้เกิดหลอดลมอักเสบและปอดบวม (Taylor, 1979 and Whittlestone, 1976) หรืออาจเกิดอาการข้ออักเสบพร้อมกับอาการปอดบวมด้วย (Cole and Washburn, 1983) ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้สุกรมีอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพในการแลกเปลี่ยนเนื้อต่ำลง (Ross et al, 1971) ส่วนในสัตว์ปีก เช่น เป็ด ไก่ ห่าน ไก่วง และนก อาจทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินหายใจและถุงลมอักเสบ (Carter, 1973 and Hofstad, 1984) ทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจ เนื่องจากสัตว์ที่เป็นโรคจะมีการเจริญเติบโตช้าและในไก่ไข่จะได้ผลผลิตลดลง (Hofstad, 1984) นอกจากนี้เชื้อมัคโคพลาสมาอาจมีผลไปกดการสร้างภูมิคุ้มกัน (Immunosuppressive) ทำให้การทำวัคซีนในสัตว์ไม่ได้ผลเท่าที่ควร สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อมัคโคพลาสมา ในวัคซีนสำหรับสัตว์ปีกคือ Modified Frey's broth และ Modified Frey's agar (Frey, 1968) ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ตรวจสอบในวัคซีนสัตว์ใหญ่ สัตว์เล็ก และสัตว์เลี้ยงคือ Friis broth และ Friis agar (Friis, 1975)

การศึกษาครั้งนี้เพื่อรวบรวมสถิติผลการตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อมัคโคพลาสมาในวัคซีนเชื้อเป็น ซึ่งส่งมาตรวจสอบที่ศูนย์ควบคุมคุณภาพชีวภัณฑ์

อุปกรณ์และวิธีการ

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ตรวจสอบ

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อมัคโคพลาสมาในวัคซีนสัตว์ปีกคือ Modified Frey's broth และ Modified Frey's agar สำหรับ Modified Frey's broth ประกอบด้วย PPLO broth base 22.5 กรัม, Dextrose 10 กรัม, 1% Phenol red 2.5 มล, Penicillin G. Potassium 1000 IU/ มล. และ 10% Thallous acetate 2.5 มล. ละลายในน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มล. ปรับ pH ให้เป็น 7.8 ด้วย NaOH แล้วนำไป autoclave ที่อุณหภูมิ 121°ซ ความดัน 15 ปอนด์ / ตารางนิ้ว นาน 15 นาที ก่อนใช้เติม Sterile horse serum 20% แล้วแบ่งใส่ขวดหรือฟลาส ปริมาตร 100 มล. Frey's agar ประกอบด้วย 2 ส่วน : ส่วนที่ 1 คือ PPLO agar base 3.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มล. นำไป autoclave ที่อุณหภูมิ 121°ซ ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที ส่วนที่ 2 คือ Enrichment ประกอบด้วย Sterile horse serum 10 มล, Penicillin G. Potassium 1000 IU/ มล. และ 10% Thallous acetate 0.25 มล. ก่อนใช้ให้นำส่วนที่ 1 ผสมกับส่วนที่ 2 แล้วแยกใส่จานเพาะเชื้อเพลทละ 5 มล.

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อมัคโคพลาสมาในวัคซีนสัตว์เล็กและสัตว์เลี้ยงคือ Friis broth และ Friis agar สำหรับ Friis broth ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 ซึ่งประกอบด้วย Modified Hanks BSS. 500 มล., Brain Heart Infusion 8.2 กรัม และ PPLO broth 8.7 กรัม

ละลายในน้ำกลั่น 737 มล. ปรับ pH ให้ได้ 7.4 ด้วย NaOH แล้วนำไป autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที ส่วนที่ 2 ประกอบด้วย Fresh Yeast Extract (25% aqueous extraction) 60 มล., Phenol red 22.5 มก., 10% Thallous acetate 4.2 มล. และ Swine serum 350 มล. กรองด้วยกระดาษกรอง membrane ขนาด 0.22 ไมครอน ก่อนใช้ให้น้ำส่วนที่ 1 ผสมกับส่วนที่ 2 แล้วแบ่งใส่ขวดหรือฟลาสปริมาตร 100 มล. Friis agar ประกอบด้วย 2 ส่วนเช่นกัน โดยส่วนที่ 1 เหมือนกับส่วนที่ 1 ของ Friis broth และเติม Agar noble 12 กรัม ต้มให้ agar ละลาย แล้วนำไป autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที สำหรับส่วนที่ 2 เหมือนกับส่วนที่ 2 ของ Friis broth ก่อนใช้ให้ส่วนที่ 1 ผสมกับส่วนที่ 2 แล้วแจกใส่จานเพาะเชื้อ เพลทละ 5 มล.

ตัวอย่างวัคซีน

เป็นตัวอย่างวัคซีนชนิดเชื้อเป็นสำหรับสัตว์ปีกที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ จำนวน 370 ตัวอย่าง ประกอบด้วย วัคซีนนิวคาสเซิล 119 ตัวอย่าง วัคซีนหลอดลมอักเสบติดต่อ 80 ตัวอย่าง วัคซีนฝีดาษไก่ 59 ตัวอย่าง และวัคซีนกาฬโรคเป็ด 112 ตัวอย่าง และวัคซีนเชื้อเป็นที่นำเข้าจากต่างประเทศจำนวน 83 ตัวอย่าง โดยแยกเป็นวัคซีนสำหรับสัตว์ปีก 63 ตัวอย่าง วัคซีนสำหรับสัตว์เล็ก 10 ตัวอย่าง และวัคซีนสำหรับสัตว์เลี้ยง 10 ตัวอย่าง

วิธีการตรวจสอบ

ตรวจสอบคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยการเพาะเชื้อมัชโคพลาสมามาตรฐานในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ เชื้อมัชโคพลาสมาสำหรับสัตว์ปีกคือ *Mycoplasma gallisepticum* ส่วนเชื้อมัชโคพลาสมาสำหรับสัตว์เล็กและสัตว์เลี้ยง คือ *Mycoplasma hyorhinis* ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นจะต้องสามารถทำให้เชื้อเจริญเติบโตได้

ตรวจสอบตัวอย่างวัคซีน โดยละลายตัวอย่างวัคซีนที่จะตรวจสอบลงใน broth แล้วเขย่าให้เข้ากันดีใช้ไปเปทขนาด 1 มล. ดูดสารละลายจาก broth 0.1 มล. ใส่ใน agar plate 1 เพลท แล้ว streak ให้ทั่ว นำ broth ที่มีวัคซีนละลายอยู่ และเพลทที่ streak แล้วไปบ่มเพาะเชื้อในตู้บ่มเพาะเชื้อคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 Incubator) ที่อุณหภูมิ 37°C (5 - 7% CO_2) บ่มเพาะเชื้อนาน 7 วัน เมื่อครบ 7 วัน นำเพลทที่เพาะเชื้อไว้มาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเพื่อหาโคโลนีของเชื้อมัชโคพลาสมา ส่วน broth ให้ นำออกมา subculture ใน agar plate อีก 1 เพลท แล้วนำไปบ่มเพาะเชื้ออีก 7 วัน ต่อมานำเพลทที่ subculture ไว้ ออกมาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อตรวจหาโคโลนีของเชื้อมัชโคพลาสมา ถ้าตรวจไม่พบเชื้อมัชโคพลาสมา ถือว่าผ่านการตรวจสอบ แต่ถ้าตรวจพบเชื้อมัชโคพลาสมา ควรทำซ้ำอีก 1 - 2 ครั้ง จนแน่ใจว่ามีเชื้อมัชโคพลาสมาปนเปื้อนจริง จึงจะถือว่าไม่ผ่านการตรวจสอบ

ผลการทดลอง

ผลการตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อมัยโคพลาสมา ในวัคซีนชนิดเชื้อเป็น จำนวนทั้งสิ้น 453 ตัวอย่าง แยกเป็นวัคซีนที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ จำนวน 370 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นวัคซีนสำหรับสัตว์ปีกทั้งหมด ประกอบด้วยวัคซีนนิวคาสเซิล 119 ตัวอย่าง วัคซีนหลอดลมอักเสบติดคอ 80 ตัวอย่าง วัคซีนฝีดาษไก่ 59 ตัวอย่าง และวัคซีนกาฬโรคเป็ด 112 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบการปนเปื้อนเชื้อมัยโคพลาสมา และเป็นวัคซีนที่นำเข้าจากต่างประเทศ จำนวน 83 ตัวอย่าง โดยแยกเป็นวัคซีนสำหรับสัตว์ปีกจำนวน 63 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบการปนเปื้อนเชื้อมัยโคพลาสมา เป็นวัคซีนสำหรับสัตว์เล็กจำนวน 10 ตัวอย่าง ตรวจพบการปนเปื้อนเชื้อมัยโคพลาสมา 2 ตัวอย่าง ซึ่งประกอบด้วยวัคซีนกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบติดคอ 1 ตัวอย่าง และวัคซีนอหิวาต์สุกร 1 ตัวอย่าง และเป็นวัคซีนสำหรับสัตว์เลี้ยง 10 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบการปนเปื้อนเชื้อมัยโคพลาสมา (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลการตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อมัยโคพลาสมาในวัคซีนชนิดเชื้อเป็น ซึ่งนำเข้าจากต่างประเทศที่ส่งมาตรวจสอบในปี พ.ศ. 2535 - 2539 แยกตามชนิดของวัคซีน

ชนิดของวัคซีน	จำนวนตัวอย่างที่ผ่านการตรวจสอบ	จำนวนตัวอย่างที่ไม่ผ่านการตรวจสอบ	รวม (ตัวอย่าง)
สัตว์ปีก	63	0	63
สัตว์เล็ก	8	2	10
สัตว์เลี้ยง	10	0	10
รวม	81	2	83

วิจารณ์

การตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อมัยโคพลาสมาในวัคซีนชนิดเชื้อเป็นที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์จำนวน 370 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นวัคซีนสำหรับสัตว์ปีกทั้งหมด ตรวจไม่พบการปนเปื้อนเชื้อมัยโคพลาสมา ถึงแม้ว่าจะเป็นวัคซีนที่ผลิตจากไข่ไก่ฟักชนิดธรรมดา แสดงว่าไข่ไก่ฟักที่ใช้ในการผลิตวัคซีนในปัจจุบันปลอดจากเชื้อมัยโคพลาสมา และไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อมัยโคพลาสมาในขั้นตอนการผลิต สำหรับวัคซีนที่นำเข้าจากต่างประเทศ จำนวน 83 ตัวอย่าง ซึ่งแยกเป็นวัคซีนสำหรับสัตว์ปีก 63 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบการปนเปื้อนเชื้อมัยโคพลาสมา แสดงว่าเป็นวัคซีนที่ผลิตจากไข่ไก่ฟักที่ปลอดจากเชื้อมัยโคพลาสมา และไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อมัยโคพลาสมาในขั้นตอนการผลิต เป็นวัคซีนสำหรับ สัตว์เลี้ยงจำนวน 10 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบการปนเปื้อนเชื้อมัยโคพลาสมา แสดงว่าไม่มีการปนเปื้อนเชื้อ มัยโคพลาสมาในขั้นตอนการผลิต และเป็นวัคซีนสำหรับสัตว์เล็กจำนวน 10 ตัวอย่าง ซึ่งตรวจพบการ ปนเปื้อนเชื้อมัยโคพลาสมา 2 ตัวอย่าง โดยเป็นวัคซีนกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ

- FRIIS, F. 1975 : Some recommendations concerning primary isolation of *Mycoplasma suipneumonia* and *Mycoplasma flocculare*. Nord. Vet. Med. 27 : 337-339.
- HOFSTAD, M. S. 1984 : Disease of Poultry, Eighth Edition, Iowa State University Press, Ames, Iowa, U. S. A. : 187-220.
- ROSS, R. F. ; SWITZER, W. P. and DUNCAN, J. R. 1971 : Experimental production of *Mycoplasma hyosynoviae* arthritis in swine. Am. J. Vet. Res. 32 : 1743 - 1749.
- TAYLOR, G. 1979 : Immunity to mycoplasma infections of the respiratory tract. A review. J. Roy. Soc. Med. 72 : 520-526.
- WHITTLESTONE, P. 1976 : Immunity to mycoplasma causing respiratory disease in man and animals. Adv. Vet. Sci. Comp. Med. 20 : 277-307.

ชนิดเชื้อโรค	จำนวนเชื้อโรค	จำนวนเชื้อโรค	จำนวนเชื้อโรค
เชื้อโรค	0	0	0
เชื้อโรค	18	2	2

Second Edition, Third Printing, Charles C Thomas, Publisher, Springfield,

Illinois, U. S. A.

COLE, B. C. and WASHBURN, K. 1963 : Evaluation of antibiotic properties of mycoplasmas for small laboratory animals. In : Methods in Microbiology, Vol. II, J. G. Tully and S. Ratay (Ed.), Academic Press, New York, 305-310.

FRAY, M. C. and D. HANSON. 1968 : Antibiotics for the

isolation of mycoplasmas from clinical specimens. J. Clin. Microbiol. 27 : 100-104.

การตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรียในวัคซีน

TEST FOR FUNGAL AND BACTERIAL CONTAMINATION IN VACCINES

พัฒนี สุนามะ¹ จารุณี สาตรา¹ สุนิจิต กองทน¹

Patanee Sunama Jarunee Satra Suneejit Kongthon

ABSTRACT

During 1991-1996, the Veterinary Biologics Assay Center received 1,338 vaccine samples ; 1,098 vaccine samples produced by Department of Livestock Development and 240 imported vaccine samples were tested for fungal and bacterial contamination. Twenty-one out of 1,098 vaccine samples produced by Department of Livestock Development comprised of 16 live attenuated and 5 inactivated vaccine samples were contaminated with fungus. The other twenty-one samples out of 1,098 vaccine samples which comprised of 16 live attenuated and 5 inactivated vaccine samples were contaminated with bacteria. While 240 samples of imported vaccines were not contaminated with fungus or bacteria .

บทคัดย่อ

ระหว่างปี พ.ศ. 2534 - 2539 ศูนย์ควบคุมคุณภาพชีวภัณฑ์ได้รับตัวอย่างวัคซีนจำนวน 1,338 ตัวอย่าง เป็นวัคซีนที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ 1,098 ตัวอย่าง และนำเข้าจากต่างประเทศ 240 ตัวอย่าง เพื่อทำการตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรีย พบว่าวัคซีนที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์จำนวน 21 ตัวอย่าง ซึ่งประกอบด้วยวัคซีนชนิดเชื้อเป็น 16 ตัวอย่าง และวัคซีนชนิดเชื้อตาย 5 ตัวอย่าง มีการปนเปื้อนเชื้อรา และพบว่าวัคซีนอีก 21 ตัวอย่าง ซึ่งประกอบด้วยวัคซีนชนิดเชื้อเป็น 16 ตัวอย่างและวัคซีนชนิดเชื้อตาย 5 ตัวอย่าง มีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย ในขณะที่วัคซีนที่นำเข้าจากต่างประเทศจำนวน 240 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบการปนเปื้อนทั้งเชื้อราและแบคทีเรีย

¹ศูนย์ควบคุมคุณภาพชีวภัณฑ์ กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130
โทรศัพท์ 044-313297 โทรสาร 044-313298

PIII

ในการตรวจสอบคุณภาพชีวภัณฑ์ จะต้องทำการตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรีย เพราะหากชีวภัณฑ์โดยเฉพาะวัคซีนมีการปนเปื้อนเชื้อราหรือแบคทีเรียจะทำให้คุณภาพของวัคซีนเสื่อม เก็บรักษาได้ไม่นาน และอาจทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนในสัตว์ที่ได้รับวัคซีน หรือการทำวัคซีนไม่ได้ผล ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบการปนเปื้อนเชื้อราคือ Sabouraud Dextrose broth และ Trypticase Soy broth ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียคือ Fluid Thioglycollate broth และ Trypticase soy broth สำหรับการตรวจสอบวัคซีนชนิดน้ำมันจะใช้ NIH Thioglycollate broth แทน Fluid Thioglycollate broth และต้องผสม 1% Triton X-100 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (British Pharmacopoeia, 1985) เพื่อให้ไขมันแตกกระจาย

การศึกษาครั้งนี้ เพื่อรวบรวมสถิติผลการตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรียในวัคซีน ทั้งชนิดเชื้อเป็น เชื้อตายชนิดเอควีเอส และเชื้อตายชนิดน้ำมันในวัคซีนที่ส่งมาตรวจสอบที่ศูนย์ควบคุมคุณภาพชีวภัณฑ์

อุปกรณ์และวิธีการ

อาหารเลี้ยงเชื้อ : อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อราคือ 3% Sabouraud Dextrose broth^a และ 3% Trypticase Soy broth^b ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียคือ 2.98% Fluid Thioglycollate broth^c และ 3% Trypticase Soy broth สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ตรวจสอบวัคซีนชนิดน้ำมันจะใช้ 3% NIH Thioglycollate broth^d แทน Fluid Thioglycollate broth และก่อนใช้ตรวจสอบต้องผสม 1% Triton X- 100 เพื่อทำให้น้ำมันแตกกระจาย โดยอาหารเลี้ยงเชื้อทุกชนิดต้องผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการนำไป autoclave ที่อุณหภูมิ 121⁰ ช ความดัน 15 ปอนด์ / ตารางนิ้ว นาน 15 นาที

ตัวอย่างวัคซีน : เป็นวัคซีนที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ จำนวน 1,098 ตัวอย่าง ประกอบด้วยวัคซีนชนิดเชื้อเป็น 520 ตัวอย่าง วัคซีนเชื้อตายชนิดเอควีเอส 538 ตัวอย่าง และวัคซีนเชื้อตายชนิดน้ำมัน 40 ตัวอย่าง และเป็นวัคซีนที่นำเข้าจากต่างประเทศจำนวน 240 ตัวอย่าง ประกอบด้วยวัคซีนชนิดเชื้อเป็น 107 ตัวอย่าง วัคซีนรวมชนิดเชื้อเป็นและเชื้อตาย 9 ตัวอย่าง วัคซีนเชื้อตายชนิดเอควีเอส 50 ตัวอย่าง และวัคซีนเชื้อตายชนิดน้ำมัน 70 ตัวอย่าง

a) Sabouraud Dextrose Broth , Dehydrated , Difco Laboratories , Detroit , Michigan , U.S.A .

b) Tryptic Soy Broth , Dehydrated , Difco Laboratories , Detroit , Michigan , U.S.A .

c) Fluid Thioglycollate Medium , Dehydrated , Difco Laboratories , Detroit , Michigan , U.S.A .

d) NIH Thioglycollate Broth , Dehydrated , Difco Laboratories , Detroit , Michigan , U.S.A .

การควบคุมคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ตรวจสอบ

- ตรวจสอบความสามารถให้เชื้อราและแบคทีเรียเจริญเติบโตได้ ตามวิธีการของ British Pharmacopoeia (1985) โดยทำการเพาะเชื้อรามาตรฐานคือ *Candida albican* และ เชื้อแบคทีเรียมาตรฐานคือ *Escherichia coli* (*E. coli*), *Bacillus cereus* หรือ *Bacillus subtilis* และ *Clostridium sporogens* หรือ *Clostridium perfringens* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่จะนำมาใช้ในการตรวจสอบ ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นจะต้องสามารถให้เชื้อต่างๆดังกล่าวเจริญเติบโตได้

- ตรวจสอบความปราศจากการปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรียของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยนำอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชุดที่เตรียมขึ้น มาบ่มที่อุณหภูมิ 37⁰ ซ และ 22⁰ ซ เพื่อตรวจว่ามีการปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรียหรือไม่ ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นจะต้องปราศจากการปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรียจึงจะนำไปใช้ในการตรวจสอบได้

การตรวจสอบชีวภัณฑ์ : ตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรียตามวิธีการของ Baker (1967) และ USDA (1992) โดยทำการตรวจสอบในพื้นที่ที่ปลอดเชื้อ การ inoculate วัคซีนที่จะตรวจสอบลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้สัดส่วนตามมาตรฐานการตรวจสอบของ British Pharmacopoeia (1985) ดังนี้

ปริมาณบรรจุ ของวัคซีน	ปริมาณวัคซีนที่ใช้ในการตรวจสอบ ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด	ปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อหลอด (มล.)	จำนวนหลอด ที่ใช้ตรวจสอบ
วัคซีนชนิดน้ำหรือน้ำมัน น้อยกว่า 1 มล.	ใช้ทั้งหมด	20	4
1-4 มล.	ใช้ครึ่งหนึ่งของปริมาณบรรจุ แต่ไม่น้อยกว่า 1 มล.	20-40	4
4-20 มล.	ใช้ 2 มล.	20-40	4
20-100 มล.	ใช้ 10% ของปริมาณบรรจุ	20-200	4
มากกว่า 100 มล. ขึ้นไป	ใช้ 10% หรือ 50 มล. ตามปริมาณบรรจุ	100-1000	4
วัคซีนชนิดดูดแห้ง น้อยกว่า 50 มก.	ใช้ทั้งหมด	20	4
50-200 มก.	ใช้ครึ่งหนึ่งของปริมาณบรรจุ	20-40	4
มากกว่า 200 มก. ขึ้นไป	ใช้ 100 มก.	20-200	4

สำหรับ Sabouraud Dextrose broth ให้บ่มที่อุณหภูมิ 22⁰ ซ ทั้ง 4 หลอด , Trypticase Soy broth ให้บ่มที่อุณหภูมิ 22⁰ ซ 2 หลอด และ ที่อุณหภูมิ 37⁰ ซ 2 หลอด ส่วน Fluid Thioglycollate broth ให้บ่มที่อุณหภูมิ 37⁰ ซ ทั้ง 4 หลอด

การอ่านผล : โดยดูการเกิดเชื้อรา และดูความขุ่น ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทุก 2 วัน จนครบ 14 วัน ถ้าไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรีย ถือว่าผ่านการตรวจสอบ แต่ถ้ามีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย จะต้องทำการนับจำนวนของเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในวัคซีน สำหรับ Non-pathogenic bacteria จะต้องมียีนน้อยกว่า 10 CFU / Dose ในขณะที่เดียวกันจะต้องทำการตรวจสอบการปนเปื้อนของ Pathogenic bacteria โดยการนำเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อน ไปฉีดเข้าช่องท้องหนูขาวย่านมจำนวน ไม่น้อยกว่า 8 ตัว สังเกตอาการนาน 7 วัน ถ้าหนูขาวตาย ถือว่าไม่ผ่านการตรวจสอบ

ผลการทดลอง

ผลการตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรียในวัคซีนที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์จำนวน 1,098 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อรา จำนวน 21 ตัวอย่าง โดยแยกเป็นวัคซีนชนิดเชื้อเป็น 16 ตัวอย่าง ซึ่งประกอบด้วยวัคซีนฝีดาษไก่ 7 ตัวอย่าง วัคซีนหลอดลมอักเสบติดคอ 4 ตัวอย่าง และวัคซีนนิวคาสเซิล 5 ตัวอย่าง เป็นวัคซีนเชื้อตายชนิดเอควีเอส 5 ตัวอย่าง ซึ่งประกอบด้วยวัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ 1 ตัวอย่าง และวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมีย 4 ตัวอย่าง และตรวจพบเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนในวัคซีนอีก 21 ตัวอย่าง โดยแยกเป็นวัคซีนชนิดเชื้อเป็น 16 ตัวอย่าง ซึ่งประกอบด้วยวัคซีนฝีดาษไก่ 1 ตัวอย่าง วัคซีนหลอดลมอักเสบติดคอ 4 ตัวอย่าง และวัคซีนนิวคาสเซิล 11 ตัวอย่าง เป็นวัคซีนเชื้อตายชนิดเอควีเอส 5 ตัวอย่าง ซึ่งประกอบด้วยวัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ 2 ตัวอย่าง และวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมีย 3 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1) ส่วนการตรวจสอบวัคซีนซึ่งนำเข้าจากต่างประเทศ ทุกตัวอย่าง ตรวจไม่พบการปนเปื้อนทั้งเชื้อราและแบคทีเรีย (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 ผลการตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรียในวัคซีนที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ ที่ส่งมาตรวจสอบในปี พ.ศ. 2534 - พ.ศ. 2539 โดยแยกตามชนิดของวัคซีน

ชนิดวัคซีน	ชื่อวัคซีน	ผ่านการตรวจสอบ (ตัวอย่าง)	ไม่ผ่านการตรวจสอบ (ตัวอย่าง)		รวม (ตัวอย่าง)
			แบคทีเรีย	เชื้อรา	
เชื้อเป็น ชนิดดูดแห้ง	กาฬโรคเป็ด	130	0	0	130
	ฝีดาษไก่	60	1	7	68
	หลอดลมอักเสบติดคอ	97	4	4	105
	นิวคาสเซิล	201	11	5	217
เชื้อตายเอควีเอส	แบล็คเลก	64	0	0	64
	อหิวาต์เป็ด-ไก่	358	2	1	361
	เฮโมรายิกเซพติซีเมีย	106	3	4	113
เชื้อตายน้ำมัน	เฮโมรายิกเซพติซีเมีย	40	0	0	40
รวม		1,056	21	21	1,098

ตารางที่ 2 ผลการตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรียในวัคซีนซึ่งนำเข้าจากต่างประเทศที่ส่งมาตรวจสอบในปี พ.ศ. 2534 - 2539 โดยแยกตามชนิดของวัคซีน

ชนิดของวัคซีน	ผ่านการตรวจสอบ (ตัวอย่าง)	ไม่ผ่านการตรวจสอบ (ตัวอย่าง)		รวม (ตัวอย่าง)
		แบคทีเรีย	เชื้อรา	
เชื้อเป็น	107	0	0	107
รวมเชื้อเป็นและเชื้อตาย	9	0	0	9
เชื้อตายเอเควีส	50	0	0	50
เชื้อตายน้ำมัน	74	0	0	74
รวม	240	0	0	240

วิจารณ์

จากการตรวจสอบวัคซีนที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์จำนวนทั้งสิ้น 1,098 ตัวอย่าง ตรวจพบการปนเปื้อนเชื้อราในวัคซีนชนิดเชื้อเป็นจำนวน 16 ตัวอย่าง ประกอบด้วยวัคซีนฝีดาษไก่ 7 ตัวอย่าง วัคซีนหอยดอมอ๊กเสบติดต่อ 4 ตัวอย่าง และวัคซีนนิวคาสเซิล 5 ตัวอย่าง และตรวจพบการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียในวัคซีนชนิดเชื้อเป็นอีก 16 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นคนละชุดกับวัคซีนที่มีการปนเปื้อนเชื้อรา ประกอบด้วยวัคซีนฝีดาษไก่ 1 ตัวอย่าง วัคซีนหอยดอมอ๊กเสบติดต่อ 4 ตัวอย่าง และวัคซีนนิวคาสเซิล 11 ตัวอย่าง จะเห็นว่าวัคซีนชนิดเชื้อเป็นที่มีการปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรียเป็นวัคซีนสัตว์ปีกที่ผลิตจากไข่ไก่ฟักธรรมดา ซึ่งมีโอกาสเกิดการปนเปื้อนเชื้อต่างๆได้ง่าย เนื่องจากไม่ได้เป็นไข่ไก่ชนิดปลอดเชื้อ หรืออาจเกิดการปนเปื้อนในขั้นตอนการผลิต กรมปศุสัตว์จึงได้มีโครงการผลิตไข่ไก่ฟักปลอดเชื้อ (SPF) เพื่อใช้ในการผลิตวัคซีนให้ได้มาตรฐานยิ่งขึ้น และปรับปรุงขบวนการผลิตวัคซีนสัตว์ปีกให้ได้มาตรฐานตามโครงการผลิตวัคซีนสัตว์ปีกเพื่อการส่งออก นอกจากนี้ยังตรวจพบการปนเปื้อนเชื้อราในวัคซีนเชื้อตายชนิดเอเควีสจำนวน 5 ตัวอย่าง ซึ่งประกอบด้วยวัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ 1 ตัวอย่าง และวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมีย 4 ตัวอย่าง และตรวจพบการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียในวัคซีนเชื้อตายชนิดเอเควีสอีก 5 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นวัคซีนคนละชุดกับวัคซีนที่มีการปนเปื้อนเชื้อรา ประกอบด้วยวัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ 2 ตัวอย่าง และวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมีย 3 ตัวอย่าง จะเห็นว่าวัคซีนเชื้อตายชนิดเอเควีสที่มีการปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรียเป็นวัคซีนแบคทีเรียทั้งหมด ซึ่งอาจเกิดขึ้นในขั้นตอนการผลิตหรือการบรรจุเนื่องจากไม่มีการเติมสารปฏิชีวนะ และถึงแม้ว่าจะมีการใส่สารคงสภาพแล้วแต่อาจจะไม่เพียงพอต่อการฆ่าเชื้อที่ปนเปื้อนในวัคซีน ดังนั้นกรมปศุสัตว์จึงได้มีโครงการที่จะปรับปรุงการผลิตวัคซีนแบคทีเรียทั้งระบบให้ได้มาตรฐานยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามการตรวจสอบวัคซีนที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ เป็นการสุ่มตรวจตัวอย่างทุกชุดของการผลิต จึงมีโอกาสตรวจพบการปนเปื้อนของเชื้อได้มากกว่าวัคซีนที่นำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งเป็นการตรวจเฉพาะตัวอย่าง

ที่ส่งมาทำการตรวจสอบเพื่อขอขึ้นทะเบียนเท่านั้น
ดังนั้นจึงควรทำการส่งตัวอย่างสัตว์ชนิดใดชนิดหนึ่ง
นำเข้ามาจำหน่ายในประเทศไทยเพื่อทำการตรวจสอบความสามารถในการป้องกันเชื้อและแบคทีเรีย

สรุป

จากการตรวจสอบสัตว์ชนิดสุนัขพันธุ์ไทยจำนวน 1,098 ตัวอย่าง ตรวจพบการปนเปื้อน
เชื้อราจำนวน 21 ตัวอย่าง โดยแยกเป็นวัณโรคชนิดเชื้อเป็น 16 ตัวอย่าง และวัณโรคชนิดตายชนิด
เชื้อตาย 5 ตัวอย่าง และตรวจพบการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียอีก 21 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นคนละชนิดกับ
วัณโรคที่พบการปนเปื้อนเชื้อรา โดยแยกเป็นวัณโรคชนิดเชื้อเป็น 16 ตัวอย่าง และวัณโรคชนิดตาย
ชนิดเชื้อตาย 5 ตัวอย่าง ส่วนวัณโรคที่นำเข้ามาจากต่างประเทศจำนวน 240 ตัวอย่าง ตรวจพบ
พบการปนเปื้อนทั้งเชื้อราและแบคทีเรีย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ฝ่ายทดสอบชีวเคมีและเทคนิคที่ช่วยในการปฏิบัติงาน
และการตรวจตัวอย่างทางวิชาการของผลิตภัณฑ์สัตว์ที่ช่วยในการตรวจแยกในคนงาน

เอกสารอ้างอิง

- Baker, F. J. 1967. Handbook of Bacteriological Technique. 2nd ed. London Butterwords
& Co.(Publisher) Ltd. : 94-98, 103, 209-210
British Pharmacopoeia (Veterinary) , 1985. : Appendix XVI A, A 123 - A 126 .
British Pharmacopoeia (Veterinary) , 1985 . Addendum 1988 . : Appendix XVI A ,
A 260 - A 263 .
USDA , 1992 . Code of Federal Regulations , Animals and Plants Health Inspection
Service , 9 CFR Ch. 1 (1-1-92 Edition) , : 113.26 - 113.27 .

การเตรียมวัคซีนรวมฝีดาษไก่และนิวคาสเซิลเชื้อเป็น

A PREPARATION OF LIVE FOWL POX
AND NEWCASTLE DISEASE COMBINED VACCINEกมลทิพย์ ธัญพิมล¹ นันทนา โพษณเจริญ¹ พรชัย ศรีดามา¹

Kamonthip Thunpimon Nantana Posanacharoen Pronchai Sridama

ABSTRACT

A live fowl pox and Newcastle disease combined vaccine was prepared. Five samples of vaccine were prepared from various concentrations of fowl pox virus and Newcastle disease virus, and tested for property test, sterility test, mycoplasma test, safety test and potency test.

All vaccine samples had a moisture content less than 4% and were not contaminated with bacteria, fungi and mycoplasma. All were safe for one month old chicken after wing-web vaccination with ten doses of vaccine. The ratio of fowl pox virus and Newcastle disease virus which could induced 100% protection were $10^{3.8} : 10^6 \text{EID}_{50}/\text{dose}$ and $10^{3.2} : 10^{5.4} \text{EID}_{50}/\text{dose}$, and the ratio of $10^2 : 10^{4.8} \text{EID}_{50}/\text{dose}$ could induced 90% protection.

บทคัดย่อ

เตรียมวัคซีนรวมฝีดาษไก่และนิวคาสเซิลชนิดเชื้อเป็นจำนวน 5 ตัวอย่าง โดยเตรียมจากไวรัสฝีดาษไก่และไวรัสนิวคาสเซิลในความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ทดสอบคุณภาพวัคซีนทุกตัวอย่างเกี่ยวกับคุณสมบัติทั่วไป ความ

Key words : Combined vaccine, Fowl pox, Newcastle disease

คำสำคัญ : วัคซีนรวม ฝีดาษไก่ นิวคาสเซิล

Veterinary Biologics Center, Veterinary Biologics Division, Department of Livestock Development, Pakchong Nakhonratchasima 30130.

¹ศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ อำเภopakช่อง จังหวัดนครราชสีมา 30130

ปราศจากการปนเปื้อนเชื้อรา แบคทีเรีย และมัยโคพลาสมา ความปลอดภัยและความคุ้มโรค

วัคซีนทุกตัวอย่างมีประสิทธิภาพความเข้มข้นต่ำกว่า 4% และปราศจากการปนเปื้อนเชื้อรา แบคทีเรีย และมัยโคพลาสมา วัคซีนให้ความ ปลอดภัยต่อไก่อายุ 1 เดือน โดยการแทงปีกในขนาด 10 เท่าของโดสปกติอัตราส่วนความเข้มข้นของไวรัส ฝัฉายไก่ต่อไวรัสนิวคาสเซิลที่สามารถให้ความคุ้มโรคได้ 100% คือ $10^{3.8}$ ต่อ 10^6 EID₅₀/โดส และ $10^{3.2}$ ต่อ $10^{5.4}$ EID₅₀/โดส และที่อัตราส่วนความเข้มข้น 10^2 ต่อ $10^{4.8}$ EID₅₀/โดส วัคซีนสามารถให้ความคุ้มโรคได้ 90%

บทนำ

โรคนิวคาสเซิลและโรคฝัฉายไก่ เป็นโรคระบาดที่เกิดจากเชื้อไวรัส ซึ่งมักเกิดกับไก่เล็กถึงไก่รุ่น ทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจอย่างมาก ดังนั้นเกษตรกรจึงจำเป็นต้องใช้วัคซีนเพื่อป้องกันโรค เนื่องจากวัคซีนฝัฉายไก่อมีวิธีการใช้โดยการแทงปีก เช่นเดียวกับวัคซีนนิวคาสเซิลสเตรนเอ็มพี แต่การใช้วัคซีนแยกชนิดกันนั้นเกษตรกรจำเป็นต้องจับไก่ถึง 2 ครั้ง ซึ่งก่อให้เกิดความเครียดกับลูกไก่และสูญเสียทั้งเวลาและแรงงานในการจับไก่เพื่อทำวัคซีนทั้งสองชนิด การรวมวัคซีนฝัฉายไก่และวัคซีนนิวคาสเซิลเพื่อฉีดครั้งเดียวย่อมก่อให้เกิดความสะดวกแก่เกษตรกรผู้ใช้เป็นอย่างมาก ทั้งนี้ได้มีรายงานการทดลองใช้วัคซีนนิวคาสเซิลสเตรนเอช (H strain) รวมกับวัคซีนฝัฉายไก่อพบว่าระดับภูมิคุ้มโรคต่อไวรัสนิวคาสเซิลมีเพียงพอเช่นเดียวกับการให้วัคซีนแยกชนิดกัน (Balla et al., 1976) นอกจากนี้ Saini และคณะ (1990) ได้ทดลองใช้วัคซีนรวมฝัฉายไก่และนิวคาสเซิลสเตรนเอฟ (F strain) โดยการให้กิน พบว่าการสร้างภูมิคุ้มโรคของไก่ต่อไวรัสแต่ละชนิดไม่แตกต่างจากการให้วัคซีนแต่ละชนิดแยกกัน

การทดลองครั้งนี้เพื่อศึกษาวิธีเตรียมวัคซีนรวมฝัฉายไก่และนิวคาสเซิลชนิดเชื้อเป็น โดยใช้ปริมาณของเชื้อไวรัสขนาดความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ซึ่งจะเป็นแนวทางในการผลิตวัคซีนรวมต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ไข่ไก่ฟัก เป็นไข่ไก่ฟักจากฟาร์มที่ปลอดโรค
2. ไก่ทดลอง ไก่ทดลองพันธุ์เล็กฮอร์นขาวอายุ 1 เดือน ที่ไม่เคยได้รับวัคซีนชนิดใดมาก่อน จำนวน 240 ตัว สำหรับทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนรวม และเลี้ยงไก่ทดลองนี้ในกรงมุ้งลวด
3. seed virus สำหรับการเตรียมวัคซีนฝัฉายไก่ เป็นไวรัสสเตรน Weybridge เก็บไว้ในรูปวัคซีนแห้ง ที่อุณหภูมิ -60°C .

៥០០៩- ក្រុងកំពង់

ផ្ទៃក្រឡាប្រមាណ៤០០ម.

ឧត្តរត្ថម្ភនៃក្រសួងសេដ្ឋកិច្ចនិងហិរញ្ញវត្ថុ

01M1516190 PLO medium (NAS, 1971)

ព្រះបាទសីហនុវរ្ម័នទី៧ ព្រះបាទសីហនុវរ្ម័នទី៧ ព្រះបាទសីហនុវរ្ម័នទី៧

අනුමැතිය	1	undiluted	10^{-1} 10^{-2} 10^{-3} 10^{-4}	10^{-1} 10^{-2} 10^{-3} 10^{-4}	10^{-1} 10^{-2} 10^{-3} 10^{-4}
	2				
	3				
	4				
	5				

*Leybold-Heraeus 21 GT 40 1003111 **Edwards 21 ST 4M 1003111 ***Schott Geräte 21 TR 156 1003111

4.1.2 ตรวจสอบปริมาณไวรัสนิวคาสเซิล โดยนำวัคซีนรวมฝีดาษไก่และนิวคาสเซิลแต่ละตัวอย่าง มา neutralized ด้วย fowl pox hyperimmune serum ในอัตราส่วน 1 : 1 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วเจือจางแบบ ten fold dilution ฉีดไวรัสที่ความเจือจาง 10^{-5} - 10^{-10} เข้าไข่ไก่ฟักทาง allantoic route ในขนาด 0.1 มล./ฟอง ความเจือจางละ 5 ฟอง เก็บเข้าตู้ฟัก อ่านผลในวันที่ 7 แล้วคำนวณหาค่าปริมาณไวรัส ตามวิธีการของ Reed and Muench (1983)

4.2 การทดสอบความคุ้มโรค (Potency test)

4.2.1 ทดสอบความคุ้มโรคต่อไวรัสฝีดาษไก่ เป็นการทดสอบความคุ้มโรคของวัคซีนตามวิธีการของศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ (เอกสารไม่ได้ตีพิมพ์เผยแพร่) โดยแบ่งไก่ออกเป็น 7 กลุ่ม ๆ ละ 10 ตัว ละลายวัคซีนแต่ละตัวอย่าง จำนวน 5 ตัวอย่าง และวัคซีนเดี่ยวฝีดาษไก่ 1 ตัวอย่าง ด้วยน้ำยาละลายวัคซีนในอัตราส่วน 1 : 5 แล้วแทงปีก (wing- web stab) ให้แก่ไก่แต่ละกลุ่ม โดยมีไก่กลุ่มที่ 7 ซึ่งไม่ได้ทำวัคซีนเป็นกลุ่มควบคุม

หลังการทำวัคซีน 10 วัน สังเกตตุ่มฝีบริเวณที่แทงปีกถ้าเกิดตุ่มฝื่นดี เรียกว่าเกิด take แสดงว่าการทำวัคซีนได้ผลซึ่งตุ่มฝีจะแห้งหายไปภายใน 5 วันหลังการเกิด take นำไก่ทั้ง 7 กลุ่มไปฉีดเชื้อพิษทาบด้วยเชื้อไวรัสฝีดาษไก่ (Local strain) ขนาด 10^5 EID₅₀/ตัว โดยวิธีป้ายเชื้อพิษทาบบนหงอนไก่ทุกตัวที่ทำรอยแผลไว้ จากนั้นสังเกตอาการนาน 10 วัน

4.2.2 ทดสอบความคุ้มโรคต่อไวรัสนิวคาสเซิล โดยแบ่งไก่ออกเป็น 7 กลุ่ม ๆ ละ 10 ตัว ละลายวัคซีนแต่ละตัวอย่าง จำนวน 5 ตัวอย่าง และวัคซีนเดี่ยวนิวคาสเซิล 1 ตัวอย่าง ด้วยน้ำยาละลายวัคซีนในอัตราส่วน 1 : 5 แล้วแทงปีกให้แก่ไก่แต่ละกลุ่ม โดยมีไก่กลุ่มที่ 7 ซึ่งไม่ได้ทำวัคซีนเป็นกลุ่มควบคุมเจาะเลือดไก่ก่อนและหลังการทำวัคซีน 14 วัน เก็บซีรัมนำไปตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันต่อไวรัสนิวคาสเซิลโดยวิธี HI Test แบบ beta method (Beard, 1989) เมื่อครบ 14 วันฉีดเชื้อพิษทาบด้วยไวรัสนิวคาสเซิล (Local strain) เข้าง้ามขนาดเนื้อ 10^6 EID₅₀/ตัว จากนั้นสังเกตอาการนาน 21 วัน

ผลการทดลอง

วัคซีนรวมฝีดาษไก่และนิวคาสเซิลสเตอร์นเอ็มพีเชื้อเป็นชนิดดูดแห้ง มีลักษณะเป็นก้อนผงตัวดีและปราศจากการปนเปื้อนเชื้อรา แบคทีเรีย และมัยโคพลาสมา วัคซีนมีความปลอดภัยต่อไก่อายุ 1 เดือน โดยการแทงปีก ผลการตรวจหาปริมาณไวรัสในวัคซีนแต่ละตัวอย่างก่อนและหลังการทำให้เป็นวัคซีนแห้งแสดงในตารางที่ 1 ผลการทดสอบความคุ้มโรคต่อไวรัสฝีดาษไก่พบว่าไก่กลุ่มที่ 1,2,3,4,5 และ 6 ให้ความคุ้มโรคต่อการฉีดเชื้อพิษทาบเท่ากับ 100%,100%,90%,40%,10% และ 100% ตามลำดับ ส่วนไก่กลุ่มที่ 7 (กลุ่มควบคุม) ทุกตัวจะเกิดรอยโรคฝีดาษไก่ตรงบริเวณที่ป้ายเชื้อพิษ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ผลการตรวจหาปริมาณไวรัสฝีดาษไก่และปริมาณไวรัสนิวคาสเซิลในวัคซีนรวมและวัคซีนเดี่ยวก่อนและหลังทำเป็นวัคซีนแห้ง

ตัวอย่าง	ปริมาณไวรัส (EID ₅₀ /โดส) ก่อนการทำแห้ง		ปริมาณไวรัส (EID ₅₀ /โดส) หลังการทำแห้ง	
	FP	ND	FP	NP
1	10 ⁴	10 ^{6.5}	10 ^{3.8}	10 ⁶
2	10 ^{3.4}	10 ^{5.7}	10 ^{3.2}	10 ^{3.4}
3	10 ^{2.5}	10 ^{5.2}	10 ²	10 ^{4.8}
4	10 ^{1.3}	10 ⁴	10 ¹	10 ^{3.3}
5	10 ^{0.4}	10 ³	10 ^{0.2}	10 ^{2.6}
6	10 ^{4.1}	-	10 ^{3.9}	-
7	-	10 ^{6.5}	-	10 ⁶

FP = Fowl pox virus, ND = Newcastle disease virus

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความคุ้มโรคของวัคซีนรวมฝีดาษไก่ และนิวคาสเซิลสเตรนเอ็มพีและวัคซีนเดี่ยวฝีดาษไก่ในไก่อายุ 1 เดือน ต่อเชื้อไวรัสฝีดาษไก่

กลุ่มที่	ปริมาณไวรัส (EID ₅₀ /โดส)		อัตราการเกิด take	% ความคุ้มโรค
	EP	ND		
1	10 ^{3.8}	10 ⁶	10/10	100
2	10 ^{3.2}	10 ^{5.4}	10/10	100
3	10 ²	10 ^{4.5}	9/10	90
4	10 ¹	10 ^{3.5}	4/10	40
5	100 ⁻²	10 ^{2.6}	1/10	10
6	10 ^{3.9}	-	10/10	100
7 (กลุ่มควบคุม)	-	-	0/10	0

FP = Fowl pox virus, ND = Newcastle disease virus

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความคุ้มโรคของวัคซีนรวมฝีดาษไก่และนิวคาสเซิลสเตรนเอ็มพี และวัคซีนเดี่ยว นิวคาสเซิลสเตรนเอ็มพี ในไก่อายุ 1 เดือน ต่อเชื้อไวรัสนิวคาสเซิล

กลุ่มที่	ปริมาณไวรัส EID ₅₀		ค่าเฉลี่ย HI titer (log 2)	อัตราการตาย ของไก่ หลังฉีดเชื้อพิษทัพบ	% ความคุ้มโรค
	FP	NP			
1	10 ^{3.8}	10 ⁶	7	0/10	100
2	10 ^{3.2}	10 ^{5.4}	5.5	0/10	100
3	10 ²	10 ^{4.8}	4.1	1/10	90
4	10 ¹	10 ^{3.5}	3.2	3/10	70
5	100 ⁻²	10 ^{2.6}	1.5	7/10	30
6	-	10 ⁶	7	0/10	100
7 (กลุ่มควบคุม)	-	-	<1	10/10	0

FP = Fowl pox virus, ND = Newcastle disease virus

ผลการทดสอบความคุ้มโรคต่อไวรัสนิวคาสเซิลพบว่าไก่กลุ่มที่ 1,2,3,4,5,6 และ 7 มีค่าเฉลี่ย HI titer เท่ากับ 7,5.5,4.1,3.2,1.5,7 และ <1 ตามลำดับ และให้ความคุ้มโรคต่อการฉีดเชื้อพิษทัพบเท่ากับ 100%,100%, 90%,70%,30%, และ 100% ตามลำดับ ส่วนไก่กลุ่มที่ 7 (กลุ่มควบคุม) ทุกตัวป่วยและตายโดยตรวจพบรอยโรค นิวคาสเซิล ดังแสดงในตารางที่ 3

วิจารณ์

จากผลการทดลองจะเห็นว่าวัคซีนรวมฝีดาษไก่ และนิวคาสเซิลสเตรนเอ็มพีเชื้อเป็นชนิดคุดแห้ง ตัวอย่างที่ 1 และ 2 ซึ่งมีปริมาณไวรัสฝีดาษไก่ 10^{3.8} และ 10^{3.2} EID₅₀/โด๊ส ตามลำดับ สามารถให้ความคุ้มโรคต่อการฉีดเชื้อพิษทัพบด้วยไวรัสฝีดาษไก่ได้ 100% เช่นเดียวกับวัคซีนเดี่ยวฝีดาษไก่ซึ่งมีปริมาณไวรัส 10^{3.9}EID₅₀/โด๊ส แสดงว่าการรวมไวรัสฝีดาษไก่และนิวคาสเซิล ไม่ทำให้ความคุ้มโรคต่อไวรัสฝีดาษไก่อลดลง ส่วนวัคซีนรวมตัวอย่างที่ 3 ซึ่งมีปริมาณไวรัสฝีดาษไก่ 10²EID₅₀/โด๊ส สามารถให้ความคุ้มโรคต่อการฉีดเชื้อ

พิษทัพบไวรัสฝีดาษไก่ได้ 90% สอดคล้องกับมาตรฐานของวัคซีนฝีดาษไก่ชนิดคุดแห่งของกรมปศุสัตว์ ซึ่งกำหนดว่าต้องมีปริมาณไวรัสขั้นต่ำเท่ากับ $10^2 \text{EID}_{50}/\text{โดส}$ โดยให้ความคุ้มครองโรคไม่ต่ำกว่า 80% (เอกสารไม่ได้ตีพิมพ์เผยแพร่) วัคซีนรวมฝีดาษไก่และนิวคาสเซิลสเตรณเอ็มพีเชื้อเป็นชนิดคุดแห่งตัวอย่างที่ 1 และ 2 ซึ่งมีปริมาณไวรัสนิวคาสเซิล 10^6 และ $10^{5.4} \text{EID}_{50}/\text{โดส}$ ตามลำดับ สามารถให้ความคุ้มครองโรคต่อการฉีดเชื้อพิษทัพบไวรัสนิวคาสเซิลได้ 100% เช่นเดียวกับวัคซีนเดี่ยวนิวคาสเซิลซึ่งมีปริมาณไวรัส $10^6 \text{EID}_{50}/\text{โดส}$ โดยวัคซีนรวมตัวอย่างที่ 1 และวัคซีนเดี่ยวนิวคาสเซิลซึ่งมีปริมาณไวรัสนิวคาสเซิลเท่ากันสามารถกระตุ้นระดับภูมิคุ้มกัน (HI titer) ได้เท่ากัน แสดงว่าการรวมไวรัสฝีดาษไก่และไวรัสนิวคาสเซิลไม่ทำให้การกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคลดลง และให้ความคุ้มครองโรคต่อเชื้อพิษทัพบไวรัสนิวคาสเซิลได้ 100% เช่นเดียวกันซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Balla และคณะ (1976) ที่รายงานไว้ว่าการใช้วัคซีนรวมนิวคาสเซิลสเตรณเอชและฝีดาษไก่ จะกระตุ้นให้เกิดระดับภูมิคุ้มกันต่อไวรัสนิวคาสเซิลเช่นเดียวกับการให้วัคซีนแต่ละชนิดแยกกัน นอกจากนี้ Saini และคณะ (1990) ก็ได้รายงานไว้ว่า การทดลองใช้วัคซีนรวมฝีดาษไก่และนิวคาสเซิลสเตรณเอฟโดยการให้กิน สามารถสร้างความคุ้มครองต่อเชื้อไวรัสแต่ละชนิดไม่แตกต่างกัน ส่วนวัคซีนรวมตัวอย่างที่ 3 ซึ่งมีปริมาณไวรัสนิวคาสเซิล $10^{4.8} \text{EID}_{50}/\text{โดส}$ สามารถให้ความคุ้มครองโรคต่อการฉีดเชื้อพิษทัพบไวรัสนิวคาสเซิลได้ 90% ใกล้เคียงกับมาตรฐานของวัคซีนนิวคาสเซิลสเตรณเอ็มพีชนิดคุดแห่งของกรมปศุสัตว์ ซึ่งกำหนดว่าต้องมีปริมาณไวรัสขั้นต่ำเท่ากับ $10^5 \text{EID}_{50}/\text{โดส}$ โดยให้ความคุ้มครองโรคไม่ต่ำกว่า 80% (เอกสารไม่ได้ตีพิมพ์เผยแพร่)

ดังนั้นวัคซีนรวมฝีดาษไก่และนิวคาสเซิลสเตรณเอ็มพีเชื้อเป็นชนิดคุดแห่ง ที่มีปริมาณไวรัสฝีดาษไก่และไวรัสนิวคาสเซิลไม่ต่ำกว่า 10^2 และ $10^{4.8} \text{EID}_{50}/\text{โดส}$ ตามลำดับ จะเป็นปริมาณไวรัสขั้นต่ำของวัคซีนรวมที่สามารถทำให้เกิดความคุ้มครองโรคต่อการฉีดเชื้อพิษทัพบฝีดาษไก่และนิวคาสเซิลได้ไม่ต่ำกว่า 80% ตามมาตรฐานการผลิตวัคซีนฝีดาษไก่และวัคซีนนิวคาสเซิลของกรมปศุสัตว์ (เอกสารไม่ได้ตีพิมพ์เผยแพร่) อย่างไรก็ตามวัคซีนรวมสามารถให้ความคุ้มครองโรคต่อเชื้อฉีดพิษทัพบทั้งสองชนิดได้ 100% ถ้ามีปริมาณไวรัสฝีดาษไก่และไวรัสนิวคาสเซิลสเตรณเอ็มพีไม่ต่ำกว่า $10^{3.2}$ และ $10^{5.4} \text{EID}_{50}/\text{โดส}$ ตามลำดับ

สรุป

วัคซีนรวมฝีดาษไก่และนิวคาสเซิลสเตรณเอ็มพีเชื้อเป็นชนิดคุดแห่งทุกตัวอย่าง ปรากฏจากการปนเปื้อนเชื้อราแบคทีเรียและมัยโคพลาสมา มีความปลอดภัยต่อไก่อายุ 1 เดือน โดยการแทงปีกวัคซีนรวมที่มีปริมาณไวรัสฝีดาษไก่และไวรัสนิวคาสเซิลไม่ต่ำกว่า 10^2 และ $10^{4.8} \text{EID}_{50}/\text{โดส}$ สามารถให้ความคุ้มครองไวรัสทั้ง

2 ชนิด ได้ไม่ต่ำกว่า 90% และวัคซีนรวมที่มีปริมาณไวรัสที่ตายไ้ไม่เกิน 10^{3.2} และ 10^{5.4} EID₅₀/โดส สามารถให้ถึงความคุ้มโรคต่อไวรัสทั้ง 2 ชนิดได้ 100% เช่นเดียวกับในการให้วัคซีนแต่ละชนิด แยกกัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณรังสรรค์ รัชกุลพิทยา และคุณประสิทธิ์ ภัคสิน ที่ช่วยในการเจาะเลือดในการทดลอง วัคซีน คณะกรรมการตรวจผลงานทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี และคุณพวกรังสรรค์ พว.ญ.จรัสดี ศาตราและ พว.ญ.รังสรรค์ ที่ช่วยในการตรวจแก้ในต้นฉบับ

เอกสารอ้างอิง

Baker, F. J. 1967. Handbook of Bacteriological Technique. 2nd ed. London Butterwords & Co. (Publishers) Ltd.: 94-98, 103, 209-210.

Balla, L., Papocsi, L., Szupop, I. and Toth, B. 1976. Efficacy of methods of immunization against Newcastle disease. 4. Immunization after 10 weeks of age and at laying age. Magallator, Lapja, 32 (7) : 422-428.

Beard, C.W. 1989. Serologic Procedures. In : A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens 3rded. H.G. Purchase, L.H.Arj, C.H.Domermuth, and J.E. Pearson, ed. University of Pennsylvania. P.192-194.

NAS. 1971. Methods for Examining Poultry Biologics and for Identifying and Qualifying Avian Pathogens. 1st ed. National Academy for Sciences, Washington, D.C. P22-24, 35-39, 215-244

Reed, L.J. and Muench, H. 1938. A simple method for estimating fifty percent endpoints. Amer. J. Hyg. 27 : 493-497.

Saini, SS., Sodhi, SS., Maiti, KN. and Sharma, SN. 1990. Immune response of chicks to oral vaccination against Newcastle disease and fowl pox. In Comparative-Immunology; Microbiology and Infectious Diseases. 13:1-6.

อินันทนการ
จาก
ห้างหุ้นส่วนจำกัดภูธรนากร
และ
บริษัท เอ็น แอนด์ เอ
คอมเมอร์เชียล จำกัด
87/116 เทศบาลสงเคราะห์
แขวงลาดยาว เขตจตุจักร
กรุงเทพ ฯ 10900
โทร (02) 954-4610-13
Fax (662) 591-4033