วารสารชีวผลิตภัณฑ์ ปีที่ 4 ฉบับที่ 1 มีนาคม 2536

The Journal of Veterinary Biologics Vol.4 No.1 March 1993

- การทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมีย----------1
ชนิดน้ำมันกับชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์

- เปรียบเทียบวิธีการฉีดในการตรวจความคุ้มโรคในหนูขาว----------9
สำหรับโรคเฮโมรายิกเซพติซีเมีย

- โรคออเจสกี้ในสุกรแท้ง----------13

เอกสารเผยแพร่งานวิชาการของกองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์

ISSN 0858-1134

วารสารชีวผลิตภัณฑ์

บรรณาธิการ	แอบ คงทน
บรรณาธิการผู้ช่วย	พยนต์ สินสุวงศ์วัฒน์
กองบรรณาธิการ	วรากิจ จันทรัศมี
	โสภณ ท้วมแสง
	สมใจ กมลศิริพิชัยพร
	เดิมพล รัตนวงศ์
สำนักงาน	กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ พญาไท กรุงเทพ ฯ
วัตถุประสงค์	1. เพื่อเผยแพร่งานวิชาการ ด้านการผลิตชีวภัณฑ์
	2. เพื่อเผยแพร่ความรู้ ความเข้าใจเกี่ยวกับการใช้วัคซีนป้องกันโรคสัตว์
กำหนดออก	ปีละ 2 ฉบับ คือ เดือน มีนาคม และ เดือน กันยายน
พิมพ์ที่	โรงพิมพ์ดีพร้อม อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

THE JOURNAL OF VETERINARY BIOLOGICS

Editor in chief	Ab Kongthon
Assistance Editor	Payont Sinsuwonkwat
Editorial Board	Varakit Chuntarasmi
	Sophon Tuamsang
	Somjai Kamolsiripichaiporn
	Dermpol 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 Developement 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 ฉบับคือ เดือนกันยายน และเดือนมีนาคม วัตถุประสงค์เพื่อพิมพ์เผยแพร่งานทางด้านวิชาการของกองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ และหน่วยงานอื่น ที่คล้ายคลึงกัน เรื่องที่ผู้เขียนจะส่งมาพิมพ์ในวารสารชีวภัณฑ์นั้นแยกได้เป็น 2ประเภท ตามลำดับความสำคัญ คือ

1. งานวิจัย (Technical papers) เป็นงานเสนอผลการวิจัยที่ผู้เขียนได้กระทำขึ้นเอง
2. บทความ (Articles) เป็นบทความทางวิชาการ ที่รวบรวมข้อมูลความคิดเห็นและประสบการณ์ของผู้เขียน

การเตรียมต้นฉบับ

1. **ต้นฉบับ** ควรพิมพ์ดีดบนกระดาษขนาด 8.5 x 11 นิ้ว พิมพ์หน้าเดียว ความยาวประมาณ 25 บรรทัดต่อหน้า มีความยาวทั้งหมด 8 หน้าพิมพ์ โดยประมาณ

2. **ชื่อเรื่อง** บอกทั้งภาษาไทยและอังกฤษ ควรกะทัดรัดและตรงกับเนื้อเรื่อง

3. **ชื่อผู้เขียน** ใช้ภาษาไทยและอังกฤษ บอกชื่อเต็มและสถานที่ทำงาน

4. **บทคัดย่อ (Abstract)** ให้เขียนนำหน้าต้นเรื่องเป็นการสรุปสาระสำคัญของเรื่อง โดยเฉพาะวัตถุประสงค์ วิธีการและผล ไม่ควรเกิน 200 คำ หรือ 3% ของต้นเรื่อง ควรเขียนทั้งภาษาไทยและอังกฤษ

5. **เนื้อหา (Text)** สำหรับงานวิจัย ควรประกอบด้วยหัวข้อต่อไปนี้

5.1 *คำนำ (Introduction)* เพื่ออธิบายถึงปัญหาและวัตถุประสงค์ และอาจรวมการตรวจเอกสาร (literature review) เข้าไว้ด้วยกัน

5.2 *อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and Methods)* ควรประกอบด้วย

5.2.1 คำอธิบายเกี่ยวกับเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

5.2.2 คำอธิบายถึงวิธีการที่ใช้ทดลอง แต่ไม่จำเป็นต้องอธิบายวิธีการที่ถือว่าเป็นแบบฉบับซึ่งเป็นที่เข้าใจกันดีโดยทั่วไปอยู่แล้ว

5.3 *ผล (Results)* เป็นการเสนอผลการทดลอง ไม่ควรอธิบายยาวกว่าความจำเป็น ถ้ามีตาราง กราฟหรือรูปภาพก็ให้มีเนื้อหาและคำอธิบายเป็นภาษาอังกฤษ

5.4 *วิจารณ์ (Discussion)* เป็นการวิจารณ์ผลการทดลอง โดยมีจุดมุ่งหมายดังนี้

5.4.1 เพื่อให้ผู้อ่านเห็นคล้อย ถึงหลักการที่แสดงออกมาจากผลการทดลอง

5.4.2 เพื่อสนับสนุนหรือคัดค้านสมมุติฐานที่ผู้เขียนเสนอมาก่อน

5.4.3 เพื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองและการตีความหมายของผู้อื่น

5.4.4 สรุปสาระสำคัญ และประจักษ์พยานของผลการทดลอง ผู้เขียน ควรพยายามเน้นถึงปัญหาหรือข้อโต้แย้งในสาระสำคัญของเรื่องที่กำลังกล่าวถึง ตลอดจนข้อเสนอแนะเพื่อการวิจัยในอนาคต และลู่ทางที่จะนำผลไปใช้เป็นประโยชน์

5.5 *คำขอบคุณ (Acknowledgement)* อาจมีหรือไม่มีก็ได้ เป็นการแสดงความขอบคุณแก่ผู้ที่ช่วยเหลือให้งานวิจัยและการเตรียมเอกสารลุล่วงไปด้วยดี แต่มิได้เป็นผู้ร่วมงานด้วย

5.6 *เอกสารอ้างอิง (Literature cited)*

5.6.1 การเรียงลำดับเอกสาร ไม่ต้องมีเลขที่กำกับ หรืออาจมีก็ได้ ให้เรียงลำดับชื่อผู้แต่งหรือผู้รายงานตามตัวอักษร เริ่มด้วยเอกสารภาษาไทยก่อน แล้วต่อด้วยเอกสารภาษาต่างประเทศ เอกสารอ้างอิงหลายเรื่องที่มีผู้แต่งคนเดียว หรือชุดเดียวกันให้เรียงตามลำดับปีของเอกสาร ถ้ามีเอกสารอ้างอิงหลายเรื่องโดยผู้แต่งคนเดียวกัน หรือชุดเดียวกันภายในปีเดียวกัน ให้ใส่อักษร ก, ข, ... ในเอกสารภาษาไทย และ a,b, ... ในเอกสารภาษาต่างประเทศ ไว้หลังปีของเอกสาร

5.6.2 การเขียนชื่อผู้เขียน กรณีเอกสารภาษาไทย ให้ใช้ชื่อเต็ม โดยใช้ชื่อต้นนำหน้าตามด้วยชื่อสกุล ในกรณีที่ผู้แต่งไม่ได้เขียนชื่อเต็ม หรือไม่อาจหาชื่อเต็มของผู้แต่ง อนุโลมให้ใช้ชื่อย่อได้ กรณีเอกสารภาษาต่างประเทศ ให้ใช้อักษรละตินโดยเอาชื่อสกุลขึ้นก่อน ตามด้วยชื่ออื่น ๆ สำหรับชื่อสกุลให้เขียนเต็ม ส่วนชื่ออื่น ๆ ให้เขียนเฉพาะอักษรตัวแรก ยกเว้นกรณีที่จำเป็นต้องเขียนเต็ม เช่น Van, de, der, von เป็นต้น

5.6.3 หลักเกณฑ์ที่สำคัญของการเขียนรายชื่อเอกสารอ้างอิงมีดังนี้

(1) ชื่อเมือง ชื่อรัฐ และชื่อประเทศ ให้เขียนเต็ม

(2) การอ้างหมายเลขหน้าของวารสารภาษาต่างประเทศ ถ้าอ้างเพียง 1 หน้า ใช้ p. หน้าตัวเลข ถ้าอ้างหลายหน้าใช้ pp. หน้าตัวเลข สำหรับวารสารภาษาไทยให้ใช้ น.หน้าตัวเลข ทั้งกรณีอ้างหน้าเดียวและหลายหน้า

(3) ชื่อวิทยาศาสตร์ของสิ่งที่มีชีวิตให้ใช้ตัว*เอน* หรือขีดเส้นใต้

(4) คำว่า *in vitro, in vivo* หรือคำอื่นที่คล้ายคลึงกันให้ใช้ตัว*เอน* หรือขีดเส้นใต้

(5) เอกสารที่มิใช่วารสาร ต้องบอกจำนวนหน้าด้วย โดยใช้ p. หลังตัวเลขแสดงจำนวนหน้า และให้ใช้ น. หลังตัวเลขสำหรับเอกสารภาษาไทย

(6) ชื่อ journal ต้องเขียนด้วยคำย่อ ยกเว้นชื่อที่ย่อไม่ได้

(7) ชื่อเรื่องภาษาอังกฤษที่เอกสารนั้นอ้างถึงอักษรตัวหนึ่งทุกคำ จะต้องขึ้นต้นด้วยตัวพิมพ์ใหญ่ (capital letter) ยกเว้นคำที่เป็นคำนำหน้านาม (article) คำสันธาน (conjunction) และคำบุรพบท (preposition) ในบางกรณี เช่น ชื่อ species ซึ่งขึ้นด้วยตัวพิมพ์เล็กอยู่แล้ว ให้ขึ้นต้นด้วยตัวพิมพ์เล็ก แต่หากคำเหล่านี้เป็นคำแรกของชื่อเรื่องให้ขึ้นต้นด้วยตัวพิมพ์ใหญ่ ส่วนเอกสารที่ผู้เขียนอ้างถึง หากมิใช่หนังสือควรา ให้พิมพ์เช่นเดียวกับชื่อเรื่องในวารสาร

(8) ชื่อ conference ให้เขียนเต็ม

6. ภาพประกอบ (Illustration)

6.1 ภาพถ่ายควรเป็นภาพขาว-ดำ ภาพสีหากจำเป็นจริงใช้และผู้เขียนจะต้องเสียค่าใช้จ่ายเอง ขนาดภาพอย่างต่ำควรเป็นขนาดโปสเตอร์ (3.5 x 5 นิ้ว)

6.2 ภาพเขียน เขียนด้วยหมึกอินเดียบนกระดาษอาร์ตหนาพอควร ตัวหนังสือควรเขียนด้วย lettering guide

การส่งต้นฉบับ

ส่งที่ กองบรรณาธิการวารสารชีวผลิตภัณฑ์
ศูนย์โรคปากและเท้าเปื่อย ปากช่อง
อ.ปากช่อง
จ.นครราชสีมา 30130

(iii)

การตรวจแก้ไข

คณะกรรมการขอสงวนสิทธิ์ตรวจแก้ไขเรื่องที่ส่งมาพิมพ์ทุกเรื่อง ตามแต่จะเห็นสมควร ในกรณีที่จำเป็นจะส่งต้นฉบับเดิม หรือฉบับที่แก้ไขแล้วกลับคืนมายังผู้เขียน เพื่อตรวจความถูกต้องอีกครั้งหนึ่ง

ข้อกำหนดอื่น ๆ

ถ้าผู้เขียนท่านใดส่งต้นฉบับเกิน 8 หน้าพิมพ์ จะต้องเสียค่าใช้จ่ายเองในส่วนที่เกินหน้าละ 200 บาท (กรณีที่ได้รับพิจารณาจากคณะกรรมการ) โดยคณะกรรมการจะแจ้งให้ทราบเพื่อหาความตกลงกันเจ้าของเรื่องก่อน

การทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมันกับชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์

INTRODUCTION AND TESTING EFFECTIVENESS OF HAEMORRHAGIC SEPTICAEMIA VACCINE IN OIL ADJUVANT AGAINST EXISTING ALUMINIUM HYDROXIDE GEL VACCINE

วุฒิพร รุ่งเวชวุฒิวิทยา[1] รัชนี อัตถิ[1] นิเทศ เลิศลิมชลาลัย[1] ชลลดา กำเนิดมงคล[1]
Vuthiporn Rungvetvuthivitaya Ratchanee Atthi
Niteth Lertlimchalalai Chollada Kamnerdmongkol

ABSTRACT

Production of newly developed haemorrhagic septicaemia oil adjuvant vaccine (HS OAV) of the water in oil type was done in small scale. This vaccine provided very low viscosity and high stability and produced little local reactions. After the preliminary trials were passed, the efficacy between HS OAV and aluminium hydroxide gel vaccine (ALV) had been conducted in a number of cattles and buffaloes.

The results showed 100 percent protection in cattles and buffaloes vaccinated with HS OAV for at least 12 months to direct challenge whereas those vaccinated with ALV were protected for 2 months only. Thus HS OAV appeared to be more distinctly effective and will be produced in large scale in the near future.

บทคัดย่อ

ได้ทำการทดลองโดยการเตรียมวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมัน (HS-OAV) แบบน้ำในน้ำมันในขนาดทดลองด้วยสูตรที่ได้พัฒนาขึ้น โดยวัคซีนนี้ผ่านการทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นแล้วพบว่ามีความหนืดต่ำ ความคงตัวสูงและก่อให้เกิดปฏิกิริยาต่อเนื้อเยื่อบริเวณฉีดน้อย หลังจากนั้นจึงทำการทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนชนิดน้ำมันนี้เปรียบเทียบกับประสิทธิภาพของวัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ (ALV) ในโค และกระบือ

ผลการทดลองพบว่า วัคซีนชนิดน้ำมันให้ความคุ้มโรค 100 เปอร์เซนต์เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 12 เดือน โดยการฉีดเชื้อพิษทับแก่โค และกระบือทดลอง ในขณะที่วัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ให้ความคุ้มโรคอยู่เพียง 2 เดือนเท่านั้น ดังนั้นวัคซีนชนิดน้ำมันเป็น

---

[1] ศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ ปากช่อง นครราชสีมา 30130

วัคซีนที่มีประสิทธิภาพดีกว่าและจะมีการปรับปรุงการผลิตในปริมาณมาก ๆ ในอนาคต

คำนำ

โรคเฮโมรายิกเซพติซีเมีย ยังคงเป็นโรคที่สำคัญโรคหนึ่งสำหรับโคและกระบือ ในประเทศเขตร้อนซึ่งก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจ (1,2) การป้องกันโรคโดยการฉีดวัคซีนแก่โค และกระบือ ยังคงเป็นวิธีที่ยอมรับกัน และวัคซีนที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในปัจจุบันคือวัคซีนชนิดน้ำมัน อย่างไรก็ตามในหลายประเทศการใช้วัคซีนชนิดน้ำมัน โดยเฉพาะที่เป็นแบบน้ำในน้ำมันยังไม่เป็นที่นิยม เนื่องจากการฉีดวัคซีนยากเพราะส่วนใหญ่จะมีความหนืดสูง (2)

ในการเตรียมวัคซีนชนิดน้ำมันนี้มีองค์ประกอบต่าง ๆ ที่จำเป็นได้แก่ น้ำมันและสารทำอีมัลชั่นที่ใช้ต้องมีคุณภาพดี มีความบริสุทธิ์สูง ความหนืดและความคงตัวของวัคซีนที่เตรียมก็จะขึ้นอยู่กับปริมาณ และสัดส่วนของสารทำอีมัลชั่น น้ำมัน และแบคเทอรินรวมทั้งความหนืดของน้ำมันที่ใช้ด้วย (3)

วัตถุประสงค์ของการทดลองครั้งนี้ก็เพื่อสนับสนุนให้มีการนำเอาวัคซีนชนิดน้ำมัน ซึ่งเตรียมขึ้นด้วยสูตรที่เหมาะสมแล้ว มีความหนืดต่ำ ความคงตัวสูง มีปฏิกิริยาต่อเนื้อเยื่อบริเวณฉีดน้อย ให้ความคุ้มโรคสูงและนานมาใช้แทนวัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน

อุปกรณ์และวิธีการ

แบคทีเรีย

เชื้อ *P. multocida* ชนิด 6 : B เป็นเชื้อรุนแรงซึ่งแยกได้จากกระบือที่เป็นโรคเฮโมรายิกเซพติซีเมีย ใน อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา เชื้อนี้ใช้ในการเตรียมวัคซีน การทำ passive mouse protection test (PMPT) และการทำ potency test

วัคซีน

ใช้บรอทแบคเทอรินของเชื้อ *P.multocida* ซึ่งเพาะเลี้ยงในเครื่องเฟอร์เมนเตอร์ในชุดเดียวกันในการผลิตเป็นวัคซีนชนิดน้ำมัน และอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์

ก. วัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์

เตรียมวัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ โดยวิธีการผลิตและทดสอบคุณภาพตามวิธีของศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ปากช่อง ซึ่งวัคซีน 1 โดส จะประกอบด้วยปริมาณเชื้อไม่ต่ำกว่า 2.5×10^{10} CFU หรือ ค่า dry weight ไม่น้อยกว่า 2.5 มก.

ข. วัคซีนชนิดน้ำมัน

วัคซีนชนิดน้ำมันเตรียมขึ้นตามวิธีของ รัชนี อัตถิ และคณะ โดยมีส่วนผสมตามน้ำหนักดังนี้

Marcol 52 (ESSO Standard, France)	55 %
Arlacel A (SIGMA, St. Louis, USA)	4 %
Tween 80 (BDH Limited, Poole, England)	1 %
Broth bacterin	40 %

เตรียมโดยผสม Marcol 52 กับ Arlacel A เป็นส่วนที่ 1 และผสมบรอทแบคเทอรินกับ Tween 80 เป็นส่วนที่ 2 ค่อย ๆ เติมส่วนที่ 2 ลงในส่วนที่ 1 แล้วปั่นด้วย homogenizer (Ystral, type x 1020) เป็นเวลา 5 นาที

การทดสอบวัคซีนชนิดน้ำมันในหนูขาว

การทดสอบความปลอดภัย โดยฉีดวัคซีนชนิดน้ำมันให้หนูขาว 6 ตัว ๆ ละ 0.3 มล. เข้าช่องท้อง สังเกตอาการเป็นเวลา 14 วัน จึงนำมาผ่าเปิดชากตรวจ

การทดสอบประสิทธิภาพ โดยทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนชนิดน้ำมันที่เตรียมขึ้นในหนูขาว ตามวิธีของ Ose and Muenster (4)

การทดสอบความปลอดภัยในโค และกระบือ

นำวัคซีนน้ำมันที่เตรียมนี้ฉีดโคและกระบือ ชนิดละ 8 ตัว โดยฉีดเข้ากล้ามเนื้อบริเวณสะโพก ตัวละ 7.7 มล. สังเกตบริเวณที่ฉีดและอาการสัตว์เป็นเวลา 1 เดือน

โค และกระบือ

โค และกระบือ พันธุ์ผสม อายุ 6-12 เดือน จำนวนชนิดละ 95 ตัวไม่เคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคเฮโมรายิกเซพติซีเมียมาก่อน และไม่มีประวัติการเป็นโรคของโค และกระบือในแหล่งที่มา

นำโค และกระบือมาเลี้ยงรวมกันในคอกทดลองก่อนดำเนินการ 2 เดือน เพื่อเตรียมตัวสัตว์โดยกำจัดพยาธิภายในและภายนอก ฉีดวัคซีนป้องกันโรคแอนแทรกซ์และโรคปากและเท้าเปื่อย

โค และกระบือ ที่ใช้ทดลอง จะต้องผ่านการทดสอบว่าไม่มีภูมิคุ้มกันต่อโรคเฮโมรายิกเซพติซีเมียในซีรั่ม โดยวิธี PMPT

การฉีดวัคซีนและฉีดพิษทับ

แบ่งกลุ่มโค และกระบือ ออกเป็น 3 กลุ่มดังนี้

กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย โค 46 ตัว กระบือ 46 ตัว ฉีดด้วยวัคซีนชนิดน้ำมัน ปริมาณ 7.7 มล. เข้ากล้ามเนื้อบริเวณสะโพก

กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย โค 34 ตัว กระบือ 34 ตัว ฉีดด้วยวัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ 3 มล. เข้าใต้ผิวหนังบริเวณแผงคอ

กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยโค 15 ตัว กระบือ 15 ตัวจัดเป็นกลุ่มควบคุมไม่ต้องฉีดวัคซีน

ในแต่ละกลุ่มจะต้องแบ่ง โค และกระบือทดลอง เป็นกลุ่มย่อยไว้ เพื่อทำการเจาะ

เลือดเก็บซีรั่ม และฉีดพิษทับหลังการฉีดวัคซีนครบ 1,2,4,6,9 และ 12 เดือนตามลำดับ ซีรั่มที่เก็บได้รวมทั้งซีรั่มก่อนฉีดวัคซีนนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -18°C. เพื่อไว้ใช้ในการศึกษาต่อไป

การฉีดพิษทับในโค และกระบือ สัตว์จะถูกฉีดพิษทับโดยใช้เชื้อ *P. multocida* ที่เพาะเลี้ยงใน tryptose broth 6 ชั่วโมง นำมาเจือจางให้เป็น 10^{-2} เท่าแล้วฉีดเข้าใต้ผิวหนังตัวละ 1 มล. ซึ่งมีเชื้อประมาณ $1x10^7$-$1x10^8$ CFU ภายหลังการฉีดพิษทับดูอาการและวัดอุณหภูมิร่างกายทุกวันเป็นเวลา 7 วัน

หนูขาว

หนูขาวเพศผู้เสตรน ICR อายุ 21-28 วัน ได้รับจากศูนย์โรคปากและเท้าเปื่อย อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา ใช้ในการทำการทดลองตลอดโครงการ

Passive mouse protection test (PMPT)

วิธีทำ PMPT ดัดแปลงมาจาก Bain และคณะ(1) โดยฉีดตัวอย่างซีรั่มโคและกระบือให้หนูขาวตัวอย่างละ 5 ตัว ซึ่งมีขนาดฉีดตัวละ 0.5 มล. เข้าใต้ผิวหนัง หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง ฉีดพิษทับเข้าในช่องท้องด้วยเชื้อ *P. multocida* ที่เพาะเลี้ยงใน tryptose broth 6 ชั่วโมง นำมาเจือจางเป็น 10^{-6} เท่า ปริมาณฉีดตัวละ 0.1 มล. ซึ่งมีเชื้ออยู่ 100 MLD_{50}* ในขณะเดียวกันฉีดพิษทับให้กับหนูขาวที่ไม่ได้รับการฉีดซีรั่มอีก 5 ตัว ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม ตรวจดูผลทุกวันเป็นเวลา 3 วัน โดยหนูกลุ่มควบคุมจะต้องตายหมดทุกตัวส่วนหนูที่ได้รับการฉีดซีรั่มกลุ่มใดมีหนูรอดเพียง 1 ตัวขึ้นไป ให้ถือว่าซีรั่มนั้นมีภูมิคุ้มกันต่อโรคเฮโม-รายิกเซพติซีเมีย

ผลการทดลอง

1. วัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมัน

ก่อนดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพวัคซีนชนิดน้ำมัน เปรียบเทียบกับประสิทธิภาพของวัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ วัคซีนชนิดน้ำมัน ได้ผ่านการทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้น ซึ่งมีผลการทดลองดังนี้ คือ

1.1 คุณสมบัติของวัคซีนทางฟิสิคส์ ผลการทดสอบดังตารางที่ 1

1.2 คุณสมบัติของวัคซีนเมื่อทดสอบในหนูขาว

วัคซีนมีความปลอดภัย หนูที่ถูกฉีดวัคซีนเข้าช่องท้องไม่มีอาการผิดปกติ และเมื่อผ่าชากก็ไม่พบวิการของช่องท้องอักเสบ

ประสิทธิภาพของวัคซีนในหนูขาวจากการทดสอบตามวิธีของ Ose and Muenster พบว่าวัคซีนชนิดน้ำมันมีประสิทธิภาพสูงถึง 6.7 Logarithmic units protection

---

* MLD_{50} = 50% mouse lethal dose

Table 1 Physical properties of HS-OAV

Test	Characteristics
1. Type of emulsion	Water- in- oil emulsion
2. Viscosity at 25°c (Viscometer UK Ltd. Model LV 8 spindle L2,speed 60)	100 centipoises
3. Stability at 4°c	15 months
at 25-28°c	12 months
at 37°c	5 days
4. Appearance	White milky liquid

1.3 ความปลอดภัยของวัคซีนชนิดน้ำมันในโค และกระบือ

โค และกระบือ ทั้งสิ้น 16 ตัว ไม่แสดงอาการข้างเคียงภายหลังการฉีดวัคซีน โดยการสังเกตอาการทั่วไป และการวัดอุณหภูมิร่างกาย

ส่วนบริเวณที่ฉีดวัคซีนจะมีอาการบวมอยู่ประมาณ 1 สัปดาห์และค่อย ๆ ยุบลงเป็นปกติภายใน 4 สัปดาห์โดยเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณที่บวมมีความยาวระหว่าง 1 ถึง 3 ซม.

2. ผลการทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมัน และวัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ โดยวิธีฉีดเชื้อพิษ

ตลอดการทดลอง 12 เดือน ทั้งโค และกระบือ กลุ่มที่แยกออกมาฉีดพิษท้ายเป็นระยะ ๆ หลังการฉีดวัคซีนชนิดน้ำมัน จะมีความคุ้มโรคทุกตัว คิดเป็น 100 เปอร์เซนต์ ในขณะที่ โค และกระบือ ซึ่งได้รับการฉีดวัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์จะมีความคุ้มโรคต่ำมาก โดย โค จะให้ความคุ้มโรค 100 เปอร์เซนต์ ภายหลังฉีดวัคซีน 1 เดือน และจะลดลงเหลือ 50 เปอร์เซนต์ หลังจากฉีดวัคซีน 2 เดือน และจะลดลงเรื่อย ๆ ส่วนกระบือความคุ้มโรคไม่ถึง 100 เปอร์เซนต์ หลังจากฉีดวัคซีนครบ 1 เดือน และเช่นเดียวกับโค นั่นคือ ความคุ้มโรคจะลดลงภายหลังฉีดวัคซีนนานกว่า 2 เดือน (ดังตารางที่ 2 และ 3)

สรุปและวิจารณ์

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมันมีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคสำหรับ โค และกระบือดีกว่าวัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ ผลที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของหลายประเทศในแถบเอเชีย ซึ่งได้ทดลองเปรียบเทียบระยะความคุ้มโรคของวัคซีนชนิดน้ำมันกับวัคซีนชนิดตกตะกอนด้วยอะลั่ม และวัคซีนชนิดน้ำมันกับวัคซีนชนิดน้ำธรรมดา ผลปรากฏว่า วัคซีนชนิดน้ำมันให้ความคุ้มโรคนานประมาณ 1 ปี ส่วนวัคซีนอีกสองชนิดให้ความคุ้มโรคนานประมาณ 4 เดือน

Table 2 Comparison of potency test between HS-OAV and ALV in cattle

Months after vacci-nation	O*		A*		Control	
	survival per total	%protec-tion	survival per total	%protec-tion	survival per total	%protec-tion
1	4/4	100	4/4	100	0/2	0
2	4/4	100	2/4	50	0/2	0
4	8/8	100	3/8	37.5	0/2	0
6	10/10	100	3/10	30	0/2	0
9	10/10	100	1/6	16.7	0/2	0
12	10/10	100	-	-	0/2	0

*O = Animals vaccinated with oil adjuvant vaccine

*A = Animals vaccinated with aluminium hydroxide gel vaccine

วัคซีนชนิดน้ำมันซึ่งเตรียมขึ้นใช้ในการทดลองครั้งนี้มีความคงตัวสูงความหนืดต่ำฉีดง่าย เมื่อรวมกับประสิทธิภาพในการป้องกันโรคที่สูงถึง 100 เปอร์เซนต์ และความคุ้มโรคนี้อยู่นานอย่างน้อย 12 เดือน ทำให้มีเหตุผลที่ใช้เป็นข้อสนับสนุนความคิดในการเปลี่ยนการใช้วัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมีย จากชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์มาเป็นวัคซีนชนิดน้ำมัน

อย่างไรก็ตามยังจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับระยะเวลาคุ้มโรคในโคและกระบือ ทั้งนี้เพราะการทดลองทำในระยะเวลา 12 เดือน ซึ่งจากผลในตารางที่ 2 และ 3 ยังไม่สามารถบอกถึงระยะความคุ้มโรคได้ว่าจะลดลงจาก 100 เปอร์เซนต์ จนถึงไม่มีความคุ้มโรคภายหลังจากฉีดวัคซีนเป็นเวลานานเท่าไร นอกจากนี้ยังต้องศึกษาถึงการลดปริมาณแอนติเยนเพื่อลดปริมาณการฉีดต่อตัว เพื่อความสะดวกในการปฏิบัติงานในท้องที่อีกด้วย

จากตารางที่ 3 การทดลองในกระบือกลุ่มควบคุมไม่ฉีดวัคซีน มีกระบือรอดจากการฉีดพิษทับ 1 ตัว ซึ่งกระบือตัวนี้ได้รับการตรวจสอบซีรั่มโดยวิธี PMPT ก่อนการทดลองแล้วว่าไม่มีภูมิคุ้มโรค ซึ่งอาจเป็นได้ว่าผลของ PMPT นั้นไม่สัมพันธ์กับการฉีดพิษทับ โดยเฉพาะในระยะที่ภูมิคุ้มกันโรคเริ่มลดลงหรือมีเหลือน้อย ตามผลการทดลองของ วุฒิพร รุ่งเวชวุฒิวิทยา และคณะ (ผลงานที่ยังมิได้ตีพิมพ์) เป็นเหตุผลประการหนึ่งและอีกประการหนึ่งกระบือตัวนี้เป็นกระบือเผือก อาจจะมีความทนทานเฉพาะตัวต่อโรคสูง ส่วนโค และกระบือ ที่ตายในระหว่างการทดลองครั้งนี้ เมื่อผ่าชากดูไม่พบวิการใด ๆ ที่บ่งบอกว่าเป็นการตายจากการเป็นโรคและจากการตรวจทางห้องปฏิบัติการไม่พบเชื้อผิดปกติที่จะเป็นสาเหตุของการตายได้ ดังนั้นเหตุผลของการตายอาจเนื่องจากสุขภาพอ่อนแอ

Table 3 Comparison of potency test between HS-OAV and ALV in buffaloes

Months after vaccination	O*		A*		Control	
	survival per total	%protection	survival per total	%protection	survival per total	%protection
1	4/4	100	2/4	50	0/2	0
2	4/4	100	3/4	75	1/2	50
4	8/8	100	1/8	12.5	0/2	0
6	10/10	100	2/10	20	0/1	0
9	10/10	100	0/4	0	0/1	0
12	9/9	100	-	-	0/2	0

*O = Animals vaccinated with oil adjuvant vaccine

*A = Animals vaccinated with aluminium hydroxide gel vaccine

กิตติกรรมประกาศ

การทดลองครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนจากกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ภายใต้โครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีเพื่อพัฒนาการเกษตร ขอขอบคุณ U.S.Agency For International Development (USAID) ประเทศไทยที่ให้การสนับสนุนด้านวิชาการและเงินกู้ ในการทดลองครั้งนี้ ขอขอบคุณ Dr. R.A. Ralston อดีตผู้เชี่ยวชาญประจำโครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีเพื่อพัฒนาการเกษตร และดร.วัลลภา สานติวัตร ที่ช่วยประสานงานให้เจ้าหน้าที่ของกรมปศุสัตว์ได้มีโอกาสทำงานวิจัยภายใต้โครงการนี้อย่างต่อเนื่อง และขอขอบคุณเพื่อนร่วมงานทุกท่านที่ร่วมช่วยเหลือในโครงการนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Bain, R.V.S.; De Alwis, M.C.L.; Carter, G.R. and Gupta, B.K. (1982). Haemorrhagic Septicaemia, FAO Animal Production and Health Paper. No. 33. FAO, Rome.

2. Anonymous (1990). Report on the Second FAO/APHCA Sub-group Meeting on Improved Vaccine against Haemorrhagic Septicaemia. 22-24 February 1990, FAO Regional Office for Asia and the Pacific, Bangkok, Thailand. 19 Pages.

3. Mckercher, P.D.(1986). Oil Adjuvants : Their Use in Veterinary Biologics. In : Advances in Carriers and Adjuvants for Veterinary Biologics (Nervig, R.M.; Gough,P.M; Kaeberle, M.L. and Whetstone, C.A.) Iowa State University Press, Ames, Iowa. pp. 115-119.

4. Ose, E.E. and Muenster, O.A. (1968). A Method of Evaluation of Vaccines Containing *Pasteurella multocida*. Am. J. Vet. Res., 29 : 1863-1866.

เปรียบเทียบวิธีการฉีดในการตรวจความคุ้มโรคในหนูขาว สำหรับโรคเฮโมรายิกเซพติซีเมีย

COMPARISON OF INOCULATION ROUTES IN THE PASSIVE MOUSE PROTECTION TEST OF HAEMORRHAGIC SEPTICAEMIA

วุฒิพร รุ่งเวชวุฒิวิทยา[1] นิเทศ เลิศลิมชลาลัย[1]
Vuthiporn Rungvetvuthivitaya Niteth Lertlimchalalai

ABSTRACT

Immune and non-immune sera from 65 cattles and 66 water buffaloes, previously vaccinated with haemorrhagic septicaemia vaccine, were studied. All sera were tested for the immune response by passive mouse protection test (PMPT). Mice were inoculated subcutaneously and intraperitoneally with the sera to compare the effect of different routes of administration. The results showed that there was no significant difference ($P > 0.005$) indicating that either route of administration would be used in PMPT.

บทคัดย่อ

น้ำซีรั่มทั้งที่มีภูมิคุ้มกันโรคและไม่มีภูมิคุ้มกันโรคจากโค 65 ตัวอย่าง และกระบือ 66 ตัวอย่าง ซึ่งได้รับการฉีดวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียมาก่อนหน้านี้มาทดลองเปรียบเทียบวิธีการฉีดซีรั่มเข้าหนูขาวในการหาภูมิคุ้มกันโรคโดยวิธี พาสซีพเมาส์โปรเท็คชั่นพบว่าวิธีการฉีดซีรั่มให้กับหนูขาวทางใต้ผิวหนังกับทางช่องท้อง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.005$) ดังนั้นการทำพาสซีพเมาส์โปรเท็คชั่นจะฉีดซีรั่มเข้าใต้ผิวหนังหรือในช่องท้องหนูขาวก็ได้

คำนำ

ในการประเมินค่าความคุ้มโรค ของโรคเฮโมรายิกเซพติซีเมียที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติหรือเกิดจากการฉีดวัคซีนให้แก่โค กระบือ นั้น วิธีที่น่าเชื่อถือที่สุดก็คือการฉีดเชื้อพิษทับโดยตรงแก่โค กระบือ (1) ส่วนวิธีการทางซีโรโลยี่มีหลายวิธีด้วยกัน อีไลซ่าเป็นวิธีหนึ่งที่ได้มี

---

[1] ศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ ปากช่อง นครราชสีมา 30130

การพัฒนาขึ้นมาใช้ในการตรวจหาภูมิคุ้มกัน ของโรคเฮโมรายิกเซพติซีเมียกันอย่างแพร่หลาย (2,3) และวิธีพาสซีพเมาส์โปรเท็คชั่น เป็นวิธีหนึ่งที่ยังนิยมใช้กันอยู่ในปัจจุบัน (4) โดยฉีดซีรั่ม โค กระบือ เข้าใต้ผิวหนังหนู และฉีดพิษทับในวันต่อมา ปัญหายังมีอยู่ที่หลังจากฉีดซีรั่มเข้าใต้ผิวหนังหนูแล้ว หนูจะสามารถดูดซึมภูมิคุ้มกันจากซีรั่มได้ดีขนาดไหน จึงทำการทดลองเปรียบเทียบระหว่างการฉีดซีรั่มเข้าใต้ผิวหนัง และการฉีดซีรั่มเข้าช่องท้องหนูว่าจะมีความแตกต่างกันหรือไม่

อุปกรณ์และวิธีการ

ซีรั่มโค กระบือ

ซีรั่มที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้เป็นตัวอย่างซีรั่มของโค 65 ตัวอย่าง และกระบือ 66 ตัวอย่าง ที่เก็บหลังจากการฉีดวัคซีนครบ 1,2,4,6,9 และ 12 เดือน และเก็บรักษาไว้ที่ -18°C.ของโครงการทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมันกับชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งวุฒิพรและคณะได้ทำการทดลองมาก่อนหน้านี้ (ผลงานที่กำลังตีพิมพ์ในวารสารชีวผลิตภัณฑ์ฉบับนี้)

หนูขาว

หนูขาวเพศผู้เสตรน IRC อายุ 21-28 วัน ได้รับจากศูนย์โรคปากและเท้าเปื่อย อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา ใช้ในการทำการทดลองตลอดโครงการ

แบคทีเรีย

เชื้อ *P.multocida* ชนิด 6 : B เป็นเชื้อรุนแรงซึ่งแยกได้จากกระบือที่เป็นโรคเฮโมรายิกเซพติซีเมียใน อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา เชื้อนี้ใช้เป็นเชื้อพิษสำหรับฉีดหนูตลอดโครงการ

Passive mouse protection test (PMPT)

วิธีทำ PMPT ดัดแปลงมาจาก Bain และคณะ (4) โดยแบ่งหนูขาวออกเป็นกลุ่มกลุ่มละ 8-10 ตัว ต่อซีรั่ม 1 ตัวอย่าง แต่ละกลุ่มแบ่งครึ่งฉีดซีรั่มเข้าใต้ผิวหนังและเข้าในช่องท้อง ซึ่งมีขนาดฉีดตัวละ 0.5 มล. หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง ฉีดพิษทับเข้าในช่องท้องด้วยเชื้อ *P. multocida* ที่เพาะเลี้ยงใน Tryptose broth 6 ชั่วโมง นำมาเจือจางเป็น 10^{-6} เท่า และเจือจางอีกเท่าตัว ปริมาณฉีดตัวละ 0.2 มล. ซึ่งมีเชื้ออยู่ 100 MLD_{50}* ในขณะเดียวกันฉีดพิษทับให้กับหนูขาวที่ไม่ได้รับการฉีดซีรั่มอีก 5 ตัวซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม ตรวจดูผลทุกวันเป็นเวลา 3 วัน โดยหนูกลุ่มควบคุมจะต้องตายหมดทุกตัว ส่วนหนูกลุ่มที่ได้รับการฉีดซีรั่มกลุ่มใดมีหนูรอดเพียง 1 ตัวขึ้นไป ให้ถือว่าซีรั่มนั้นมีภูมิคุ้มกันต่อโรคเฮโมรายิกเซพติซีเมีย

---

* MLD_{50} = 50% mouse lethal dose

ผลการทดลอง

ผลการทำ PMPT แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกหนูขาวได้รับชีรั่มเข้าใต้ผิวหนังและให้ผลบวกหรือมีภูมิคุ้มกันโรคจำนวน 64 ตัวอย่าง ในขณะที่ชีรั่มจากกลุ่มเดียวกันนี้เมื่อฉีดเข้าช่องท้องหนูขาวจะให้ผลบวกหรือมีภูมิคุ้มกันโรคจำนวน 59 ตัวอย่าง และให้ผลลบจำนวน 5 ตัวอย่าง กลุ่มที่สองหนูขาวได้รับชีรั่มเข้าใต้ผิวหนัง และให้ผลลบหรือไม่มีภูมิคุ้มกันโรคจำนวน 67 ตัวอย่าง ในขณะที่ชีรั่มจากกลุ่มเดียวกันนี้เมื่อฉีดเข้าช่องท้องหนูขาวจะให้ผลลบจำนวน 62 ตัวอย่างและให้ผลบวกจำนวน 5 ตัวอย่าง ดังตารางที่ 1 และจากการประเมินค่าความแตกต่างพบว่าการทำ PMPT โดยการฉีดชีรั่มเข้าใต้ผิวหนังและการฉีดเข้าช่องท้องหนูขาวจะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.005$)

ตารางที่ 1 ผลของการทำ PMPT

ฉีดเข้าช่องท้อง	ฉีดเข้าใต้ผิวหนัง		
	-	+	รวม
+	5	59	64
-	62	5	67
รวม	67	64	131

สรุปและวิจารณ์

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าวิธีการทำ PMPT นั้น จะใช้วิธีการฉีดชีรั่มเข้าใต้ผิวหนังหรือเข้าช่องท้องหนูขาวจะให้ผลไม่แตกต่างกัน ซึ่งเป็นการยืนยันที่ Bain และคณะได้บรรยายสรุปไว้ว่า ไม่ว่าจะฉีดชีรั่มเข้าหนูขาวโดยวิธีการใดก็ตามจะได้ผลใกล้เคียงกันมาก (4)

อย่างไรก็ตามการทดลองครั้งนี้มิได้เป็นการยืนยันความแม่นยำของวิธี PMPT ในการทดสอบความคุ้มโรคในโค กระบือ เพียงแต่เปรียบเทียบวิธีการฉีดชีรั่มเข้าหนูขาวเท่านั้น ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาต่อถึงความสัมพันธ์ระหว่างผลของ PMPT กับความคุ้มโรคที่เกิดจากการฉีดพิษทับในโค กระบือ ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Bain, R.V.S. (1979). Report on the International Workshop on Haemorrhagic Septicaemia. 10-14 December 1979, Department of Animal.Production and Health, Columbo, Sri Lanka. 32 Pages.
2. Johnson, R.B.; Dawkins, H.J.S.; Spencer, T.L.; Saharee, A.A.; Bahaman, A.R.; Ramdani and Patten, B.E.(1989). Evaluation of Bovine Antibody Responses to Haemorrhagic Septicaemia Vaccine. Res. Vet. Sci., 47 : 277-279.
3. Neramitmansook, P.; Rungvetvuthivitaya, V.; Neramitmansook, W. and Carter, G.R. (1990). Development of a Serologic Test to Measure Immunity in Cattle and Buffaloes to Haemorrhagic Septicaemia. I. Measurement of Protective Antibodies against *Pasteurella multocida* Serotype B in Cattle and Buffaloes Using an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Proceedings of 7th FAVA Congrees, Pattaya. 481-490.
4. Bain, R.V.S.; De Alwis, M.C.L.; Carter, G.R. and Gupta, B.K. (1982). Haemorrhagic Septicaemia, FAO Animal Production and Health Paper. No. 33. FAO, Rome.

โรคออเจสกี้ในสุกรแท้ง

AUJESZKY'S DISEASE IN AN ABORTED FETUS

จิรา คงครอง[1] ลัดดา ตรงวงศา[1] วาสนา ภิญโญชนม์[2]
Chira Kongkrong Ladda Trongwongsa Wasana Pinyochon

ABSTRACT

This paper was conducted to diagnose Aujeszky's disease in an aborted fetus. The aborted fetus and its fetal placenta were necropied and examined macroscopically and microscopic.Fluorescent antibody (FA) test was used in frozen sections and tissue culture for Aujeszky's disease diagnosis. Aujeszky virus was observed by a transmission electron microscopic. Macroscopically, no gross abnormalities were bound. Microscopically, the liver prevealed multifocal coagulative necrosis in various sizes within the necrosis, eosinophilic intranuclear inclusion bodies were found. The aborted fetus was positive for Aujeszky's disease by FA test. A cluster of Aujeszky virions was demonstrated in a nucleus by the transmission electron microscopic. The viral particle is 75 nm. in a diameter.

From the evidents above, it could be concluded that the aborted fetus caused by Aujeszky's disease.

บทคัดย่อ

จุดประสงค์ของรายงานนี้ เพื่อยืนยันการวินิจฉัยและชันสูตรโรคออเจสกี้ในลูกสุกรแท้ง 1 ตัว โดยทำการผ่าชากลูกสุกรแท้งพร้อมรก ตรวจวิการด้วยตาเปล่าและกล้องจุลทรรศน์ ตรวจโรคออเจสกี้โดยวิธี fluorescent antibody (FA) test จาก frozen section และ tissue culture และศึกษารูปร่างของออเจสกี้ไวรัส โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดลำแสงส่องผ่าน ผลการตรวจวิการด้วยตาเปล่าไม่พบความผิดปกติใด ๆ ทั้ง

---

[1] กลุ่มงานพยาธิวิทยา สถาบันสุขภาพและผลิตสัตว์แห่งชาติ บางเขน กทม.
[2] กลุ่มงานไวรัสวิทยา สถาบันสุขภาพและผลิตสัตว์แห่งชาติ บางเขน กทม.

ซากและรก ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์พบหย่อมเนื้อตายในตับขนาดต่าง ๆ กัน ซึ่งแต่ละหย่อมพบ cell degeneration, debris และ eosinophilic interanuclear inclusion bodies ไม่พบเซลล์เม็ดเลือดขาวทุกชนิด ส่วนอวัยวะอื่น ๆ และรกไม่พบจุลพยาธิสภาพใด ๆ จากการตรวจโดยวิธี FA test ให้ผลบวกต่อโรคออเจสกี้ ตรวจโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดลำแสงส่องผ่าน พบกลุ่มของออเจสกี้ไวรัสในนิวเคลียส ขนาดของวงไวรัสเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 75 nm.

จากผลดังกล่าวทั้งหมดเป็นหลักฐานยืนยันว่าพบโรคออเจสกี้ในลูกสุกรแท้ง ซึ่งรายงานที่พบโรคออเจสกี้ในลูกสุกรแท้งนี้ ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อนในประเทศไทย ดังนั้นรายงานฉบับนี้จึงเป็นรายงานฉบับแรก

คำนำ

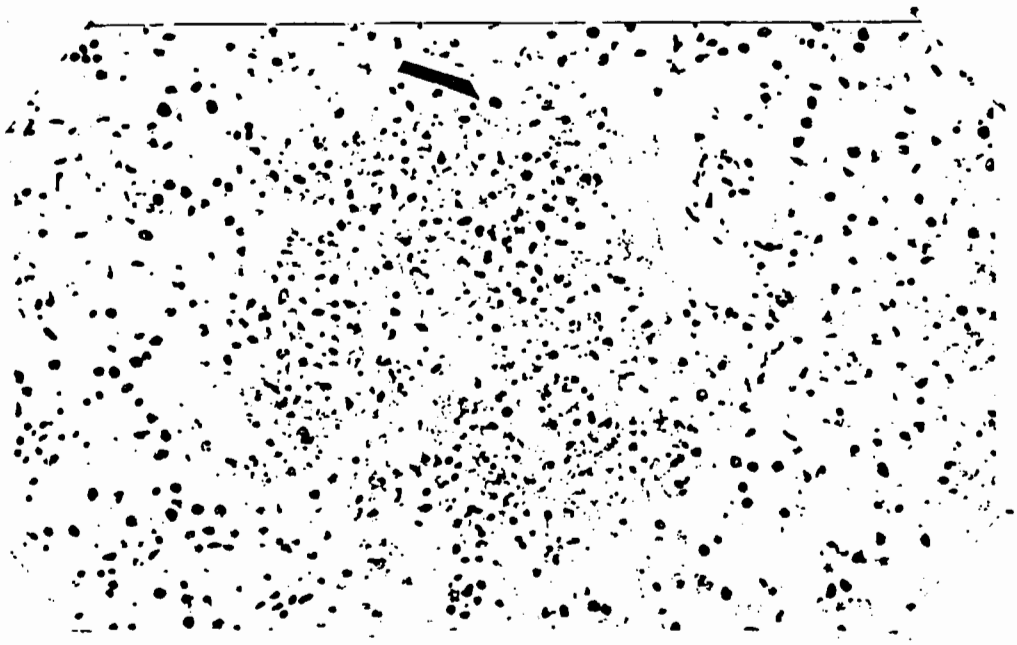
โรคออเจสกี้ในสุกรเกิดเชื้อไวรัส herpes suis โรคนี้ได้รับการยอมรับกันทั่วโลกแล้วว่าทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรเป็นอย่างมากเนื่องจากทำให้สุกรทุกอายุป่วยและตาย โดยเฉพาะลูกสุกรระยะดูดนมจะมีอัตราการตายสูงมาก นอกจากนี้โรคออเจสกี้ยังเป็นโรคสำคัญโรคหนึ่ง ที่ทำให้แม่สุกรท้องเกิดการแท้งหรือลูกที่เกิดการแท้งหรือลูกที่เกิดมาอ่อนแอและอัตรารอดต่ำ (Gustafson, 1986)

ในประเทศไทยมีรายงานครั้งแรกโดยบุญมี และคณะ (1978) โดยรายงานการเกิดโรคออเจสกี้ในลูกสุกรอายุต่ำกว่า 3 สัปดาห์ และมีรายงานการเกิดโรคออเจสกี้ในลูกสุกรระยะดูดนม โดยพิพล และคณะ (1984) แต่ยังไม่มีรายงานในลูกสุกรแท้ง ดังนั้นรายงานนี้จึงเป็นรายงานแรกที่พบโรคออเจสกี้ในลูกสุกรแท้ง

จุดประสงค์ของรายงานนี้เพื่อยืนยันการชันสูตรว่าพบโรคออเจสกี้ในลูกสุกรแท้ง โดยใช้วิธีทางจุลพยาธิวิทยา ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดลำแสงส่องผ่าน และวิธี FA test เพื่อที่นักวิชาการจะได้นำไปใช้เป็นข้อมูลในการชันสูตรและวินิจฉัยโรคในสุกรต่อไป โดยเฉพาะข้อมูลทางจุลพยาธิวิทยาสภาพซึ่งพบยาก

อุปกรณ์และวิธีการ

ในช่วงเดือน สิงหาคม 2534 สถาบันสุขภาพสัตว์และผลิตสัตว์แห่งชาติได้ทำการชันสูตรซากลูกสุกรแท้ง 4 ตัวพร้อมรก จากฟาร์มแห่งหนึ่ง โดยมีประวัติอาการดังนี้ ลูกสุกรแท้ง 4 ตัวมาจากแม่แต่ละตัว โดยที่ไม่ได้แสดงอาการป่วยใด ๆ นอกจากแท้งลูกโดยแท้งลูกในระยะเวลาใกล้เคียงกัน ทุกแม่ได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรค พาร์โวไวรัส ปากและเท้าเปื่อย และออเจสกี้ มาแล้ว สำหรับวัคซีนออเจสกี้เจ้าของเริ่มฉีดให้แม่สุกรในกลางปี 2533 เนื่องจากราวต้นปี 2533 พบโรคออเจสกี้ในลูกสุกรระยะดูดนม ดังนั้นเจ้าของจึงทำการฉีดวัคซีนออเจสกี้ในแก่แม่สุกร 2 ครั้ง ครั้งแรกก่อนผสม ครั้งหลังก่อนคลอด 4 สัปดาห์ โดยที่

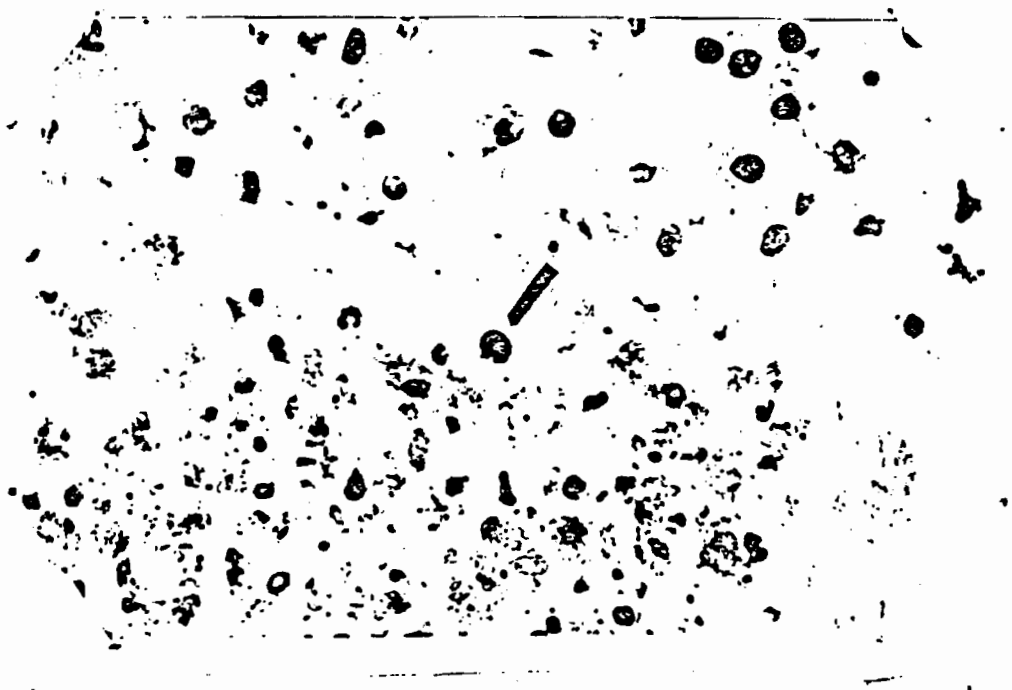


รูปที่ 1 แสดงลักษณะหย่อมเนื้อตาย และ intranuclear inclusion body ในตับ H & E(x 132) (ลูกศร)

ไม่ได้ทำการคัดแม่สุกรที่เป็นพาหะ (carrier) ทิ้ง หลังจากนั้นแม่สุกรก็ยังมีการแท้งลูกอยู่ เจ้าของจึงได้รวบรวมซากลูกสุกรแท้งส่งมายังสถาบันสุขภาพสัตว์และผลิตสัตว์แห่งชาติ เพื่อการชันสูตรโรค เมื่อทางสถาบันสุขภาพสัตว์และผลิตสัตว์แห่งชาติได้รับซากก็ดำเนินการชันสูตรโดยทำการชันสูตรซากลูกสุกรแท้ง 4 ตัว พร้อมรกเพื่อดูวิการด้วยตาเปล่าและเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อและอวัยวะภายในต่าง ๆ โดยเก็บอวัยวะภายในทั้งหมดและรกนำไปตรวจหาเชื้อ pathogenic bacteria เก็บตัวอย่างอวัยวะภายในทั้งหมด สมอง และรก แช่ 10% buffer formalin ผ่านกระบวนการมาตรฐานทางพยาธิวิทยา (Sheehan and Hrapchak, 1980) ย้อมด้วยสี hematoxylin และ eosin เพื่อตรวจทางจุลพยาธิวิทยา เก็บตัวอย่าง สมอง ทอลซิล ไต ม้าม ปอด ตับ และรก นำไปตรวจโรคพาร์โวไวรัสโดยวิธี fluorescent antibody test (FA test) จาก frozen section และวิธี hemagglutination test (HA test) จากการนำเนื้อเยื่อมาบดผ่านลงเซลล์ embryonic swine kidney ตรวจโรคอหิวาต์สุกรและโรคออเจสกี้โดยวิธี FA test จาก frozen section และเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด PK 15 จากเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด PK 15 ที่สามารถแยกเชื้อไวรัสออเจสกี้ได้นำมาตรวจหารูปร่างและลักษณะของไวรัส โดยเก็บเฉพาะเซลล์นำมาล้างด้วย Phosphate buffer solution (PBS) 3 ครั้ง fix ใน 25% glutaraldehyde และ 1% osmium teroxide ผ่านขบวนการ dehydrate ด้วย alcohol infiltrate และ embed ด้วย Epon mixture ตัด section ให้ได้ขนาดบาง 700°A ย้อมสีด้วย uranyl acetate และ lead citrate จากนั้นนำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดลำแสงส่องผ่าน TEM-1200 (JEOL)

ผล

ผลการตรวจทางแบคทีเรีย ไม่พบเชื้อ pathogenic bacteria ผลตรวจซากด้วยตาเปล่า ไม่พบวิการใด ๆ ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา ในตับของลูกสุกรแท้งทั้ง 4 ตัว พบลักษณะของหย่อมเนื้อตายชนิด Coagulative necrosis ซึ่งประกอบด้วย cell degeneration และ debris บริเวณโดยรอบของหย่อมเนื้อตายเหล่านี้ไม่พบเซลล์เม็ดเลือดขาวใด ๆ (รูปที่ 1) ตับของลูกสุกรแท้ง 1 ตัว นอกจากจะพบหย่อมเนื้อตายดังกล่าวในบริเวณหย่อมเนื้อตายนี้ยังพบ eosinophilic intranuclear inclusion bodies ในเซลล์ตับที่เสื่อม ลักษณะของ inclusion bodies ดังกล่าวเป็น homogeneous mass ติดสีแดงของ eosin ซึ่ง mass เหล่านี้ถูกล้อมรอบด้วย chromatin ที่ติดสีน้ำเงินของ hematoxylin (รูปที่ 2) นอกจากวิการที่ตับแล้วไม่พบวิการที่เนื้อเยื่ออื่น ๆ ของซากทั้ง 4 ตัว ผลการตรวจโรคอหิวาต์สุกรและโรคพาร์โวไวรัสให้ผลลบทั้ง 2 โรค ผลการตรวจออเจสกี้ให้ผลลบในลูกสุกรแท้ง 3 ตัว ให้ผลบวกในลูกสุกรแท้ง 1 ตัว ที่พบ intranuclear inclusion bodies ทั้งใน frozen section และจากเซลล์เพาะเลี้ยง PK 15 จากการศึกษารูปร่างและลักษณะของไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดลำแสง



รูปที่ 2 แสดง Intranuclear inclusion body (ลูกศร) ขยายจากรูปที่ 1 H & E (x330)

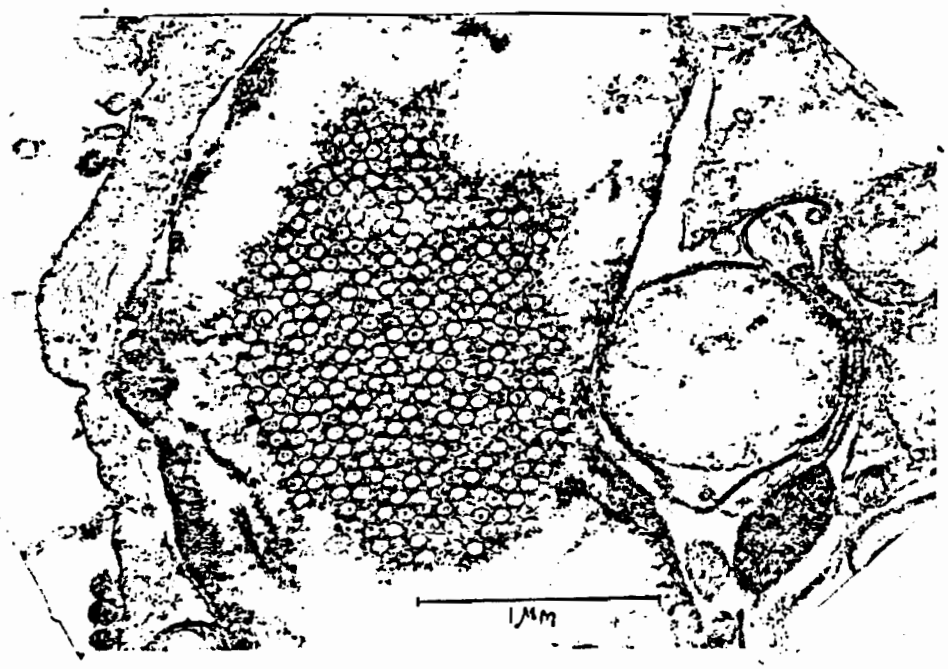
ส่องผ่าน พบ intranuclear non-enveloped virual particle ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 75 nm. อยู่กันเป็นกลุ่ม (cluster) ใกล้ neuclear membrane (รูปที่ 3) และพบ enveloped viral particle ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 150 nm. อยู่กระจายใน cytoplasm

สรุปและวิจารณ์

ลักษณะจุลพยาธิสภาพที่สำคัญของโรคออเจสกี้ในลูกสุกรแท้งคือ หย่อมเนื้อตายที่อวัยวะภายใน เช่น ตับ ไต ม้าม เป็นต้น โดยบางครั้งอาจจะพบหย่อมเนื้อตายรวมกับ intranuclear inclusion bodies ด้วยแต่จะไม่พบการอักเสบในสมองซึ่งเป็นวิการสำคัญในลูกสุกรที่รอดชีวิตและสุกรโต (Jubb, 1985) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานฉบับนี้ที่พบหย่อมเนื้อตายรวมกับ intranuclear inclusion bodies ในตับของลูกสุกรแท้ง 1 ตัว และก็สอดคล้องกับรายงานของ Hsu (1980) ซึ่งพบวิการเช่นเดียวกันในลูกสุกรแท้งที่พบเชื้อออเจสกี้ จากการเพาะและแยกเชื้อโดยวิธีทางไวรัสวิทยาให้ผลบวกต่อโรคออเจสกี้ และจากการนำเซลล์ที่พบเชื้อไวรัสดังกล่าว ไปศึกษารูปร่างและลักษณะด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดลำแสงส่องผ่าน พบ non-enveloped viral particle รวมกันอยู่เป็น cluster ใน nucleus ขนาดของ viral particle เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 75 nm. ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะและรูปร่างของ herpesvirus (Cheville, 1975)

จากประวัติอาการ ลักษณะจุลพยาธิสภาพและจากการเพาะและแยกเชื้อออเจสกี้ประกอบกับรูปร่างและลักษณะที่บ่งว่าเป็น herpes virus เป็นหลักฐานยืนยันว่าลูกสุกรแท้ง 1 ตัว เนื่องจากโรคออเจสกี้

ในรายงานนี้มีประเด็นที่น่าสนใจและยังคงเป็นปัญหาที่น่าติดตามสำหรับนักวิชาการ ที่จะค้นคว้าต่อไป คือ ลูกสุกรแท้งที่ชันสูตรว่าพบโรคออเจสกี้นั้นติดเชื้อมาได้อย่างไร เนื่องจากแม่ได้รับการฉีดวัคซีนโรคนี้มาแล้วทั้งก่อนตั้งท้องและก่อนคลอด จากรายงานของราตรี (1988) และ Pensaert (1989) ได้กล่าวถึงคุณสมบัติของวัคซีนออเจสกี้ว่า ผลของวัคซีนที่ฉีดก่อนท้องจะช่วยลดความรุนแรงของเชื้อออเจสกี้ลงในกรณีที่แม่สุกรติดเชื้อ ส่วนวัคซีนที่ฉีดในขณะแม่สุกรตั้งท้องจะช่วยกระตุ้นในร่างกายแม่สุกร สร้างภูมิคุ้มเพื่อลดความสูญเสียของลูกสุกรในระยะดูดนม แต่ในกรณีที่แม่สุกรได้รับเชื้อที่รุนแรงถึงแม้จะได้รับการฉีดวัคซีนแล้วก็ตาม เชื้อออเจสกี้นี้จะเข้าไปแอบแฝงอยู่ในตัวแม่สุกรโดยที่ไม่ทำให้แม่สุกรเกิดอาการป่วย(Mark, 1991) ต่อเมื่อแม่สุกรเกิดสภาวะเครียด ไวรัสที่แฝงอยู่ก็จะถูกขับออกจากตัวแม่สุกร(Mock, 1981) กรณีแม่สุกรท้องเชื้อนี้ถูกขับจากแม่ผ่านรกมายังลูก (Gustafson, 1986) ทำให้ลูกในท้องตาย จากเหตุผลข้างต้นก็เป็นเหตุผลหนึ่งที่อาจจะอธิบายได้ว่า ลูกสุกรแท้งที่ชันสูตรว่าตายเพราะโรคออเจสกี้ติดเชื้อมาได้อย่างไร และมีอีกเหตุผลหนึ่งที่อาจจะตอบปัญหาดังกล่าวได้ คือ เนื่องจากเจ้าของฟาร์มไม่ได้คัดแม่สุกรที่เป็นพาหะ (carrier) ทิ้ง แม่สุกรตัวนี้อาจมีเชื้อออเจสกี้ไวรัสแฝงอยู่ แต่แม่สุกรไม่แสดงอาการป่วยเนื่องจากได้รับภูมิคุ้มจากวัคซีน



รูปที่ 3 จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แสดงกลุ่มของ herpes virus ใน nucleus กำลังขยาย ≠ 32,000

ต่อมาแม่สุกรตั้งท้องและเกิดสภาวะเครียด ไวรัสที่แฝงอยู่ก็ถูกขับออกมายังลูกโดยผ่านทางรกและทำให้ลูกในท้องตาย จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้นนักวิชาการสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการศึกษาและค้นคว้า เพื่อที่จะตอบปัญหาต่อไป

เอกสารอ้างอิง

บุญมี สัญญสุจจารี, พิเคราะห์ อาจทรงคุณ และมาโนช เพื่องฟูพงศ์ 2521(1978) รายงานเบื้องต้นเกี่ยวกับโรคซึ่งมีลักษณะของAujeszky's Disease ในสุกร สัตวแพทยสาร 29 (3) : 1-11

พิพล สุขสายไทยชะนะ, นพ สุขบัญญธรรม, นิวัฒน์ สินสุวงศ์, ราตรี วงษ์วัชรดำรง, ผดุม ขุมจันทร์, มาซูโอะ อูชิมูระ และชิเจอร์รุ คิชิ 2527 (1984) การระบาดของโรค Aujeszky's disease ในสุกรทางภาคใต้ของประเทศไทย เวชชสารสัตว-แพทย์ 14 (4) : 310-317

ราตรี วงษ์วัชรดำรง 2531 (1988) บทความพื้นวิชา พัฒนาการของวัคซีนโรคออเจสกี้ สัตวแพทยสาร 39 (4) : 149-156

Cheville, N.F. 1975. Herperviruses. In. Cytopathology in Viral Diseases. Kelnick,J.L. ed. Basel, New York, Karger. p 30-411.

Gustafson, D.P. 1986. Pseudorabies In : Diseases of swine. 6th ed Iowa State University Press. p 274-288.

Hsu, F.S., Chu, R.M., Lee, R.C.T., and Chu, S.H.J. 1980. Placental lesions caused by pseudorabies virus in pregnant sows. JAVMA. 177. (7) : 636-641.

Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C., and Palmer, N. 1985. Pathology of domestic animals 3rd ed Vol 1. Academic Press. London. p 296-297.

Mark, A.S., George, W.B. Dorothy, P.M. 1990 Pseudorabies virus latency and reactivation in vaccinated swine. Am J vet Res. 51 (3) : 334-336.

Mock, R.E., Crandell, R.A. Mesfin, G.M. 1981. Induced latency in pseudorabies vaccinated pigs. Can J comp Med. 45 : 56-59.

Pensaert, M.B. 1989. Virus Infections of Procines Herpesuiridae. Elsevier science Publishers. New York. p. 41-59.

Sheehan, D.C., and Hrapchak, B.B. 1980. Theory and practice of histotechnology. 2nd ed. The C.V. Mosby comp. p. 144.