วารสารชีวผลิตภัณฑ์

ปีที่ 5 เล่มที่ 1 มีนาคม 2538

The Journal of Veterinary Biologics *Vol.5 No.1 March 1995*

* การผลิตและเลี้ยงไก่ปลอดเชื้อที่ทำให้เกิดโรคในโรงเรือนสภาพปิด.....1

* วิธีการเพาะเลี้ยงและพฤติกรรมของกระจงหนูในห้องปฏิบัติการ.....14

* ความคุ้มโรคแรกเริ่มหลังฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดต่าง ๆ.....25

* การทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมัน กับชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์.....34

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.

วารสารชีวผลิตภัณฑ์ : ฉบับที่ 1 ประจำเดือน มีนาคม 2538
พิมพ์เผยแพร่ มีนาคม 2539

คำแนะนำสำหรับผู้เขียน

วารสารชีวผลิตภัณฑ์ เป็นวารสารเผยแพร่งานวิชาการของ กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ กำหนดออกปีละ 2 ฉบับคือเดือนกันยายน และเดือนมีนาคม วัตถุประสงค์เพื่อพิมพ์เผยแพร่งานทางด้านวิชาการของกองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ และหน่วยงานอื่น ที่ใกล้เคียงกัน 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)** ให้เขียนนำหน้าตัวเรื่องเป็นการสรุปสาระสำคัญของเรื่อง โดยเฉพาะวัตถุประสงค์ วิธีการและผล ไม่ควรเกิน 200 คำ หรือ 3% ของตัวเรื่อง 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 เพื่อสนับสนุนหรือคัดค้านหลักฐานที่มีผู้เสนอมาก่อน

5.4.3 เพื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองและการคิดความหมายของผู้อื่น

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 ให้เรียงลำดับชื่อผู้แต่งหรือผู้ราชงานตามตัวอักษร เริ่มด้วยเอกสารภาษาไทยก่อน แล้วต่อด้วยเอกสารภาษาต่างประเทศ เอกสารอ้างอิงหลายเรื่องที่มีผู้แต่งคนเดียว หรือชุดเดียวกันให้เรียงตามลำดับปีของเอกสาร ถ้ามีเอกสารอ้างอิงหลายเรื่องโดยผู้แต่งคนเดียวกัน หรือชุดเดียวกันภายในปีเดียวกัน ให้ใส่อักษร ก, ข, ... ในเอกสารภาษาไทย และ a,b, ... ในเอกสารภาษาต่างประเทศ ไว้หลังปีของเอกสาร

5.6.2 การเขียนชื่อผู้เขียน กรณีเอกสารภาษาไทย ให้ใช้ชื่อเต็ม โดยใช้ชื่อต้วนำหน้าตามด้วยชื่อสกุล 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) ชื่อเรื่องภาษาอังกฤษที่เอกสารนั้นอ้างถึงอีกหอดหนึ่งทุกคำ จะต้องขึ้นต้นด้วยตัวพิมพ์ใหญ่ (capital letter) ยกเว้นคำที่เป็นคำนำหน้านาม (article) คำสันธาน (conjunction) และคำบุรพบท (preposition) ในบางกรณี เช่น ชื่อ species ซึ่งขึ้นด้วยตัวพิมพ์เล็กอยู่แล้ว ให้ขึ้นต้นด้วยตัวพิมพ์เล็ก แต่หากคำเหล่านี้เป็นคำแรกของชื่อเรื่องให้ขึ้นต้นด้วยตัวพิมพ์ใหญ่ ส่วนเอกสารที่ผู้เขียนอ้างถึง หากมิใช่หนังสือคำรา 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) โดยคณะกรรมการจะแจ้งให้ทราบเพื่อหาความตกลงกับเจ้าของเรื่องก่อน

การผลิตและเลี้ยงไก่ปลอดเชื้อที่ทำให้เกิดโรคในโรงเรือนสภาพปิด

THE PRODUCTION OF SPECIFIED-PATHOGEN FREE (SPF) CHICKENS MAINTAINED AS A CLOSED FLOCK

ทาริกา ประมูลสินทรัพย์[1]
Tarika Pramoolsinsap

ABSTRACT

Specific pathogen free (SPF) chicken strain L-M chickens were kept in the barrier system housed and filtered air under positive pressure (FAPP). The diet and water were essentially stiriled. Intensive mating system and artificial insemination (AI) were applied to the producing chickens that are maintained in individual cages. Egg producting of these chickens during 6-15 months of age was 55-75%, Fertility and hatchability of the eggs produced were 75% and 90-95%. Flocks are routinely monitored for agents. No antibodies against pathogens six bacteria and fifteen viruses were detected from these chicken at various ages. Also, no gastro-intestinal parasites were observed. Some techniques and recommendations were made to set up of the SPF chickens colony in the developing country especially in our country, Thailand.

บทคัดย่อ

การผลิตและเลี้ยงไก่ไข่ปลอดเชื้อที่ทำให้เกิดโรค (SPF) พันธุ์ L-M ในโรงเรือนสภาพปิด โดยมีระบบควบคุมป้องกันการเกิดของเชื้อโรค (barrier system) ร่วมกับอากาศบริสุทธิ์ที่ผ่านเยื่อกรองเข้าไป จนทำให้ความกดดันอากาศภายในห้องเลี้ยงเป็นบวก (FAPP) ให้เฉพาะอาหารและน้ำที่ผ่านขบวนการปลอดเชื้อที่ทำให้เกิดโรค ใช้ Intensive

---

Keyworkds : SPF chickens ; production ; closed flock.

[1] ฝ่ายเลี้ยงสัตว์ทดลอง สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ เกษตรกลาง บางเขน กรุงเทพ ฯ 10900
Experimental Animal Unit, National Institute of Animal Health, Department of Livestock Development, Kasetklang, Bangkhen, Bangkok 10900.

mating system และการผสมเทียม (Artificial insemmination) เป็นการขยายพันธุ์และเพิ่มจำนวนไก่ แม่ไก่อายุ 6-15 เดือน ประมาณ 55-75% ของทั้งหมดจะวางไข่พบว่าเป็นไข่ที่ถูกผสม 75% และสามารถฟักออกมาเป็นตัวได้ 90-95% มีการตรวจสอบโรคในฝูงไก่ที่มีอายุแตกต่างกันอยู่เสมอแต่ไม่พบเลยว่าไก่มีภูมิต้านทานต่อโรคทางแบคทีเรีย 6 โรค และโรคทางไวรัส 15 โรค แม้แต่โรคพยาธิทางเดินอาหารก็ตรวจไม่พบ เทคนิคและข้อแนะนำการผลิตและเลี้ยงไก่ไข่ SPF บางประการจากรายงานนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานอันเป็นประโยชน์ยิ่งต่อกิจการเลี้ยงไก่ไข่ SPF ที่อาจจะนำมาปรับใช้ในประเทศไทยเราภายภาคหน้าได้ดี

คำนำ

Specified-pathogen free (SPF) animal หมายถึงสัตว์ปลอดเชื้อจุลินทรีย์พยาธิ และโปรโตซัว ที่ทำให้เกิดโรค แต่มิได้หมายความรวมไปถึงเชื้อตามธรรมชาติทุกชนิดที่มีอยู่ในร่างกายสัตว์ปกติ โดยต้องผ่านการตรวจสอบความปลอดเชื้อเฉพาะชนิด (Gray, 1973 : Hein, 1973) การผลิตสัตว์ SPF สามารถกระทำได้ภายใต้ 2 ระบบ คือ

1. Barrier system ระบบนี้ติดตั้งไปพร้อมกับการก่อสร้างอาคารเลี้ยงสัตว์ SPF จัดเป็นระบบควบคุมป้องกันเชื้อโรคที่ปลอมปนติดมากับสัตว์หรือจากอาณาบริเวณอื่น ๆ เข้ามาในห้องเลี้ยงสัตว์แล้วทำให้สัตว์เลี้ยงเป็นโรค วัสดุอุปกรณ์ทุกชนิดที่จะนำเข้ามาภายในโรงเรือนสัตว์ต้องผ่านระบบการฆ่าเชื้อโรค อากาศที่หมุนเวียนอยู่ภายในโรงเรือนสัตว์ต้องเป็นอากาศที่บรสุทธิ์ผ่านเยื่อกรองเข้าไป จนทำให้ความกดดันอากาศภายในห้องเลี้ยงสัตว์เป็นบวก (FAPP) (Anderson et al., 1972 ; Drury et al., 1969 ; Zhu et al., 1988) รวมทั้งบุคคลากรที่ต้องเข้ามาในห้องเลี้ยงสัตว์ต้องผ่านการอาบน้ำชำระล้างร่างกายเปลี่ยนเสื้อผ้ารองเท้าที่สะอาดและผ่านการฆ่าเชื้อโรคแล้ว (Peterson, 1969 ; Poole, 1987 ; Walker and Poppleton, 1967)

2. Isolator เป็นตู้เลี้ยงสัตว์ปลอดเชื้อ โดยแยกจากสภาพแวดล้อมและบุคคลภายนอกตู้นี้โดยเด็ดขาด มักจะทำด้วย Polyvinyl chloride (PVC) (Dennett and Bugust, 1979 ; Poole, 1987)

ในประเทศที่กำลังพัฒนาบางประเทศ เช่น จีน มาเลเซีย อินโดนีเซีย ได้เล็งเห็นถึงความสำคัญของการปรับปรุงคุณภาพชีวผลิตภัณฑ์โดยมีการนำเอาไข่ไก่ SPF จำนวนมากมาทดแทนไข่ไก่ที่ได้จากการเลี้ยงไก่ไข่ระบบสามัญธรรมดา (conventional eggs) ใช้เป็นวัตถุดิบที่สำคัญในการผลิตวัคซีนที่ใช้กับมนุษย์และวัคซีนสัตว์โดยใช้ตัวอ่อนของไข่ไก่ (embryonated chicken eggs) หรือไฟโบรบลาสเซลล์ของตัวอ่อนในไข่ไก่(chicken embryo fibroblast cell) และใช้ในงานวิจัยตรวจสอบคุณภาพไวรัสวิทยาของสัตว์ปีก เพื่อให้ได้วัคซีนที่บริสุทธิ์และปลอดภัยต่อมนุษย์และสัตว์ โดยไม่ต้องกังวลถึงความเสี่ยงต่อเชื้อปนเปื้อนที่

คำสำคัญ : ไก่ปลอดเชื้อ ; การผลิต ; โรงเรือนปิด

ติดมากับ conventional eggs นอกจากนี้แล้วยังมีผลให้การวิจัยตรวจสอบคุณภาพได้ผลแม่นยำถูกต้องเป็นที่เชื่อถือได้ (Gray, 1973 ; Hein, 1973 ; Zhu et al., 1988)

งานวิจัยนี้เนื้อหาส่วนมากเกี่ยวกับวิธีการริเริ่มก่อตั้งไก่ไข่ SPF จากพ่อแม่พันธุ์ไก่ไข่ที่มีระบบการเลี้ยงแบบสามัญธรรมดา การผลิตและแพร่ขยายพันธุ์ไก่ไข่ SPF โดยการผสมเทียม ข้อมูลพื้นฐานทางด้านกายภาพ และการเจริญพันธุ์ของไก่ไข่ SPF พันธุ์ L-M การปฏิบัติงานประจำวันและวิธีการเลี้ยงสัตว์เพื่อให้คงสภาพความเป็นไก่ไข่ SPF ตลอดไปโดยให้สอดคล้องกับเศรษฐกิจของประเทศชาติด้วย

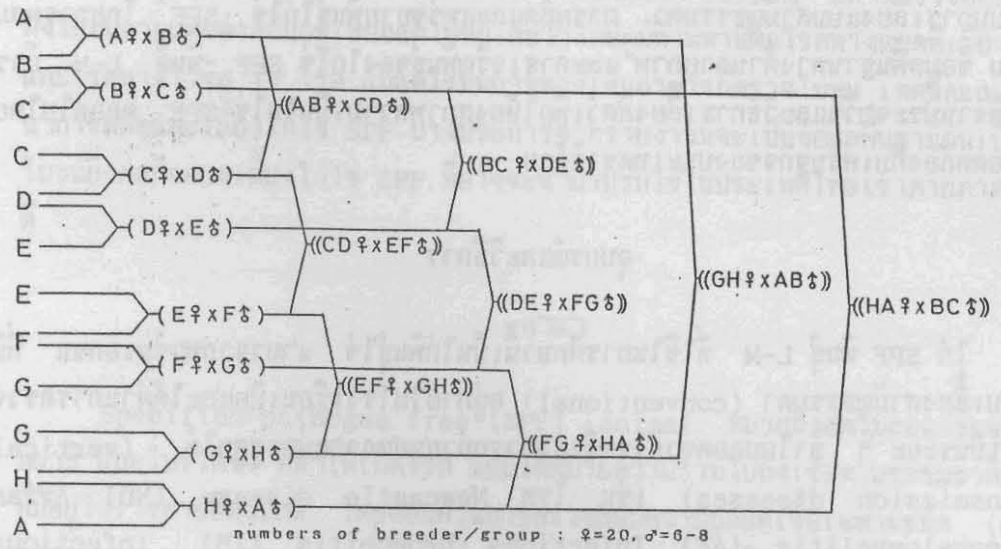
อุปกรณ์และวิธีการ

ไก่ SPF พันธุ์ L-M ที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นไก่พันธุ์ไข่ นำมาจากฟาร์มเอกชน ที่มีระบบเลี้ยงสามัญธรรมดา (conventional) อยู่ภายในโรงเรือนเปิดและได้ผ่านการตรวจสอบเป็นระยะ ๆ ว่าไก่ปลอดจากโรคซึ่งสามารถถ่ายทอดจากแม่มาสู่ลูกได้ (vertical transmission diseases) เช่น โรค Newcastle disease (ND) Avian encephalomyelitis (AE) Infectious bronchitis (IB) Infectious laryngotracheitis (ILT) Marek's disease (MD) Avian leucosis (AL) จึงถูกคัดเลือกมาเลี้ยงที่สถานีวิจัยสัตว์ทดลองของสถาบันชีววิทยาแห่งประเทศญี่ปุ่น (Nippon Institute of Biological Science Laboratory Animal Research Station) ในสภาพเดียวกับฟาร์มข้างต้นนี้ จากนั้นมีการปรับเปลี่ยนสภาพโรงเรือนทีละเล็กละน้อยจนเลี้ยงไก่อยู่ในโรงเรือนปิด สภาพกึ่ง SPF คือไม่มีหน้าต่าง อากาศที่ใช้หมุนเวียนถ่ายเทภายในโรงเรือนเป็นอากาศที่ได้รับการควบคุมให้มีอุณหภูมิที่พอเหมาะคงที่ ร่วมกับการทำให้บริสุทธิ์ปลอดเชื้อโดยผ่านเยื่อกรองอากาศ (filter) ที่มีประสิทธิภาพในการดักจับเชื้อโรคต่าง ๆ กัน และท้ายสุดจึงสามารถก่อตั้งเป็นไก่ไข่ SPF สมบูรณ์แบบได้สำเร็จภายในโรงเรือนที่มีระบบ barrier ควบคุม เริ่มจากพ่อแม่พันธุ์ไก่จำนวน 1,200 ตัว ทำการแพร่ขยายพันธุ์ได้ต่อไปเรื่อย ๆ แบบ closed colony คือ ไม่นำพ่อแม่พันธุ์จากแหล่งอื่นใดทั้งสิ้นเข้ามาผสมเพื่อปรับปรุงพันธุ์ และไม่ผสมพันธุ์ไก่ที่มาจากพ่อแม่เดียวกันหรือสายเลือดใกล้ชิดกัน (non-inbreeding system) (Furuta et al., 1980) เพื่อไก่ที่ได้จะไม่อ่อนแอ โดยนำระบบหมุนเวียนและเพิ่มผลผลิตได้อย่างมีประสิทธิภาพมาใช้ (Rotation and Intensive mating system) ดังแสดงในภาพที่ 1 (Takamatsu, 1973)

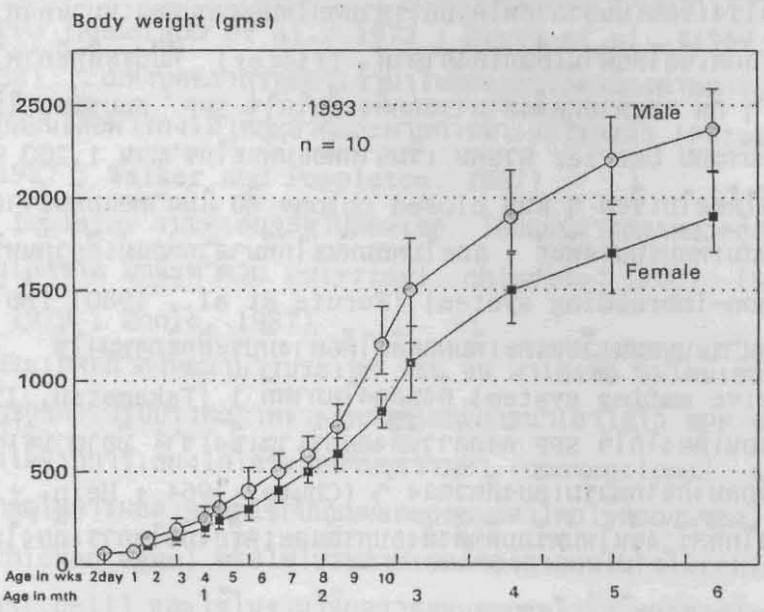
โรงเรือนเลี้ยงไก่ไข่ SPF ดังกล่าวนี้ตั้งอยู่บริเวณเชิงเขา มีอาณาบริเวณที่เป็นเอกเทศและห่างไกลมากจากฟาร์มเลี้ยงสัตว์ต่าง ๆ (Chute, 1964 ; Hein, 1973) ซึ่งเป็นโรงเลี้ยงไก่ที่สร้างขึ้นใหม่พร้อมติดตั้งตั้งอุปกรณ์และเครื่องมือในการเลี้ยงไก่ ฉะนั้นจึงจำต้อง

1. ผ่านขบวนการทำลายเชื้อโรค (Paterson, 1969) โดยการ ปัด กวาด เช็ดถู ขัดล้าง จนสะอาด พ่นน้ำยาฆ่าเชื้อ (Taylor, 1974) อีก 2 วันต่อมาจึงรมควันจากสารเคมีชนิดต่าง ๆ ทั้ง 3 ชนิด คือ เมทิลโบรไมด์ (Methyl bromide) ออกฤทธิ์ฆ่าแมลงต่าง ๆ พ่นด้วยแอมโมเนีย (ammonia) ออกฤทธิ์ทำลาย oocysts ของ coccidial พ่น

ภาพที่ 1 : Rotation mating system in SPF-chicken (L-M)



ภาพที่ 2 : Growth rate of SPF chicken (L-M)



ด้วยฟลอมาลดีไฮด์ (formaldehyde) เพื่อออกฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรียและไวรัส (Sebesteny, 1992) และ

2. ขบวนการทดสอบทางจุลชีววิทยา โดยนำตัวอย่างที่เก็บมาจากวิธีการป้ายตามจุดต่างๆ 100 จุด ต่อ 1 โรงเลี้ยงไก่ แล้วนำมาเพาะเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ (Taylor, 1974) เพื่อทำการพิสูจน์ยืนยันจนแน่ใจได้ว่าปลอดเชื้อจริง จึงนำไก่เข้ามาเลี้ยงได้ ภายในโรงเรือนเลี้ยงไก่ SPF ทุกห้อง ยกเว้นห้องเครื่องจักรยนต์ห้องกำเนิดไอน้ำร้อน(Boiler) ภายในห้องเลี้ยงไก่ ความกดอากาศเป็นบวก อากาศที่เข้าไปจะถูกทำให้บริสุทธิ์และปลอดเชื้อโดยขั้นแรกผ่านเครื่องดักจับฝุ่นละออง ผ่านเยื่อกรองอากาศที่มีประสิทธิภาพต่ำหนึ่งชั้น (Prefilter) ขั้นสองผ่านเยื่อกรองอากาศที่มีประสิทธิภาพกลาง (Medium filter) และขั้นสุดท้ายผ่านเยื่อกรองอากาศที่มีประสิทธิภาพสูง (Cambridge HEPA filter) ตามลำดับ ใต้เพดานโรงเลี้ยงไก่ติดตั้งท่อส่งลมซึ่งมีช่องเปิดเป็นรูปตัว D เพื่อจ่ายลมเข้าไปภายในห้องเลี้ยงไก่ทั้งหมด 6 ครั้ง/ชั่วโมง (Hein, 1973) ด้วยความเร็ว 1.6 เมตร/วินาที และถูกระบายออกภายนอกโรงเรือนทั้งหมดโดยผ่านห้องเตรียมอุปกรณ์ที่ 2(air complete changed หรือ all in all out) ในห้องเลี้ยงไก่ควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง 10°C. ถึง 28°C. ความชื้นสัมพัทธ์ 40-75% แสงสว่างจากดวงไฟ 14 ชั่วโมง/วัน (Bowman, 1960) การแพร่ขยายพันธุ์โดยการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อสดจากตัวผู้ (Chute, 1964 ; Furuta et al., 1980) เพื่อคำรงไก่ให้มีสภาพเป็น SPF ตลอดไป จึงควรเก็บตัวอย่างเลือด จำนวน 5-20 มิลลิลิตร/ไก่ 1 ตัว ในไก่อายุ 1, 60-90, 180, 270, 360, 450, 540 และ 630 วัน เพื่อนำมาตรวจแยกชนิดของเชื้อโรค และตรวจสอบทางซีรั่มทางวิทยาเพื่อหาภูมิคุ้มกันต่อโรคต่าง ๆ โดยวิธีการตรวจสอบต่าง ๆ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1

เลี้ยงไก่ระยะต่าง ๆ ด้วยอาหารที่ผลิตขึ้นใช้เองตามกรรมวิธีที่ปราศจากเชื้อโรคและผ่านขบวนการฆ่าเชื้อโรคด้วยการรมควันฟลอมาลดีไฮด์ การตรวจสอบคุณภาพและวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร ดังแสดงในตารางที่ 2 วัตถุดิบที่ผสมจนเข้ากันดีแล้วจะถูกส่งผ่านเข้าเครื่องอัดเม็ดและไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80°-100°C. ความดัน 4.0 กก./ตร.ซม. เพื่อฆ่าเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรีย โดยไม่ทำลายคุณค่าทางอาหารหรือวิตามินต่าง ๆ ในวัตถุดิบ (Foster et al.,1964 ; Furuta et al,1980 ; Paterson and Cook, 1971) น้ำที่ใช้เลี้ยงไก่เป็นน้ำประปาที่ประชาชนทั่วไปใช้ดื่ม นำมาผ่านเครื่องกรองน้ำ (Viledon filter) และเครื่องฆ่าเชื้อโรคด้วยแสงเหนือม่วงซ้ำ 2 เครื่อง (double UV-sterile pot) ส่งน้ำที่ผ่านการกรองและฆ่าเชื้อแล้วนี้ผ่านไปตามท่อให้ไก่โดยตรง ในแต่ละเดือนมีการเก็บตัวอย่างน้ำตามจุดต่าง ๆ มาทำการตรวจสอบทางจุลชีววิทยา (Walker and Poppleton, 1967) วัสดุหรืออุปกรณ์ต่าง ๆ ที่จะนำเข้าไปใช้ หรือของเสียที่จะนำออกมาภายนอกต้องผ่านขบวนการฆ่าเชื้อด้วยเครื่องออโตเครฟ 2 ประตู (A double - ended autoclave) หรือผ่านทางอ่างน้ำยาสารเคมีฆ่าเชื้อโรค (chemical dunk-tank) และแสงเหนือม่วงโดยไม่ทำให้ความกดอากาศเปลี่ยนแปลงไป พนักงานเลี้ยงสัตว์ก่อนที่จะเข้าไปปฏิบัติงานภายในห้องเลี้ยงสัตว์ต้องอาบน้ำชำระล้างร่างกาย สระผม เปลี่ยนเสื้อผ้าทุกชิ้นใหม่ สวมหมวก ผ้าปิดจมูก รองเท้าบูท ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อโรคอย่างสมบูรณ์ (Paterson, 1969)

ตารางที่ 1 Standard of Monitoring of SPF flocks. (SPF)

Pathogens	Strains	Assay stage and Sampling rate				Detect Method	Amount of used serum
		First		2nd, afterward			
		Age	%	Period	%		
Newcastle disease virus (NDV)	Ishii	06-90d	20	eve.3mth	10	HI	25 µl.
Avain infectious bronchitis virus (IBV)	ON	"	"	"	"	SN,VN	300
- " -	C-78	"	"	"	"	"	300
Avain leukosis virus (ALV)	Sub A,B	"	"	"	"	"	300
Avain encephalomyelitis virus (AEV)	VR	"	"	"	"	AGP	50
Avain nephritis virus (ANV)	G-4260	"	"	"	"	FA,SN	100
Infectious laryngotracheitis virus (ILTV)	NS175	"	"	"	"	SN	50
Reticuloendotheliosis virus (REV)	T	"	"	"	"	FA	100
Marek's disease virus (MDV)	JM	"	"	"	"	AGP	30
Infectious bursal diseases virus (IBDV)	J-1	"	"	"	"	AGP	30
Avain Reovirus (ARV)	Uchida	"	"	"	"	AGP	30
Avain adenovirus (AAV)	Ote	"	"	"	"	AGP	30
EDS -76 virus (EDS)	JPA-1	"	"	"	"	AGP	25
Avain influenza virus (AIV)	5331	"	"	"	"	HI	
Avain parainfluenza virus (APIV)	Yucuipa	"	"	"	"	HI	
Infectious coryza type A (ICA)	221	"	"	"	"	HI	25
Infectious coryza type C (ICA)	G-1	"	"	"	"	HI	25
Salmonella pullorum (SP)	9-25	"	"	"	"	Agg.	30
Mycoplasma gallisepticum (MG)	S6	"	"	"	"	Agg.	30
Mycoplasma synoviae (MS)	WVU1853	"	"	"	"	Agg.	30
Fowl pox virus (FPV)		daily	100	daily	100	Co	-
Salmonella (Except S.pullorum) (Sal.)		"	"	"	"	Co	-

HI = Haemagglutination inhibition test ; SN = Serum Neutralization test.

VN = Virual Neutralization test ; AGP = Agar gel precipitation test.

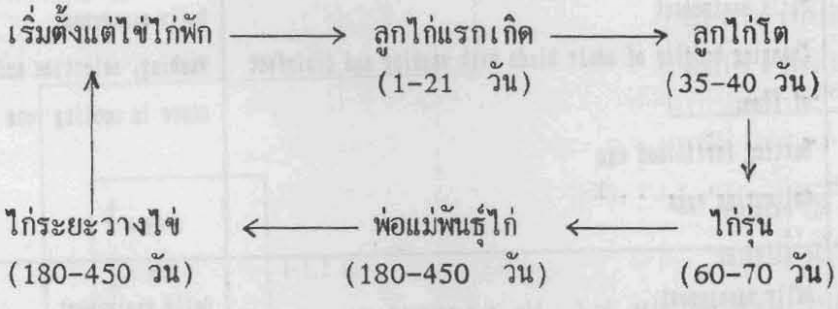
Agg. = Plate Agglutination test ; FA = Fluorescent assay.

CO. = Clinical obervation ; ELISA = Enzyme link immuno sorbant assay.

ตารางที่ 2 An analysis table of SPF-chicken feed

Feed quality %	Starter	Grower	Layers	Breeders
Moisture	10.50	10.00	10.41	10.10
Crude Protein	20.48	20.42	15.45	21.25
Crude Fat	3.19	3.89	3.15	3.07
Crude Fiber	3.03	3.66	3.83	2.46
Ash	6.88	6.72	8.29	10.28
NFE	55.92	55.31	58.89	52.84

ระบบแบบแผนการจัดการและการเลี้ยงไก่ SPF เป็นแบบครบวงจรชีวิตอยู่ในโรงเรือนเดียวกัน คือ



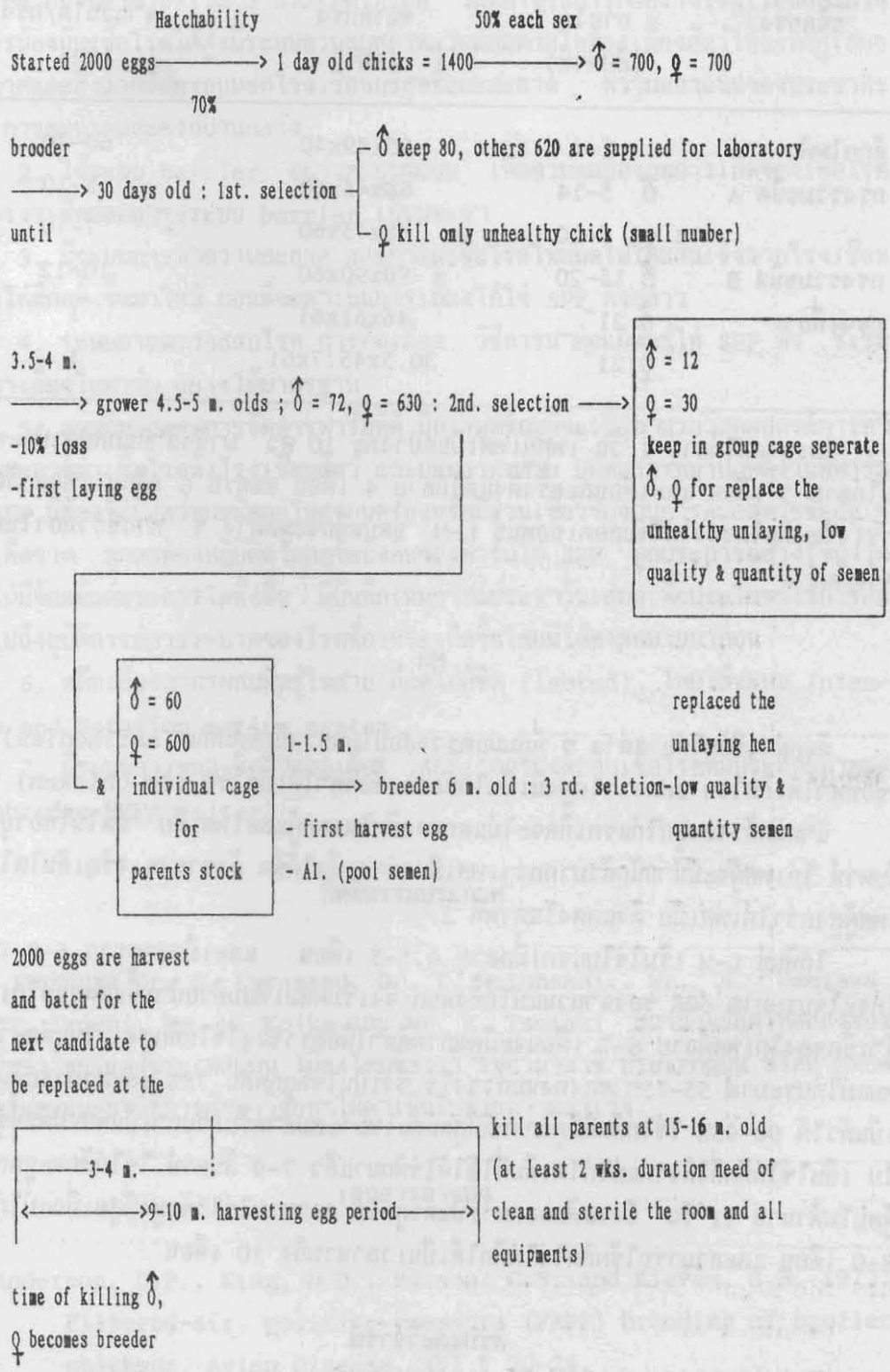
และได้จัดให้เป็นแบบแผนของการปฏิบัติงานการเลี้ยงไก่ SPF ประจำสัปดาห์อย่างมีประสิทธิภาพโดยจะต้องยึดถือและปฏิบัติตามทุกประการอย่างเคร่งครัด ดังที่แสดงไว้ในโปรแกรมตารางที่ 3,4 ทุกวันเก็บไข่ไก่มาล้างด้วยน้ำอุ่น 37°-40°C. (Furuta et al., 1980) ผสมน้ำยา Benzalkonium Chloride 10% (Takamatsu, 1973) ผึ่งให้แห้งคัดเลือกแบ่งไข่ตามคุณภาพนำมาเก็บไว้ในห้องเย็นที่ 13°-15°C. ความชื้นสัมพัทธ์ 65-70% นาน 1-7 วัน ทุกสัปดาห์จะนำไข่ดังกล่าวมาวางเรียงไว้ในตู้อบไข่ (incubator) ที่มีอุณหภูมิ 37°C. ความชื้นสัมพัทธ์ 65-70% (Sheldon and Brake, 1991) วันที่ 5 และ 12 นำไข่จากตู้อบตรวจส่องดูด้วยไฟเพื่อคัดเอาไข่ที่ไม่ถูกผสม หรือตัวอ่อนตายออกทำลาย วันที่ 18 จึงย้ายไข่ออกจากตู้อบ (incubator) ลงบนถาดพัก (hatcher) เมื่อครบ 21 วันไข่จะพักเป็นตัว แยกเพศลูกไก่อายุ 1 วัน ตามวิธีการของ Canfield, 1940 (Canfield, 1940) พร้อมคัดเอาแต่เฉพาะลูกไก่ที่มีสุขภาพแข็งแรงมาเลี้ยงในตู้กกไฟฟ้า (Brooder) อุณหภูมิ 33°C. ค่อย ๆ ลดอุณหภูมิลงจนเท่าอุณหภูมิห้องเลี้ยงสัตว์ 18°C. เมื่อมีอายุครบ 4 สัปดาห์ (Furuta et al., 1980) ไก่โตจะนำมาเลี้ยงไว้ในกรงรวมจนกระทั่งอายุ 20 สัปดาห์ จึงแยกเลี้ยงในกรงเดียว ดังตารางที่ 5 (Furuta et al., 1980 ; Nicole, 1992 ; Takamatsu, 1973 ; Tauson, 1988)

ตารางที่ 3 Weekly managing schedule in SPF-chicken

Day	Morning	Afternoon
Monday	Daily management Transfer fertilized eggss from setter to hatcher Egg candlings Collecting fertilized eggs Weighting 30 days old chick for supply, ♂, ♀	Daily management Washing collecd eggs & store in cooling room
Tuesday	Daily management Collecting eggs Changing bedding of chicks, starter & young pullets	Daily management Washing, selection and store in cooling room
Wenesday	Daily management Changing bedding of adult birds with washing and disinfect of floor Setting fertilized egg Collecting eggs	Daily management Washing, selection and store in cooling room
Thursday	Daily management Collecting eggs Artificial Insemination Preparation brooder incubator for one day old chicks	Daily management Washing, selection and store in cooling room
Friday	Daily management Collecting eggs Move one day old chicks from hatcher to brooder Cleaning and Disinfect the incubator and hatcher	Daily management Washing, selection and store in cooling room
Sat & Sun	Daily management & Collecting eggs	Same as avove

Notes * Daily management includes feeding, watering, cleaning of houses, observation of birds checking temperature & humidity of incubators, brooders & cooling rooms for egg storage. Everyday open the incubator door and add some water in water pans to get the fresh air and maintain humidity and decrease the problem of ruffled & soiled from plumage.

ตารางที่ 4 แบบแผนการปฏิบัติงานเลี้ยงไก่ SPF พันธุ์ L-M



ตารางที่ 5 แสดงขนาดกรงเลี้ยงไก่ต่อจำนวนและอายุต่าง ๆ กัน

ชนิดกรง	อายุไก่ (สัปดาห์)	ขนาดกรง (ซม.)	จำนวนไก่/กรง (ตัว)
ตู้กกไฟฟ้า	1-4	95x89x40	60-70
กรงรวมชนิด A	♂ 5-14	88x45x60	5-10
	♀ 5-20	88x45x60	7-10
กรงรวมชนิด B	♂ 15-20	90x90x60	10-12
กรงเดี่ยว	♂ 21~	46x61x61	1
	♀ 21~	30.5x45.7x61	1

สุ่มเอาลูกไก่อายุ 1 วัน เพศผู้เพศเมียอย่างละ 10 ตัว มาชั่งน้ำหนักสัปดาห์ละครั้ง จนไก่อายุ 3 เดือน และเดือนละครั้งตั้งแต่ไก่อายุ 4 เดือน จนครบ 6 เดือน เพื่อหาอัตราการเจริญเติบโตของไก่ไข่ปลอดเชื้อพันธุ์ L-M จดบันทึกข้อมูลต่าง ๆ ทางชีววิทยาในการเจริญพันธุ์

ผล

ตัวอย่างซีรัมไก่อายุต่าง ๆ ที่สุ่มมาตรวจสอบไม่พบว่ามีภูมิคุ้มกัน (antibodies) ต่อเชื้อที่ทำให้เกิดโรค แสดงว่าไก่ฝูงนี้เป็นไก่ปลอดเชื้อที่ทำให้เกิดโรค (SP-chicken) จริง

น้ำหนักตัวของลูกไก่แรกเกิดจะไม่แตกต่างกันในเพศผู้และเพศเมีย แต่ในไก่อายุ 6 สัปดาห์ ไก่เพศผู้จะมีน้ำหนักตัวมากกว่าเพศเมียอย่างเห็นได้ชัด อัตราการเจริญเติบโตในไก่เพศผู้สูงกว่าไก่เพศเมีย ดังแสดงในภาพที่ 2

ไก่พันธุ์ L-M เริ่มไข่ใบแรกเมื่ออายุ 4.5-5 เดือน และเมื่ออายุราว 6-8 เดือน ไก่จะไข่ประมาณ 50% ของจำนวนแม่ไก่ทั้งหมด จึงเริ่มผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อสดจากไก่เพศผู้ น้ำเชื้อของไก่เพศผู้อายุ 6-7 เดือนจะมีคุณภาพดีทำให้อัตราของไข่ไก่ฟักสูง ในแต่ละวันจะพบแม่ไก่ประมาณ 55-75% ของทั้งหมดวางไข่ ซึ่งเป็นไข่ที่ถูกผสม 75% และสามารถฟักออกเป็นตัวได้ 90-95% ไข่ไก่ฟักที่มีคุณภาพดีที่สุดและเหมาะสมสำหรับเก็บทำเป็นพ่อแม่พันธุ์รุ่นต่อไป เป็นไข่ไก่ฟักที่ได้จากแม่ไก่โตเต็มที่ได้ให้ไข่ฟักมาแล้ว 7-9 สัปดาห์ ไข่ไก่ฟักจะถูกกกในตู้อบไฟฟ้านาน 21 วัน จึงจะฟักออกมาเป็นตัวลูกไก่ จำนวนไข่ไก่ฟักสูงที่สุดเมื่อแม่ไก่อายุ 8-9 เดือน และสามารถใช้ผลิตไข่ไก่ฟักได้เป็นเวลานานถึง 10 เดือน

สรุปและวิจารณ์

ความสำเร็จในการผลิตและขยายพันธุ์ไก่ไข่พันธุ์ L-M ด้วยระบบ closed colony โดยสามารถคงสภาพปลอดเชื้อที่ทำให้เกิดโรคได้จนถึงทุกวันนี้เป็นเวลานานถึง 26 ปีแล้ว

เนื่องจากมีปัจจัยที่เหมาะสมหลายประการ (Paterson,1969; Takamatsu, 1973) คือ

1. โรงเรือนเลี้ยง SPF และสภาวะแวดล้อม คือ สถานที่ตั้งเป็นเอกเทศไม่มีฟาร์มเลี้ยงสัตว์อยู่ในอาณาบริเวณ 3 กิโลเมตรนี้เลย วัสดุที่ใช้ในการก่อสร้างโรงเรือนมีคุณภาพในการป้องกันเชื้อโรคได้สูงมีระบบควบคุมสภาพแวดล้อมภายในห้องเลี้ยงสัตว์ให้คงที่อยู่เสมอ มีอากาศและสิ่งแวดล้อมรอบนอกโรงเรือนบริสุทธิ์และสะอาด , ความหนาแน่นของประชากรน้อย การคมนาคมสะดวกปานกลาง

2. ใช้ระบบ barrier อย่างสมบูรณ์แบบ เพื่อควบคุมป้องกันการเกิดของเชื้อโรค หมั่นตรวจเช็คซ่อมบำรุงระบบ barrier เป็นประจำ

3. มีระบบการทำความสะอาด และกำจัดเชื้อโรคให้หมดไปโดยสิ้นเชิงจากโรงเรือนเลี้ยงไก่ที่ก่อตั้งขึ้นมาใหม่ ก่อนที่จะดำเนินการเลี้ยงไก่ไข่ SPF ดังกล่าว

4. ระบบการตรวจสอบโรค การคัดเลือก วิธีการนำพ่อแม่พันธุ์ไก่ SPF ตัว ริเริ่มเข้ามาเลี้ยงในฟาร์ม อย่างได้มาตรฐาน

5. สุขาภิบาลและการจัดการฟาร์มที่ดี มีความพร้อมที่จะเอื้ออำนวยวัสดุอุปกรณ์การทำความสะอาดฆ่าเชื้อโรคทั้งโรงเรือนสัตว์ และบุคคลากรด้วย บุคคลากรที่มาปฏิบัติงานที่ฟาร์มไก่ SPF นี้ต้องไม่มีสัตว์ทุกชนิดอยู่ในครอบครองหรือมีส่วนเกี่ยวข้องกับการดูแลสัตว์ชนิดอื่น ๆ โดยเด็ดขาด ทุกคนต้องปฏิบัติตามกฎข้อบังคับของฟาร์มไก่ SPF ทุกประการอย่างเข้มงวด โดยไม่มีข้อแม้แต่ประการใดทั้งสิ้น มีบันทึกเหตุการณ์ประจำวันเสมอเพื่อประโยชน์ในการสืบย้อนไปถึงอุบัติการณ์การระบาดของโรคที่อาจจะเกิดขึ้นโดยมิได้คาดหมายมาก่อน

6. หลีกเลี่ยงการผสมพันธุ์ในสายเลือดใกล้ชิด (inbred) โดยใช้ระบบ Intensive and Rotation mating system

7. มีระบบการขนส่งสัตว์ปลอดเชื้อ โดยมีเยื่อกรองดักจับเชื้อโรคที่มีประสิทธิภาพสูง (Cambridge HEPA Filter)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ Dr. S. Kuramasu, Dr. T. Motohashi, Mr. H. Umezawa, Dr. T. Izuchi, Mr. M. Koike และ Mr. K. Tsutaki สถานีวิจัยสัตว์ทดลองของสถาบันชีววิทยาแห่งประเทศญี่ปุ่น เมืองโคบูชิซาวา รัฐยามานาชิ ประเทศญี่ปุ่น ที่ได้ถ่ายทอดความรู้และแนะนำวิธีการศึกษาวิจัยทำให้ดำเนินไปด้วยความสำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

1. Anderson, D.P., King, D.D., Edison, C.S. and Kleven, S.H. 1972. Filtered-air positive-pressure (FAPP) brooding of broiler chickens. Avian Disease. XVI : 20-26.

2. Bowman, J.C. 1960. Lighting techniques for domestic fowl. I. Experiment 1958-59. British Poultry Science I. 122-134.

3. Canfield, T.H. 1940. Sex determination of day-old chicks. Poult. Sci. 19 : 235-238.
4. Chute, H.L. 1964. Studies on the commercial production of SPF poultry. Proceedings sixty-eighth annual meeting of the United States Livestock Sanitary Association. Braun-Brumfield Inc. Ann. Arbor, Michigan printed. 211-220.
5. Dennett, D.P. and Bagust, T.J. 1979. Application of a flexible-film isolator for rearing specific pathogen free chickens and investigating poultry pathogens. Avian Pathology 8 : 289-299.
6. Drury, L.N., Patterson, W.C. and Bread, C.W. 1969. Ventilating poultry houses with filtered air under pressure to prevent ariborn disease. Poult. Sci. 48 : 1640-1646.
7. Foster, H.l., Black, C.L. and PFAU, E.S. 1964. A pasteurization process for pelleted diets. Lab. Anim. Care. 14 : 373-381.
8. Furuta, K., Ohashi, H., Obana, J. and Sato, S.1980. Performance of 3 successive generations of specofied-pathogen free chickens maintained as a closed flock.lab.Anim.14:107-112.
9. Furuta, K., Oku, I. and Morimoto, S. 1980. Effect of steam temperature in the pelleting process of chicken food on the viabilety of contaminating bacteria. Lab. Anim. 14 : 293-296.
10. Gray, A.1973. The maintenance of specific pathogen-free flocks of chickens and ducks for the manufacture of Marek's disease vaccine. Develop. biol. Standard. 25 : 25-29.
11. Hein, R.G. 1973. The development of SPF units for poultry and its management. Develop. biol. Standard. 25 : 31-40.
12. King, D.F.1961. Effect of increasing, decreasing and constant lighting treatments on growing pullet. Poultry Science. 40 : 479-489.
13. Lillie, R.J. and Deaton, C.A. 1965. Effect of lighting systems in the grower and adult periods upon the over all performance of White Leghorns. Poultry Science. 44 : 801-808.
14. Morris, J.R. 1967. Light requirements of the fowl in environmental control in poultry production.(ed. T.C. Cater), pp. 15-39. Edinburgh Oliver & Boyd.

15. Nicol, C.J. 1992. Poultry cage design an update. The Veterinary Annual 32 : 293-298.
16. Paterson, J.S. 1969. The production and use of pathogen-free animals. The I.A.T. Manual of Lab. Ani. Pract. and Tech. 410-429.
17. Paterson, J.S. and Cook, R. 1971. Utilizatuib if diets sterilized by Gamma Irradiation for germfree and specific pathogen free laboratory animals. National Academy of Sciences ; Washington. 586-596.
18. Poole, T.B. 1987. The animal house : design equipment and environmental control. The UFAW handbook on the care and management of laboratory animal. 6 ed. 108-143.
19. Sebesteny, A., Milite, G. and Martelossi P. 1992. Microbiologically monitored fumigation of a newly built SPF laboratory rodent facility. Lab. Anim. 26 : 132-139.
20. Sheldon, B.W. and Brake, J. 1991. Hydrogen Peroxide as an alternative hatching egg disinfectant. Poult. Sci. 70(5) : 1092-1098.
21. Takamatsu, Y. 1973. Production and maintenance of SPF flock. Develop. biol. Standard. 25 : 41-43.
22. Tauson, R. 1988. Effects of redesign. in : cages for the future, pp.42-69. Cambridge Poultry Confernce, ADAS.
23. Taylor, R.j. 1974. The sterilization of a new building designed for the breeding of specific-pathogen-free animals. J. Hyg. Camb. 72 : 41-46.
24. Walker, A.I.T. and Poppleton, W.R.A. 1967. The establishment of a specific pathogen free rat and mouse breeding unit. Lab. Anim. 1 : 1-5.
25. Zhu, G., et al. 1988. Problems on management of specific pathogen free (SPF) chickens maintained in China and their performance. Jpn. Poult. Sci. 25 : 241-248.

วิธีการเพาะเลี้ยงและพฤติกรรมของกระจงหนูในห้องปฏิบัติการ

THE MANAGEMENT AND BEHAVIOR PATTERNS OF A LESSER MOUSE-DEER *(TRAGULUS JAVANICUS)* COLONY IN LABORATORY

ทาริกา ประมูลสินทรัพย์[1]
Tarika Pramoolsinsap

ABSTRACT

This prospective study was to determine the management and behavior patterns of a Lesser Mouse-deer (Tragulus javanicus) colony that has been maintained in closed clean conditions at National institute of animal health laboratory. The founding members of the colony were imported from Malaysia and kept in stainless steel cage 59x59x45 cm. Commercial pellet for rabbit mixed with alfalfa crushed hay plus vegetables and some minerals were given ad libitum.

The colony was fairy adapted to lavoratory life. Temporarily mate groups method was applied to 5 months old and weight 1.6-1.8 kgs. Lesser Mouse-deer as breeding parents. Litter size was only one. During 3-4 years two pairs of the Lesser Mouse-deer were delivered 5 young one of which has grown up, three were stillborn and the other died 3 days after birth. Average body weight of male = 180-210 gm.; female 155-170 gm.

บทคัดย่อ

การศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงและพฤติกรรมของกระจงหนูในห้องปฏิบัติการที่มีระบบควบคุมสภาพแวดล้อม (Closed clean colony) ณ สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ซึ่งพ่อแม่พันธุ์

---

[1] ฝ่ายเลี้ยงสัตว์ทดลอง สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ เกษตรกลาง บางเขนกรุงเทพ ฯ 10900
Experimental Animal Unit, National Institute of Animal Health, Department of Livestock Development, Kasetklang, Bangkhen, Bangkok 10900.

กระจงหนูได้นำมาจากประเทศมาเลเซีย จำนวน 2 คู่ เลี้ยงในกรงสแตนเลสขนาด 59x59x45 ซม./ตัว ให้อาหารกระต่ายอัดเม็ด อัลฟัลฟ่าอัดเป็นชิ้น ๆ พืชผักผลไม้ และเกลือแร่ จนสามารถปรับเปลี่ยนสภาพการดำรงชีวิตแบบสัตว์ป่ามาเป็นสัตว์เลี้ยงได้อย่างค่อยเป็นค่อยไป ทำการผสมพันธุ์แบบ Temporarily mate groups ผสมได้ตลอดปีเมื่อครบอายุ 5 เดือน น้ำหนักโตเต็มที่เฉลี่ย 1.6-1.8 กก. ตกลูกครั้งละ 1 ตัว ในช่วงระยะ 3 ปีกว่าที่ทำการศึกษาแม่พันธุ์ที่ทำการศึกษาให้ลูกถึง 5 ตัว แต่มีชีวิตรอดจนโตเต็มที่เพียง 1 ตัวเท่านั้น น้ำหนักเฉลี่ยของลูกแรกเกิดเพศผู้อยู่ในช่วง 180-210 กรัม เพศเมีย 155-170 กรัม

คำนำ

กระจงเป็นสัตว์ป่าซึ่งมีอยู่ 4 พันธุ์คือ *Hyaemoschus aquaticus* (frican water chevrotain), *Tragulus meninna* (Indian chevrotain or spotted malay mouse deer), *Tragulus javanicus* (Lesser Malayan mouse deer) และ *Tragulus napu* (Larger Malayan mouse deer) (10,26,33) กระจงที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นกระจงหนูที่นำเข้ามาจากประเทศมาเลเซีย เพื่อทำการเพาะเลี้ยงอยู่ที่สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติประเทศญี่ปุ่น (แสดงในภาพที่ 1) ธรรมชาติของกระจงหนูมักอาศัยอยู่ในป่าดงดิบเขตร้อนชื้น (18,33) จัดเป็นสัตว์กีบคู่ที่มีขนาดเล็กที่สุด (6,27,28, 29,32,33,35) มีลักษณะบางประการคล้ายคลึงกับสัตว์กีบคู่จำพวก โค, กระบือ, สุกร, แพะ และกวาง (13,33) คือมีการเคี้ยวเอื้อง โดยกระเพาะประกอบด้วย rumen, reticulum และ abomasum ส่วน omasum จะมีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถจะแยกออกได้ (3,17,32) ไม่มีเขาทั้งสองเพศ (23,15,33) และลักษณะที่คล้ายคลึงอีกประการหนึ่งคืออุณหภูมิร่างกายเฉลี่ย 38.4°ซ. (34) ลักษณะของกระจงหนูคล้ายหนูมากคือมีหัวเล็ก, ปากยาวแหลม, รูจมูกเล็ก (33) ความยาวของลำตัว 40-48 ซม. (23) หางสั้น น้ำหนักตัวขณะโตเต็มที่ประมาณ 2 กก. (33) เฉพาะตัวผู้จะมีเขี้ยวยื่นออกมาจากกรามบน (15) ตัวเมียมีเต้านม 4 เต้า บริเวณขาหนีบหลัง (33) ตั้งท้องนานประมาณ 5 เดือน หย่านมเมื่ออายุ 12-13 สัปดาห์ เป็นสัดทันทีหลังตกลูก(4,5,8,9,30,33) โตเต็มที่อายุ 5 เดือน กระจงเป็นสัตว์ขี้อายตื่นตกใจง่าย ปกติชอบอยู่ตามลำพังตัวเดียว (18,33) วิ่งเร็วคล้ายกระต่าย นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เป็นแบบระบบที่มีการควบคุมสภาพแวดล้อม (closed clean colony) คือ มีอุณหภูมิห้องประมาณ 18-22°ซ. แสงสว่างจากหลอดไฟฟลูออเรส-เซนต์สีขาววันละ 12 ชั่วโมง เวลา 01.00-30.00 น. (26) เลี้ยงในกรงไม้ทึบ 3 ด้าน ด้านหน้าเป็นลวดตาข่ายขนาด 2x4x8 ฟุต/2 ตัว (31) อาหารที่ใช้เลี้ยงเป็นพวก กล้าย แครอท มันเทศ เมล็ดพืช ผสมปลายข้าวโอ๊ต, อาหารลิงอัดเม็ดอัลฟัลฟ่า(19,20), อาหารกระต่ายอัดเม็ด Zuellig (31) ถั่วฝักยาว, ถั่วดิน(21,22,31) ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นแนวทางเบื้องต้นในการเพาะเลี้ยงกระจงหนูในห้องปฏิบัติการได้ต่อไป เพื่อที่จะได้นำมาใช้เป็นสัตว์ทดลองทดแทนสัตว์เศรษฐกิจ (16)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. กระจงหนู

พันธุ์ *Tragulus javanicus*

พ่อพันธุ์ แม่พันธุ์ จำนวน 2 คู่ นำมาจากประเทศมาเลเซีย (12)

2. โรงเรือน

ควบคุมสภาพแวดล้อมให้ถูกหลักสุขาภิบาล โดยปรับให้อุณภูมิในห้องเลี้ยงประมาณ 22±1°ซ. ความชื้นสัมพัทธ์ 55±5 % ให้ได้รับแสงสว่าง 8-12 ชม./วัน อากาศหมุนเวียนถ่ายเท 10-15 ครั้ง/ชม. โดยผ่านเครื่องกรองอากาศ (12,16)

3. กรง

ใช้กรงเดี่ยวสแตนเลสขนาด 59x59x45 ซม./ตัว เว้นแต่ในขณะที่ทำการผสมพันธุ์จะใช้กรงคู่โดยเปิดฝากั้นกลางออก พื้นกรงปูด้วยสิ่งรองนอน ภาชนะใส่น้ำ อาหาร ต้องล้างทำความสะอาด ตากให้แห้งก่อนนำไปใช้ทุกวัน

4. สิ่งปูรองนอน

ใช้ขี้กบอบฆ่าเชื้อด้วยแรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์/ตารางเมตร อุณหภูมิ 120°ซ. นาน 0.5 ชั่วโมง โดยเปลี่ยนสิ่งปูรองนอนอาทิตย์ละครั้ง (16) ต้องใช้ความระมัดระวังอย่างสูงและเงียบสงบ ในการเปลี่ยนสิ่งปูรองนอนทำได้โดยเทียบกรงสำรองเข้าชิดกับกรงเลี้ยง ซึ่งเปิดประตูออกแล้ว กระจงพร้อมที่จะวิ่งออกมารออยู่ในกรงสำรองทันที ทำให้เกิดความสะดวกในการปฏิบัติงานและไม่เป็นอันตรายต่อตัวกระจงเองด้วย หลังจากเปลี่ยนสิ่งปูรองนอนแล้ว จึงนำกรงสำรองเข้าไปเทียบให้กระจงเข้า ไปอยู่ในกรงเลี้ยงตามเดิม

5. อาหาร

เลี้ยงด้วยอาหารกระต่ายอัดเม็ด ผสมกับอัลฟัลฟ่าอัดเป็นก้อนสี่เหลี่ยมขนาดกว้างประมาณ 1 นิ้ว โดยมีอาหารและน้ำให้กินตลอดวัน อาหารเสริมเป็นกล้วย หอมหั่น แครอทหั่น มันเทศหั่น ถั่วฝักยาว ถั่วดิน โดยให้กระจงมากินอาหารจากมือผู้เลี้ยงเอง เพื่อเป็นการหัดให้กระจงเกิดความรู้สึกปลอดภัย จนเกิดความคุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมของห้องปฏิบัติการและผู้เลี้ยง ทำให้สะดวกต่อการปฏิบัติงานและการควบคุมสัตว์

6. น้ำ

ใช้น้ำกรองที่สะอาด ใส่ภาชนะไว้ในกรงเลี้ยงให้กินตลอดเวลา โดยกระจงจะใช้ลิ้นเลียน้ำเหมือนสุนัข

7. การควบคุมสัตว์

การควบคุมต้องเป็นไปด้วยความนุ่มนวล เงียบสงบ เนื่องจากกระจงหนูเป็นสัตว์ตื่น

ตกใจได้ง่าย อาจจะเกิดอันตรายต่อขาซึ่งมีขนาดเล็ก หรือลูกในท้องและอาจไม่ยอมผสมพันธุ์

8. วิธีการผสมพันธุ์

เมื่อสัตว์ถึงวัยเจริญพันธุ์ คืออายุประมาณ 5 เดือน ชั่งน้ำหนักตัวด้วยเครื่องชั่งอิเลคโทนิคก่อนการผสมพันธุ์ จดบันทึกไว้ การผสมพันธุ์ยึดหลัก outbred (พ่อพันธุ์ และแม่พันธุ์ต้องมาจากต้นกำเนิดสายเลือดที่ต่างกัน) ชนิด Temporarily mate groups คือ นำพ่อพันธุ์มาอยู่รวมกับแม่พันธุ์ในกรงคู่ ในอัตราการผสมพันธุ์ เพศผู้ : เพศเมีย = 1:1 เมื่อเห็นชัดเจนแล้วว่าแม่พันธุ์ตั้งท้องจริงจึงแยกเอาพ่อพันธุ์ออกมาเลี้ยงในกรงเดี่ยวต่างหาก (24)

9. บันทึกผล

บันทึกลักษณะการอยู่กินและพฤติกรรมโดยทั่ว ๆ ไป ของกระจงหนูด้วยจอรับภาพเลเซอร์ที่อยู่ภายในห้องเลี้ยงสัตว์แล้วบันทึกภาพเข้าวีดีโอเป็นระยะ ๆ ประกอบกับการสังเกตุดูจากคนเลี้ยง เก็บบันทึกผลไว้สำหรับเป็นข้อมูลเพื่อใช้เป็นแนวทางในการหาวิธีการเพาะเลี้ยงกระจงหนูในห้องปฏิบัติการได้อย่างถูกหลักวิชาการ

ผลการทดลอง

จากภาพที่บันทึกไว้ด้วยวีดีโอเทปโดยผ่านทางกล้องควบคุมแสงเลเซอร์ พบว่าลักษณะท่าทางและพฤติกรรมโดยทั่วไปแล้วกระจงจะอยู่ในท่าทางที่โค้งหลัง โดยหลังจะอยู่สูงกว่าศีรษะเล็กน้อย แต่ก็มีเพียงบางครั้งและในช่วงเวลาสั้น ๆ เท่านั้นที่จะยืนยืดให้ลำตัวยาวหลังตรง การนั่งจะค่อย ๆ ย่อขาหลังลงต่ำจนอยู่ในท่านั่งแล้วจึงค่อยงอพับขาหน้าไปด้านหลังจนอยู่ใต้ท้อง ย่อลำตัวส่วนหน้าลงบนขา ขณะที่นั่งลงมักจะชูหัวยกขึ้น เมื่อลุกขึ้นยืนจะยืดตัวหลังโค้งคล้ายท่ายืนของแมว ซึ่งจะแตกต่างจากสัตว์เคี้ยวเอื้องชนิดอื่น กระจงหนูมักจะยืนอยู่ในท่ายกขาหน้าหรือขาหลังด้านใดด้านหนึ่งงอเข้าหาลำตัวเสมอ จะยกขาขึ้นเมื่อหยุดเดินลำตัวยืดตรง จมูกชี้ไปข้างหน้า อันเป็นอากัปกริยาของการระวังภัยอยู่เสมอและพร้อมที่จะวิ่งหนีหรือเข้าต่อสู้ศัตรูได้ทันที การทำความสะอาดร่างกายโดยให้ลิ้นเลียไปมาตั้งแต่ตาถึงขาหลังจนทำให้ขนแลดูเป็นเงางาม ไม่ว่าในขณะที่ยืนหรือนั่ง หากไม่มีอะไรมารบกวนสัตว์จะเริ่มเคี้ยวเอื้อง การกินน้ำจะใช้ลิ้นเลียเหมือนสุนัข กระจงที่เลี้ยงอยู่ในกรงเลี้ยงมักจะใช้เท้าหลังที่เป็นส่วนของกีบข้างใดข้างหนึ่งหรือทั้งสองข้าง กระทืบลงบนพื้นกรงเป็นครั้งคราว ทำให้เกิดเป็นเสียงดังคล้ายเสียงตีกลองดังออกมานอกโรงเรือน สัตว์ซึ่งอาการเช่นนี้มักพบในสัตว์จำพวก lagomorphs และพวก redents (11)

พฤติกรรมการผสมพันธุ์ของกระจงหนู พบว่าน้ำหนักตัวเฉลี่ยของพ่อแม่พันธุ์ก่อนผสมพันธุ์เป็น 1.6-1.8 กก.(16) กระจงเพศเมียจะเป็นสัดหลังคลอด (post-partum estrus) (5,8,26) ภายหลังคลอดลูกแล้วเพียง 85 นาที (8) เพศเมียจะยอมรับการผสมพันธุ์ของเพศผู้ เพศเมียที่ตั้งท้องจะไม่ยอมให้เพศผู้เข้าผสมพันธุ์จนกว่าจะคลอดลูกอ่อนแล้ว ส่วนเพศเมียที่ไม่ตั้งท้องการผสมพันธุ์จะเกิดขึ้นอีกในระยะของการเป็นสัดรอบต่อไปซึ่งจะกินเวลาประมาณ 14 วัน (26) พฤติกรรมของเพศผู้ในช่วงการผสมพันธุ์เพศผู้จะตื่นตัวมากกว่าปกติและ

อาจทำร้ายตัวเมียหากไม่ยอมให้ผสมพันธุ์ จะคอยเดินตามเพศเมียตลอดเวลา มักจะเลียแต่ไม่ค่อยกินบัสสาวะของเพศเมีย (แสดงในภาพที่ 2) ขณะเดียวกันก็จะเอาคางที่มีต่อมใต้คางถูไปบนหลังหรือคอของเพศเมีย (แสดงในภาพที่ 3) เพศเมียจะยกหางขึ้นลดส่วนหลังต่ำลงแต่ยกก้นขึ้น พร้อมกับเพศผู้จะใช้ขาข้างใดข้างหนึ่งหรือทั้งสองข้างขึ้นเกาะหลังเพศเมีย แล้วจึงสอดอวัยวะเพศเข้าไปในอวัยวะเพศเมีย(แสดงในภาพที่ 4) การผสมพันธุ์จะเกิดขึ้นติดต่อกันหลายครั้ง พบว่าในระยะ 3.5 และ 8.5 นาที มีการผสมพันธุ์เกิดขึ้น 4 และ 5 ครั้ง ตามลำดับ แต่ละครั้งเพศผู้จะใช้เวลาการผสมพันธุ์นานตั้งแต่ 8 วินาทีถึง 2.3 นาที

กระจงหนูแต่ละครอกจะตกลูกเพียง 1 ตัวเท่านั้น (2) ไม่พบการตกลูกแฝดเลย จากกระจงแม่พันธุ์ 2 ตัว ในระยะ 3 ปีครึ่ง ให้ลูกทั้งหมด 5 ตัว เป็นเพศผู้ 3 ตัว และเพศเมีย 2 ตัว แต่มีชีวิตรอดเพียงตัวเดียวซึ่งเป็นเพศผู้ แท้ง 3 ตัว อีก 1 ตัวตายหลังคลอดแล้ว 3 วัน น้ำหนักเฉลี่ยลูกแรกเกิดหลังคลอด 12 ชั่วโมง (16) เพศผู้ 180-210 กรัม เพศเมีย 155-170 กรัม

วิจารณ์

ในการศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงและพฤติกรรมของกระจงหนู *(T. javanicus)* ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งได้คาดการไว้ว่าจะสามารถนำมาใช้เป็นสัตว์ทดลองนำร่องเพื่อทดแทนสัตว์เศรษฐกิจจำพวกสัตว์เคี้ยวเอื้องอื่น ๆ อันจะทำให้เกิดความเหมาะสมกับงานวิจัยค้นคว้าทดสอบมากขึ้น ฉะนั้นจึงควรทำการวิจัยเพิ่มขึ้นเพื่อเก็บเป็นข้อมูลในการพัฒนากระจงให้สามารถทดแทนสัตว์เศรษฐกิจได้อย่างแท้จริง (16)

ลักษณะท่าทางและพฤติกรรมโดยทั่วไปของกระจงหนู ในห้องปฏิบัติการที่มีการควบคุมสภาพแวดล้อมยังคงมีอากัปกริยาคล้ายคลึงกับที่อยู่ในธรรมชาติของสัตว์ป่า แต่กระจงเริ่มเกิดความคุ้นเคย และสามารถปรับเปลี่ยนสภาพการดำรงชีวิตแบบสัตว์ป่ามาเป็นสัตว์เลี้ยงหากแต่พฤติกรรมทางเพศยังคงให้ผลที่ไม่น่าพอใจ โดยเฉพาะการตกลูกมักจะแท้งลูก ลูกที่ได้ไม่สมบูรณ์ มีน้ำหนักตัวต่ำกว่าค่าเฉลี่ยมาตรฐาน 288-382 กรัม (16) ซึ่งอาจจะเป็นเพราะ (1) สาเหตุของจำนวนพ่อแม่พันธุ์เริ่มแรกมีจำนวนน้อย มีโอกาสที่จะเกิด inbred ทำให้เปอร์เซนต์การผสมติดต่ำ และได้ลูกไม่แข็งแรง (25) (2) ความไม่เหมาะสมของสภาพห้องปฏิบัติการที่ใช้เลี้ยงสัตว์ อาหารและน้ำขนาดของกรงเลี้ยง และอื่น ๆ

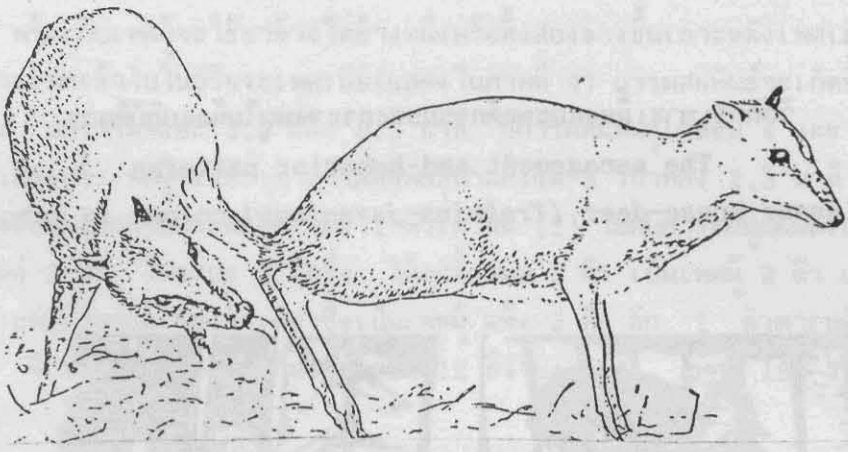
สรุปผล

พ่อแม่พันธุ์กระจงหนูจำนวน 2 คู่ ที่นำมาจากประเทศมาเลเซียเพื่อใช้ทำการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการที่ควบคุมสภาพแวดล้อม (closed clean colony) ของสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ เป็นระยะเวลานานถึง 3 ปีครึ่ง มา
แล้วนั้น เริ่มเกิดความคุ้นเคยและสามารถค่อย ๆ ปรับสภาพจากชีวิตสัตว์ป่ามาเป็นชีวิตสัตว์เลี้ยงในห้องปฏิบัติการได้บ้าง ดังเช่น การใช้อาหารกระต่ายอัดเม็ด อัลฟัลฟ่าอัดก้อน และพืชผักผลไม้บางชนิดเลี้ยงสัตว์ โดยสัตว์มิต้องออกหาอาหารเอง นิสัยตื่นตกใจกลัวมีความ

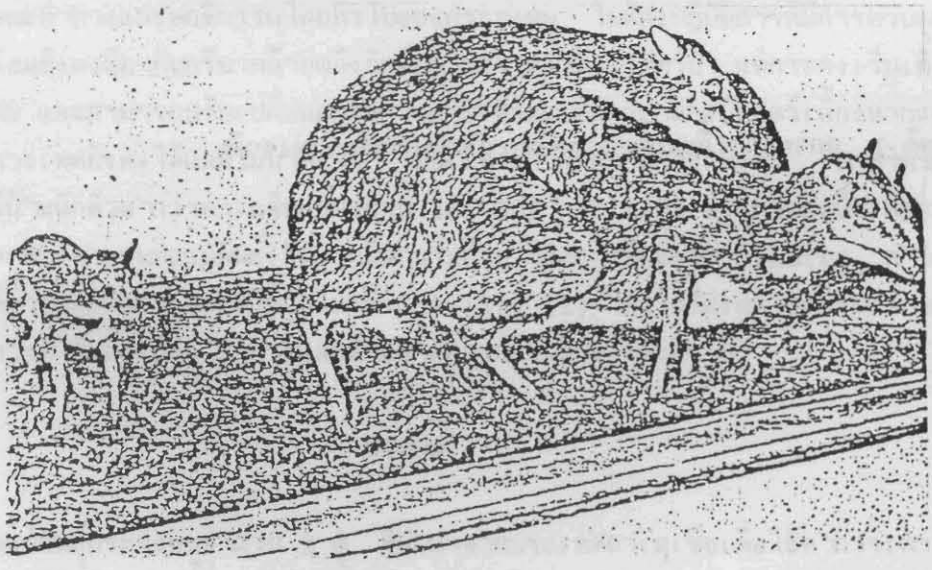
วิธีการเพาะเลี้ยงและพฤติกรรมของกระจงหนูในห้องปฏิบัติการ

The management and behavior patterns of a Lesser Mouse-deer *(Tragulus javanicus)* colony in laboratory

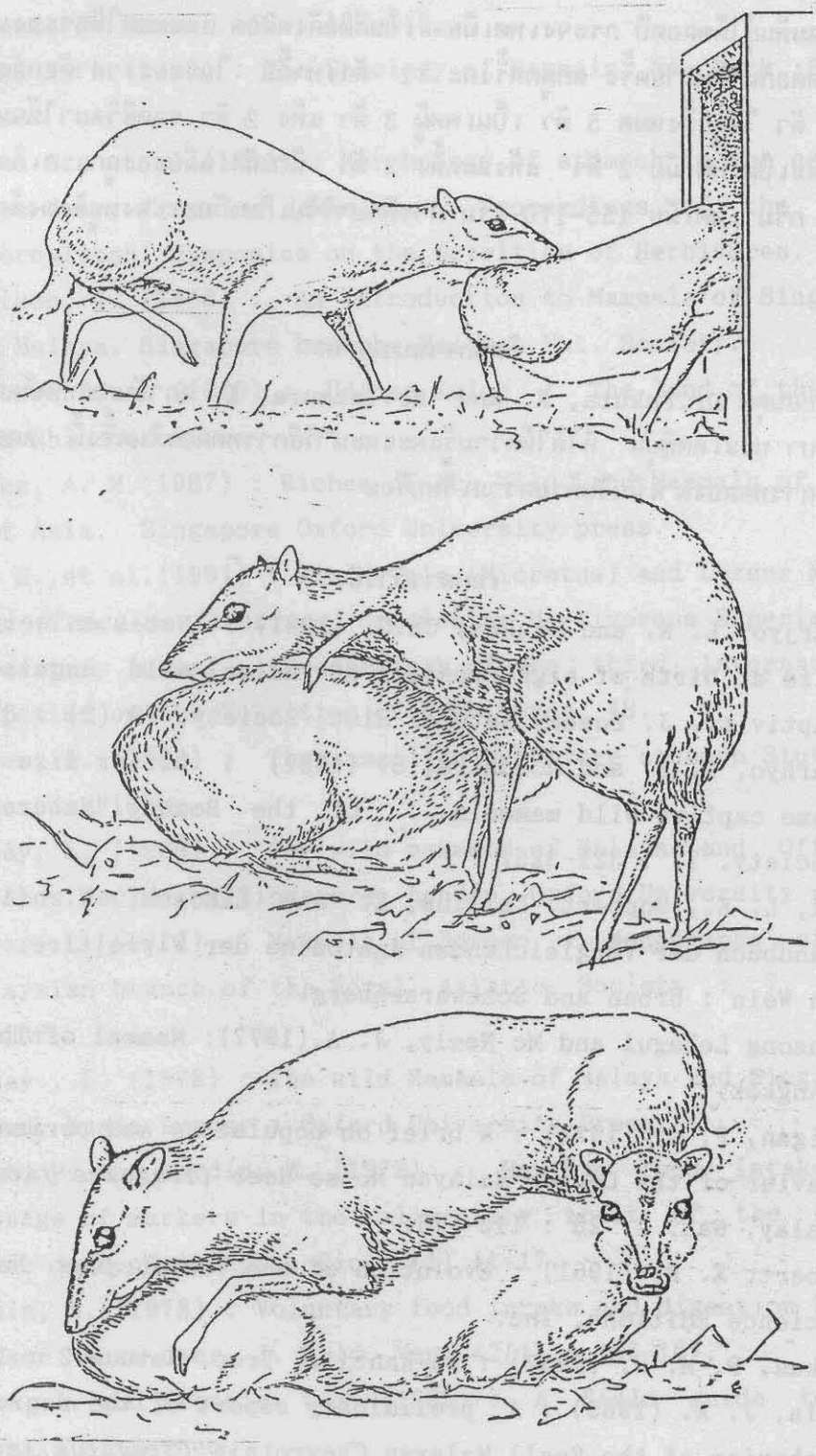
ภาพที่ 1 สภาพการเลี้ยงกระจงหนูที่สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ



ภาพที่ 2 แสดงกระจงหนูเพศผู้เลียบัสสาวะเพศเมีย



ภาพที่ 4 แสดงท่าทางการผสมพันธุ์ของกระจงหนูเพศผู้ สอดอวัยวะเพศเข้าไปในอวัยะเพศเมีย



ภาพที่ 3 แสดงวิธีการกระจงเพศผู้เล้าโลมเพศเมียก่อนขึ้นผสมพันธุ์

หวาดระแวงภัยอันตรายตลอดเวลาก็ลดน้อยลง หากแต่ลักษณะท่าทางและพฤติกรรมโดยทั่วไปยังคงแสดงออกคล้ายคลึงกับธรรมชาติ น้ำหนักกระจงที่โตเต็มที่เฉลี่ย 1.6-1.8 กก. สามารถผสมพันธุ์ได้ตลอดปี กระจงเพศเมียจะเป็นสัดหลังคลอด และยอมให้กระจงเพศผู้เข้าผสมพันธุ์ติดต่อกันได้หลายครั้ง ตกลูกครั้งละ 1 ตัวเท่านั้น ในระยะเวลาดังกล่าวแม่พันธุ์กระจง 2 ตัว ให้ลูกทั้งหมด 5 ตัว เป็นเพศผู้ 3 ตัว แท้ง 2 ตัว รอดชีวิตมาได้จนโตเพียง 1 ตัว และเป็นเพศเมีย 2 ตัว แท้งหมดทั้ง 2 ตัว น้ำหนักเฉลี่ยของลูกแรกเกิดในเพศผู้ 180-210 กรัม เพศเมีย 155-170 กรัม การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับกระจงหนูยังคงต้องดำเนินการต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ Dr.Fukuta, K. and Mr.Imamura, K. สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ เมืองซาคูบา ประเทศญี่ปุ่น ที่ได้ให้ความรู้และแนะนำวิธีการทดลองในครั้งนี้ ตลอดจนดูแลควบคุมให้การทดลองดำเนินไปด้วยความเรียบร้อย

เอกสารอ้างอิง

1. Acharjyo, L. N. and Mishra, Ch.G. (1981) : Notes on weight and size at birth of eight species of indian wild ungulates in captivity. J. Bombay Natural Hist, Society. 78 (2) : 373-374.
2. Acharhyo, L. N. and Mohpatra, S. (1981) : Litter size of some captive wild mammals. J. of the Bombay Nature Hist. Society. 77 : 321-325.
3. Bolk, L. E., Goppert, Kallius, E. and Labosch, W. (1937) : Handbuch der Vergleichenden Anatomine der Wirveltire. Berlin an Wein : Urban and Schewarzenberg.
4. Boonsong Lekagul and Mc Neely, J. A.(1977): Mammal of Thailand, Bangkok.
5. Cadigan, F. C. (1972) : A brief on copulatory and perinatal behavior of the Lesser Malayan Mouse-deer *(Tragulus javanicus)*. Malay, Nat. J. 25 : 112-116.
6. Colbert, E. H. (1961) : Evolution of the Vertebrates. New York, Science Editions, Inc.
7. Dakkus, P. M. W. (1932) : De kantjil, Trop. Natuur 2 : 112-115.
8. Davis, J. A. (1965) : A preliminary report of the reproductive behavior of the Small Malayan Chevrotain *(Tragulus javanicus)* at the New York Zoo. Int. Zoo Yb.5 : 42-44.
9. Davison, G.W.H. (1989) : Territorial fighting by Lesser Mouse-deer. Malay. Nat. J.34 : 1-6.

10. Duwe, A. E. (1969) : The relationship of chevrotria, *Tragulus javanicus* to other Artiodactyla based on skeletal muscle antigens. J. Mammal. 50 : 137-140.
11. Ewers, R. F.(1968) : The Ethology of Mammals. New York, Plenum Press.
12. Fukuta K., et al.(1991) : Morphology of stomach in the newborn Mouse-deer, *Tragulus javanicus*. Proceedings of the Third International Symposium on the Nutrition of Herbivores. 47.
13. Harrison, J. (1966) : An Introduction to Mammals of Singapore and Malaya. Singapore branch, Malayan Nat. Society.
14. Hoogerwerf, A. (1970) : Udjung Kulon : The land of the last Java Rhinoceros.
15. Hughes, A. M.(1987) : Riches of the Wild Land Mammals of South East Asia. Singapore Oxford University press.
16. Kudo H.,et al.(1991) : Field vole (Microtus) and Lesser Mouse-deer *(Tragulus javanicus)* Species as Herbivorous Experimental Laboratory Animal. Proceedings of the third International Symposium on the Nutrition of Herbivores. 48.
17. Langer, P. (1988) : The mammalian herbivore stomach Stuttgrat : Gustav Fisher.
18. Madway, L. (1969) : The wild mammals of Malaya and Offshore Islands including Singapore. London, Oxford University press.
19. Medway, L. (1977) : Mammals of Borneo : Monographs of the Malaysian branch of the Royal Asiatic Society : 7. Kuala Lumpur.
20. Medway , L. (1978) : The wild Mammals of Malaya and Singapore, 2nd ed. Kuala Lumpur : Oxford University Press.
21. Morat, P. and Nordin, M. (1978) : Maximum food intake and passage of markers in the alimentary tract of the Lesser Mouse-deer. Mal. Appl. Biol 7(1) 11-17.
22. Nordin, M. (1978) : Voluntary food intake and digestion by the Lesser Mouse-deer. J. Wild. Man. 42(1) : 185-187.
23. Payne, J. and Francis, C.M. (1985) : A field guide to the Mammals of Borneo.
24. Poole, T.B. (1987) : The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals, 6th ed., Animal Production and breeding methods. 18-34.

25. Porter, G. and Lane, P.W.(1962) : Notes for Breeders of Common laboratory animals, Breeding. 111-130. Academic Press, London and New York.

26. Ralls, K., Sarasch, C. and Minkowski, K. (1975) : Behavior of captive mouse-deer, *(Tragulus napu.)* Z. Tierpsychol. 37 : 356-378.

27. Richardson, K.C., Vidyadaran, M.K., Fuzina, N.H. and Azmi,T.I. (1988) : Topographic anatomy of the abdomen of the Lesser Mouse-deer *(Tragulus javanicus)*. Pertanika,11(3) : 419-426.

28. Romer, A.S.(1966) : Vertebrate Paleontology. Chicago, University of Chichgo Press.

29. Simpson, G.G. (1945) : The principles of classification and a classification of the mammals. Bull. Amer. Mus. Nat. Hist. 85 : 1-350.

30. Tweedie, M.W.F. and Harrison, J.L. (1981) : Malayan Animal Life. 7.

31. Vidyadaran, M.K., Hilmi, M. and Sirimane, R.A. (1981) : Dentition of the Malaysian Lesser Mouse-deer. *(Tragulus javanicus)* Pertanika. 4 (1) : 47-52.

32. Vidyadaran, M.K., Hilmi, M. and Sirimane, R.A.(1982) : The gross morphology of the Malaysian Lesser Mouse-deer *(Tragulus javanicus)*. Pertanika. 5 (1) : 34-38.

33. Walker, E.P., et al. (1975) : Mammals of the world, Vol. II, 3rd ed. Baltimore and London. The Johns Hoplins University Press. 1379-1381.

34. Whittow, G.C., Scammell, C.A., Leong, M. and Rand, D. (1977) : Temperature regulation in the smallest ungulate, The Lesser Mouse-deer *(Tragulus javanicus)*. Comp. Biochem. Physiol. 56A, 23-26. Pergamon Press, Great Britain.

35. Wilson, E.O. (1975) : Sociobiology. Cambridge. Harward University Press.

ความคุ้มโรคแรกเริ่มหลังฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดต่างๆ

Early protection after vaccinated with various kinds of swine fever vaccine

จารุณี สาตรา[1] อัตพงศ์ นาคะปักษิณ[1] สุนีจิต คงทน[1]

Jarunee Satra Attapong Nakapaksin Suneejit Kongthon

Abtract

Four kinds of modified live swine fever vaccine were studied for efficacy and early protection against a local strain of swine fever virus; a lapinized swine fever vaccine (Chinese strain), a lapinized swine fever vaccine (Chinese strain, CR 20), a tissue cultured swine fever vaccine (LOM strain) and a tissue cultured swine vaccine (Thiverval strain). Groups of four pigs were vaccinated with 1/100 doses of the first three kinds of vaccine. Each group had one unvaccinated pig and served as control. All pigs were challenged with 10^5 LD_{50} of a virulent swine fever virus at day 14 postvaccination. All vaccinated pigs were protected, while a control pig of each group died after challenged. Groups of four pigs were vaccinated with one dose of four kinds of swine fever vaccine. Each group had one unvaccinated pig and served as control. All pigs were challenged with 10^5 LD_{50} of a virulent swine fever virus at day 3 and day 7 postvaccination. Pigs vaccinated with Chinese strain were protected 100% at day 3 and day 7 postvaccination. Pigs vaccinated with Chinese strain, CR20 were not protected at day 3, but were protected 100% at day 7 postvaccination. Pigs vaccinated with Thiverval strain were protected 50% and 100% at day 3 and day 7 postvaccination, respectively. Pigs vaccinated with LOM strain were protected 100% at day 3 postvaccination, while a control pig of each group died after challenged.

---

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

บทคัดย่อ

ศึกษาประสิทธิภาพและความคุ้มโรคแรกเริ่มหลังฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกรเชื้อเป็น 4 ชนิด คือ วัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย (Chinese strain) วัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย (Chinese strain, CR 20) วัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเพาะเลี้ยงในเนื้อเยื่อ (LOM strain) และวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเพาะเลี้ยงในเนื้อเยื่อ(Thiverval strain) ฉีดวัคซีนสามชนิดแรก ในขนาด 1/100 โด๊ส ให้แก่สุกร กลุ่มละ 4 ตัว โดยในแต่ละกลุ่มมีสุกร 1 ตัว ไม่ได้ฉีดวัคซีน และเป็นตัวควบคุม หลังฉีดวัคซีน 14 วัน ฉีดพิษทับให้แก่สุกรทุกตัวด้วยเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรในขนาด 10^5 LD_{50} สุกรที่ฉีดวัคซีนทุกตัวในแต่ละกลุ่มมีความคุ้มโรค ในขณะที่สุกรควบคุมของแต่ละกลุ่มตายหลังฉีดพิษทับ และฉีดวัคซีนทั้งสี่ชนิดในขนาดหนึ่งโด๊ส ให้แก่สุกรกลุ่มละ 4 ตัว โดยในแต่ละกลุ่มมีสุกร 1 ตัว ไม่ได้ฉีดวัคซีนและเป็นตัวควบคุม หลังฉีดวัคซีน 3 วัน และ 7 วัน ฉีดพิษทับให้แก่สุกรทุกตัวด้วยเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรในขนาด 10^5 LD_{50} สุกรที่ฉีดวัคซีน Chinese strain มีความคุ้มโรค 100% หลังฉีดวัคซีน 3 วัน และ 7 วัน สุกรที่ฉีดวัคซีน Chinese strain, CR20 ไม่มีความคุ้มโรคหลังฉีดวัคซีน 3 วัน แต่มีความคุ้มโรค 100% หลังฉีดวัคซีน 7 วัน สุกรที่ฉีดวัคซีน Thiverval strain มีความคุ้มโรค 50% และ 100% หลังฉีดวัคซีน 3 วัน และ 7 วัน ตามลำดับ สุกรที่ฉีดวัคซีน LOM strain มีความคุ้มโรค 100% หลังฉีดวัคซีน 3 วัน ในขณะที่สุกรควบคุมของแต่ละกลุ่มตายหลังฉีดพิษทับ

คำนำ

วัคซีนอหิวาต์สุกรที่ใช้อยู่ในเอเชียส่วนมากเป็นวัคซีนเชื้อเป็นชนิดผ่านกระต่ายสเตรน China และ LPC-China และวัคซีนชนิดเพาะเลี้ยงในเซลล์เนื้อเยื่อ โดยฉีดให้กับสุกรทุกอายุ วัคซีนต้องการระยะเวลาหนึ่งในการกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันซึ่งจะอยู่ได้นาน 2-3 ปี (Kumagai, 1990) วัคซีนสเตรน LPC-China มาจาก lapinized virus ซึ่งเดิมยังมีความรุนแรงต่อสุกร นำมาพัฒนาปรับปรุง โดยผ่านในกระต่ายกว่า 800 passages ทำให้ความรุนแรงลดลงและได้ master seed virus สำหรับใช้ในการผลิตวัคซีนโดยให้ชื่อว่า สเตรน LPC-China ซึ่งมีความปลอดภัยต่อสุกร (Lin and Lee, 1981) วัคซีนสเตรน China คาดว่าจะเป็น Subline ของสเตรน LPC-China การเพิ่มจำนวนของไวรัสส่วนใหญ่อยู่ที่ lymphoid tissue โดยเฉพาะที่ทอนซิล เชื้อไวรัสสามารถผ่านรกแต่ไม่ทำให้เกิดการผิดปกติต่อลูกสุกร (Van Oirschot, 1987) ซึ่งกัญญาและคณะ (2537) ก็ได้รายงานไว้ว่า ไวรัสอหิวาต์สุกรสเตรน China สามารถติดต่อผ่านทางรกได้ทุกระยะของการตั้งท้องเช่นเดียวกับเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร วัคซีนสเตรน Thiverval ได้จากการผ่านเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร สเตรน Alfort ที่มีความรุนแรง ในเซลล์เพาะเลี้ยง ที่อุณหภูมิ 29° -30° C เป็น clone ที่ไม่มีความรุนแรงแต่ยังคงมีคุณสมบัติในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในสุกร วัคซีนทั้งสามสเตรน คือ China, GP และ Thiverval สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้เร็วและอยู่ได้นาน โดยสุกรมีความคุ้มโรคต่อเชื้อฉีดพิษทับหลังฉีดวัคซีน 5 วัน และภูมิคุ้มกันอยู่ได้นาน 2-3 ปี(Van Oirschot and Terpstra,1989) จึงควรทำการศึกษาทดลองว่า

วัคซีนอหิวาต์สุกรที่มีใช้อยู่ในประเทศไทย จะกระตุ้นให้เกิดความคุ้มโรคต่อเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร (local strain) ได้เร็วเพียงใดเพื่อประโยชน์ในการป้องกันโรค Leunen และ Strobbe (1977) ได้แสดงความคิดเห็นเกี่ยวกับ ความเสี่ยงในการใช้วัคซีนเชื้อเป็น ในปริมาณที่ไม่เพียงพอสำหรับความคุ้มโรค สุกรที่ฉีดวัคซีนสเตรน China ในขนาด 20 PD_{50} หรือต่ำกว่า เมื่อติดเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรที่รุนแรงอาจจะเป็นตัวอมโรค (carrier) และแม่สุกรตั้งท้องที่ติดเชื้อ อาจจะถ่ายทอดเชื้อไวรัสให้ลูกสุกร โดยตรงหรือผ่านทางรก ดังนั้น จึงแนะนำให้ใช้ปริมาณวัคซีนสำหรับความคุ้มโรคในสุกรไม่ต่ำกว่า 100 PD_{50}

การทดลองครั้งนี้ ก็เพื่อศึกษาถึงประสิทธิภาพความคุ้มโรคของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดต่างๆ ต่อเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร (local strain) เมื่อฉีดวัคซีนให้สุกรในขนาด 1/100 โด๊ส และศึกษาถึงความคุ้มโรคแรกเริ่ม หลังฉีดวัคซีน 3 วัน และ 7 วัน เมื่อฉีดวัคซีนให้สุกรในขนาด 1 โด๊ส

อุปกรณ์และวิธีการ

สัตว์ทดลอง - สุกรพันธุ์ผสมสามสายพันธุ์ (Large White, Landrace and Duroc Jersey) อายุ 12 สัปดาห์ จากสถานีบำรุงพันธุ์สัตว์หนองกวาง จังหวัดราชบุรี กองบำรุงพันธุ์ กรมปศุสัตว์ และไม่เคยฉีดวัคซีน

วัคซีน
(1) วัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย (Lapinized swine fever vaccine, Chinese or C strain) ผลิตโดย ศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์
(2) วัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย (Lapinized swine fever vaccine, Chinese strain, CR20)
(3) วัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเพาะเลี้ยงในเนื้อเยื่อ (Tissue cultured swine fever vaccine, LOM strain)
(4) วัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเพาะเลี้ยงในเนื้อเยื่อ (Tissue cultured swine fever vaccine, Thiverval strain)

ไวรัส - เชื้อไวรัสที่ใช้ในการฉีดพิษทับ เป็นเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรที่แยกได้จากสุกรป่วย ในเขตบางเขน กรุงเทพฯ แล้วนำมาผ่านในสุกรที่ปลอดเชื้อ เก็บเลือดที่มีเชื้อพิษ ในขณะอุณหภูมิร่างกายขึ้นสูงประมาณ 40^{0} C แจกใส่ขวด และเก็บที่อุณหภูมิ -80^{0} C ตรวจหาความรุนแรงของเชื้อไวรัสในสุกร

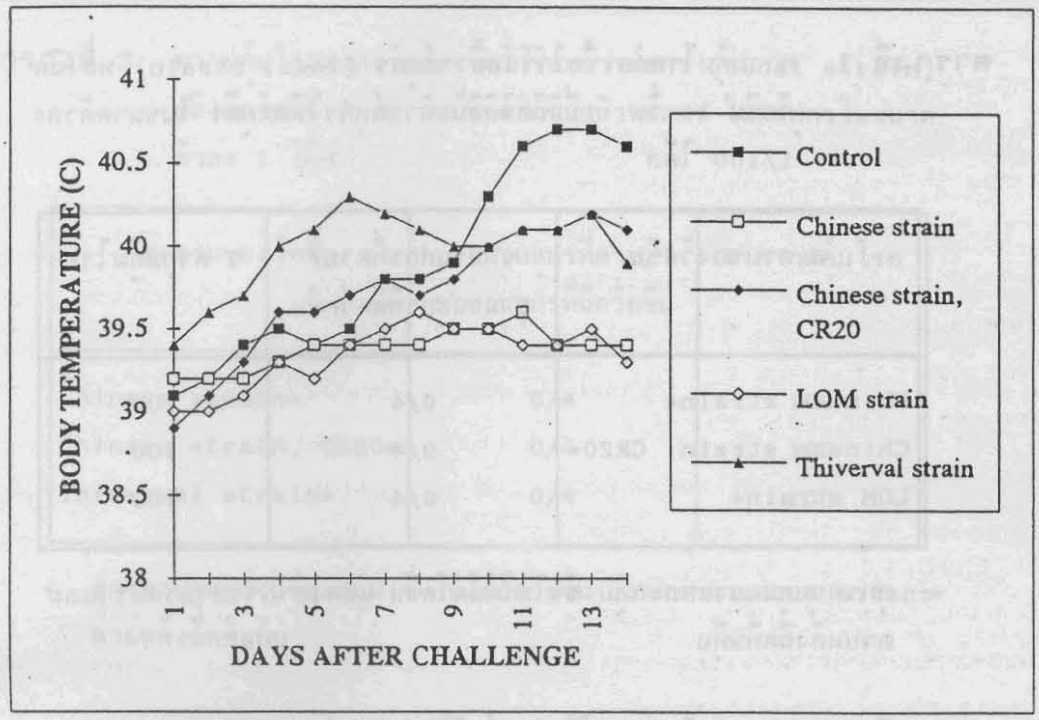
การทดลองที่ 1 เป็นการทดสอบประสิทธิภาพความคุ้มโรคของวัคซีนอหิวาต์สุกรเชื้อเป็น 3 ชนิด คือ วัคซีน Chinese strain ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ วัคซีน Chinese strain, CR20 และ วัคซีน LOM strain ฉีดวัคซีนแต่ละชนิด ให้แก่สุกรกลุ่มละ 4 ตัว โดยฉีดเข้ากล้ามในขนาดตัวละ 1/100 โด๊ส ในแต่ละกลุ่มมีสุกร 1 ตัว ไม่ได้ฉีดวัคซีนและเป็นตัวควบคุม หลังฉีดวัคซีน 14 วัน ฉีดพิษทับให้แก่สุกรทุกตัวด้วยเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร ในขนาด 10^{5} LD_{50} โดยฉีดเข้ากล้าม สังเกตอาการและวัดอุณหภูมิร่างกายนาน 14 วัน เมื่อครบ 21 วัน ฆ่าสุกรที่เหลือทุกตัว ผ่าชากและตรวจดูรอยโรคตามอวัยวะต่าง ๆ

การทดลองที่ 2 เป็นการทดสอบความคุ้มโรคแรกเริ่มหลังฉีดวัคซีน 3 วัน และ 7 วัน ของวัคซีนอหิวาต์สุกรเชื้อเป็น 4 ชนิด คือ วัคซีน Chinese strain ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ วัคซีน Chinese strain,CR20 วัคซีน LOM strain และวัคซีน Thiverval strain ฉีดวัคซีนแต่ละชนิด ให้แก่สุกรกลุ่มละ 4 ตัว โดยฉีดเข้ากล้ามุ ในขนาดตัวละหนึ่งโด๊ส ในแต่ละกลุ่ม มีสุกร 1 ตัว ไม่ได้ฉีดวัคซีนและเป็นตัวควบคุม หลังฉีดวัคซีน 3 วัน และ 7 วัน ฉีดพิษทับให้แก่สุกรทุกตัว ด้วยเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรในขนาด 10^5 LD_{50} สังเกตอาการและวัดอุณหภูมิร่างกายนาน 14 วัน เมื่อครบ 21 วัน ฆ่าสุกรที่เหลือทุกตัว ผ่าชากและตรวจดูรอยโรคตามอวัยะต่าง ๆ

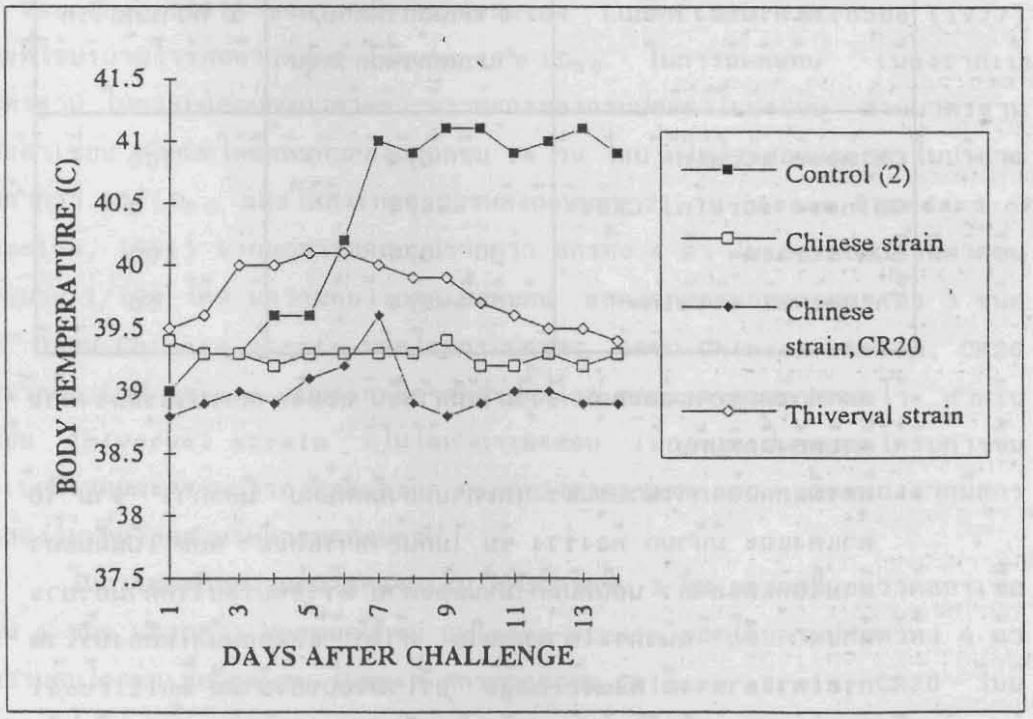
ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 วัคซีนอหิวาต์สุกรเชื้อเป็นทั้ง 3 ชนิด คือ วัคซีน Chinese strain ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ วัคซีน Chinese strain, CR20 และ วัคซีน LOM strain มีประสิทธิภาพให้ความคุ้มโรคแก่สุกรเมื่อฉีดวัคซีนในขนาด 1/100 โด๊ส โดยสุกรที่ฉีดวัคซีนในแต่ละกลุ่ม ไม่แสดงอาการป่วยหลังฉีดพิษทับ ในขณะที่สุกรควบคุมทุกตัว แสดงอาการป่วยรุนแรง และตายหลังฉีดพิษทับ (ตารางที่ 1) โดยมีอาการ จาม ไอ ตาแดงแฉะ มีน้ำมูก ท้องร่วง ซึม ไม่กินอาหารและน้ำ ผอม เป็นผื่นแดงตามใบหูและลำตัว นอนสุมลูกไม่ขึ้นและตาย ตรวจพบรอยโรคตามอวัยวะต่างๆ คือ ผนังกระเพาะด้านใน ลำไส้และต่อมน้ำเหลืองบริเวณกระเพาะอาหาร มี hemorrhage รุนแรง บริเวณขอบของม้าม มี multifocal infarction ผนังกระเพาะปัสสาวะ มี hemorrhage กระจายโดยทั่ว ปอดมี hemorrhage และ pneumonia รุนแรง ต่อมทอนซิลและเยื่อหุ้มสมอง มี hemorrhage

การทดลองที่ 2 วัคซีนอหิวาต์สุกรเชื้อเป็น 4 ชนิด คือ วัคซีน Chinese strain ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ ให้ความคุ้มโรค 100% หลังฉีดวัคซีน 3 วัน และ 7 วัน โดยสุกรที่ฉีดวัคซีนทั้ง 4 ตัว ไม่แสดงอาการป่วยหลังฉีดพิษทับ วัคซีน Chinese strain, CR20 ไม่ให้ความคุ้มโรค หลังฉีดวัคซีน 3 วัน โดยสุกรที่ฉีดวัคซีนทั้ง 4 ตัว แสดงอาการป่วยรุนแรงและตายหลังฉีดพิษทับ แต่ให้ความคุ้มโรค 100% หลังฉีดวัคซีน 7 วัน วัคซีน LOM strain ให้ความคุ้มโรค 100% หลังฉีดวัคซีน 3 วันโดยสุกรที่ฉีดวัคซีนทั้ง 4 ตัว ไม่แสดงอาการป่วยหลังฉีดพิษทับ และวัคซีน Thiverval strain ให้ความคุ้มโรค 50% หลังฉีดวัคซีน 3 วัน โดยสุกร 2 ใน 4 ตัว แสดงอาการป่วยเล็กน้อย หลังฉีดพิษทับ คือ มีอาการจาม ตาแดงแฉะ ท้องร่วงและหายจากอาการป่วยในเวลาต่อมา เมื่อฆ่าผ่าชาก ตรวจพบผนังด้านในของกระเพาะอาหารและที่บริเวณ ileo-cecal junction มี hemorrhage เล็กน้อย ในขณะที่สุกรที่ฉีดวัคซีนอีกสองตัว แสดงอาการป่วยรุนแรงและตายหลังฉีดพิษทับ แต่ให้ความคุ้มโรค 100% หลังฉีดวัคซีน 7 วัน (ตารางที่ 2 และ 3) โดยสุกรควบคุมของทุกกลุ่ม แสดงอาการป่วยรุนแรงและตายหลังฉีดพิษทับ และมีอุณหภูมิเฉลี่ยสูงกว่าสุกรในกลุ่มที่ฉีดวัคซีน (รูปภาพที่ 1 และ 2)



รูปภาพที่ 1 อุณหภูมิเฉลี่ยในกลุ่มสุกรหลังฉีดวัคซีน 3 วัน และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ฉีดวัคซีน หลังฉีดพิษทับด้วยเชื้อท้องที่ไวรัสอหิวาต์สุกร



รูปภาพที่ 2 อุณหภูมิเฉลี่ยในกลุ่มสุกรหลังฉีดวัคซีน 7 วัน และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ฉีดวัคซีน หลังฉีดพิษทับด้วยเชื้อท้องที่ไวรัสอหิวาต์สุกร

ตารางที่ 1 ความคุ้มโรคต่อเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร (local strain) หลังฉีดวัคซีน 14 วัน เมื่อฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกรให้แก่สุกร ในขนาดตัวละ 1/100 โด๊ส

สเตรนของวัคซีน	จำนวนสุกรที่ตาย/จำนวนสุกรที่ฉีดวัคซีน	% ความคุ้มโรค
Chinese strain*	0/4	100
Chinese strain, CR20*	0/4	100
LOM strain*	0/4	100

* สุกรควบคุมของแต่ละกลุ่ม ซึ่งไม่ได้ฉีดวัคซีน แสดงอาการป่วยรุนแรงและตายหลังฉีดพิษทับ

ตารางที่ 2 ความคุ้มโรคแรกเริ่มต่อเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร (local strain) หลังฉีดวัคซีน 3 วัน เมื่อฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกร ให้แก่สุกรในขนาดตัวละ 1 โด๊ส

สเตรนของวัคซีน	จำนวนสุกรที่ตาย/จำนวนสุกรที่ฉีดวัคซีน	% ความคุ้มโรค
Chinese strain*	0/4	100
Chinese strain, CR20*	**4/4	0
LOM strain*	0/4	100
Thiverval strain*	**2/4	50

* สุกรควบคุมของแต่ละกลุ่ม ซึ่งไม่ได้ฉีดวัคซีน แสดงอาการป่วยรุนแรงและตายหลังฉีดพิษทับ

** สุกรที่แสดงอาการป่วยรุนแรงและตายหลังฉีดพิษทับ มีอาการ จาม ไอ ตาแดงแฉะ มีน้ำมูก ท้องร่วง ซึม ไม่กินอาหารและน้ำ ผอม เป็นผื่นแดงตามใบหูและลำตัว นอนสุมลุกไม่ขึ้นและตาย ตรวจพบรอยโรคตามอวัยวะต่างๆ คือ ผนังกระเพาะด้านใน ลำไส้ และต่อมน้ำเหลืองบริเวณกระเพาะอาหารมี hemorrhage บริเวณขอบของม้ามมี multifocal infarction ผนังกระเพาะปัสสาวะมี hemorrhage กระจายโดยทั่วปอดมี hemorrhage และ pneumonia ต่อมทอนซิลและเยื่อหุ้มสมองมี hemorrhage

ตารางที่ 3 ความคุ้มโรคแรกเริ่มต่อเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร (local strain) หลังฉีดวัคซีน 7 วัน เมื่อฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกร ให้แก่สุกรในขนาดตัวละ 1 โด๊ส

สเตรนของวัคซีน	จำนวนสุกรที่ตาย/จำนวนสุกรที่ฉีดวัคซีน	% ความคุ้มโรค
Chinese strain*	0/4	100
Chinese strain, CR20*	0/4	100
Thiverval strain*	0/4	100

* สุกรควบคุมของแต่ละกลุ่ม ซึ่งไม่ได้ฉีดวัคซีน แสดงอาการป่วยรุนแรงและตายหลังฉีดพิษทับ

วิจารณ์

ในการทดสอบ ประสิทธิภาพความคุ้มโรค ของวัคซีนอหิวาต์สุกรเชื้อเป็น ที่ใช้วัคซีนในขนาด 1/100 โด๊ส ฉีดให้แก่สุกรนั้น เนื่องจากเป็นมาตรฐานในการทดสอบคุณภาพวัคซีนอหิวาต์สุกรในประเทศไทย และสอดคล้องกับมาตรฐานของอาเซี่ยน (Asean Standard of Vaccine, 1991) ซึ่งตรงกับความคิดเห็นของ Lunen และ Strobbe (1977) และที่ใช้ปริมาณไวรัสอหิวาต์สุกร ในขนาด 10^5 LD_{50} ในการฉีดพิษทับ เนื่องจากเป็นมาตรฐาน ในการทดสอบคุณภาพวัคซีนอหิวาต์สุกรของกรมปศุสัตว์ในปัจจุบัน ส่วนมาตรฐานของอาเซี่ยน กำหนดให้ฉีดพิษทับหลังฉีดวัคซีน 14 วัน โดยให้ใช้ไวรัสอหิวาต์สุกรในปริมาณไม่ต่ำกว่า 10^4 LD_{50} และให้สังเกตอาการหลังฉีดพิษทับ 21 วัน (Asean Standard of Vaccine, 1991) จากผลการทดสอบปรากฏว่า สุกรทั้ง 4 ตัว ในแต่ละกลุ่ม ซึ่งฉีดวัคซีนในขนาด 1/100 โด๊ส มีความคุ้มโรคต่อเชื้อพิษทับ แสดงว่าวัคซีนอหิวาต์สุกร ทั้ง 3 ชนิด คือ วัคซีน Chinese strain ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ วัคซีน Chinese strain, CR20 และวัคซีน LOM strain มีประสิทธิภาพความคุ้มโรค ตามมาตรฐานที่กำหนดไว้ สำหรับวัคซีน Thiverval strain ที่ไม่ได้ทำการทดสอบ เนื่องจากเป็นวัคซีนที่ได้รับการขึ้นทะเบียนจากคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข แล้ว และเนื่องจากมีสุกรทดลองไม่เพียงพอสำหรับการทดสอบด้วย

ในการทดสอบความคุ้มโรคแรกเริ่ม หลังฉีดวัคซีน 3 วัน ของวัคซีนอหิวาต์สุกรเชื้อเป็น 4 ชนิด ปรากฏว่า สุกรที่ฉีดวัคซีน Chinese strain ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ทั้ง 4 ตัว มีความคุ้มโรคต่อเชื้อฉีดพิษทับ ในขณะที่ สุกรที่ฉีดวัคซีน Chinese strain, CR20 ไม่มีความคุ้มโรคต่อเชื้อฉีดพิษทับ แสดงว่า ถึงแม้จะเป็นวัคซีนชนิดผ่านกระต่ายเหมือนกัน แต่ต่างกันที่สเตรนของวัคซีนหรือกรรมวิธีการผลิต ก็สามารถกระตุ้นความคุ้มโรคได้เร็วต่างกัน ส่วนสุกรที่ฉีดวัคซีน LOM strain ทั้ง 4 ตัว ก็มีความคุ้มโรคต่อเชื้อฉีดพิษทับ ในขณะที่สุกรที่ฉีดวัคซีน Thiverval strain 2 ใน 4 ตัว ไม่มีความคุ้มโรคต่อเชื้อฉีดพิษทับ แสดงว่า

ถึงแม้จะเป็น วัคซีนชนิดเพาะเลี้ยงในเนื้อเยื่อเหมือนกัน แต่ต่างกันที่ สเตรนของวัคซีน หรือกรรมวิธีการผลิต ก็สามารถกระตุ้นความคุ้มโรคได้เร็วต่างกัน อย่างไรก็ตาม วัคซีนอหิวาต์สุกรเชื้อเป็นทั้ง 3 ชนิด คือ วัคซีน Chinese strain ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ วัคซีน Chinese strain, CR20 และ วัคซีน Thiverval strain สามารถให้ความคุ้มโรคแก่สุกรได้ 100% หลังฉีดวัคซีน 7 วัน ซึ่งใกล้เคียงกับที่มีรายงานไว้ว่า วัคซีนสเตรน China และ Thiverval สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้เร็ว โดยสุกรมีความคุ้มโรคต่อเชื้อฉีดพิษทับหลังฉีดวัคซีน 5 วัน (Van Oirschot and Terpstra, 1989) และใกล้เคียงกับรายงานของ Parchariyanon และคณะ (1990) ซึ่งก็ได้รายงานไว้ว่า วัคซีนอหิวาต์สุกร Chinese strain ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ สามารถป้องกันโรคได้ โดยการฉีดพิษทับหลังฉีดวัคซีน 6 วัน สำหรับวัคซีน LOM strain ที่ไม่ได้ทดสอบความคุ้มโรคแรกเริ่มหลังฉีดวัคซีน 7 วัน เนื่องจากมีสุกรทดลองไม่เพียงพอและสามารถดูผลการกระตุ้นให้เกิดความคุ้มโรคได้เร็ว จากการทดลองฉีดพิษทับหลังฉีดวัคซีน 3 วัน

สรุป

วัคซีนอหิวาต์สุกรเชื้อเป็น ทั้ง 3 ชนิด คือ วัคซีน Chinese strain ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ วัคซีน Chinese strain, CR20 และ วัคซีน LOM strain ผ่านการทดสอบความคุ้มโรค ตามมาตรฐานการทดสอบคุณภาพวัคซีนอหิวาต์สุกร สำหรับการศึกษาความคุ้มโรคแรกเริ่มหลังฉีดวัคซีน 3 วัน และ 7 วัน ปรากฏว่าวัคซีน Chinese strain ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ และวัคซีน LOM strain สามารถกระตุ้นให้เกิดความคุ้มโรคแรกเริ่มหลังฉีดวัคซีน 3 วัน ในขณะที่ วัคซีน Chinese strain, CR20 และวัคซีน Thiverval strain สามารถกระตุ้นให้เกิดความคุ้มโรคแรกเริ่มหลังฉีดวัคซีน 7 วัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และพนักงาน ศูนย์ควบคุมคุณภาพชีวภัณฑ์ ที่ช่วยในการเจาะเลือดแยกซีรั่ม และเลี้ยงสัตว์ทดลอง คณะกรรมการตรวจสอบผลงานทางวิชาการ ของกองผลิตชีวภัณฑ์ และท่านผู้เชี่ยวชาญ แอบ คงทน ที่ช่วยในการตรวจแก้ไขต้นฉบับ ท่านผู้อำนวยการกองผลิตชีวภัณฑ์ นายพิจิตร มกรเสน ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการดำเนินงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กัญญา สุวินทรากร อนุทิน หาญวีระพล สุจิรา ปาจาริยานนท์ และ วาสนา ภิญโญชนม์ 1994 (2537) ศึกษาการติดเชื้ออหิวาต์สุกรชนิดแอบแฝง ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการสัตวแพทยสมาคมครั้งที่ 21 กรุงเทพ 28-30 พฤศจิกายน 2537:151-162.

Asean Report of the Fourth AD - HOC Meeting on the Asean Standard of Vaccines, 1991. Jarkata, Indonesia.

Kumagai, T. 1990. Swine fever vaccine used in Asia. OIE - FAVA Symposium on the Control of Major Livestock Disease in Asia: 30-36.

Leunen, J. and Strobbe, R. 1977. Capacity of attenuated swine fever vaccines to prevent virus carriers in the vaccinated pigs after contact with field virus. Arch. Exp. Veterinaermed. 31: 533-536.

Lin, T. C. and Lee, C. T. 1981. An overall report on the development of a highly safe and potent lapinized hog cholera virus strain for hog cholera control in Taiwan. NSC publication No. 5 National Science Council, Taipei, Taiwan, R.O.C.

Pachariyanon, S., Pinyochon, W., Methiyapun, P., Tuntaswasdi, U. and Rujtikumporn, B. 1990. The protective effect of swine fever vaccines against challenge with a field isolate. Proceedings of the 7th Congress of Federation of Asian Veterinary Associations. Pattaya:534-541.

Van Oirschot, J. T. 1987. Hog cholera. Disease of Swine, 6th ed. Iowa state Univ. Press, USA.

Van Oirschot, J. T. and Terpstra, C. 1989. Hog Cholera Virus. Virus Infection of Porcine. Vol. 2 Elsevier Science Publishers B.V., Newyork, U.S.A.

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 on a small scale. This vaccine provided very low viscosity and high stability and produced little local reactions. The efficacy between HS OAV and aluminium hydroxide gel vaccine (HS ALV) had been conducted in a number of cattle and buffaloes.

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

บทคัดย่อ

ได้ทำการทดลองโดยการเตรียมวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมัน (HS-OAV) แบบน้ำในน้ำมัน ในขนาดทดลองด้วยสูตรที่ได้พัฒนาขึ้น วัคซีนนี้มีความหนืดต่ำ ความคงตัวสูงและก่อให้เกิดปฏิกิริยาต่อเนื้อเยื่อบริเวณฉีดน้อย นำวัคซีนที่ได้มาทำการทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนชนิดน้ำมันนี้เปรียบเทียบกับประสิทธิภาพของวัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ (HS ALV) ในโค และกระบือ

ผลการทดลองพบว่า วัคซีนชนิดน้ำมันให้ความคุ้มโรค 100 เปอร์เซนต์เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 12 เดือน โดยการฉีดเชื้อพิษทับแก่โค และกระบือทดลอง ในขณะที่วัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ให้ความคุ้มโรคอยู่เพียง 2 เดือนเท่านั้น ดังนั้นวัคซีนชนิดน้ำมันเป็นวัคซีนที่มีประสิทธิภาพดีกว่า และจะมีการปรับปรุงการผลิตในปริมาณมาก ๆ ในอนาคต

---

[1] ศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ ปากช่อง นครราชสีมา 30130

คำนำ

โรคเฮโมรายิกเซพติซีเมีย ยังคงเป็นโรคที่สำคัญโรคหนึ่งสำหรับโคและกระบือในประเทศเขตร้อนซึ่งก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจ (1,2) การป้องกันโรคโดยการฉีดวัคซีนแก่โคและกระบือ ยังคงเป็นวิธีที่ยอมรับกัน และวัคซีนที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในปัจจุบัน คือวัคซีนชนิดน้ำมัน 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 และนำมาเพาะเชื้อเก็บในหลอดแก้วทำแห้งไว้ใช้ในโอกาสต่อไป เชื้อนี้ใช้ในการเตรียมวัคซีน การทำ passive mouse protection test (PMPT) และการทำ potency test

วัคซีน

ใช้บรอทแบคเทอรินของเชื้อ *P.multocida* ซึ่งเพาะเลี้ยงในเครื่องเฟอร์เมนเตอร์ตามวิธีการผลิตของศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ปากช่อง กรมปศุสัตว์ ดังนี้

อาหารเลี้ยงเชื้อ

Tryptose phosphate broth (TPB)

ส่วนประกอบสำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร

Tryptose	15	g
Yeast extract	5	g
Sodium chloride	5	g
Glucose	2	g
Disodium hydrogen phosphate	2.5	g

ปรับ pH 7.4 ด้วย 10% Sodium hydroxide solution

การเพาะเชื้อ

นำเชื้อที่เก็บไว้หนึ่งหลอดมาละลายด้วย tryptose broth แล้วเพาะลงใน dextrose starch agar plate บ่มที่อุณหภูมิ 37°c นาน 20 ชม. เลือก pure colony มา subculture ลงในขวดขนาด 5 ลิตรซึ่งมี tryptose broth บรรจุอยู่ 2 ลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37°c นาน 6 ชม. ตรวจ purity นำไปเพาะลงในเครื่อง Fermentor ขนาด 500 ลิตร ซึ่งมี TPB บรรจุอยู่ 400 ลิตร ใช้รอบปั่น 100 รอบ/นาที อากาศ 100 ลิตร/นาที ที่อุณหภูมิ 37°c เป็นเวลา 12-15 ชม. เก็บตัวอย่างมาตรวจ purity แล้วเติม formalin ลงไป 2 ลิตรเพื่อฆ่าเชื้อ ปล่อยทิ้งไว้นาน 24 ชม.เก็บตัวอย่างมาตรวจ purity, sterility และ safety หลังจากนั้นนำเชื้อที่ได้แบ่งไปทำเป็นวัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์และชนิดน้ำมันต่อไป

ก. วัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์

นำเชื้อที่ได้และผ่านการตรวจสอบแล้วมาผสมกับ 2.3% อลูมิเนียมไฮดรอกไซด์เจล ในอัตราส่วน 10:1 ปั่นให้เข้ากันดี นำไปแจกลงขวดขนาด 100 มล. ขวดละ 90 มล. ในหนึ่งขวดจะมีวัคซีน 30 โดส และในวัคซีน 1 โดส (3 มล.) 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 จำนวน 2.75 กก. กับ Arlacel A จำนวน 0.2 กก. เป็นส่วนที่ 1 และผสมบรอทแบคเทอริน จำนวน 2.0 กก. กับ Tween 80 จำนวน 0.05 กก. เป็นส่วนที่ 2 ค่อย ๆ เติมส่วนที่ 2 ลงในส่วนที่ 1 แล้วปั่นด้วย homogenizer (Ystral, type x 1020) เป็นเวลา 5 นาที จะได้วัคซีนลักษณะคล้ายน้ำนมสีขาว มีความหนืด 100 เซนติปอยส์ นำไปบรรจุขวดขนาด 100 มล. ขวดละ 77 มล. ในหนึ่งขวดจะมีวัคซีน 10 โดส และใน 1 โดส (7.7 มล.) จะประกอบด้วยปริมาณเชื้อเท่ากับ ในวัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ 1 โดส เช่นกัน

โค และกระบือ

โค และกระบือ พันธุ์ผสม อายุ 6-12 เดือน จำนวนชนิดละ 95 ตัวไม่เคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคเฮโมรายิกเซพติซีเมียมาก่อนและไม่มีประวัติการเป็นโรคของโค และกระบือในแหล่งที่มา

นำโค และกระบือ มาเลี้ยงรวมกันในคอกทดลองก่อนดำเนินการ 2 เดือน เพื่อเตรียมตัวสัตว์ โดยกำจัดพยาธิภายในและภายนอกฉีดวัคซีนป้องกันโรคแอนแทรกซ์และโรคปากและเท้าเปื่อย

โค และกระบือ ที่ใช้ทดลอง จะต้องผ่านการทดสอบว่าไม่มีภูมิคุ้มกันโรคเฮโมรายิกเซพติซีเมียในซีรั่ม โดยวิธี PMPT และจะต้องทำการเจาะเลือดแยกซีรั่มนำมาตรวจหาภูมิคุ้มกันหลังจากฉีดวัคซีน วัคซีน ครบ 7, 14 และ 21 วัน ตามลำดับ

การฉีดวัคซีนและเชื้อพิษทับ

แบ่งกลุ่มโค และกระบือ ออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

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

กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย โค 34 ตัว กระบือ 34 ตัว ฉีดด้วยวัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอก-ไซด์ 3 มล. เข้าใต้ผิวหนังบริเวณแผงคอ

กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย โค 15 ตัว กระบือ 15 ตัว จัดเป็นกลุ่มควบคุมไม่ต้องฉีดวัคซีน ในแต่ละกลุ่มจะต้องแบ่ง โค และกระบือทดลอง เป็นกลุ่มย่อยไว้ เพื่อทำการเจาะเลือดเก็บซีรั่ม 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} เท่าแล้วฉีดเข้าใต้ผิวหนัง ตัวละ 1 มล. ซึ่งมีเชื้อประมาณ $1x10^7$ - $1x10^8$ CFU ภายหลังการฉีดพิษทับดูอาการและวัดอุณหภูมิร่างกายทุกวันเป็นเวลา 7 วัน

หนูขาว

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

Passive mouse protection test (PMPT)

วิธีทำ PMPT ดัดแปลงมาจาก Bain และคณะ (1) โดยฉีดตัวอย่างซีรั่มโค และกระบือให้หนูขาวตัวอย่างละ 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 โดยหนูกลุ่มควบคุมจะต้องตายหมดทุกตัว ส่วนหนูที่ได้รับการฉีดซีรั่มกลุ่มใดมีหนูรอดเพียง 1 ตัวขึ้นไป ให้ถือว่าซีรั่มนั้นมีภูมิคุ้มกันต่อโรคเฮโมรายิกเซพติซีเมีย

* MLD_{50} = 50% mouse lethal dose

ผลการทดลอง

1. คุณสมบัติทั่วไปของวัคซีน

   1.1 คุณสมบัติของวัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์เป็น suspension สีขาวอมเหลือง

   1.2 คุณสมบัติของวัคซีนชนิดน้ำมัน ดัง Table 1

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

2. ผลการตรวจทางซีรั่มวิทยา ของโคและกระบือโดยวิธี PMPT ก่อนนำมาทดสอบ ปรากฏว่าโค และกระบือทุกตัวไม่มีภูมิคุ้มกันต่อโรคเฮโมรายิกเซพติซีเมีย

3. ผลการตรวจทางซีรั่มวิทยา ของโคและกระบือโดยวิธี PMPT หลังจากได้รับการฉีดวัคซีนเฮโมรา-ยิกเซพติซีเมียทั้งชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ และชนิดน้ำมัน ดัง Table 2 ซึ่งจะเห็นว่าโค และกระบือที่ได้รับการฉีดวัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์จะให้ความคุ้มโรคได้เร็วกว่าวัคซีนชนิดน้ำมัน

Table 2 Serological response of cattle and buffaloes to HS ALV and HS OAV measured by PMPT

Vaccine	PMPT	No. of cattle (%)				No. of Buffaloes (%)			
		pre*	d 7*	d 14*	d 21*	pre	d 7	d 14	d 21
HS ALV	PMPT Negative	34 (100%)	34 (100%)	10 (29.4%)	0 (0%)	34 (100%)	34 (100%)	14 (41.2%)	0 (0%)
	PMPT Positive	0 (0%)	0 (0%)	24 (70.6%)	34 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	20 (58.8%)	34 (100%)
HS OAV	PMPT Negative	46 (100%)	46 (100%)	42 (91.3%)	22 (47.8%)	46 (100%)	46 (100%)	43 (93.5%)	25 (54.3%)
	PMPT Positive	0 (0%)	0 (0%)	4 (8.7%)	24 (52.2%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (6.5%)	21 (45.7%)

Pre* = pre vaccination
d 7* = 7 days after vaccination
d 14* = 14 days after vaccination
d 21* = 21 days after vaccination

4. ผลการตรวจทางซีรั่มวิทยาของโค และกระบือกลุ่มควบคุมโดยวิธี PMPT ปรากฏว่าสัตว์ทุกตัวไม่มีภูมิคุ้มกันจากการตรวจซีรั่มของวันที่ 0 , 7 , 14 และ 21 วันตามลำดับ

5. ผลข้างเคียงหลังจากสัตว์ได้รับวัคซีนทั้งชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์และชนิดน้ำมัน
   5.1 โค และกระบือเคี้ยวเอื้องและกินหญ้าเป็นปกติดีทุกตัว
   5.2 โค และกระบือที่ได้รับการฉีดวัคซีนชนิดน้ำมันจะมีอุณหภูมิสูงกว่าปกติเล็กน้อยประมาณ 1-2°c และจะลดลงเป็นปกติหลังจากฉีดครบหนึ่งอาทิตย์ ส่วนโค และกระบือที่ได้รับการฉีดวัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์จะมีอุณหภูมิไม่เปลี่ยนแปลง
   5.3 โค และกระบือที่ได้รับการฉีดวัคซีนชนิดน้ำมันจะมีการบวมบริเวณฉีดทุกตัวตั้งแต่ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-10 ซม. และจะค่อย ๆ ยุบลงหลังจากฉีดวัคซีนครบหนึ่งอาทิตย์ และจะยุบหายไปเกือบทุกตัวภายในสามอาทิตย์ ส่วนโคและกระบือที่ได้รับการฉีดวัคซีน ชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ไม่แสดงอาการบวมบริเวณฉีดเลย

6. ผลการทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมัน และวัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ โดยวิธีฉีดเชื้อพิษ

ตลอดการทดลอง 12 เดือน ทั้งโค และกระบือ กลุ่มที่แยกออกมาฉีดเชื้อพิษทับเป็นระยะ ๆ หลังการฉีดวัคซีนชนิดน้ำมัน จะมีความคุ้มโรคทุกตัว คิดเป็น 100 เปอร์เซนต์ ในขณะที่โค และกระบือ ซึ่งได้รับการฉีดวัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์จะมีความคุ้มโรคต่ำมาก โดยโคจะให้ความคุ้มโรค 100 เปอร์เซนต์ ภายหลังฉีดวัคซีน 1 เดือน และจะลดลงเหลือ 50 เปอร์-เซนต์ หลังจากฉีดวัคซีน 2 เดือน และจะลดลงเรื่อย ๆ ส่วนกระบือความคุ้มโรคไม่ถึง 100 เปอร์เซนต์ หลังจากฉีดวัคซีนครบ 1 เดือน และเช่นเดียวกับโค นั่นคือ ความคุ้มโรคจะลดลงภายหลังฉีดวัคซีนนานกว่า 2 เดือน ดัง Table 3 และ Table 4

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

Months after vaccination	O*		A*		Control	
	survival per total	%protection	survival per total	%protection	survival per total	%protection
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

7. ผลข้างเคียงโค และกระบือกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับการฉีดเชื้อพิษทับเมื่อฉีดวัคซีนครบ 1,2, 4,6,9 และ 12 เดือน มีดังนี้

7.1 โค และกระบือกลุ่มควบคุมจะมีอาการซึม น้ำลายยืด ไม่กินอาหารและน้ำ ไม่เคี้ยวเอื้อง ยืนขาแข็งแต่ไม่มีแรง มักล้มลงนอน บริเวณที่ฉีดเชื้อพิษจะบวมมากและลามไปทั่วบริเวณขา อุณหภูมิสูงกว่าปกติตั้งแต่ 6 ชั่วโมงหลังฉีดเชื้อพิษทับและลดลงมากกว่าปกติเมื่อสัตว์ใกล้จะตาย สัตว์มักจะตายภายใน 72 ชั่วโมง

7.2 โค และกระบือที่ได้รับการฉีดวัคซีนชนิดน้ำมันและรอดจากการฉีดเชื้อพิษทับ จะมีอาการทั่ว ๆ ไปเป็นปกติ กินน้ำ หญ้า อาหาร และเคี้ยวเอื้องดี มีอุณหภูมิปกติ การบวมตรงบริเวณฉีดมีน้อยมาก

7.3 โค และกระบือที่ได้รับการฉีดวัคซีนชนิดอลูมิเนียมและรอดจากการฉีดพิษทับจะมีอาการทั่ว ๆ ไปเช่นเดียวกับโค และกระบือที่ได้รับการฉีดวัคซีนชนิดน้ำมัน ส่วนโค และกระบือที่มีภูมิคุ้มกันต่ำแต่ยังไม่ตายมักจะมีอาการซึม ตรงบริเวณฉีดพิษทับจะมีการบวมค่อนข้างมาก มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2-15 ซม. อุณหภูมิสูงเล็กน้อยอยู่ประมาณ 1-5 วัน หลังจากนั้นจะหายเป็นปกติ และสัตว์ที่ตายหลังจากได้รับการฉีดพิษทับ จะมีอาการซึม น้ำลายยืด ไม่กินอาหารและน้ำ ไม่เคี้ยวเอื้อง ยืนขาแข็งแต่ไม่มีแรง มักล้มลงนอน บริเวณที่ฉีดเชื้อพิษจะบวมมากและลามไปทั่วบริเวณขา อุณหภูมิสูงกว่าปกติตั้งแต่ 6 ชั่วโมงหลังฉีดเชื้อพิษทับและลดลงมากกว่าปกติเมื่อสัตว์ใกล้จะตาย สัตว์มักจะตายภายใน 72 ชั่วโมง

Table 4 Comparison of potency test between HS-OAV and HS 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

สรุปและวิจารณ์

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมันมีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคสำหรับ โค และกระบือดีกว่าวัคซีนชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ ผลที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของหลายประเทศในแถบเอเชีย ซึ่งได้ทดลองเปรียบเทียบระยะความคุ้มโรคของวัคซีนชนิดน้ำมันกับวัคซีนชนิดตกตะกอนด้วยอะลั่ม และวัคซีนชนิดน้ำมันกับวัคซีนชนิดน้ำธรรมดา ผลปรากฏว่า วัคซีนชนิดน้ำมันให้ความคุ้มโรคนานไม่ต่ำกว่า 1 ปี ส่วนวัคซีนอีกสองชนิดให้ความคุ้มโรคนานไม่ต่ำกว่า 4 เดือน

วัคซีนชนิดน้ำมันซึ่งเตรียมขึ้นใช้ในการทดลองครั้งนี้มีความคงตัวสูงความหนืดต่ำฉีดง่ายเมื่อรวมกับประสิทธิภาพในการป้องกันโรคสูงถึง 100 เปอร์เซนต์ และความคุ้มโรคนี้อยู่นานอย่างน้อย 12 เดือน ทำให้มีเหตุผลที่ใช้เป็นข้อสนับสนุนความคิดในการเปลี่ยนการใช้วัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียจากชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์มาเป็นวัคซีนชนิดน้ำมัน

อย่างไรก็ตามจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการนำเอาวัคซีนชนิดน้ำมันไปใช้ในท้องที่และระยะเวลาคุ้มโรคในโค และกระบือ ทั้งนี้เพราะการทดลองทำในระยะเวลา 12 เดือน ซึ่งจากผลใน Table 3 และ Table 4 ยังไม่สามารถบอกถึงระยะความคุ้มโรคได้ว่าจะลดลงจาก 100 เปอร์เซนต์จนถึงไม่มีความคุ้มโรคภายหลังจากฉีดวัคซีนเป็นเวลานานเท่าไร นอกจากนี้ยังต้องศึกษาถึงการลดปริมาณแอนติเจนเพื่อลดปริมาณการฉีดต่อตัว เพื่อความสะดวกในการปฏิบัติงานในท้องที่อีกด้วย

จาก Table 4 การทดลองในกระบือกลุ่มควบคุมไม่ฉีดวัคซีน มีกระบือรอดจากการฉีดพิษทับ 1 ตัว ซึ่งกระบือตัวนี้ได้รับการตรวจสอบซีรั่มโดยวิธี PMPT ก่อนการทดลองแล้วว่าไม่มีภูมิคุ้มโรค ซึ่งอาจเป็นได้ว่าผลของ PMPT นั้นไม่สัมพันธ์กับการฉีดพิษทับ โดยเฉพาะในระยะที่ภูมิคุ้มโรคเริ่มลดลงหรือมีเหลือน้อย ตามผลการทดลองของ วุฒิพร รุ่งเวชวุฒิวิทยา และคณะ (ผลงานที่ยังมิได้ตีพิมพ์) เป็นเหตุผลประการหนึ่งและอีกประการหนึ่งกระบือตัวนี้เป็นกระบือเผือก อาจจะมีความทนทานเฉพาะตัวต่อโรคสูง ส่วนโค และกระบือ ที่ตายในระหว่างการทดลองครั้งนี้ เมื่อผ่าซากดูไม่พบวิการใด ๆ ที่บ่งบอกว่าเป็นการตายจากการเป็นโรคและจากการตรวจทางห้องปฏิบัติการไม่พบเชื้อผิดปกติ ที่จะเป็นสาเหตุของการตายได้ ดังนั้นเหตุผลของการตายอาจเนื่องจากสุขภาพอ่อนแอ

กิตติกรรมประกาศ

การทดลองครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนจากกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ภายใต้โครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีเพื่อพัฒนาการเกษตร ขอขอบคุณ U.S. Agency For International Development (USAID) ประเทศไทยที่ให้การสนับสนุนด้านวิชาการและเงินกู้ ในการทดลองครั้งนี้ ขอขอบคุณ Dr. R.A. Ralston อดีตผู้เชี่ยวชาญประจำโครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีเพื่อพัฒนาการเกษตร และ ดร.วัลลภา สานติวัตร ที่ช่วยประสานงานให้เจ้าหน้าที่ของกรมปศุสัตว์ที่ได้มีโอกาสทำงานวิจัยภายใต้โครงการนี้อย่างต่อเนื่อง 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.