# วารสารชีวผลิตภัณฑ์

| | |
|---|---|
| บรรณาธิการ | แอบ คงทน |
| บรรณาธิการผู้ช่วย | พยนต์ สินสุวงศ์วัฒน์ |
| กองบรรณาธิการ | สมใจ กมลศิริพิชัยพร |
| | สหวัชร์ อึ้งวณิชบรรณ |
| | ไชยา สง่าประโคน |
| | เดิมพล รัตนวงศ์ |
| สำนักงาน | กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ พญาไท กรุงเทพ ฯ |
| วัตถุประสงค์ | 1. เพื่อเผยแพร่งานวิชาการ ด้านการผลิตชีวภัณฑ์ |
| | 2. เพื่อเผยแพร่ความรู้ ความเข้าใจเกี่ยวกับการใช้วัคซีนป้องกันโรคสัตว์ |
| กำหนดออก | ปีละ 2 ฉบับ คือ เดือน มีนาคม และเดือน กันยายน |
| พิมพ์ที่ | ศูนย์โรคปากและเท้าเปื่อย อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา |

# THE JOURNAL OF VETERINARY BIOLOGICS

| | |
|---|---|
| **Editor in chief** | Ab Kongthon |
| **Assistance Editor** | Payont Sinsuwonkwat |
| **Editorial Board** | Somjai Kamolsiripichaiporn |
| | Sahawatchara Ungvanijban |
| | Chaiya Sangaprakon |
| | 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 Development intended to make available the results of technical work in the veterinary biological science. The Journal of Veterinary Biologics edition is issued 2 times per year in March and September.

# คำแนะนำสำหรับผู้เขียน

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

1. งานวิจัย (Technical papers) เป็นงานเสนอผลการวิจัยที่ผู้เขียนได้กระทำขึ้นเอง

2. บทความ (Articles) เป็นความหมายทางวิชาการ ที่รวบรวมข้อมูลความคิดเห็น และประสบการณ์ของผู้เขียน

## การเตรียมต้นฉบับ

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

2. ชื่อเรื่อง บอกทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ควรกระทัดรัดและตรงกับเนื้อเรื่อง

3. ชื่อผู้เขียน ใช้ภาษาไทยและภาษาอังกฤษ บอกชื่อเต็มและสถานที่ทำงาน

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

5. เนื้อหา (Text) สำหรับงานวิจัยควรประกอบด้วยหัวเรื่องต่อไปนี้

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

5.2 อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and method) ควรประกอบด้วย

5.2.1 คำอธิบายเกี่ยวกับเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

5.2.2 คำอธิบายถึงวิธีการที่ใช้ทดลอง แต่ไม่จำเป็นต้องอธิบายวิธีการที่ถือว่าเป็นแบบฉบับซึ่งเป็นที่เข้าใจกันดีโดยทั่วไปอยู่แล้ว

5.3 ผล (Results) เป็นการเสนอผลการทดลอง ไม่ควรอธิบายยาวกว่าความจำเป็นถ้ามี ตาราง กราฟ หรือรูปภาพ ก็ให้มีเนื้อหาและคำอธิบายเป็นภาษาอังกฤษ

5.4 วิจารณ์ (Discussion) เป็นการวิจารณ์ผลการทดลอง โดยมีจุดมุ่งหมายดังนี้

5.4.1 เพื่อให้ผู้อ่านเห็นคล้อย ถึงหลักการที่แสดงออกมาจากผลการทดลอง

5.4.2 เพื่อสนับสนุนหรือคัดค้านทฤษฎีที่มีผู้เสนอมาก่อน

5.4.3 เพื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองและการตีความหมายของผู้อื่น

5.4.4 สรุปสาระสำคัญและประจักษ์พยานของผลการทดลอง ผู้เขียนควรพยายามเน้นถึงปัญหาหรือข้อโต้แย้งในสาระสำคัญของเรื่องที่กำลังกล่าวถึง ตลอดจนข้อเสนอแนะเพื่อการวิจัยในอนาคต และลู่ทางที่จะนำผลไปใช้เป็นประโยชน์

5.5 คำขอบคุณ (Acknowledgement) อาจมีหรือไม่มีก็ได้ เป็นการแสดงความขอบคุณแก่ผู้ที่ช่วยเหลือให้งานวิจัยและเตรียมเอกสาร ฉลุล่วงไปด้วยดี แต่มิได้เป็นผู้ร่วมงานด้วย

5.6 เอกสารอ้างอิง (Literature cited)

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

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

5.6.3 หลักเกณฑ์ที่สำคัญของการเขียนเอกสารอ้างอิงมีดังนี้นี้

(1) ชื่อเมือง ชื่อรัฐ และชื่อประเทศให้เขียนเต็ม

(2) การอ้างหมายเลขหน้าของวารสารต่างประเทศ ถ้าอ้างเพียง 1 หน้า ใช้ p. หน้าตัวเลข ถ้าอ้างหลายหน้าใช้ pp. หน้า ตัวเลขสำหรับวารสารภาษาไทยให้ใช้ น. หน้าตัวเลข ทั้งกรณีอ้างหน้าเดียวและหลายหน้า

(3) ชื่อวิทยาศาสตร์สิ่งมีชีวิตให้ใช้ตัว*เอน* หรือขีดเส้นใต้

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

(5) เอกสารที่ไม่ใช่วารสาร ต้องบอกจำนวนหน้าด้วย โดยใช้ p. หลังตัวเลขแสดงจำนวนหน้า และให้ใช้ น. หลังตัว เลขลำดับเอกสารภาษาไทย

(6) ชื่อ Journal ต้องเขียนด้วยคำย่อ ยกเว้นชื่อที่ย่อไม่ได้

(7) ชื่อเรื่องภาษาอังกฤษที่เรื่องนั้นอ้างถึงอีกทอดหนึ่งทุกคำ จะต้องขึ้นต้นด้วยตัวพิมพ์ใหญ่ (capital letter) ยกเว้นคำ ที่เป็นคำนำหน้านาม (article) คำสันธาน (conjunction) และคำบุพบท (preposition) ในบางกรณีเช่นชื่อ species ซึ่งขึ้นด้วยตัวพิมพ์เล็กอยู่แล้ว ให้ขึ้นต้นด้วยตัวพิมพ์เล็ก แต่หากคำเหล่านี้เป็นคำแรกของชื่อเรื่องให้ขึ้นต้นด้วยตัวพิมพ์ใหญ่ ส่วนเอกสารที่ผู้เขียนอ้างถึงหากมิใช่หนังสือตำรา ให้พิมพ์เช่นเดียวกับชื่อเรื่องในวารสาร

(8) ชื่อ conference ให้เขียนเต็ม

6. ภาพประกอบ (Illustration)

6.1 ภาพถ่ายควรเป็นภาพขาว-ดำ ภาพสีหากจำเป็นจึงใช้และผู้เขียนต้องเสียค่าใช้จ่ายเอง ขนาดภาพอย่างต่ำควรเป็นขนาด โปสเตอร์ ( 3.5 × 5 นิ้ว)

6.2 ภาพเขียน เขียนด้วยหมึกอินเดียบนกระดาษอาร์ตหนาพอควร ตัวหนังสือควรเขียนด้วย Lettering guide

## การส่งต้นฉบับ

ส่งที่ กองบรรณาธิการวารสารชีวผลิตภัณฑ์
ศูนย์โรคปากและเท้าเปื่อย ปากช่อง
อ. ปากช่อง
จ. นครราชสีมา 30130

## การตรวจแก้ไข

คณะกรรมการขอสงวนสิทธิตรวจแก้ไขเรื่องที่ส่งมาพิมพ์ทุกเรื่อง ตามแต่จะเห็นสมควร ในกรณีที่จำเป็นจะส่งต้นฉบับเดิม หรือฉบับ ที่แก้ไขแล้วกลับคืนมายังผู้เขียน เพื่อตรวจความถูกต้องอีกครั้งหนึ่ง

## ข้อกำหนดอื่น ๆ

ถ้าผู้เขียนท่านใดส่งต้นฉบับเกิน 8 หน้าพิมพ์ จะต้องเสียค่าใช้จ่ายเองในส่วนที่เกินหน้าละ 200 บาท (กรณีได้รับพิจารณาจาก คณะกรรมการ) โดยคณะกรรมการจะแจ้งให้ทราบเพื่อทำความตกลงกับเจ้าของเรื่องก่อน

# ความเร็วในการสร้างความต้านทานโรคของวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรน วี 4

# EARLY PROTECTIVE RESPONSE OF NEWCASTLE DISEASE VACCINE V4 STRAIN

ชลประณิต ศรีพิพัฒน์[1] พรชัย ศรีดามา[1]

**Cholpranit Sripipat Pornchai Sridama**

**ABSTRACT**

Early protective response of Newcastle disease (ND) vaccine, V4 strain, was studied in 142 four-week-old chickens which had no HI titer against Newcastle disease virus (NDV). They were divided into 3 groups; Group 1 was vaccinated intramuscularly, Group 2 was vaccinated by wing web stab and Group 3 was unvaccinated and served as control. Group 1 and 2 were divided into 2 subgroups which were given with normal dose and three times normal dose of vaccine. On Day 2,3 and 4 post-vaccination, 11 birds from each vaccinated group and 10 from unvaccinated group were bled. Prior challenge and were challenged with viscerotropic NDV, intranasally. Sera were tested for anti-ND antibody levels by HI test. Although, the HI titers in all chickens were found negative, the protection against the challenge in Group 1 and 2 was significantly

Key words : Protective response, Newcastle dsease vaccine, Strain V4

คำสำคัญ : ความต้านทานโรควัคซีนนิวคาสเซิล สเตรน วี 4

---

Veterinary Biologics Center, Velerinary Biologics Division, Department of Livestocks Development, Pakchong, Nakornatchasima. 30130

[1]ศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

stronger ($p < 0.05$) than the control group in which no protection was observed. The strongest protection in Group 1 was seen on Day 3 and (100%) which in group 2 was attained on Day 4 at 54.5% for normal dose and 72.6% for 3 times dose.

## บทคัดย่อ

ศึกษาความเร็วในการสร้างความต้านทานโรคของไก่ที่ให้วัคซีนนิวคาสเซิล (ND) สเตรน วี 4 โดยใช้ไก่เพศผู้อายุ 4 สัปดาห์ ที่ตรวจไม่พบ HI titer ต่อเชื้อไวรัสนิวคาสเซิล (NDV) จำนวน 142 ตัว แบ่งการทดลองเป็น 3 กลุ่ม ในกลุ่มทดลองที่ 1 ให้วัคซีนโดยการฉีดเข้ากล้าม ส่วนกลุ่มที่ 2 ใช้วิธีแทงปีก ทั้งกลุ่มที่ 1 และ 2 แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย โดยให้วัคซีนขนาดโด๊สปกติ และขนาด 3 เท่าของโด๊สปกติ ส่วนกลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับวัคซีน หลังจากไก่ได้รับวัคซีนในวันที่ 2, 3 และ 4 สุ่มไก่จากไก่ทุกกลุ่มที่ได้รับวัคซีนกลุ่มละ 11 ตัว และจากกลุ่มควบคุม 10 ตัว ทำการเจาะเลือดก่อนได้รับเชื้อพิษและให้เชื้อพิษ NDV โดยการหยอดจมูก ผลการตรวจซีรั่มไก่ทุกตัวก่อนได้รับเชื้อพิษ NDV พบว่าไม่มี HI titer ต่อเชื้อ NDV ส่วนผลของความเร็วในการสร้างความต้านทานโรคต่อเชื้อพิษ NDV หลังจากได้รับวัคซีน ND พบว่าไก่ในกลุ่มที่ฉีดวัคซีนเข้ากล้ามและให้โดยการแทงปีกมีความแตกต่างกันกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยไก่กลุ่มควบคุมพบว่าจะไม่มีความต้านทานโรค และยังพบว่าไก่ในกลุ่มที่ฉีดวัคซีนเข้ากล้ามทั้งโด๊สปกติ และ3 เท่าของโด๊สปกติจะมีความต้านทานโรคสูงสุดในวันที่ 3 และ 4 (100%) ส่วนไก่กลุ่มที่ให้วัคซีนโดยการแทงปีกทั้ง 2 กลุ่มย่อยจะให้ความต้านทานโรคสูงสุด ในวันที่ 4 เท่ากับ 54.5% สำหรับโด๊สปกติ และ 72.6% สำหรับ 3 เท่าของโด๊สปกติ

## คำนำ

โรคนิวคาสเซิลเป็นโรคติดต่อที่รู้จักกันเป็นอย่างดีในวงการเลี้ยงไก่ เนื่องจากทำให้เกิดความสูญเสียเป็นอย่างมาก แม้ว่าจะมีการใช้วัคซีนนิวคาสเซิลทั้งชนิดและโปรแกรมต่าง ๆ กัน ก็ยังพบการระบาดของโรคอยู่เสมอ โดยเฉพาะในไก่พื้นเมืองที่เลี้ยงปล่อยในเขตชนบทซึ่งมักมีปัญหาในการทำวัคซีน เกษตรกรผู้เลี้ยงไก่ที่ประสบปัญหาการระบาดของโรคนิวคาสเซิล มักแก้ปัญหาโดยการรีบให้วัคซีนเพื่อกระตุ้นให้ไก่เกิดความต้านทานโรคอย่างรวดเร็ว ซึ่งสามารถช่วยลดการสูญเสียได้ มีรายงานการใช้วัคซีนนิวคาสเซิลชนิดต่าง ๆ เช่น วัคซีนสเตรนเอ็มพีซึ่งสามารถกระตุ้นให้ไก่สร้างความต้านทานต่อเชื้อพิษนิวคาสเซิลได้ภายใน 1 - 3 วัน หลังจากได้รับวัคซีน

(เชิดชัย และบัญญัติ, 2528, พรทิพย์และคณะ, 2529 และอุราศรีและคณะ, 2532) วัคซีนลาโซต้าสามารถใช้หยุดยั้งการระบาดของโรคได้ในวันที่ 2-5 หลังจากได้รับวัคซีน (เชิดชัย และเลอชาติ, 2520, พรทิพย์ และคณะ, 2535 )

หลังจากค้นพบเชื้อไวรัสนิวคาสเซิลชนิดที่ไม่รุนแรงในประเทศออสเตรเลีย (Simmons, 1967) และนำมาพัฒนาเป็นวัคซีนนิวคาสเซิลสเตรน วี 4 ซึ่งให้โดยการผสมอาหารและมีคุณสมบัติพิเศษที่สามารถทนทานความร้อนได้ดี (Copland, 1987) มีการทดลองใช้วัคซีนชนิดนี้ในประเทศต่าง ๆ รวมทั้งในประเทศไทยโดย Tantaswasdi et al.. (2535) ซึ่งรายงานว่าวัคซีนชนิดนี้เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในไก่พื้นเมืองที่เลี้ยงปล่อยในเขตชนบท จุดประสงค์ของการทดลองครั้งนี้เพื่อที่จะได้ข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับการใช้วัคซีนสเตรน วี 4 เพื่อนำมาใช้ในการแก้ปัญหาการระบาดของโรคนิวคาสเซิล โดยเฉพาะในเขตชนบทซึ่งมีปัญหาเกี่ยวกับการเก็บและขนส่งวัคซีน และการนำวัคซีนไปใช้ในท้องที่

## อุปกรณ์และวิธีการ

**วัคซีนนิวคาสเซิล (ND) สเตรน วี 4** ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

**เชื้อพิษนิวคาสเซิล (NDV)** ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

**ไก่ทดลอง** ลูกไก่เนื้อเพศผู้อายุ 1 วัน จำนวน 200 ตัว นำมาเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน เจาะเลือดและแยกซีรั่มเพื่อตรวจ HI titer ต่อแอนติเจนที่เตรียมจากเชื้อไวรัสนิวคาสเซิล(ND แอนติเจน) โดยวิธี Hemagglutination-Inhibition (HI) (OIE, 1992) และคัดใช้เฉพาะไก่ที่ตรวจไม่พบ HI titer ต่อเชื้อ NDV จำนวน 142 ตัว

## การทดลอง

1. แบ่งไก่ทดลองเป็น 3 กลุ่ม โดย

กลุ่มที่ 1 ให้วัคซีน (ND) สเตรน วี 4 โดยการฉีดเข้ากล้ามและให้โด๊สในขนาดต่างกันได้แก่

กลุ่มที่ 1.1 ให้วัคซีนขนาดปกติ จำนวน 33 ตัว (X1)

กลุ่มที่ 1.2 ให้วัคซีนขนาด 3 เท่าของปกติ จำนวน 33 ตัว (X3)

กลุ่มที่ 2 ให้วัคซีน (ND) สเตรน วี 4 โดยการแทงปีกและให้โด๊สขนาดต่างกันได้แก่

กลุ่มที่ 2.1 ให้วัคซีนขนาดปกติ จำนวน 33 ตัว (X1)

กลุ่มที่ 2.2 ให้วัคซีนขนาด 3 เท่า ของปกติ จำนวน 33 ตัว (X3)

กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มควบคุมไม่ให้วัคซีน จำนวน 30 ตัว

2. หลังจากได้รับวัคซีน 2, 3 และ 4 วัน สุ่มไก่กลุ่มที่ 1.1, 1.2, 2.1 และ 2.2 กลุ่มละ 11 ตัว/วัน และกลุ่มที่ 3 จำนวน 10 ตัว/วัน มาเจาะเลือดเพื่อแยกซีรั่มตรวจ HI titer และหยอดเชื้อพิษ NDV ทางจมูกขนาด 0.1 มล./ตัว ($10^7$ $ELD_{50}$/ตัว)

3. ตรวจดูอาการและบันทึกการตายของไก่ทุกวันเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ไก่ที่ตายและที่รอดตาย จากการทดลองทุกตัวนำมาผ่าซากเพื่อตรวจดูวิการ

4. วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยวิธี Chi-square และ Regression & Correlation

## ผลการทดลอง

การตรวจซีรั่มไก่ทุกตัวในวันที่ 2, 3 และ 4 หลังจากได้รับวัคซีน พบว่าไก่ทุกตัวไม่มี HI titer ต่อ ND แอนติเจน

การตายของไก่ ในวันที่ 2, 3 และ 4 หลังจากได้รับเชื้อพิษ NDV (ตามตารางที่ 1 ) พบว่ากลุ่มที่ 1 ซึ่งได้รับวัคซีนโดยการฉีดเข้ากล้ามในขนาด

1. โด๊สปกติ (กลุ่มที่ 1.1) มีไก่ตาย จำนวน 4, 0 และ0 ตัว คิดเป็นเปอร์เซนต์ความต้านทานโรคเท่ากับ 63.67%, 100% และ 100% ตามลำดับ

2. สามเท่าของโด๊สปกติ (กลุ่มที่ 1.2) มีไก่ตาย จำนวน 2, 0 และ0 ตัว คิดเป็นเปอร์เซนต์ความต้านทานโรคเท่ากับ 81.81%, 100% และ 100% ตามลำดับ

**ตารางที่ 1** แสดงจำนวนไก่ที่ตายและเปอร์เซนต์ความต้านทานโรคในไก่ที่ได้รับวัคซีน วี 4 โดยการฉีดเข้ากล้าม ในขนาดโด๊สปกติ และสามเท่าของโด๊สปกติ

| กลุ่ม | ขนาดของวัคซีน (โด๊ส) | หลังจากได้รับวัคซีน (วัน) | จำนวนไก่ตาย/ไก่ทั้งหมด (ตัว) | ความต้านทานโรค (%) |
|---|---|---|---|---|
| 1.1 | X1 | 2 | 4/11 | 63.7 |
| | | 3 | 0/11 | 100 |
| | | 4 | 0/11 | 100 |
| 1.2 | X3 | 2 | 2/11 | 81.8 |
| | | 3 | 0/11 | 100 |
| | | 4 | 0/11 | 100 |

**กลุ่มที่ 2** ซึ่งได้รับวัคซีนโดยการแทงปีกในขนาด

1. โด๊สปกติ (กลุ่มที่ 2.1) มีไก่ตาย จำนวน 10, 10 และ 5 ตัว คิดเป็นเปอร์เซนต์ความต้านทานโรคเท่ากับ 90.09%, 90.9% และ 54.54% ตามลำดับ

2. สามเท่าของโด๊สปกติ (กลุ่มที่ 2.2) มีไก่ตาย จำนวน 11, 10 และ 3 ตัว คิดเป็นเปอร์เซนต์ความต้านทานโรคเท่ากับ 0%, 90.9% และ 72.63% ตามลำดับ

**ตารางที่ 2** แสดงจำนวนไก่ที่ตายและเปอร์เซนต์ความต้านทานโรคในไก่ที่ได้รับวัคซีน วี 4 โดยการแทงปีก ในขนาดโด๊สปกติ และสามเท่าของโด๊สปกติ

| กลุ่ม | ขนาดของวัคซีน (โด๊ส) | หลังจากได้รับวัคซีน (วัน) | จำนวนไก่ตาย/ไก่ทั้งหมด (ตัว) | ความคุ้มโรค (%) |
|---|---|---|---|---|
| 2.1 | X1 | 2 | 10/11 | 9.09 |
| | | 3 | 10/11 | 9.09 |
| | | 4 | 5/11 | 54.5 |
| 2.2 | X3 | 2 | 11/11 | 0 |
| | | 3 | 10/11 | 9.09 |
| | | 4 | 3/11 | 72.6 |

**กลุ่มที่ 3** ซึ่งไม่ได้รับวัคซีนไก่ตายทั้งหมด

**การวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี Chi-square** เปรียบเทียบความต้านโรคในไก่ที่ได้รับวัคซีนด้วยวิธีเดียวกันแต่ขนาดโด๊สแตกต่างกัน

1. ความต้านทานโรคในไก่ที่ได้รับวัคซีน ND สเตรน วี 4 โดยการฉีดเข้ากล้าม (กลุ่มที่ 1) ในขนาดโด๊สปกติ (กลุ่มที่ 1.1) และ3 เท่าของโด๊สปกติ (กลุ่มที่ 1.2) และได้รับเชื้อพิษ NDV หลังจากได้วัคซีน 2 และ3 วัน พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่ความต้านทานโรคระหว่างไก่กลุ่มที่ 1.1 กับไก่กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับวัคซีน (กลุ่มที่ 3) พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

2. ความต้านทานโรคในไก่ที่ได้รับวัคซีน ND สเตรน วี 4 โดยการแทงปีก (กลุ่มที่ 2) ในขนาดโด๊สปกติ (กลุ่มที่ 2.1), 3 เท่าของโด๊สปกติ (กลุ่มที่ 2.2) และได้รับเชื้อพิษ NDV หลังจากได้รับวัคซีน 2 และ3 วัน กับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับวัคซีน (กลุ่มที่ 3) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่ในวันที่ 4 หลังจากได้รับวัคซีนพบว่าความต้านทานโรคในไก่กลุ่มที่ 2.1 และกลุ่มที่ 2.2 มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ 3) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) นอกจากนั้นความต้านทานโรคระหว่างไก่กลุ่มที่ 2.1 และกลุ่มที่ 2.2 ในวันที่ 4 หลังจากได้รับวัคซีน พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

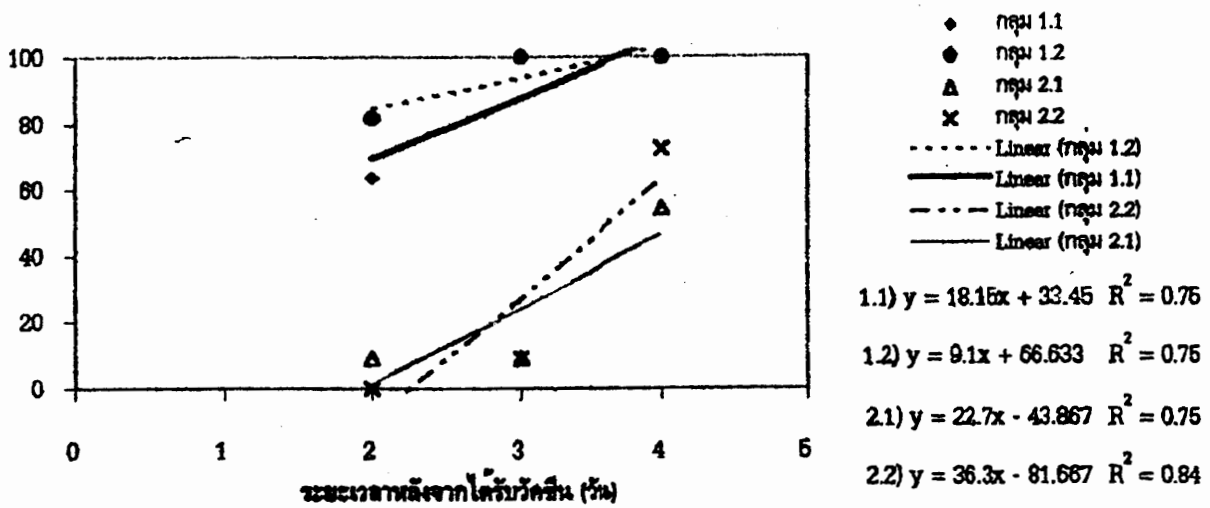
**เปรียบเทียบความต้านโรคในไก่ที่ได้รับวัคซีนในขนาดเดียวกันแต่วิธีการแตกต่างกัน**

1. ความต้านทานโรคในไก่ที่ได้รับเชื้อพิษ NDV หลังจากได้รับวัคซีน 2 และ 3 วัน ในขนาดโด๊สปกติโดยการฉีดเข้ากล้าม (กลุ่มที่ 1.1) และโดยการแทงปีก (กลุ่มที่ 2.1) พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ในวันที่ 4 พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ในวันที่ 4 พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

2. ความต้านทานโรคในไก่ที่ได้รับเชื้อพิษ NDV 2 และ 3 วัน หลังจากได้รับวัคซีน 2 และ 3 ในขนาด 3 เท่าของโด๊สปกติโดยการฉีดเข้ากล้าม (กลุ่มที่ 1.2) และโดยการแทงปีก (กลุ่มที่ 2.2) พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ในวันที่ 4 พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

**การวิเคราะห์ด้วยวิธี Regression & Correlation** พบว่าความต้านทานโรคกับระยะเวลาที่ไก่ได้รับเชื้อพิษ NDV หลังจากได้รับวัคซีนด้วยการฉีดเข้ากล้ามและการแทงปีก มีความสัมพันธ์กันค่อนข้างสูง โดยมีค่าสัมประสิทธ์ของสหสัมพันธ์ ($r$) เท่ากับ 0.75, 0.75, 0.75 และ0.84 ในกลุ่มที่ 1.1, 1.2, 2.1 และ 2.2 ตามลำดับ ส่วนกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับวัคซีน (กลุ่มที่ 3) ไม่มีความสัมพันธ์กัน

**รูปที่ 1** แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความต้านทานโรค ( % ) กับระยะเวลาที่ไก่ได้รับเชื้อพิษ (NDV) หลังการทำวัคซีน (วัน)




## วิจารณ์

ผลการทดลองเบื้องต้นในครั้งนี้บ่งชี้ว่าการใช้วัคซีน ND สเตรน วี 4 โดยการฉีดเข้ากล้ามในขนาดโด๊สปกติก็เพียงพอที่จะทำให้ไก่มีความต้านทานต่อเชื้อพิษ NDV เริ่มตั้งแต่วันที่ 2 และสูงขึ้นถึง 100% ในวันที่ 3 และ 4 หลังจากได้รับวัคซีนเนื่องจากไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างการใช้โด๊สขนาดปกติและ 3 เท่าของโด๊สปกติ สอดคล้องกับที่ อุราศรี และคณะ (2532) รายงานว่าการใช้วัคซีน ND สเตรน เอ็มพี โดยการฉีดเข้ากล้ามในขนาดโด๊สที่ต่างกันไม่มีผลต่อเปอร์เซนต์ความต้านทานโรคในไก่หลังจากได้รับเชื้อพิษ NDV และพรทิพย์ และคณะ (2535) รายงานว่าไก่ที่ได้รับเชื้อพิษ NDV หลังจากได้รับวัคซีน ND สเตรน ลาโซต้า ขนาดโด๊สปกติ, 3 เท่า และ 5 เท่าของโด๊สปกติ ด้วยการฉีดเข้ากล้ามไม่มีผลให้เปอร์เซนต์ความต้านทานโรคแตกต่างกัน และไก่จะเริ่มมีความต้านทานโรคในวันที่ 2 และสูงขึ้นถึง 100% ในวันที่ 5

การใช้วัคซีน ND สเตรน วี 4 โดยการแทงปีกให้ผลไม่ดีเท่าการฉีดเข้ากล้ามซึ่งต่างจากการทดลองของ พรทิพย์ และคณะ (2529) ที่รายงานว่าการใช้วัคซีนสเตรน เอ็มพี โดยการฉีดเข้ากล้ามและการแทงปีกไม่ทำให้การตายและเปอร์เซนต์ความต้านทานโรคหลังจากไก่ได้รับเชื้อพิษ NDV มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งอาจเนื่องมาจากความแตกต่างของวัคซีนที่ใช้

ความต้านทานโรคที่เกิดขึ้นในระยะแรกหลังจากได้รับวัคซีนไม่น่าจะเป็นผลจากภูมิคุ้มที่ได้รับจากแม่ (Matemally Derived Antibody) และ Humoral Antibody เนื่องจากตรวจไม่พบแอนติบอดีโดยวิธี HI แต่เกิดจาก Cell-Mediated Immunity (Ghumman et al.., 1976) หรือ Interference Phenomenon (Gupta & Rao, 1959, Mentkovich & Zhdanova, 1971) ในท้องที่ความต้านทานโรคที่เกิดขึ้นในระยะแรกอาจมีสาเหตุอื่น ๆ เข้ามาเกี่ยวข้องด้วย เช่น Humoral Antibody ความเครียด มีการติดเชื้อชนิดอื่น ๆ อาจทำให้ผลที่ได้ต่างไปบ้าง อย่างไรก็ตามการให้วัคซีน ND สเตรน วี 4 ในไก่ที่อยู่บริเวณใกล้เคียงการระบาดของโรค ND โดยการฉีดเข้ากล้ามอย่างเร่งด่วนหลังจากเกิดโรค ก็เป็นทางเลือกอย่างหนึ่งที่ช่วยลดการสูญเสียจากโรคลงได้ โดยเฉพาะกรณีที่มีปัญหาเกี่ยวกับการขนส่ง การเก็บและการใช้วัคซีนในท้องที่เนื่องจากวัคซีนนิวคาสเซิลสเตรน วี 4 สามารถทนทานต่อความร้อนได้ดี (Copland, 1987)

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณในความอนุเคราะห์ของ สพญ.อุราศรี ตันตสวัสดิ์, สพญ.พรทิพย์ ศิริวรรณ์, สพญ.อารุณี ชัยสิงห์ และสพญ.ทาริกา ประมูลสินทรัพย์ ที่ช่วยให้การทดลองครั้งนี้สำเร็จลงด้วยดี นสพ.เสริมพันธุ์ สุนทรชาติ และสพญ.กัญญา อาษายุทธ ที่ช่วยวิเคราะห์ทางสถิติ

## เอกสารอ้างอิง

เชิดชัย รัตนเศรษฐากุล และบัญญัติ เหล่าไพบูลย์ 2528. การศึกษาน๊อควัคซีนนิวเคาสเซิลเอ็มพีในไก่พื้นเมือง. บทย่อเรื่องวิจัยการประชุมทางวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 23 วันที่ 5-7 กุมภาพันธ์ 2528. หน้า 59-60

เชิดชัย รัตนเศรษฐากุล และเลอชาติ บุญเอก 2530. ความเร็วของความต้านทานโรคต่อการฉีดเชื้อพิษในไก่ที่ให้วัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อเป็นสเตรนต่าง ๆ สัตวแพทย์สาร 38(3) : 43-51

พรทิพย์ ศิริวรรณ์, เชิดชัย รัตนเศรษฐากุล, นิมิต ลีสิริกุล, มาลี เมฆาประทีป, อรวรรณ เจนวิริยะโสภาคย์และชาตรี นิมาศภงศ์รัฐ 2529. ความรวดเร็วในการสร้างภูมิคุ้มกันและความต้านทานโรคในไก่ที่ให้วัคซีนนิวคาสเซิลสเตรน เอ็มพี. ประมวลเรื่องการประชุมทางวิชาการปศุสัตว์ ครั้งที่ 5 วันที่ 6-8 พฤษภาคม 2529 หน้า 234-244

พรทิพย์ ศิริวรรณ์, อุราศรี ตันตสวัสดิ์, ทาริกา ประมูลสินทรัพย์ และอารุณี ชัยสิงห์ 2535. การสร้างภูมิคุ้มกันและความต้านทานโรคในระยะต้นของวัคซีนนิวคาสเซิลสเตรนลาโซต้า. ประมวลเรื่องการประชุมทางวิชาการด้านการปศุสัตว์ ครั้งที่ 11 วันที่ 16-19 กันยายน 2535 หน้า 187-195

อุราศรี ตันตสวัสดิ์, พรทิพย์ ศิริวรรณ์, อารุณี ชัยสิงห์ และทาริกา ประมูลสินทรัพย์ 2532. ประสิทธิภาพของวัคซีนนิวคาสเซิลสเตรน เอ็มพี เพื่อหยุดยั้งการระบาดของโรคนิวคาสเซิลในไก่. ประมวลเรื่องการประชุมทางวิชาการด้านการปศุสัตว์ ครั้งที่ 8 วันที่ 7-9 มิถุนายน 2532 หน้า 107-113

Copland, J.W. (ED.),1987. Newcastle disease in poultry : a new food pellet vaccine. Australian Centre for International Agricultural Reseach, Monograph no.5, Canberra, 119 pp.

Ghumman, J.S., Wiggins, A.D. and Bankowski, R.A. 1976. Antibody response and resistance of turkeys to Newcastle disease vaccine strain Lasota. Avian Dis. 20 : 1-8.

Gupta, B.P. and Rao, S.B.V. 1959. A noteon the interference phenomenon as anatural weapon to combat Newcastle disease outbreak while using Muktesiwar virus vaccine. Indian Vet. J. 36 : 338-341.

Mentkovich, L.M. and Zhadanova, A.V. 1971. Homologous interference by Newcatle disease virus. First stages of interaction of challenge virus with pre-infected cell. Acta Virol. 15 : 205-209.

O.I.E. 1992. Manual of standards for diagnostic tests and vaccine, 2nd edition, Office international des epizootic, Paris, France. PP. 130-141.

Simmons, G.C., 1967. The isolation of Newcastle disease virus in Queensland. Aust. Vet. J., 43 : 29-30.

Tantaswasdi, D. Danvivatanaporn, J. Mahantachaisakul, C. Sirivan, P. Chaisingh, A. and Pramoolsinsap, T. 1992. Control of Newcastle DiseaseVaccine in Village Chickens with Oral V4 Vaccine in Thiland. In : Newcastle Disease Vaccine in Village Chickens. ACIAR proceedings. No.39 : 118-127.

# คุณภาพของวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอ็มพี หลังจากเก็บไว้ที่ 37°C.

# THE QUALITY OF NEWCASTLE DISEASE, MP STRAIN, VACCINE AFTER STORAGE AT 37°C.

พรชัย ศรีดามา[1] ชลประณิต ศรีพิพัฒน์[1]

Pornchai Sridama Cholpranit Sripipat

## ABSTRACT

The virus content of Newcastle disease vaccine, MP strain, was equal to $10^{6.0}$, $10^{5.0}$, $10^{5.0}$, $10^{4.2}$, $10^{3.8}$, $10^{3.2}$, $10^{3.0}$, $10^{2.4}$, $10^{1.6}$, $10^{-0.4}$ $EID_{50}$/dose after storage at 37°C. for 1, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 18 and 35 days respectively. Chicken vaccinated with vaccine kept at 37°C. for 18 days were protected 100% while chicken vaccinated with vaccine kept at 37°C. for 35 days were not protected against a challenge of Newcastle disease virus.

## บทคัดย่อ

ทำการศึกษาคุณภาพของวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอ็มพี ซึ่งเก็บไว้ที่ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 1, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 18 และ 35 วัน พบว่าปริมาณไวรัสของวัคซีนจะลดลงตามระยะเวลาที่เก็บคือ $10^{6.0}$, $10^{5.0}$, $10^{5.0}$, $10^{4.2}$, $10^{3.8}$, $10^{3.2}$, $10^{3.0}$, $10^{2.4}$, $10^{1.6}$, $10^{-0.4}$ $EID_{50}$/dose ตามลำดับ ไก่ที่ได้รับวัคซีนซึ่งเก็บที่อุณหภูมิ 37°C. นาน 18 วัน มีความคุ้มโรค 100% ส่วนไก่ที่ได้รับวัคซีนซึ่งเก็บที่อุณหภูมิ 37°C. นาน 35 วัน ไม่มีความคุ้มโรคต่อเชื้อฉีดพิษทับไวรัสโรคนิวคาสเซิล

Key words : Newcastle disease vaccine, MP strain, Quality

คำสำคัญ : วัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอ็มพี คุณภาพ

---

Veternary Biologics Center, Veterinary Biologics Division Department of Livestocks Development Pakchong, Nakornratchasima. 30130

[1]ศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

## คำนำ

โรคนิวคาสเซิลเป็นโรคติดต่อที่รุนแรงในไก่ อัตราการตายสูง และมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ จึงมีการผลิตวัคซีนเพื่อป้องกันโรคหลายชนิดซึ่งส่วนใหญ่เป็นวัคซีนเชื้อเป็น โดยปกติจะต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 2-8°C. สำหรับวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอ็มพี แนะนำให้ใช้ในไก่อายุ 6 สัปดาห์ขึ้นไป เป็นวัคซีนที่เหมาะสมสำหรับนำไปใช้ในท้องที่ เพราะสามารถกระตุ้นให้ไก่เกิดความต้านทานโรคได้ในเวลาอันรวดเร็ว (เชิดชัย และบัญญัติ, 2528, พรทิพย์ และคณะ, 2529 อุราศรี และคณะ, 2532) แต่การให้วัคซีนไก่พื้นเมืองที่อยู่ในชนบทที่การคมนาคมไม่สะดวก มักมีปัญหาด้านการขนส่ง และการเก็บรักษาวัคซีน เนื่องจากอากาศร้อนและระยะทางไกล ซึ่งอาจทำให้คุณภาพของวัคซีนเสื่อมลง

จุดประสงค์ของการทดลองครั้งนี้ เพื่อศึกษาคุณภาพของวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอ็มพี หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37°C. ที่ระยะเวลาต่าง ๆ กันว่าจะยังสามารถกระตุ้นให้ไก่สร้างภูมิคุ้มโรคได้หรือไม่ เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับใช้แนะนำเกษตรกรผู้ใช้วัคซีนต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

**ไข่ไก่ฟัก** อายุ 11 วัน จากฝ่ายเพาะเลี้ยงสัตว์ทดลอง ศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

**วัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอ็มพี ชนิดดูดแห้งชุดที่ 3/40** จำนวน 60 ขวด เก็บที่อุณหภูมิ 37°C. แบ่งนำไปตรวจหาปริมาณไวรัสโดยสุ่มตัวอย่างครั้งละ 5 ขวด ก่อนและหลังเก็บที่อุณหภูมิ 37°C. นาน 1, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 18 และ 35 วัน และตรวจหาปริมาณไวรัสของชุดควบคุมซึ่งเก็บที่อุณหภูมิ 2-8°C. นาน 35 วัน โดยผสมน้ำยาละลาย 0.5 มิลลิลิตร/ขวด และนำมาเจือจางแบบ ten fold dilution ความเจือจาง ($10^{-1}$ ถึง $10^{-10}$) นำ dilution ที่ $10^{-5}$ ถึง $10^{-10}$ ฉีดเข้าไข่ไก่ฟักทาง allantoic cavity ความเจือจางละ 5 ฟอง ๆ ละ0.1 มิลลิลิตร ตรวจการตายของไข่ทุกวันเป็นเวลา 7 วัน และคำนวณหาปริมาณไวรัสตามวิธีของ Reed and Muench (1938) และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ correlation and regression

**ไก่ทดลอง** เป็นไก่พันธุ์เลคฮอร์นอายุ 6 สัปดาห์ ไม่เคยได้รับวัคซีนมาก่อน จากฝ่ายเพาะเลี้ยงสัตว์ทดลอง ศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

**เชื้อฉีดพิษทับไวรัสโรคนิวคาสเซิล** เป็นเชื้อ Local strain ที่มีปริมาณไวรัส $10^{5.5}$ $EID_{50}$/ml

**การทดสอบความคุ้มโรค** : แบ่งไก่ออกเป็น 5 กลุ่ม ดังนี้

**กลุ่มที่ 1** ใช้ไก่ 10 ตัว ให้วัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอ็มพี ชุดที่ 3/40 ก่อนเก็บที่อุณหภูมิ 37°C.

**กลุ่มที่ 2** ใช้ไก่ 10 ตัว ให้วัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอ็มพี ชุดที่ 3/40 เก็บที่อุณหภูมิ 37°C. นาน 18 วัน

**กลุ่มที่ 3** ใช้ไก่ 10 ตัว ให้วัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอ็มพี ชุดที่ 3/40 เก็บที่อุณหภูมิ 37°C. นาน 35 วัน

**กลุ่มที่ 4** ใช้ไก่ 10 ตัว ให้วัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอ็มพี ชุดที่ 3/40 เก็บที่อุณหภูมิ 2-8°C. นาน 35 วัน

**กลุ่มที่ 5** ใช้ไก่ 5 ตัว ไม่ให้วัคซีนเป็นกลุ่มควบคุม

**การให้วัคซีน** : ผสมวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอ็มพีกับน้ำยาละลาย 5 มิลลิลิตรต่อขวด ใช้แทงปีกไก่ตัวละ 0.05 มิลลิลิตร

**การฉีดพิษทับ** : หลังจากไก่ได้รับวัคซีน 14 วัน นำไก่ทั้ง 5 กลุ่ม มาฉีดพิษทับด้วยไวรัสโรคนิวคาสเซิลโดยฉีดเข้ากล้ามตัวละ 0.5 มิลลิลิตร บันทึกอัตราการป่วยและตายเป็นเวลา 3 สัปดาห์

## ผลการทดลอง

การตรวจหาปริมาณไวรัสในวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอ็มพี ก่อนและหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 37°C. รวมทั้งชุดควบคุม ซึ่งเก็บที่อุณหภูมิ 2-8°C. ปรากฏว่าเมื่อเก็บนานถึง 4 วัน วัคซีนยังมีปริมาณไวรัสไม่ต่ำกว่า $10^{5.0}$ $EID_{50}$/dose (ตารางที่ 1) ส่วนผลการทดสอบความคุ้มโรคของวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอ็มพี ก่อนและหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 37°C. นาน 18 วัน รวมทั้งชุดควบคุมซึ่งเก็บที่อุณหภูมิ 2-8°C. นาน 35 วัน ให้ความคุ้มโรคต่อไก่อายุ 6 สัปดาห์ 100% ในขณะที่วัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอ็มพี ซึ่งเก็บที่อุณหภูมิ 37°C. นาน 35 วัน ไม่ให้ความคุ้มโรคต่อไก่เลย (ตารางที่ 2)

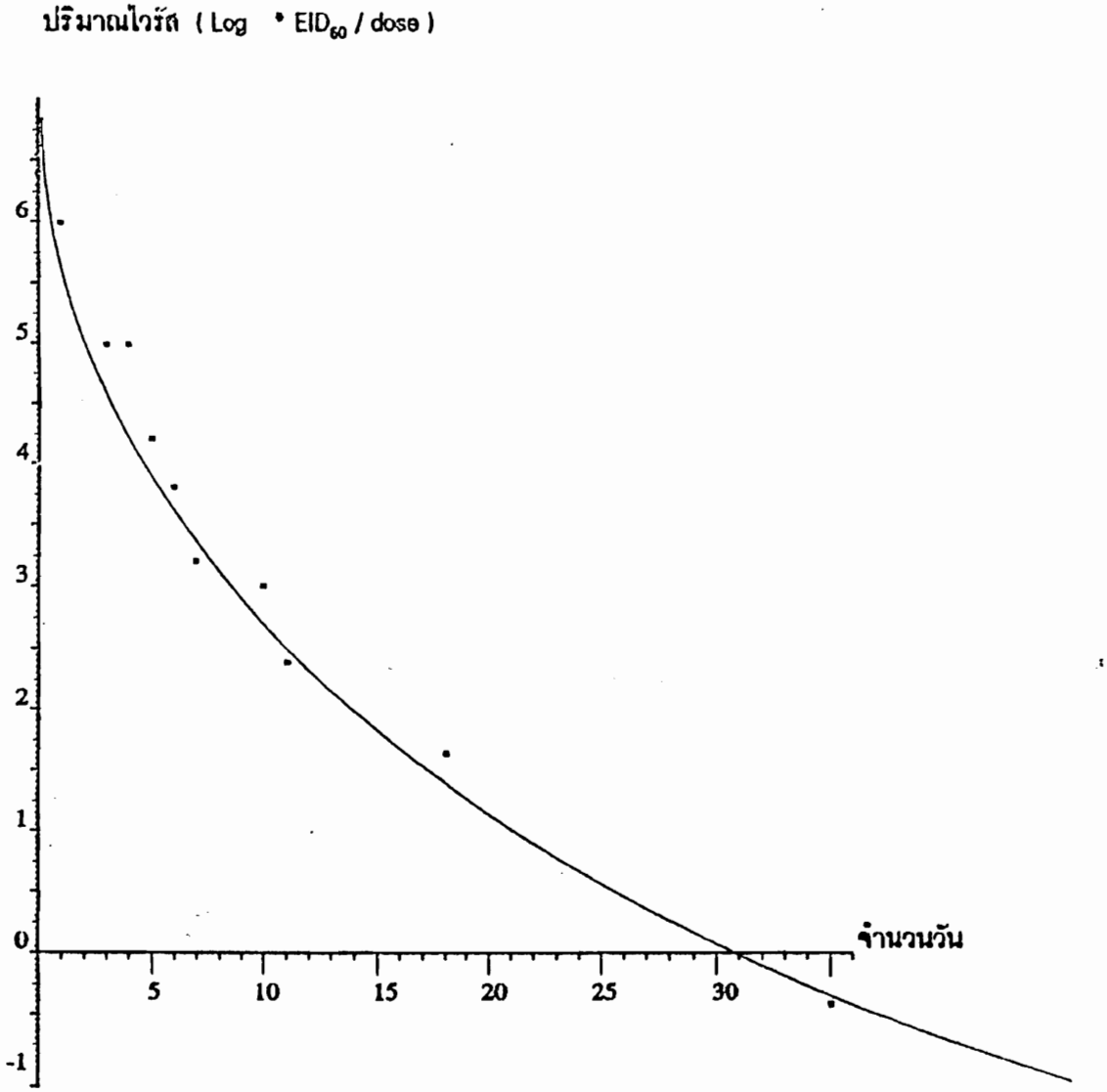
**ตารางที่ 1** ผลการตรวจหาปริมาณไวรัสของวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอ็มพี ซึ่งเก็บที่อุณหภูมิ 37°C. ในระยะเวลาต่าง ๆ กัน รวมทั้งชุดควบคุมซึ่งเก็บที่อุณหภูมิ 2-8°C.

| อุณหภูมิที่เก็บรักษา | ระยะเวลาที่เก็บ (วัน) | ปริมาณไวรัสต่อขวด log ($EID_{50}$/bottle) | ปริมาณไวรัสต่อโด๊ส log ($EID_{50}$/dose) |
|---|---|---|---|
| 37°C. | 0 | 8.4 | 6.4 |
| 37°C. | 1 | 8.0 | 6.0 |
| 37°C. | 3 | 7.0 | 5.0 |
| 37°C. | 4 | 7.0 | 5.0 |
| 37°C. | 5 | 6.2 | 4.2 |
| 37°C. | 6 | 5.8 | 3.8 |
| 37°C. | 7 | 5.2 | 3.2 |
| 37°C. | 10 | 5.0 | 3.0 |
| 37°C. | 11 | 4.4 | 2.4 |
| 37°C. | 18 | 3.6 | 1.6 |
| 37°C. | 35 | 1.4 | -0.4 |
| 2-8°C. | 35 | 8.4 | 6.4 |

**ตารางที่ 2** ความคุ้มโรคในไก่ที่ฉีดวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอ็มพี ก่อนและหลังการเก็บที่ อุณหภูมิ 37°C. รวมทั้งชุดควบคุมซึ่งเก็บที่อุณหภูมิ 2-8°C.

| อุณหภูมิที่เก็บรักษา | ระยะเวลาที่เก็บ | ปริมาณไวรัสต่อโด๊ส log ($EID_{50}$/dose) | % ความคุ้มโรค |
|---|---|---|---|
| 37°C. | 0 วัน | 6.4 | 100 |
| 37°C. | 18 วัน | 1.6 | 100 |
| 37°C. | 35 วัน | -0.4 | 0 |
| 2-8°C. | 35 วัน | 6.4 | 100 |

**รูปที่ 1** แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาที่เก็บรักษาวัคซีนที่อุณหภูมิ 37°C. กับปริมาณไวรัส



## วิจารณ์

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า การเก็บวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอ็มพี ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37°C ยังสามารถรักษาปริมาณไวรัสในวัคซีนได้ตามมาตรฐานนาน 4 วัน คือไม่ต่ำกว่าโด๊สละ $10^5$ $EID_{50}$ (Allen et al, 1973) และเมื่อเก็บไว้นาน 5 วันขึ้นไป ปริมาณไวรัสจะลดลงต่ำกว่ามาตรฐาน ซึ่งระยะเวลาเก็บวัคซีนนานมากขึ้นปริมาณไวรัสจะลดลง โดยมีความสัมพันธ์กันในลักษณะ logarithmic regression (r) = 0.95

อย่างไรก็ตามเมื่อทดลองให้วัคซีนไก่อายุ 6 สัปดาห์ด้วยวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอ็มพี ที่เก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37°C. นาน 18 วัน โดยมีปริมาณไวรัส $10^{1.6}$ $EID_{50}$/dose ซึ่งเป็นปริมาณไวรัสที่ต่ำกว่ามาตรฐานที่กำหนด แต่ยังสามารถกระตุ้นให้ไก่มีความคุ้มโรคได้ถึง 100% ส่วนวัคซีนที่เก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37°C. นาน 35 วัน ปริมาณไวรัสลดลงมากเหลือเพียง $10^{-0.4}$ $EID_{50}$/dose และไม่สามารถกระตุ้นให้ไก่สร้างความคุ้มโรคได้เลย

ดังนั้นการขนส่งวัคซีนในขณะเดินทางจึงไม่น่าจะมีปัญหากับคุณภาพของวัคซีน แต่อย่างไรก็ดีเมื่อส่งวัคซีนถึงที่หมายแล้วควรเก็บรักษาวัคซีนไว้ที่อุณหภูมิ 2-8°C.

## สรุป

การเก็บวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอ็มพีที่อุณหภูมิ 37°C. ยังสามารถรักษาปริมาณไวรัสในวัคซีนได้ตามมาตรฐานนานถึง 4 วัน โดยระยะเวลาการเก็บวัคซีนกับปริมาณไวรัสมีความสัมพันธ์กันในลักษณะ logarithmic regression และเมื่อเก็บวัคซีนนาน 18 วัน ยังสามารถให้ความคุ้มโรคไก่ 100% แต่เมื่อเก็บนาน 35 วัน วัคซีนไม่ให้ความคุ้มโรคต่อไก่เลย

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทดลองขอขอบคุณ สพ.ญ. พรทิพย์ ศิริวรรณ์, สพ.ญ. อารุณี ชัยสิงห์ และ น.สพ. ชัยศิริ มหันตชัยสกุล ที่ให้คำแนะนำและช่วยวิเคราะห์ค่าทางสถิติ และขอขอบคุณคณะกรรมการตรวจสอบผลงานทางวิชาการกองผลิตชีวภัณฑ์ โดยเฉพาะ สพ.ญ.จารุณี สาตรา ในการช่วยตรวจแก้ไขต้นฉบับ

## เอกสารอ้างอิง

เชิดชัย รัตนเศรษฐากุล และบัญญัติ เหล่าไพบูลย์. 2528 การศึกษาการน็อควัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอ็มพี ในไก่พื้นเมือง. บทคัดย่อเรื่องวิจัยการประชุมทางวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 23 วันที่ 5-7 กุมภาพันธ์ 2528. หน้า 59-60.

พรทิพย์ ศิริวรรณ์, เชิดชัย รัตนเศรษฐากุล, นิมิต ลีศิริกุล, มาลี เมฆาประทีป, อรวรรณ เจนโสภาคย์ และชาตรี นิมมาศุภวงศ์รัฐ 2529. ความเร็วในการสร้างภูมิคุ้มกันและความต้านทานโรคในไก่ที่ให้วัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอ็มพี. ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการปศุสัตว์ ครั้งที่ 5 วันที่ 6-8 พฤษภาคม 2529. หน้า 234-244.

อุราศรี ตันตสวัสดิ์, อารุณี ชัยสิงห์, พรทิพย์ ศิริวรรณ์ และทาริกา ประมูลสินทรัพย์ 2532. ประสิทธิภาพของวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอ็มพี เพื่อหยุดยั้งการระบาดของโรคนิวคาสเซิลในไก่. ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการปศุสัตว์ครั้งที่ 8 วันที่ 7-9 มิถุนายน 2532. หน้า 107-113.

Allen, W.H., Lancaster, J.B. and Toth, B. 1973. The production and use of Newcastle disease vaccines. FAO, Rome.

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

# การตรวจหาซัลโมเนลล่าในอุจจาระคน โดยชุดตรวจสอบอิมมิวโนเอสเสสองชนิด และการเพาะเลี้ยงเชื้อ

# SALMONELLA DETECTION IN HUMAN FECES BY TWO VISUAL IMMUNOASSAY RAPID KITS AND CULTURE METHOD

เกษม จงเสถียร[1]

**Kasem Jongsatien**

**ABSTRACT**

Salmonella is responsible for wide range of human diseases ranging from mild gastroenteritidis to severe, enteric disease and toxemia. Additionally, asymptomatic individuals unknowing can carry and transmit to another animals. Early, reliable detection is important for workers in SPF-farm management and to control Poultry Salmonellosis outbreaks. Traditional, the presumptive identification of Salmonella species in fecal specimens has relied on culture methods combined with biochemical tests, which has time consumption 5-7 days. Two rapid Salmonella test kits had been studied and compared with culture method. All negative 100 fecal samples detected by the Reveal™ Salmonella test kit with 6 hours incubation period had 24 false negative samples, after increasing incubation period overnight 9 of 37 fecal samples were positive with 7 false negative samples. All negative 50 fecal samples detected by the TECRA®

**Key words :** Salmonella , Human feces, Rapid kit, Culture Method

**คำสำคัญ :** ซัลโมเนลล่า, อุจจาระคน, ชุดตรวจสอบ, การเพาะเลี้ยงเชื้อ

---

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

[1]ศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์, กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา 30130

test kit had 16 false negative samples. Forty three fecal samples from workers which were positive samples by culture method had 15 serotypes which could cause parathyphoids infection in poultry. However, monthly routine detection for salmonella from 10% SPF-chicken fecal samples were still negative.

## บทคัดย่อ

เชื้อซัลโมเนลล่า ติดต่อคนได้ โดยทำให้กระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบอย่างอ่อนจนถึงขั้นรุนแรง ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหารและโลหิตเป็นพิษ คนที่ไม่แสดงอาการแต่มีเชื้อนี้อยู่สามารถเป็นพาหะของเชื้อซัลโมเนลล่าบางชนิดและติดต่อสัตว์อื่นๆได้ การตรวจสอบเชื้อนี้แต่แรกเริ่มมีความสำคัญสำหรับการจัดการพนักงานในฟาร์มเลี้ยงไก่ปลอดเชื้อ เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการระบาดของเชื้อซัลโมเนลล่าในฟาร์ม โดยทั่วไปวิธีที่ใช้ในการแยกเชื้อซัลโมเนลล่าจากตัวอย่างอุจจาระ คือการเพาะเลี้ยงเชื้อร่วมกับการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ต้องใช้เวลานาน 5-7 วัน จึงทำการศึกษาเปรียบเทียบโดยใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูปที่ให้ผลเร็ว 2 ชนิด กับ วิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ พบว่าจากตัวอย่างอุจจาระ 100 ตัวอย่าง ของชุดตรวจสอบ Reveal™ เมื่อใช้เวลาอบเพาะเชื้อ 6 ชั่วโมง ให้ผล negative ทั้งหมด โดยเป็น false negative 24 ตัวอย่าง แต่เมื่อเพิ่มเวลาอบเพาะเชื้อข้ามคืน จากอุจจาระ 37 ตัวอย่าง ให้ผล positive 9 ตัวอย่าง โดยเป็น false negative 7 ตัวอย่าง สำหรับชุดตรวจสอบ TECRA® ใช้ตรวจอุจจาระ 50 ตัวอย่าง ให้ผล negative ทั้งหมด โดยเป็น false negative 16 ตัวอย่าง จากผลการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลล่าในอุจจาระพนักงาน 43 ตัวอย่าง โดยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ พบว่ามี 15 serotypes ที่ทำให้เกิดพาราไทฟอยด์ในสัตว์ปีกได้ แต่ผลการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลล่าโดยวิธีเพาะเชื้อจากอุจจาระของไก่ปลอดเชื้อ (SPF) จำนวน 10 เปอร์เซนต์ เป็นประจำทุกเดือน ยังตรวจไม่พบเชื้อซัลโมเนลล่า

## คำนำ

โครงการผลิตวัคซีนสัตว์ปีกเพื่อการส่งออก ของศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ มีฟาร์มเลี้ยงไก่ปลอดเชื้อ (SPF) ผลิตไข่ไก่ปลอดเชื้อเพื่อใช้ในการผลิตวัคซีนนิวคาสเซิลและกัมโบโร จึงต้องมีการตรวจเฝ้าระวังไม่ให้เกิดโรคในไก่ขึ้น Whiteman และ Bickford (1989) รายงานว่า Salmonella ทำให้เกิดการระบาดของโรคในไก่ ได้แก่ Pullorum, Typhoid, Paratyphoid (PT) ซึ่งสามารถผ่านเข้าไข่ได้ (Snoeyenbos, 1985) เชื้อชนิดนี้แพร่กระจายอยู่ทั่วไป

ที่สำคัญคือ Paratyphoid มีหลายชนิด Nagaraja และคณะ (1989) ได้รวบรวม Paratyphoid ทั้งหมด 203 serotypes ที่แยกได้จากไก่และไก่งวงในสหรัฐอเมริกา สามารถติดต่อได้ในคนและสัตว์หลายชนิด Hinshaw และคณะ (1944) รายงานว่าคนสามารถเป็นพาหะนำการติดเชื้อ Paratyphoid ไปสู่สัตว์ปีกได้ โดยการสัมผัส และมีโอกาสเป็นแหล่งของการระบาดของเชื้อซัลโมเนลล่าในสัตว์ปีก

Varela และ Olarte (1942), McCullough และ Eisele (1951), Savage (1956) และ Hook (1961) กล่าวว่า คนที่ได้รับเชื้อแต่ไม่แสดงอาการ สามารถเป็นพาหะนำเชื้อซัลโมเนลล่า ไปสู่คนและสัตว์อื่น ๆ ได้ Andrews (1996) ทำการทดลองจากผู้ชายอาสาสมัครให้รับประทานอาหารที่มีเชื้อนี้ในระดับต่าง ๆ พบว่าปริมาณของเชื้อระหว่าง $1.3x10^{6}$-$1.0x10^{10}$ organisms เป็นปริมาณที่ทำให้แสดงอาการป่วยได้

การตรวจหาเชื้อซัลโมเนลล่า ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ ต้องใช้เวลานาน 7-10 วัน ทำให้พนักงานต้องคอยผลการตรวจก่อนเข้าฟาร์มเป็นเวลานานเกินควร จึงต้องหาชุดตรวจสอบ Salmonella ที่ให้ผลเร็วและถูกต้องที่สุด ตั้งแต่ปี 1980 เป็นต้นมา มีการใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จโดยเทคนิคต่าง ๆ ได้แก่ Hydrophobic grid membrane filtration (Entis, 1990), Enzyme immunoassay (Curiale et al., 1990, Feldsine et al., 1992, Flowers et al., 1988), DNA hybridization (Flowers et al.,1987), Immunodiffusion (Flowers & Klatt, 1989), Antigen capture (Mallison et al., 1989) นอกจากนี้ยังมี DNA probes, Immunofluorescense, Bioluminescence เป็นต้น อย่างไรก็ตาม Graham et al. (1989) และ Mallison et al. (1989) กล่าวถึงการใช้ชุดตรวจสอบที่ให้ผลเร็วและเชื่อถือได้มากที่สุดควรใช้ควบคู่กับวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ

การทดลองครั้งนี้เป็นการเปรียบเทียบวิธีการตรวจหาเชื้อ Salmonella โดยใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูป 2 ชนิด กับการเพาะเลี้ยงเชื้อ เพื่อหาชุดตรวจสอบที่ให้ผลเร็วและถูกต้อง เชื่อถือได้มากที่สุด มาใช้ตรวจเป็นงานประจำ

## อุปกรณ์และวิธีการ

1. ชุดตรวจสอบ Reveal™ for Salmonella[1] เป็น rapid immunological test สำหรับตรวจหาซัลโมเนลล่าในตัวอย่างอุจจาระ โดยใช้เวลาตรวจและอ่านผลภายใน 6 ชั่วโมง

2. ชุดตรวจสอบ TECRA® UNIQUE Salmonella[2] ใช้สำหรับตรวจหาซัลโมเนลล่าในอาหารและตัวอย่างที่เกี่ยวกับอาหาร ใช้เวลาตรวจและรู้ผลในเวลา 22 ชั่วโมง

---

1. AMPCOR Diagnostics, Inc. NEOGEN Corporation USA.

2. Bioenterprises, Australia.

3. การเพาะเลี้ยงเชื้อ ใช้ Buffered Peptone เป็น Pre-enrichment ใช้ Rappaport-Vassiliadis broth เป็น Selective enrichment medium เพาะลงอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะ (selective plating media ) ทั้ง 3 ชนิด คือ Brilliant Green-Phenol Red-Lactose Saccharose-Agar (Modified BPLS agar), Gassner-Agar และ Rambach agar ทดสอบคุณสมบัติซัลโมเนลล่าโดยใช้ SALMONELLA Antiserum Polyvalent และ Biochemical Test โดยใช้ API 20E[1]

เก็บตัวอย่างอุจจาระพนักงานเป็นประจำทุกเดือนก่อนเข้าปฏิบัติงานในฟาร์มเลี้ยงไก่ปลอดเชื้อ SPF ใช้ตัวอย่างละไม่น้อยกว่า 5 กรัม นำมาทดสอบดังนี้

1. **วิธีการเพาะเชื้อ (Culture Method)** ทำตาม AOAC (1995)

**Pre-enrichment** ใช้ตัวอย่างอุจจาระ 1 กรัมต่อ 10 มล. Buffered Peptone water อบเพาะเชื้อที่ 37°C 18-24 ชั่วโมง เพื่อการฟื้นฟูสภาพ Salmonella cells (Van Schothorst and Van Leusden, 1972) และการเพิ่มจำนวน (Bailey and Cox, 1992) Subculture 0.1 มล. ลงใน 10 มล. ของ Rappaport-Vassiliadis medium [RV broth] ใช้เป็น Selective Enrichment Media (AOAC,1995) นำไปอบเพาะเชื้อที่ 43°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง โดยแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 inoculate 0.1 มล. ใน RV-broth อบเพาะเชื้อที่ 43°C นาน 5 วัน แล้วเพาะลงอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะทั้ง 3 ชนิด ส่วนที่ 2 ใช้ 1 loopfull เพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะทั้ง 3 ชนิด อบเพาะเชื้อที่ 37°C ใช้เวลา 18-24 ชั่วโมง ดูลักษณะโคโลนีของซัลโมเนลล่า นำไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี (Biochemical screening) โดยใช้ API 20E test kits ทดสอบตามวิธีของ Poelma et al. (1978), George และ Davis (1979) ซึ่งเป็นวิธีที่รวดเร็วใช้แยกชนิดของแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriaceae และทดสอบเชื้อชนิดนี้ทางซีรั่มวิทยา โดยวิธี slide agglutination test กับ Salmonella Antiserum polyvalent[2] และเก็บเชื้อไปทดสอบยืนยันหา serotypes ที่ศูนย์ซัลโมเนลล่า*

2. ใช้ชุดตรวจสอบ **Reveal™ for Salmonella** ซึ่งเป็นชุดตรวจสอบ(rapid immunological kit) สำหรับตรวจหา Salmonella ในอุจจาระ ให้ผลภายใน 6 ชั่วโมง โดยใช้ปฏิกิริยาระหว่าง antibodies จับกับส่วน antigens (Salmoenella endotoxins) เพราะ endotoxin มี antigenics expression ไม่เฉพาะเจาะจงกับ Salmonella serovar แต่ละชนิด ปฏิกิริยาการทดสอบจะผันแปรตาม

---

1. Biochemical test API 20E bio Merieux, sa France.

2. Bacto SALMONELLA Antiserum Poly A-I and Vi, Difco Laboratories, Detroit USA. Lot.89592LA

*WHO National Salmonella and Shigella Center. Division of Clinical Pathology, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health Nonthaburi, Thailand.

serovar แต่โดยทั่วไปจะมีความไวต่อ Salmonella หลายชนิด

**วิธีการทดสอบ** ทดสอบอุจจาระพนักงานจำนวน 100 ตัวอย่าง โดยละลาย Selenite cystine (SC) ในน้ำกลั่น 4 มล. และใส่อุจจาระตัวอย่างละ 0.25 กรัม ปิดด้วยจุกมีไส้กรอง นำไปอบที่อุณหภูมิ 37°C นาน 6 ชั่วโมง นำมาหยดลงในหลุมของ แผ่นทดสอบ (strip) 3 หยด อ่านผลหลัง 15-20 นาที นำขวด SC broth 37 ตัวอย่างที่ให้ผล negative มา อบเพาะต่อที่ 37°C นานข้ามคืน แล้วทำการทดสอบซ้ำโดยใช้ชุดตรวจสอบ Reveal™ และเพาะลงอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อหาโคโลนีของซัลโมเนลล่า แล้วทดสอบทางชีวเคมีและซีรั่มวิทยา

**การอ่านผล** Positive จะปรากฏแถบเส้นใน test zone ของแผ่น strip ภายใน 15-20 นาที

Negative ไม่เห็นแถบเส้นใน test zone

Invalid ผลผิดพลาดใช้ไม่ได้ ถ้าไม่ปรากฏแถบเส้นใน control zone

Positive control ประกอบด้วย heat killed Salmonella enteritidis ใน buffer

Negative control ใช้ buffer saline and 0.1% Sodium azide

Control band ใช้ทดสอบการใช้งาน เป็น antibody specific for colloidal gold-labeled antibody

3. ใช้ชุดตรวจสอบ **TECRA®** ประกอบด้วย dipstick เคลือบด้วย purified polyclonal antibodies ทำการตรวจสอบอุจจาระจำนวน 50 ตัวอย่าง ใช้อุจจาระ 1 กรัมใส่ใน 10 มล. ของ Modified Peptone Water นำไปอบที่ 37°C ไม่น้อยกว่า 16 ชั่วโมง แล้วนำมา 4 มล.ใส่ในหลอดที่ 1 เป็น Immunocapture ใช้ dipstick ซึ่งเคลือบด้วย Salmonella antibodies จุ่มลงหลอดที่ 1 นำไปอบที่ 37°C นาน 20-40 นาที นำ dipstick จากหลอดที่ 1 มาใส่ในหลอดที่ 2 ซึ่งมี Washing solution ใช้ล้างโดยพลิกหลอดให้ฟองอากาศผ่านส่วนของ dipstick 2-3 ครั้ง นำ dipstick ใส่หลอดที่ 3 (Replication) บรรจุ enrichment broth มีผลทำให้ Salmonella ที่จับอยู่บน dipstick เพิ่มจำนวนจนอยู่ในระดับที่สามารถตรวจหาได้ แล้วนำไปอบที่ 37°C ใช้เวลา 4-5 ชั่วโมง จึงนำ dipstick ใส่ในหลอดที่4 ซึ่งบรรจุConjugate binding enzyme-linked antibodies specific (horse radish peroxidase) อบที่ 37°C 30-40 นาที นำdipstick มาใส่หลอดที่ 5 มี Washing solution ล้างเอา excess conjugate ออกจาก dipstick พลิกหลอด 3 ครั้ง ใส่ dipstick ในหลอดที่ 6 มี Color Development substrate for enzyme ทำให้เกิดสีบน dipstick ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10-15 นาที จนเกิดสีม่วงที่ปลาย 4 แฉกของ dipstick ซึ่งเป็น positive control นำมาอ่านผลหลังจากทิ้งให้แห้ง 30 นาที ส่วนหลอดที่3 นำมาทดสอบว่ามีเชื้อ Salmonella โดยนำมาเพาะลงอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะ 3 ชนิด (Modified BPLS, Gassner และ Rambach agar) หาเชื้อ Salmonella เปรียบเทียบกับผลจากชุดตรวจสอบ

**การอ่านผล** Positive เห็นสีม่วง 3 ส่วน 4 ของ dipstick

Negative ไม่ปรากฏสีม่วง

Positive control เกิดสีม่วงตรงปลายสี่เฉกของ dipstick

Negative control ไม่มีสีตรงด้านบน 1 ส่วน 4 ของ dipstick

## ผลการทดลอง

ผลการตรวจสอบพนักงาน 100 ตัวอย่าง โดยใช้ชุดตรวจสอบ Reveal™ เมื่อใช้เวลาอบเพาะเชื้อ 6 ชั่วโมง ให้ผล negative ทั้งหมด โดยเป็น false negative 24 ตัวอย่าง ซึ่งสามารถตรวจพบโดยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ (culture method) แต่เมื่อเพิ่มเวลาอบเพาะข้ามคืน จากอุจจาระ 37 ตัวอย่าง ให้ผล positive 9 ตัวอย่าง โดยเป็น false negative 7 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1)

ผลการตรวจอุจจาระพนักงาน 50 ตัวอย่าง โดยใช้ชุดตรวจสอบ TECRA® ให้ผล negative ทั้งหมด โดยเป็น false negative 16 ตัวอย่าง ซึ่งสามารถตรวจพบโดยวิธีเพาะเชื้อ (culture method) และเมื่อทดลองเพาะเชื้อจากหลอดที่ 3 ให้ผล positive 12 ตัวอย่าง โดยเป็น false negative 4 ตัวอย่าง (ตารางที่ 2)

เชื้อซัลโมเนลล่าที่ตรวจพบในอุจจาระคน โดยวิธี culture method จากจำนวนทั้งหมด 43 ตัวอย่าง พบว่ามี 18 serotypes และจาก false negative samples ที่ตรวจโดยชุดตรวจสอบ Reveal™ และอบเพาะเชื้อจำนวน 24 ตัวอย่าง พบว่ามี 11 serotypes และจาก Positive samples ที่ตรวจโดยชุดตรวจสอบ Reveal™ และอบเพาะต่อข้ามคืน จำนวน 9 ตัวอย่าง พบว่ามี 4 serotypes และจาก False negative samples ที่ตรวจโดยชุดตรวจสอบ TECRA® จำนวน 16 ตัวอย่าง พบว่ามี 7 serotypes (ตารางที่ 3)

**ตารางที่ 1** เปรียบเทียบผลการตรวจหา Salmonella จากอุจจาระ โดยชุดตรวจ Reveal™ กับวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ

| Sample | Reveal SC immuno. 6 hrs. (sample No.) | Culture method RV-broth | Reveal Sc immuno. Overnight | Culture method RV-broth |
|---|---|---|---|---|
| Positive | 0(100) | 24(100) | 9(37) | 16(37) |
| Negative | 100(100) | 76(100) | 28(37) | 21(37) |
| False negative | 24(100) | | 7(37) | |

**หมายเหตุ** ( ) จำนวนตัวอย่างที่ตรวจสอบ

**ตารางที่ 2** เปรียบเทียบผลการตรวจหา Salmonella โดยใช้ชุดตรวจ TECRA® กับวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ

| Sample (Sample No.) | Tecra® Immunocapture | Tecra® เพาะเชื้อจากหลอดที่ 3 | Culture method |
|---|---|---|---|
| Positive | 0(50) | 12(50) | 16(50) |
| Negative | 50(50) | 38(50) | 34(50) |
| False negative | 16(50) | 4(50) | |

**หมายเหตุ** ( ) จำนวนตัวอย่างที่ตรวจสอบ

**ตารางที่ 3** เปรียบเทียบ serotypes ของเชื้อซัลโมเนลล่าที่พบในอุจจาระพนักงาน โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อกับเชื้อที่แยกได้จากชุดตรวจสอบ Reveal™ และ Tecra®

| Culture method (overnigth) 43 Positive samples (18 Serotypes ) | | Reveal™ (incubate6 hrs.) 24 False negative samples (11 Serotypes) | | Reveal™ (overnight) 9 Positive samples ( 4 Serotypes) | | TECRA® (overnigth) 16 False negativesamples (7 Serotypes) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Species | Sample No. | Species | Sample No. | Species | Sample No. | Species | Sample No. |
| *Sal. Agona | 2 | Sal. Agona | 1 | Sal. Amsterdam | 4 | Sal. Anatum | 3 |
| *Sal. Amsterdam | 4 | Sal. Amsterdam | 1 | Sal. Cerro | 1 | Sal. Agona | 1 |
| *Sal. Anatum | 6 | Sal. Anatum | 4 | Sal. Hadar | 1 | Sal. Mbandaka | 1 |
| Sal. Brunei | 1 | Sal. Brunei | 1 | Sal. Typhimurium | 3 | Sal. Muenchen | 2 |
| *Sal. Cerro | 3 | Sal. Cerro | 3 | | | Sal. Panama | 3 |
| *Sal. Hadar | 2 | Sal. Hadar | 2 | | | Sal. Rissen | 1 |
| *Sal. Hvittingfoss | 1 | Sal. Lexington | 1 | | | Sal. Stanley | 2 |
| *Sal. Lexington | 1 | Sal. Mbandaka | 1 | | | | |
| *Sal. Mbandaka | 2 | Sal. Rissen | 3 | | | | |
| *Sal. Muenchen | 2 | Sal. Typhimurium | 5 | | | | |
| *Sal. Panama | 4 | Sal. Weltevreden | 2 | | | | |
| Sal. Rissen | 3 | | | | | | |
| *Sal. Sainpaul | 1 | | | | | | |
| *Sal. Stanley | 2 | | | | | | |
| *Sal. Tenesse | 1 | | | | | | |
| *Sal. Typhimurium | 5 | | | | | | |
| *Sal. Weltevreden | 2 | | | | | | |
| Sal. Subspecies I.4,5,12:i | 1 | | | | | | |

* ทำให้เกิดพาราไทฟอยด์ในสัตว์ปีก ( 15 serotypes )

## วิจารณ์

การตรวจหาเชื้อซัลโมเนลล่าจากอุจจาระคนโดยใช้ชุดตรวจสอบ Reveal™ พบมี false negative 24 ตัวอย่าง อาจเนื่องจากเวลาในการอบเพาะเชื้อเพียง 6 ชั่วโมงน้อยไป เมื่อเปรียบเทียบกับการอบเพาะเลี้ยงเชื้อทิ้งไว้ข้ามคืน ซึ่งใช้เวลานานกว่า 18 ชั่วโมงจะให้ผลบวก แต่จากการตรวจสอบโดยวิธีเพาะเชื้อ (culture method) ที่อุณหภูมิ 43°C ใน RV-broth ปรากฏว่าให้ผลบวกมากกว่า โดยตรวจพบเชื้อซัลโมเนลล่า 24 ตัวอย่าง อาจเนื่องจากการอบเพาะเชื้อที่ 43°C สามารถหยุดยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น ในขณะที่การอบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C แบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ที่เป็น competitors ในอุจจาระสามารถลดการเจริญของเชื้อซัลโมเนลล่าได้ (Andrews, 1996)

นอกจากนี้อาจเนื่องจากการเพาะเชื้อซัลโมเนลล่าใน RV-broth ให้ผลดีกว่า SC-broth ซึ่งจากสำนักงานตรวจวิเคราะห์ของอเมริกา (AOAC, 1995) รายงานว่า SC-broth ให้ผลต่ำที่สุดในการใช้เป็น selective enrichment media เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ RV-broth เพาะเชื้อ อาจเนื่องจากระหว่างระยะเวลาการอบเพาะเชื้อ สาร Selenium ซึ่งเป็นโลหะหนัก และส่วนประกอบใน sodium acid selenite ของ SC-broth สามารถยับยั้งการเจริญของ ซัลโมเนลล่า ( Goyer, 1991) ซึ่ง Venugopal และ Lucky (1978) ก็ได้ทดลองพิษของโลหะหนักชนิดนี้ พบว่าสามารถทำให้เซลล์เจริญผิดปกติ และเป็นผลทำให้ซัลโมเนลล่าเจริญไม่ดี จึงทำให้เกิด false negative ได้

ส่วนผลการใช้ชุดตรวจสอบ TECRA® ในการตรวจอุจจาระ 50 ตัวอย่าง ให้ผลลบหมดเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงเชื้อ (culture method) ซึ่งสามารถตรวจพบซัลโมเนลล่า 16 ตัวอย่าง อาจเนื่องจากการเพาะเชื้อใช้อุณหภูมิ 43°C จึงสามารถหยุดยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นในขณะที่การใช้ชุดตรวจสอบ TECRA® ใช้อุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงเชื้อ 37°C แต่เมื่อทำการตรวจสอบจากหลอดที่ 3 ของชุดตรวจสอบ TECRA® สามารถตรวจพบ positive samples ได้มากขึ้น คือ ตรวจพบ 12 ตัวอย่าง อาจเนื่องจากหลอดที่ 3 เป็น enrichment medium สามารถเพิ่มจำนวนเชื้อซัลโมเนลล่า อย่างไรก็ตาม ยังตรวจพบเชื้อซัลโมเนลล่าได้น้อยกว่าวิธีเพาะเชื้อ (culture method)

เชื้อซัลโมเนลล่าที่พบในอุจจาระพนักงานในฟาร์มไก่ปลอดเชื้อ (SPF) โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ ทั้งหมด 18 serotypes พบว่ามี 15 serotype ที่ทำให้เกิดพาราไทฟอยด์ในสัตว์ปีก ในขณะที่ Nagaraja และคณะ(1994)รายงานว่าเชื้อซัลโมเนลล่าที่พบในไก่และไก่งวงของสหรัฐอเมริกา มีถึง 203 serotypes ที่ทำให้เกิดพาราไทฟอยด์ โดยอ้างถึง Kauffmann (1966) และ Kelterborn (1967) ซึ่งได้เคยทำไว้เป็น original references ยกเว้น 3 serotypes คือ Sal. Brunei, Sal. Rissen, Sal. Subspecies I.4,5,12:I ส่วน serotypes ที่สำคัญคือ Sal. Typhimurium ซึ่ง Whitman (1989)ได้รายงานว่าทำให้เกิดการระบาดมากที่สุดในสัตว์ปีก รองลงมา คือ Sal. Anatum แต่ผลจากการตรวจหา

เชื้อซัลโมเนลล่าโดยวิธีการเพาะเชื้อจากอุจจาระไก่ในฟาร์มไก่ปลอดเชื้อ (SPF) จำนวน 10 เปอร์-เซนต์ เป็นประจำทุกเดือน (17 เดือน) ยังตรวจไม่พบเชื้อซัลโมเนลล่า ถึงแม้ว่าพนักงานเลี้ยงไก่บางคนจะมีเชื้อซัลโมเนลล่าที่ติดไก่ได้ แต่ไก่อาจจะยังไม่ได้รับเชื้อจากพนักงานเนื่องจากมีระบบการจัดการการเลี้ยงที่ดี โดยผู้เลี้ยงจะผ่านการฆ่าเชื้อก่อนเข้าฟาร์ม

## สรุป

ผลการตรวจสอบพนักงาน 100 ตัวอย่าง โดยใช้ชุดตรวจสอบ Reveal™ เมื่อใช้เวลาอบเพาะเชื้อ 6 ชั่วโมง ให้ผล negative ทั้งหมด โดยเป็น false negative 24 ตัวอย่าง แต่เมื่อเพิ่มเวลาอบเพาะข้ามคืน จากอุจจาระ 37 ตัวอย่าง ให้ผล positive 9 ตัวอย่าง โดยเป็น false negative 7 ตัวอย่าง

ผลการตรวจอุจจาระพนักงาน 50 ตัวอย่าง โดยใช้ชุดตรวจสอบ TECRA® ให้ผล negative ทั้งหมด โดยเป็น false negative 16 ตัวอย่าง และเมื่อทดลองเพาะเชื้อจากหลอดที่ 3 ให้ผล positive 12 ตัวอย่าง โดยเป็น false negative 4 ตัวอย่าง

จากผลการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลล่าในอุจจาระพนักงาน 43 ตัวอย่าง โดยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ พบว่ามี 15 serotypes ที่ทำให้เกิดพาราไทฟอยด์ในสัตว์ปีกได้

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ บริษัท เบทเทอร์ฟาร์ม่า ให้การสนับสนุนชุดตรวจสอบซัลโมเนลล่า ทั้งชนิด Reveal™ และ TECRA® สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข (NIH) กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ซึ่งเป็นสาขาของ WHO National Salmonella and Shigella Center ช่วยตรวจสอบยืนยันเชื้อและทำ serotypes และขอขอบคุณคณะกรรมการตรวจสอบผลงานทางวิชาการของกองผลิตชีว-ภัณฑ์ โดยเฉพาะ สพ.ญ. จารุณี สาตรา และ สพ.ญ.รัชนี อัตถิ ที่ช่วยตรวจแก้ไขต้นฉบับ

## เอกสารอ้างอิง

Andrews,Wallace H.1996. Journal of AOAC International Vol.79, No.1 : 4-12.

AOAC. 1995. Official Methods of Analysis, 16th Ed., AOAC INTERNATIONAL Arlington, VA.

Bailey, J.S., & Cox, N.A. 1992. J. Food Prot., 55 : 256-259.

Curaile, M.S., Klatt, M.J., Gehle, W.D., & Chandonnet, H.E. 1990. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 73 : 961-968.

Curiale, M.S., Klatt, M.J., Robinson. B.J., & Beck, L. T. 1990. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 73 : 43-45.

Entis, P. 1990. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 73 : 734-742.

Feldsine, P.T., Falbo-Nelson, M.T., & Hustead, D.L. 1992. J. AOAC Int., 75 : 1032-1044.

Flowers, R.S., Klatt, M.J., & Keelan, S.L. 1988. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 71 : 973-980.

Flowers, R.S., Klatt, M.J., Mozola, M.A., Curaile, M.S., Gabis, D.A., & Silliker, J.L. 1987. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 70 : 521-529.

Flowers, R.S., & Klatt, M.L. 1989. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 72 : 303-311.

George, S., and Davis, G.H.G. 1979. Rapid identification of Enterobacteriaceae by using noncommercial micro-test in conjunction with API 20E profile data. J. Clin. Microbiol., 10 : 399-403.

Goyer, R.A. 1991. in Casarett and Doull's Toxicology : The Basic Science of Poisons. 4th Ed., M.O. Amdur, J. Doull,& C.D. Klaassen (Eds), Perganon Press, Newyork, NY, 623-680.

Graham, Purchase H., Arp, Lawrence H., Domermuth, Charles. H., Pearson, James E. 1989. A Laboratory Manual for the Isolation And Identification of Avian Pathogens. 3 rd. Ed. American Assoc. of Avian Patho. Kendall/Hunt Pub. Com., 3 -11.

Hinshaw, W.R., E. Mcneil,and T.J. Taylor. 1944. Avian Salmonellosis : Types of Salmonella isolated and their relation to public health. Am. J. Hyg., 40 : 264-278.

Hook, E.W. 1961. Bull. N.Y. Acad. Med., 37 : 499-512.

Kauffmann, F. 1966. The Bacteriology of Enterobacteriaceae. William & Wilkin Co., Baltimore.

Kelterborn, E. 1967. Salmonella species. First isolation, names, and occurrence. Junk, The Hague, Natherlands.

Nagaraja, K.V., Pomeroy, B.S., and Williams,J.E. 1994. Paratyphoid Infections. In Diseases of Poultry, 9th ed. B.W. Calnek, et al., Iowa State University Press., 99-120.

Mallison, E.T., Tate, C.R., Miller, R.G., Bennett, B. and Cohen, Russek E. 1989. Monitoring Poultry farms for salmonella by drag swab sampling and antigen capture immunoassay. Avian Dis., 33 : 684-690.

McCullough, N.B., & Eisele, C.W. 1951. J. Infect. Dis., 88 : 278-289.

Poelma, P.L., Romero, A., & Andrews, W.H. 1978. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 61 : 1043-1049.

Savage, W. 1956. Br. Med. J., 3 : 317-323.

Snoeyenbos, G.H. 1985. Proc. Int. Symp. on Salmonellla. Am. Assoc. Avian pathol., Kennett Square. PA.

Van Schothorst, M., & van Leusden, F.M. 1972. Zentralbl. Bakteriol. Hyg., I. Abt. Orig. A., 221: 19-29.

Varela, G., & Olarte, J. 1942. Med. Rev. Mex., 22 : 57-58.

Venugopal, B., & Lucky, T.D. 1978. in Metal Toxicity in Mammals, Vol.2, Chemical Toxicity of Metals and Metalloids, Plenum Press, New York, NY, 233-259.

Whiteman, C.E., & Bickford, A.A. 1989. Avian Disease Manual. 3rd ed., American Association of Avian Pathologist, Kendall/Hunt Pub. Co., 76-87.

# การทำให้น้ำยาละลายบรรจุขวดพลาสติกโปลีโพรไพรีนที่ปิดจุกสนิทปลอดเชื้อโดย เครื่องนึ่งไอน้ำชนิดไม่มีระบบเย็นเร็ว

# THE STERILIZATION OF DILUENT IN SEALED POLYPROPYLENE PLASTIC BOTTLES BY NON-RAPID COOLING STEAM AUTOCLAVE

เกษม จงเสถียร[1]

**Kasem Jongsatien**

**Abstract**

The sterilization of diluent in sealed plastic containers by steam autoclave is dangerous, during their cooling step must use the rapid cooling system by introducing the spray of water mist; coming to contact with the hot containers, the mist absorbed latent heat of vaporization for rapid cooling. The sterilization by steam autoclave without rapid cooling and heat exchanger, an excess vapor pressure inside the hot containers will cause rupturing or deforming of containers. To prevent this effect, the sterilizer should be adjusted with an external air pressure to balance the intern. air pressure during cooling step. To protect an excess pressure in containers, the sterilizing temperature should be decrease less than 121°C by increasing time of sterilization. The sterilizing temperature at 110°C for 40 minutes was suitable for sealed polypropylene plastic

**Key words :** Plastic bottles , Diluent, Steam autoclave, Non-rapid cooling

**คำสำคัญ :** ขวดพลาสติก, น้ำยาละลาย, เครื่องนึ่งไอน้ำ, ชนิดไม่มีระบบเย็นเร็ว

---

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

[1]ศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์, กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา 30130

bottle containing 200 ml. of 2% tryptone. During cooling step, the pressure in chamber should not less than 1.6 bar for 60 minutes by using vacuum pump to prevent deforming of plastic bottles.

## บทคัดย่อ

การใช้เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำสำหรับของเหลวบรรจุขวดพลาสติกที่ปิดจุกสนิท ขั้นตอนที่อันตรายคือ การเย็นลง ซึ่งต้องใช้ระบบเย็นเร็ว โดยการสเปรย์ละอองน้ำลงบนภาชนะที่ร้อน เพื่อระบายความร้อนจากภาชนะ การใช้เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำแบบธรรมดา ซึ่งไม่มีระบบเย็นเร็ว และไม่มีส่วนแลกเปลี่ยนความร้อน จะเกิดแรงดันไอน้ำจำนวนมาก ภายในภาชนะ ทำให้เกิดการแตก หรือเปลี่ยนรูปทรงของภาชนะบรรจุ ในขั้นตอนทำให้เย็นลง การป้องกันผลดังกล่าว จึงต้องปรับแรงดันของอากาศภายนอกให้สัมพันธ์กับแรงดันภายในขวด ในระหว่างขั้นตอนทำให้เย็นลง เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดแรงดันภายในภาชนะมาก จึงควรลดอุณหภูมิ สำหรับการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำให้ต่ำกว่า 121°C โดยเพิ่มเวลาในการนึ่งฆ่าเชื้อ ปรากฏว่าการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110°C นาน 40 นาที เหมาะสำหรับขวดพลาสติกโปลีโพรไพรีน ซึ่งบรรจุ 2% ทริปโตน ปริมาตร 200 ซีซี. และปิดจุกสนิท ในระหว่างขั้นตอนทำให้เย็นลง ความดันในห้องนึ่งไม่ควรน้อยกว่า 1.6 บาร์ เป็นเวลา 60 นาที โดยใช้ปั๊มดูดอากาศเข้าห้องนึ่ง เพื่อป้องกันการเปลี่ยนรูปทรงของขวดพลาสติก

## คำนำ

การผลิตน้ำยาละลายวัคซีนกาฬโรคเป็ด (2% tryptone) ซึ่งเป็นโปรตีนเหมาะแก่การเจริญของจุลินทรีย์ การผลิตเป็นจำนวนมากต่อครั้ง ต้องนำอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการผลิต เช่น ถังบรรจุน้ำยาละลาย สายยาง กระบอกสูบ หัวแจก จุกยาง ขวดแก้วและเครื่องแจก ทั้งหมดทำให้ปลอดเชื้อและใช้ Aseptic technics บรรจุขวด ทำให้มีการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ได้ง่าย น้ำยาละลายเสียเป็นจำนวนมาก อีกทั้งขั้นตอนในการเตรียมอุปกรณ์ใช้เวลามากและผลิตไม่ทันตามความต้องการ จึงใช้กระบวนการทำให้ปลอดเชื้อหลังการบรรจุ ซึ่งต่อมาเปลี่ยนจากขวดแก้วเป็นขวดพลาสติก เพื่อลดต้นทุนการผลิต และแก้ปัญหาการแตกชำรุดในระหว่างการขนส่ง นอกจากนี้ยังลดขั้นตอนในการทำงานโดยใช้เวลาน้อยลงและสะดวกขึ้น รวมถึงลดอันตรายจากเศษแก้วแตกในขั้นตอนการล้างและบรรจุ

การเปลี่ยนจากขวดแก้วมาเป็นขวดพลาสติก บรรจุน้ำยาละลาย 2% ทริปโตน ฝาปิดสนิท และปิดจุกเค็ป นำมาทำให้ปลอดเชื้อด้วยไอน้ำ ต้องใช้เครื่องนึ่งไอน้ำที่มีระบบเย็นเร็ว (Wilkinson et al., 1960) ส่วนเครื่องนึ่งไอน้ำแบบธรรมดา ซึ่งไม่มีระบบเย็นเร็วและส่วนแลกเปลี่ยนความร้อน (heat exchanger) ไม่มีปั๊มดูดอากาศเข้าห้องนึ่งเพื่อรักษาแรงดันภายใน ทำให้ขวดพลาสติกเปลี่ยนรูปทรง บวม แฟบ หรือ แตก เนื่องจากเกิดแรงดันภายในขวดพลาสติกในขณะนึ่งฆ่าเชื้อ สูงกว่าแรงดันภายนอกขวด ระหว่างขั้นตอนทำให้เย็น (Lawrence และ Seymour, 1968) จึงได้ปรับปรุงเครื่องนึ่งไอน้ำขนาด 2,000 ลิตรที่ใช้อยู่ และวิธีการทำให้ปลอดเชื้อ ให้ใช้กับขวดพลาสติกได้ โดยเปลี่ยนรูปทรงน้อยที่สุด สามารถวางตั้งได้ แต่การดัดแปลงเครื่องนึ่งไอน้ำให้มีระบบเย็นเร็ว ต้องติดตั้งชุดแลกเปลี่ยนความร้อน เปลี่ยนระบบท่อน้ำ เจาะห้องนึ่ง เปลี่ยนชุดระบบควบคุมคอมพิวเตอร์ ทำให้เสียค่าใช้จ่ายจำนวนมาก

Danielson (1986) ได้กล่าวถึง การนึ่งฆ่าเชื้อภาชนะบรรจุของเหลวที่ปิดสนิท ด้วยเครื่องนึ่งไอน้ำ เพื่อไม่ให้ภาชนะแตก หรือเปลี่ยนรูปทรง ต้องอัดอากาศ (support pressure) เข้าในห้องนึ่งในช่วง cooling เพื่อรักษาแรงดันในห้องนึ่งให้ใกล้เคียงกับแรงดันภายในภาชนะ ซึ่งแรงดันที่ใช้และระยะเวลา cooling ขึ้นอยู่กับส่วนประกอบทางเคมีของของเหลว ปริมาณของของเหลวและอากาศในภาชนะบรรจุ อัตราการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ เมื่อให้ความร้อน และทำให้เย็นลง ความหนาแน่นของภาชนะ และการทนความร้อนของภาชนะ

การดัดแปลงเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ อาศัยหลักการรักษาแรงดันภายนอกภาชนะบรรจุกับแรงดันภายในโดยติดตั้งเครื่องหน่วงเวลา (Timer Relay) ให้เครื่องปั๊มดูดอากาศเข้าในห้องนึ่งทำงานเป็นระยะๆ เพื่อรักษาแรงดันภายในห้องนึ่ง ในขั้นตอนทำให้เย็นลง พร้อมกับปล่อยอากาศในห้องนึ่งออกช้า ๆ กับหาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการนึ่งฆ่าเชื้อ และหาการนำความร้อนของภาชนะบรรจุของเหลว โดยหาเวลาการแทรกผ่านความร้อน (Heat Penetration Time) ของขวดพลาสติก polypropylene เพื่อให้ได้อุณหภูมิและเวลานึ่งฆ่าเชื้อที่ถูกต้องสมบูรณ์ Rubbo และ Gardner (1965) กล่าวว่า การแทรกผ่านของความร้อนผ่านผนังขวดพลาสติก เข้าไปในน้ำยาละลายมีผลขึ้นอยู่กับ ปริมาณและความหนืดของของเหลว ความหนาของภาชนะบรรจุ วัสดุที่ใช้ทำภาชนะ และอัตราของการทำให้ร้อนขึ้นของเครื่องนึ่งไอน้ำ

การทดลองครั้งนี้ เพื่อหาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมสำหรับนึ่งฆ่าเชื้อน้ำยาละลายบรรจุในขวดพลาสติกปิดจุกสนิท และหาความดันในห้องนึ่งที่เหมาะสม ในขั้นตอนทำให้เย็นลง โดยทำให้ขวดพลาสติกเปลี่ยนรูปทรงน้อยที่สุด

## อุปกรณ์และวิธีการ

1. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ Getinge GE B200 ขนาดความจุ 2,000 ลิตร ชนิด gravity type ไม่มีระบบเย็นเร็ว ไม่มีชุดแลกเปลี่ยนความร้อน ไม่มีระบบรักษาแรงดันภายในห้องนึ่งในขั้นตอน cooling จึงดัดแปลงติดตั้งเครื่องหน่วงเวลาให้ปั๊มดูดอากาศเข้าห้องนึ่งทำงานเป็นระยะ ๆ ในช่วง cooling โดยมี Product sensor ใช้วัดอุณหภูมิภายในขวด เป็นชนิด Thin Platinum wire PT100 class A มีค่า accuracy $\pm 0.1^{\circ}C$ ที่ $0^{\circ}C$ และ $\pm 0.35^{\circ}C$ ที่ $100^{\circ}C$ ระบบควบคุมเครื่องเป็นไมโครโปรเซสเซอร์ (Programmable Autoclave Control System, PACS 50) มีระบบชดเชยอุณหภูมิและเวลาในขั้นตอนการฆ่าเชื้อ เมื่ออุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ต่ำกว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการนึ่งฆ่าเชื้อ (ซิมม์, 1994) เป็นพารามิเตอร์ที่กำหนดไว้ในโปรแกรมการนึ่งฆ่าเชื้อ

2. ขวดพลาสติกชนิด Polypropylene[1] ทนการนึ่งด้วยไอน้ำ $121^{\circ}C$ แรงดัน 15 ปอนด์ เวลา 60 นาที ปริมาตรขวด 290 ซีซี. หนา 1.2 มม. น้ำหนัก 32 กรัม

3. น้ำยาละลาย 2% Tryptone (Enzymatic digest of casein, Oxoid) ผ่านการกรอง 10 และ 3 ไมครอน บรรจุขวดละ 200 ซีซี. ปิดจุกยาง แค็ปฝาปิดสนิท เข้าเครื่องนึ่ง 1,600 ขวดต่อครั้ง ใช้รถเข็น 2 ตอน ๆ ละ 7 ชั้น ๆ ละ 116 ขวด

4. Sterilizer Monitor ทำหน้าที่ตรวจสอบความสมบูรณ์ของการทำให้ปลอดเชื้อด้วยไอน้ำ USP23 (1995) กล่าวว่า การใช้ Bioindicators (BIs) อย่างเดียว ยังไม่สามารถยอมรับได้ ว่าขบวนการทำให้ปลอดเชื้อด้วยไอน้ำสมบูรณ์ ต้องใช้อินดิเคเตอร์ 2 ชนิด ตามคำแนะนำของ AAMI(1980), AORN(1980) และ HIMA (1978) คือ

4.1 Bioindicator[2] (BIs) Bacillus stearothermophilus (ATCC 7953) ตาม USP21 (1985) จำนวนสปอร์ $1x10^{3}$-$5x10^{3}$ CFU/ml. ที่อุณหภูมิ $121^{\circ}C$ แรงดัน 15 ปอนด์ เวลา 5 นาที สปอร์สามารถเจริญได้ 100% แต่เมื่อใช้เวลานาน 15 นาที สปอร์จะตายหมด

4.2 Chemical Indicators[3] (CIs) เวลาในการเปลี่ยนสีที่อุณหภูมิ $120^{\circ}C$ 16 นาที, $115^{\circ}C$ 25 นาที, $110^{\circ}C$ 40 นาที และ $105^{\circ}C$ 62 นาที

---

1. Solvay Polypropylene ELTEX P KL104, SOLVAY S.A.,USA.

2. Sterikon® Bioindicator (autoclaving control) MERCK.

3. Browne Sterilizer Control tubes, Type I Steam autoclave/Fluids, Temperatures up to $125^{\circ}C$, Albert Browne International Ltd., England.

**ตำแหน่งวางขวดใส่อินดิเคเตอร์** Favero (1985) แนะนำการใช้อินดิเคเตอร์ที่เหมาะสมต้องใส่ในผลิตภัณฑ์ และวางกระจายในตำแหน่งที่ไอน้ำเข้าถึงช้า ซึ่ง Holstein (1975) ให้วางตำแหน่งของอินดิเคเตอร์ที่ชั้นล่างสุด กับตรงกลางของห้องนึ่ง เป็นตำแหน่งที่ไอน้ำเข้าถึงช้า สำหรับเครื่องนึ่งไอน้ำที่มีขนาดความจุมากกว่า 250 ลิตร การใช้อินดิเคเตอร์ ควรใช้ไม่น้อยกว่า 6 ตำแหน่ง (Grigo และ Costin, 1975) เพื่อทดสอบความสมบูรณ์ของการนึ่งฆ่าเชื้อ จึงได้จัดวางตำแหน่งอินดิเคเตอร์ ทั้ง 2 ชนิด ( CIs/BIs) ไว้ 8 ตำแหน่ง คือ

ขวดตรงกลางถาดชั้นที่ 4 ชั้นกลาง ของรถบรรทุกทั้ง 2 คัน 2 ตำแหน่ง

ขวดตรงกลางถาดชั้นล่างสุด ของรถบรรทุกทั้ง 2 คัน 2 ตำแหน่ง

ขวดริมถาดด้านในตรงกลางของห้องนึ่ง ถาดชั้นที่ 4,5,6,7 4 ตำแหน่ง

ใส่ Product sensor ในขวดที่มีอินดิเคเตอร์ ปิดจุกสนิท วางตรงกลางของชั้นที่ 4 (ชั้นกลาง) ของรถบรรทุกริมประตูเครื่อง

**ทดสอบหา Heat Penetration Time (HPT)** ของขวดพลาสติก polypropylene บรรจุน้ำยาละลาย 2% ทริปโตน 200 ซีซี. โดยใช้อุณหภูมิที่ 121°C, 118°C, 115°C , 112°C , 110°C และ 105°C โดยหาเวลาเฉลี่ย 3 ครั้งของแต่ละอุณหภูมิ โดยใช้ Product sensor วัดอุณหภูมิของเหลว ใส่ในขวดพลาสติกปิดจุกสนิท มีขั้นตอนการทำความร้อน มีการดูดไล่อากาศภายในห้องนึ่ง (prevacuum) เพื่อประสิทธิภาพในการเพิ่มอุณหภูมิภายในห้องนึ่ง (Kelsey, 1965) เริ่มจับเวลาเมื่ออุณหภูมิภายในห้องนึ่งขึ้นถึงอุณหภูมิที่ใช้ทำการนึ่งฆ่าเชื้อ จนถึงเวลาที่อุณหภูมิภายในขวด (Product temperature)ขึ้นถึงอุณหภูมิที่ใช้ฆ่าเชื้อ

**ทดลองเปรียบเทียบปริมาณของของเหลวต่อปริมาตรอากาศที่เหลือภายในขวด** เปรียบเทียบน้ำบริสุทธิ์ปราศจากแร่ธาตุ กับ 2% ทริปโตนโดยบรรจุของเหลว 2 ชนิด ปริมาตร 200, 250,270และเต็มขวด 290 ซีซี. ปิดจุกสนิท ใช้อุณหภูมิ 110°C เวลา 40 นาที แรงดัน 0.45 บาร์ โดยไม่มีปั๊มดูดอากาศเข้าในขั้นตอนเย็นลง

**หาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการทำให้ปลอดเชื้อ** ของขวดพลาสติกปิดจุกสนิทให้เปลี่ยนรูปทรงน้อยที่สุด โดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121°C, 15 นาที 118°C, 20 นาที 115°C, 25 นาที 112°C, 30 นาที 110°C 30 และ 40 นาที 105°C, 50 และ 60 นาที

ในขั้นตอน cooling ทดลองหาแรงดันภายในห้องนึ่งและระยะเวลาเย็นลง ที่สามารถรักษาสภาพของขวดพลาสติกให้เปลี่ยนรูปทรงน้อยที่สุด โดยเริ่มจับเวลาที่การนึ่งฆ่าเชื้อสิ้นสุด ปั๊มดูดอากาศเข้าในห้องนึ่งทำงาน เป็นระยะ ๆ เพื่อรักษาแรงดันภายในห้องนึ่ง ระหว่าง 1-1.8 บาร์ ใช้เวลา 40, 50, 60 และ 70 นาที พร้อมกับปล่อยไอน้ำในห้องนึ่งออกช้าๆ ตามคำแนะนำของ Fuerst (1983) จนอุณหภูมิภายในขวดลดลงเหลือ 80°C จึงเปิดประตูเครื่องนึ่งไอน้ำ (Collin et al.,1995)

สำหรับการทำให้ปลอดเชื้อด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 110°C เวลา 40 นาที แรงดันในห้องนึ่ง 1.6 บาร์ บรรจุผลิตภัณฑ์เต็ม 1,600 ขวด ทดสอบ 10 cycles เก็บขวดใส่อินดิเคเตอร์ไว้ทดสอบ Sterility ทุกครั้ง ซึ่ง Block (1991) แนะนำ ให้ทำการทดสอบผ่าน 10 ครั้ง ขบวนการทำให้ปลอดเชื้อจึงยอมรับได้ 100% ( Sterilization Process Validation)

## ผลการทดลอง

**ตารางที่ 1** แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรของของเหลวต่อปริมาตรอากาศที่เหลือภายในขวด มีผลต่อการเปลี่ยนรูปทรงของขวดพลาสติกปิดจุกสนิท เมื่อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำภายใต้แรงดันอุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที

| ปริมาณของของเหลว | ปริมาตรอากาศ | ลักษณะของขวดบรรจุน้ำบริสุทธิ์ | ลักษณะของขวดบรรจุ 2% ทริปโตน |
|---|---|---|---|
| เต็ม 290 ซีซี. | 0 ซีซี. | คงสภาพเดิม | ก้นขวดบวมเล็กน้อย ร้อนกว่าขวดน้ำ |
| 270 ซีซี. | 20 ซีซี. | บวมเล็กน้อย แฟบเล็กน้อย | บวมมากกว่า แฟบด้านเดียว ตั้งได้ |
| 250 ซีซี. | 40 ซีซี. | ขวดพองทั้งใบ ตั้งได้ | ขวดพองทั้งใบ แฟบ 2 ด้าน ตั้งเอียง |
| *200 ซีซี. | 90 ซีซี. | ขวดพองทั้งใบ ขวดตั้งเอียง | ขวดพองมาก ตั้งไม่ได้ แฟบ 3 ด้าน |

*เป็นปริมาตรของน้ำยาละลายวัคซีนที่บรรจุในขวด ใช้ในการละลายวัคซีนแต่ละขวด

**ตารางที่ 2** แสดงความสัมพันธ์ของอุณหภูมิและเวลาที่ทำให้ปลอดเชื้อ เวลาการนำความร้อนของของเหลวและขวดพลาสติก (HTP) และเวลาเย็นลงถึง 100°C ต่อการเปลี่ยนรูปทรงขวดพลาสติก

| Sterilizing. temp./time | HPT* | Cooling 100°C | Pressure | BIs/CIs indicators | Deforming of Plastic bottles |
|---|---|---|---|---|---|
| 121°C, 15 min. | 30 | 90 min. | 1.1 bars | complete | บวมมาก วางตั้งไม่ได้ บางขวดแฟบ |
| 118°C, 20 min. | 30 | 70 min. | 0.9 bars | complete | บวมมาก วางตั้งได้ แต่เอียงล้มง่าย |
| 115°C, 25 min. | 29-30 | 55 min. | 0.7 bars | complete | บวมมาก วางตั้งได้ แต่เอียงมีแฟบ |
| 112°C, 30 min. | 30 | 47 min. | 0.55 bars | complete | บวมเล็กน้อย วางตั้งได้ แต่เอียงบางขวดล้ม |
| 110°C, 40 min. | 28-30 | 44 min. | 0.45 bars | complete | ขวดบวมเล็กน้อย วางตั้งได้ |
| 110°C, 30 min. | 28 | 40 min. | 0.45 bars | complete | บวมที่ก้นขวดเล็กน้อย วางตั้งได้ |
| 105°C, 60 min. | 28 | 35 min. | 0.2 bars | complete | บวมที่ก้นขวดเล็กน้อย วางตั้งไม่เอียง |

***HPT= Heat penetration time (min.)**

**ตารางที่ 3** แสดงการใช้ปั๊มดูดอากาศเข้ารักษาแรงดันระดับต่างๆในห้องนึ่ง กับระยะเวลาในช่วงเย็นลง พร้อมปล่อยไอน้ำออกอย่างช้าๆเป็นระยะๆ จนอุณหภูมิในขวดลดลงถึง 90°C ปิดเครื่อง

| Sterilizing temp./time | Support Pressure press./time | Cooling 90°C/time | รูปทรงขวด และขวดเสีย (%) |
|---|---|---|---|
| 118°C 20 min. | 1.4 bars,60 min. | 100 min. | ขวดบวมมาก บางขวดวางตั้งไม่ได้ ขวดเสีย 80% |
| 115°C 25 min. | 1.6 bars,60 min. | 120 min. | ขวดบวม บางขวดแฟบเมื่อเย็นลง ขวดเสีย 60% |
| 112°C 30 min. | 1.6 bars,60 min. | 120 min. | ขวดบวมเล็กน้อย วางเอียง ขวดบวมเสีย 15% |
| 110°C 40 min. | 1.8 bars,70 min. | 120 min. | ขวดบวมเล็กน้อยมาก วางตั้งได้ ไม่มีขวดบวมเสีย |
| 110°C 40 min. | *1.6 bars,60 min. | 120 min. | ขวดบวมเล็กน้อยมาก วางตั้งได้ ไม่มีขวดบวมเสีย |
| 110°C 40 min. | 1.1 bars,60 min. | 100 min. | ขวดบวมเล็กน้อย มีบางขวดแฟบเล็กน้อย ขวดเสีย 2% |
| 110°C 40 min. | 1.8 bars,50 min. | 120 min. | ขวดบวมเล็กน้อย มีบางขวดแฟบเล็กน้อย ขวดเสีย 5% |
| 110°C 40 min. | 1.6 bars,50 min. | 100 min. | ขวดบวมเล็กน้อย มีบางขวดแฟบเล็กน้อย ขวดเสีย 5% |
| 110°C 40 min. | 1.6 bars,40 min. | 100 min. | ขวดบวมเล็กน้อย มีบางขวดแฟบเล็กน้อย ขวดเสีย 8% |
| 110°C 40 min. | 1.4 bars,40 min. | 100 min. | ขวดบวมเล็กน้อย มีบางขวดแฟบเล็กน้อย ขวดเสีย 8% |
| 110°C 40 min. | 1.2 bars,40 min. | 100 min. | ขวดบวมเล็กน้อยมีบางขวดแฟบเล็กน้อยขวดเสีย 10% |
| 110°C 40 min. | 1.0 bars,40 min. | 110 min. | ขวดบวมเล็กน้อย มีบางขวดแฟบ ขวดเสีย 10% |

## วิจารณ์

การปรับปรุงเครื่องนึ่งไอน้ำที่ไม่มีระบบเย็นเร็ว ให้ใช้ได้กับขวดพลาสติกบรรจุของเหลวปิดจุกสนิท โดยไม่เปลี่ยนรูปทรง มีองค์ประกอบสัมพันธ์กันหลายอย่าง คือ อัตราส่วนปริมาตรของของเหลวกับปริมาตรของอากาศในขวด อุณหภูมิและเวลาที่ใช้นึ่งฆ่าเชื้อ เวลาในการนำความร้อนของของเหลวและขวดพลาสติก การปรับแรงดันภายในห้องนึ่งและระยะเวลาในการรักษาแรงดันในช่วง cooling

จากการทดลองปรับปริมาตรของของเหลวบรรจุในขวด นำมานึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เวลา 15 นาที ปรากฏว่าถ้าของเหลวบรรจุเต็มขวด 290 ซีซี. โดยมีปริมาตรอากาศในขวดเป็นศูนย์ ก้นขวดบวมเล็กน้อย แต่ถ้าปริมาตรของน้ำยาละลายสำหรับวัคซีนต้องบรรจุ 200 ซีซี. จึงมีปริมาตรอากาศเหลือในขวด 90 ซีซี. เมื่อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยอุณหภูมิ 121°C เวลา 15 นาที ขวดจะบวมพองมาก

ตั้งไม่ได้ เนื่องจากปริมาตรของอากาศภายในขวดเหลืออยู่มาก เมื่อได้รับความร้อน อากาศจะขยายตัวมาก จึงทำให้บวม (ตารางที่ 1)

ผลจากการทดลองการนำความร้อนของขวดพลาสติก polypropylene ที่ใช้อุณหภูมิในการนึ่งฆ่าเชื้อต่าง ๆ จะมีระยะเวลาที่อุณหภูมิของเหลวในขวด ขึ้นถึงอุณหภูมิที่ใช้ในการนึ่งฆ่าเชื้อ โดยเฉลี่ย 28-30 นาที

การใช้อุณหภูมิ 121°C และปรับลดลงจนถึง 112°C นึ่งฆ่าเชื้อน้ำยาละลายบรรจุขวดพลาสติกปิดจุกสนิท โดยมีปั๊มดูดอากาศช่วยรักษาแรงดันในห้องนึ่ง ให้มากกว่าแรงดันภายในขวด ยังทำให้ขวดบวม หรือเปลี่ยนรูปทรงเป็นจำนวนมาก (ตารางที่ 2) เนื่องจากปริมาตรของอากาศภายในขวดเหลืออยู่มาก เกิดจากความร้อนทำให้อากาศขยายตัว ซึ่งสอดคล้องกับกฎของ Gas' Law กล่าวว่า ปริมาตรและความดันเป็นสัดส่วนกับอุณหภูมิ ($VP \propto T$) (นิคม, 2522)

การใช้อุณหภูมิที่ 110°C เวลา 40 นาที ในการนึ่งฆ่าเชื้อขวดพลาสติกบรรจุน้ำยาละลายปิดจุกสนิท จะต้องใช้ปั๊มอากาศเข้ารักษาแรงดันในห้องนึ่ง ในขั้นตอน cooling ใช้แรงดันไม่น้อยกว่า 1.6 บาร์ ใช้เวลาไม่น้อยกว่า 60 นาที จึงสามารถรักษาการเปลี่ยนรูปทรงของขวดพลาสติกน้อยที่สุด (*ตารางที่ 3) ขวดแสดงลักษณะบวมเล็กน้อย ตั้งบนพื้นราบได้ดี โดยไม่มีจำนวนขวดบวมเสียหาย ใช้ได้ 100% ถ้าใช้แรงดันในห้องนึ่งต่ำกว่า 1.6 บาร์และเวลาน้อยกว่า 60 นาที จะมีขวดพลาสติกที่วางบริเวณชั้นบน ริมประตูเครื่อง ซึ่งได้รับความร้อนจากไอน้ำมาก บวมเสียหาย เนื่องจากการคายความร้อนของน้ำยาละลายผ่านผนังขวดพลาสติกได้ช้ามาก เพราะว่าพลาสติก polypropylene มีการนำความร้อนต่ำ (Thermal conductivity) ตามการทดลองของ Rutala et al. (1982) และ Lauer et al.(1982) ขวดพลาสติกจะยืดตัวเมื่อได้รับความร้อนและแรงดัน ขวดเย็นลงจะคงสภาพบวม อุณหภูมิภายในขวดลดลง 80°C ใช้เวลานาน การใช้เครื่องปั๊มลมเป็นเวลานาน ไม่เหมาะที่จะใช้เป็นงานประจำ

การนึ่งฆ่าเชื้อที่ 110°C แรงดัน 0.45 บาร์ เวลา 40 นาที อุณหภูมิที่ใช้ในการนึ่งฆ่าเชื้อไม่สูงมาก แรงดันของอากาศภายในขวดขยายไม่มาก และใช้ support pressure 1.6 บาร์ และระยะเวลาเย็นลงจนถึง 90°C ไม่น้อยกว่า 120 นาที ได้เผื่อเวลา Safty factor 50% (บวกเวลาที่ไอน้ำกระจายผ่านเข้าไปในบริเวณเย็นสุดของห้องนึ่ง) สามารถยอมรับขบวนการทำให้ปลอดเชื้อสมบูรณ์ (Sterilization Process Validation) ซึ่งสอดคล้องกับ Rubbo (1965) ที่ได้แนะนำการทำให้ปลอดเชื้อด้วยไอน้ำภายใต้แรงดัน ของน้ำ อาหารเลี้ยงเชื้อ ของเหลว ควรใช้อุณหภูมิที่ 110°C ขึ้นไป

ส่วนอุณหภูมิที่ 110°C, 30 นาที สามารถทำให้ปลอดเชื้อได้ เนื่องจากมีช่วงเวลาการนำความร้อนของขวดพลาสติกจาก 100°-110°C รวมกับเวลาความร้อนลดลง 110°-100°C มากกว่า 60 นาที ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ใช้ทำลายสปอร์ของแบคทีเรียได้ อินดิเคเตอร์ BIs และ CIs complete แต่

ไม่ได้เผื่อเวลา Safty factor ขวดตำแหน่งที่ไอน้ำเข้าถึงช้า และความมั่นใจของการทำให้ปลอดเชื้อไม่สมบูรณ์ 100% เมื่อทดลอง 10 cycles

ข้อเสียของการใช้เครื่องนึ่งไอน้ำ ต้องใช้ปั๊มอากาศเข้าห้องนึ่งเพื่อรักษาแรงดัน และปล่อยอากาศร้อนภายในห้องนึ่งอย่างช้า ๆ ทำให้เสียเวลามาก เสียพลังงานมาก ไม่สามารถใช้งาน 2 ครั้งต่อวัน ต้องเฝ้าควบคุมเครื่องอย่างระวัง จึงไม่เหมาะสมที่จะใช้กับงานผลิตจำนวนมาก ๆ หรืองานเร่งด่วน

เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำขนาดความจุ 2,000 ลิตรขึ้นไป ควรมี sensor สำหรับวัดอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ไม่น้อยกว่า 3 ชุด เพื่อใช้ตรวจสอบอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ในตำแหน่งที่ไอน้ำเข้าถึงช้า และควรมีเครื่องพิมพ์ แสดงขั้นตอนการทำงานของเครื่องอย่างละเอียด ประกอบการพิจารณาความสมบูรณ์ของการนึ่งฆ่าเชื้อ เครื่องนึ่งไอน้ำที่ดี ควรมีระบบการคำนวณชดเชยอุณหภูมิ ค่า $F_0$ ซึ่งเป็นค่าที่แท้จริงในการทำให้ปลอดเชื้อ ใช้พิจารณาความเหมาะสมของเวลา และอุณหภูมิการทำให้ปลอดเชื้อของผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด และสำหรับของเหลวบรรจุภาชนะปิดจุกสนิทหรือไม่ปิดจุก ควรมี support pressure รักษาแรงดันในห้องนึ่งที่สามารถปรับค่าแรงดันได้ตามต้องการ ถ้าไม่สามารถปรับแรงดันในช่วง cooling ได้ ขวดพลาสติกจะบวม เปลี่ยนรูปทรงได้

## สรุปผลการทดลอง

การใช้เครื่องนึ่งไอน้ำในการฆ่าเชื้อน้ำยาละลายซึ่งบรรจุขวดพลาสติกปิดจุกสนิท โดยไม่มีระบบเย็นเร็ว (Rapid cool) และทำให้ขวดพลาสติกเปลี่ยนรูปทรงน้อยที่สุด ควรใช้อุณหภูมิ 110°C เวลา 40 นาที โดยในช่วง cooling ให้ใช้ปั๊มลมดูดอากาศช่วยรักษาแรงดันในห้องนึ่ง ไม่น้อยกว่า 1.6 บาร์ เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 60 นาที จะไม่มีการสูญเสียของขวดพลาสติกที่วางบริเวณรับความร้อนมาก ความมั่นใจของประสิทธิภาพในการทำให้ปลอดเชื้อ 100% แต่ขวดยังคงมีสภาพบวมเล็กน้อย แต่ถ้าต้องการให้ขวดพลาสติกคงสภาพเดิม ต้องใช้เครื่องนึ่งไอน้ำระบบเย็นเร็วและสามารถปรับแรงดันในช่วง cooling ได้

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนาย ไวพจน์ ปัทมงาม และนาย นเรศ กองเงิน บริษัทซิมม์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการทดลองปรับปรุงเครื่อง และการไปศึกษาทดลองใช้ขวดพลาสติกนึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง

นึ่งระบบ Rapid cooling คณะกรรมการตรวจสอบผลงานทางวิชาการ กองผลิตชีวภัณฑ์ โดยเฉพาะ สพญ.จารุณี สาตรา และสพญ. กัญญา สุวินทรากร ที่ช่วยตรวจแก้ไขต้นฉบับ

## เอกสารอ้างอิง

ซิมม์, บริษัท. 1994. "คู่มือการใช้ และ คู่มือช่าง เครื่องนึ่งไอน้ำ Getinge." หน้า 3

นิคม ใจซื่อ; 2522. "คู่มือฟิสิกส์ เล่ม 2 ฉบับสมบูรณ์" สำนักพิมพ์ พัฒนาศึกษา, 36-37.

AAMI, 1980. Good hospital practice : Steam sterilization and sterility assurance. Association for the Advancement of Medical Instrutmentation, ST.1-1980.

AORN, 1980. Association of Registered Nurses Journal. 1980. Recommended practices for in hospital sterilization. AORN J., 225-230.

Block, Seymour S. 1991. "Disinfection, Sterilization and Preservation" Fourth Edition, Lea & Febiger Pub., 503-523,1052.

Collin, C.H., Lyne, M. Patricia, Grange, J.M. 1995. Collin and Lyne's Microbiological Methods, 7 Rev.ed., Butterworth-Hainemann Ltd., p.45.

Danielson, Ingmar, 1986. "Sterilization Techniques And Process Control". Technical information from Getinge, Getinge Mekaniska Verkstads AB, p.5.

Favero, 1985. In Lennette, Balows, Hausler and Shadomy (ad.), Manual of clinical Microbiology, 4th ed. ASM, Washington, D.C.

Fuerst, Robert 1983. "Microbiology in Health and Disease" 15th Edition W.B. Saunders Company, p.204-207.

Grigo, J., a. Costin, J.D.1975. Vorschriften der USP XIX fuer die Anwendung von Bioindikatoren zur Sterilitaetskontrolle. Pharm. Ind., 37/3; 179-181.

HIMA, 1978. Medical Device Sterilization Monograph : Biological and Chemical Indicators. Health Industry Manufacturers Association. Report. No.78-4.4.

Holstein, N. 1975. Untersuchungen zur Funktionspruefung von Autoklaven mittels Bioindikatoren. Zbl. Bakt. Hyg., I. Orig. B., 160: 443-457.

Kelsey, J.C. 1965. Sterilization and disinfection technologies and equipment. J. Med. Lab. Technol., 22: 209-215.

Lauer, J.L., Battles, D.R., and Vesley, D. 1982. Decontaminating infectious Laboratory waste by autoclaving. Appl. Environ. Microbiol., 44, 690-694.

Lawrence, Carl A., Block, Seymour S.,1968. "Disinfection, Sterilization and preservative" Edited by Lea & Febiger, Philadelphia. p.729.

Rubbo, Sydney D., and Gardner, Joan F. 1965. "A review of sterilization and disinfection as applied to medical industrial and Laboratory practice." Year book Medical Publishers, Chicago., p66-69.

Rutala, W.A., Stiegel, M.M., and Sarubbi, F.A., Jr. 1982. Decontamination of Laboratory microbiological waste by steam sterilization. Appl. Environ. Microbiol., 43 : 1311-1316.

USP 23,1995. <1035> Biological Indicators., p.1847.

Wilkinson, G.R., Peacock,F.G., and Robin, E.L., 1960. A shorter sterilising cycle for solutions heated in an autoclave. J. Pharma. Pharmacol., 12: 197T-202T.