

การศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการทดสอบฮีแมกกลูตินินชัน อินฮิบิชันสำหรับโรคนิวคาสเซิล

เชิดชัย รัตนเศรษฐากุล¹, พรทิพย์ ศิริวรรณ² และ รุ่งฤดี บุญยะโทตระ²

1. ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

2. กองวิชาการ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

STUDY OF FACTORS AFFECTING HEMAGGLUTINATION INHIBITION TEST FOR NEWCASTLE DISEASE

Cherdchai Ratanasethakul¹, Porntip Siriwan² and Ruenrudee Boonyahotra²

1. Department of Medicine, Faculty of Veterinary Science. Khon Kaen University.

2. Division of Veterinary Research. Department of Livestock Development.

ABSTRACT

Seven replicate samples of serum from chickens immune to Newcastle disease were titrated to determine the effect of some factors on hemagglutination-inhibition (HI) titers. The factors studied were type of antigens, serum/antigen reaction times, and test reading times. Newcastle disease virus (NDV) F caused the lowest HI titers which were lower than those of NDV LaSota and NDV Ishii $0.48 \log_2$ and $1.22 \log_2$ respectively. Serum/antigen reaction times 20 minutes caused the lowest HI titers which were lower than those of 25 and 40 minutes $0.47 \log_2$ and $0.77 \log_2$ respectively. Test reading times 25 minutes caused the lowest HI titers which were lower than those of 45 minutes $0.29 \log_2$ and $0.29 \log_2$ respectively.

บทนำ

Hemagglutination-inhibition (HI) test เป็นวิธีที่มีประโยชน์ในการตรวจหา HI titers ในเลือดไก่หลังจากไขว้ไขว้ขึ้นนิวคาสเซิล และในไก่ที่ ได้รับเชื้อนิวคาสเซิลจากการระบาดหรือการฉีดเชื้อพิษ (challenge) การตรวจหา HI titers มี 2 วิธี คือ วิธีแรก constant-virus diluted-serum (beta procedure) และ วิธีที่สอง constant-serum diluted-virus (alpha procedure) beta procedure เป็นวิธีทดสอบที่ใช้กันแพร่หลายในประเทศต่าง ๆ รวมทั้งในประเทศไทย เช่น คณะสัตวแพทยศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ ศูนย์วิจัยและชันสูตรโรคสัตว์ต่าง ๆ และสำนักเทคนิคของหน่วยงานเอกชน เป็นต้น เทคนิคในการตรวจหา HI titers โดย HI test ของแต่ละห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งก็แตกต่างกันออกไป คือ แอนติเจนที่ใช้มีทั้งนิวคาสเซิล F, LaSota และ Ishii ความเข้มข้นของ hemagglutination (HA) units ใช้ 4 และ 8 HA ความเข้มข้นของ

เม็คเลือดแดงใช้ 0.50 % 0.75 % และ 1.00 % ตลอดจนระยะเวลาที่ซีรัมทำปฏิกิริยากับแอนติเจน (serum/antigen reaction time) และเวลาในการอ่านผลสุดท้ายก็แตกต่างกัน ดังนั้นค่าของ HI titers จากแต่ละห้องปฏิบัติการจึงไม่เป็นมาตรฐานเดียวกัน และยากแก่การเปรียบเทียบ จึงน่าจะได้มีการศึกษาถึงปัจจัยต่าง ๆ เช่น ชนิดของแอนติเจน ระยะเวลาที่ซีรัมทำปฏิกิริยากับแอนติเจน และเวลาในการอ่านผลสุดท้ายที่มีผลต่อค่า HI titers มากน้อยเพียงใด

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงาน

วิธี HI test ที่ใช้ทดสอบมี 3 วิธี คือ วิธีที่ 1 เป็นวิธีที่ใช้ที่ศูนย์วิจัยและชันสูตรโรคสัตว์ 3 แห่งที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคใต้ วิธีที่ 2 เป็นวิธีที่ใช้ที่คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และวิธีที่ 3 เป็นวิธีที่ใช้ที่สำนักเทคนิคและวิชาการของบริษัท เวิลด์วอนอินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด ซึ่งแต่ละวิธีมีรายละเอียดดังนี้

วิธีที่ 1 (ตารางที่ 1 และ 2)

ตารางที่ 1. Hemagglutination test ในวิธีที่ 1

Reagent (μl)	หลอดที่							
	1	2	3	-----9	10	11	12	
น้ำเกลือ	25	25	25	-----25	25	25	25	
แอนติเจน	25							
Transfer		→ 25	→ 25	-----→ 25	→ 25	→ 25	→ 25	
น้ำเกลือ	25	25	25	25	25	25	25	
0.5 % RBC	50	50	50	50	50	50	50	
อ่านผลหลังจากเติม RBC 60 นาที								

ตารางที่ 2. Hemagglutination-inhibition test ในวิธีที่ 1

Reagent (μl)	หลอดที่							
	1	2	3	-----9	10	11	12	
น้ำเกลือ	25	25	25	25	25	25	25	
ซีรัมที่ทดสอบ	25							
Transfer		→ 25	→ 25	-----→ 25	→ 25	→ 25	→ 25	
แอนติเจน 4 ซี	25	25	25	-----25	25	25	0	
เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ 10 นาที								
0.5 % RBC	50	50	50	-----50	50	50	50	
เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ 60 นาที อ่านผล								

วิธีที่ 2 (ตารางที่ 3 และ 4)

ตารางที่ 3. Hemagglutination test ในวิธีที่ 2

Reagent (µl)	หลอดที่						
	1	2	3-----9	10	11	12	
น้ำเกลือ	50	50	50-----50	50	50	50	
แอนติเจน	50						
Transfer	→	50 →	50 →	50 →	50 →	50 →	
1 % RBC	50	50	50-----50	50	50	50	
อ่านผลหลังจากใส่ RBC 25 นาที							

ตารางที่ 4. Hemagglutination-inhibition test ในวิธีที่ 2

Reagent (µl)	หลอดที่						
	1	2	3-----9	10	11	12	
น้ำเกลือ	50	50	50-----50	50	50	50	
ซีรัมที่ทดสอบ	50						
Transfer	→	50 →	50 →	50 →	50 →	50 →	
แอนติเจน 8 บี	50	50	50-----50	50	50	50	
เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ 25 นาที							
1 % RBC	50	50	50-----50	50	50	50	
เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ 25 นาที อ่านผล							

การทำ HA และ HI test ในแต่ละวิธี

ผลการทดลอง

ใช้ standard microtest แบบ beta procedure ซึ่งวิธีทดสอบได้จากไก่ที่ไข้วักขึ้น นิวคาสเซิล และไก่ที่รอดตายจากการฉีดเชื้อพิษนิวคาสเซิล รวม 7 ตัวอย่าง แต่ละตัวอย่าง แบ่งใส่ขวดที่มีฝาปิดเล็ก ๆ ขวดละ 1 มล. เก็บแช่แข็งที่ -20°ซ สำหรับใช้ทดลองการทดลอง การทำ HI test แต่ละครั้งมี positive และ negative sera เป็น control ด้วย และอ่านค่า titers เป็น Log₂

ปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการทำ HI test ที่ศึกษาในแต่ละวิธี คือ

- (1) ชนิดของแอนติเจน 3 ชนิด คือ เชื้อเป็นนิวคาสเซิล F, LaSota และ Ishii
- (2) ระยะเวลาที่ซึ่งร่วมทำปฏิกิริยากับแอนติเจน (serum/antigen reaction time) 3 เวลา คือ 10, 25 และ 45 นาที
- (3) เวลาอ่านผลสุดท้ายหลังจากเติมเม็ดเลือดแดงเข้ม 3 เวลา คือ 25, 45 และ 60 นาที

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิตินี้ วางแผนวิจัยในการวิเคราะห์ผลแบบ Factoria design และค่าเฉลี่ยเปรียบเทียบกันโดย Duncan's Multiple Range Test

ก. ผลของแต่ละวิธี
วิธีที่ 1 (ศูนย์วิจัยและชันสูตรโรคสัตว์ทั้ง 3 แห่ง)

ผลของชนิดของแอนติเจน ระยะเวลาที่ซึ่งร่วมทำปฏิกิริยากับแอนติเจน และเวลาอ่านผล ค่า HI titers แสดงอยู่ในตารางที่ 7 เชื้อนิวคาสเซิล F จะให้ค่า HI titers ต่ำที่สุด 8.25 สูงขึ้นเป็น 8.43 และ 9.08

ในเชื้อนิวคาสเซิล LaSota และ Ishii ตามลำดับ HI titers ของเชื้อนิวคาสเซิลทั้ง 3 ชนิดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

ระยะเวลาที่ซึ่งร่วมทำปฏิกิริยากับแอนติเจน 10 นาที ให้ค่า HI titers ต่ำที่สุด 8.19 ค่า HI titers สูงขึ้นเป็น 8.57 และ 9.00

ในระยะเวลาที่ซึ่งร่วมทำปฏิกิริยากับแอนติเจน 25 และ 45 นาทีตามลำดับ ค่า HI titers ของระยะเวลาที่ซึ่งร่วมทำปฏิกิริยากับแอนติเจนทั้ง 3 เวลาแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

เวลาอ่านผล 25 นาทีให้ค่า HI titers ต่ำสุด 8.48 และสูงขึ้นไปเป็น 8.59 และ

8.70 ในเวลาอ่านผล 60 และ 45 นาทีตามลำดับ ค่า HI titers ของเวลาอ่านผลทั้ง 3 เวลาแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

วิธีที่ 2 (คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์)

ผลของชนิดของแอนติเจน ระยะเวลาที่ชั้ร่่มทำปฏิกิริยากับแอนติเจน และ เวลาอ่านผล ค่า HI titers แสดงอยู่ในตารางที่ 8

เชื้อนิวคาสเซิล F ให้ค่า HI titers ค่าที่่สุด 7.52 และสูงั้ขึ้นเป็น 8.59 และ 9.29 ในเชื้อนิวคาสเซิล LaSota และ Ishii ตามลำดับ ค่า HI titers ของเชื้อนิวคาสเซิลทั้ง 3 ชนิดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ระยะเวลาที่ชั้ร่่มทำปฏิกิริยากับแอนติเจน 10 นาที ให้ค่า HI titers ค่าที่่สุด 8.00 และสูงั้ขึ้นเป็น 8.44 และ 8.95 ในระยะเวลาที่ชั้ร่่ม ทำปฏิกิริยากับแอนติเจน 25 และ 45 นาทีตามลำดับ ค่า HI titers ของระยะเวลาที่ชั้ร่่ม ทำปฏิกิริยากับแอนติเจนทั้ง 3 เวลาแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

เวลาอ่านผล 25 นาทีให้ค่า HI titers ค่าที่่สุด 8.33 และสูงั้ขึ้นเป็น 8.48 และ 8.59 ในเวลาอ่านผล 45 และ 60 นาทีตามลำดับ ค่า HI titers ของเวลาอ่านผลทั้ง 3 เวลา

แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

วิธีที่ 3 (สำนักเทคนิคและวิชาการ บริษัทเวลโนวันอินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด)

ผลของชนิดของแอนติเจน ระยะเวลาที่ชั้ร่่มทำปฏิกิริยากับแอนติเจน และเวลาอ่านผล ค่า HI titers แสดงอยู่ในตารางที่ 9

เชื้อนิวคาสเซิล F ให้ค่า HI titers ค่าที่่สุด 7.65 สูงั้ขึ้นเป็น 7.84 และ 8.71 ในเชื้อนิวคาสเซิล LaSota และ Ishii ตามลำดับ ค่า HI titers ของเชื้อนิวคาสเซิลทั้ง 3 ชนิดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ระยะเวลาที่ชั้ร่่มทำปฏิกิริยากับแอนติเจน 10 นาที ให้ค่า HI titers ค่าที่่สุด 7.62 และสูงั้ขึ้นเป็น 8.22 และ 8.37 ในระยะเวลาที่ชั้ร่่มทำปฏิกิริยากับแอนติเจน 25 และ 45 นาทีตามลำดับ ค่า HI titers ของระยะเวลาที่ชั้ร่่มทำปฏิกิริยากับแอนติเจนทั้ง 3 เวลาแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

เวลาอ่านผล 25 นาทีให้ค่า HI titers ค่าที่่สุด 7.92 และสูงั้ขึ้นเป็น 8.14 และ 8.14 ในเวลาอ่านผล 45 และ 60 นาทีตามลำดับ ค่า HI titers ของเวลาอ่านผล 45 และ 60 นาทีจะแตกต่างจากของ 25 นาทีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ข. ผลรวมของทั้ง 3 วิธี

ผลรวมของวิธีทำ HI test ชนิดของแอนติเจน ระยะเวลาที่ซีรัมทำปฏิกิริยากับแอนติเจน และเวลาอ่านผลต่อค่า HI titers แสดงอยู่ในตารางที่ 10

1. ผลของวิธีทำ HI test การทำ HI test วิธีที่ 1 ให้ความ HI titers สูงที่สุดเป็น 8.59 และรองลงมาเป็น 8.47 และ 8.07 ในการทำ HI test วิธีที่ 2 และ 3 ตามลำดับ และค่า HI titers จากทั้ง 3 วิธี แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

2. ผลของชนิดของแอนติเจน แอนติเจนที่เตรียมจากเชื้อนิวคาสเซิล Ishii ให้ความ HI titers สูงที่สุดเป็น 9.03 รองลงมาเป็น 8.29 และ 7.81 ในเชื้อนิวคาสเซิล LaSota และ F ตามลำดับ ค่า HI titers ของทั้ง 3 แอนติเจนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

3. ผลของระยะเวลาที่ซีรัมทำปฏิกิริยากับแอนติเจน ระยะเวลาที่ซีรัมทำปฏิกิริยากับแอนติเจน 45 นาที ให้ความ HI titers สูงที่สุดเป็น 8.77 รองลงมาเป็น 8.41 ที่เวลา 25 นาที และต่ำที่สุด 7.94 ที่เวลา 10 นาที ค่า HI titers ของทั้ง 3 เวลาแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4. ผลของระยะเวลาอ่านผล ระยะเวลาอ่านผล 45 นาที และ 60 นาที ให้ความ HI titers สูงที่สุดเท่ากัน คือ 8.44 และ ให้ความต่ำสุด 8.25 ในระยะเวลาอ่านผล 25 นาที ค่า HI titers ของระยะเวลาอ่านผล 45 และ 60 นาที ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากค่า HI titers ของระยะเวลาอ่านผล 25 นาที ($P < 0.05$)

5. ผลของวิธีทำ HI titers และชนิดของแอนติเจน วิธีทำ HI titers วิธีที่ 2 และเชื้อ Ishii มีความสัมพันธ์กันมากที่สุดซึ่ง ให้ความ HI titers 9.29 ซึ่งสูงที่สุดและแตกต่างจากกลุ่มสัมพันธ์อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ค่า HI titers จะต่ำลงในความสัมพันธ์ระหว่างวิธีที่ 1 และเชื้อ Ishii เป็น 9.08 และความสัมพันธ์ระหว่างวิธีที่ 3 และเชื้อ Ishii เป็น 8.71 ซึ่งค่า HI titers ทั้ง 3 ค่าจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ความสัมพันธ์ระหว่างวิธีที่ 1, 2 และ 3 กับเชื้อ LaSota ให้ความ HI titers ต่ำลงมาจากความสัมพันธ์ 3 กลุ่มแรก แต่ค่า HI titers จะไม่แตกต่างกันทางสถิติ ความสัมพันธ์ระหว่างวิธีที่ 1, 2 และ 3 กับเชื้อ F จะให้ความ HI titers ต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบ กับ 6 กลุ่มแรก และค่า HI titers จะไม่

แตกต่างกันทางสถิติ ความสัมพันธ์ระหว่างวิธีที่ 2 และเชื้อ F จะให้ค่า HI titers ต่ำที่สุด 7.52

วิจารณ์

จากผลการทดลองพบว่า ปัจจัยต่าง ๆ ทั้ง 4 ชนิดมีผลต่อการทดสอบ HI test คือ วิธีทำ HI test ชนิดของแอนติเจน ระยะเวลาที่ซีรัมทำปฏิกิริยากับแอนติเจน และ เวลาอ่านผลสุดท้ายหลังจากเติมเม็ดเลือดแดงแล้ว จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า วิธีที่ 1 ซึ่งใช้ในห้องปฏิบัติการของศูนย์วิจัยและชันสูตรโรคสัตว์ของกรมปศุสัตว์ทั้ง 3 แห่ง ให้ค่าเฉลี่ย HI titers สูงที่สุด และสูงกว่าวิธีที่ 2 (คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์) 0.12

\log_2 และสูงกว่าวิธีที่ 3 (สำนักเทคนิคของบริษัทยูนิเวน) $0.52 \log_2$ ที่น่าสนใจคือชนิดของแอนติเจนที่ใช้ใน HI test เชื้อนิวคาสเซิล F ให้ค่าเฉลี่ยต่ำกว่า LaSota $0.48 \log_2$ และต่ำกว่า Ishii $1.22 \log_2$ วิชาและคณะ (2528) ทดสอบคุณสมบัติของแอนติเจนที่เตรียมจากเชื้อนิวคาสเซิล Ishii, F, M.P. และสเตรนจากท้องที่ที่เกิดโรคระบาดปรากฏว่าเชื้อนิวคาสเซิล Ishii มีคุณสมบัติเหมาะสมที่สุดในการใช้เป็นแอนติเจนใน HI test เพราะให้ค่า HA สูง มีคุณภาพดี ตอบสนองต่อการตรวจกับซีรัม โดยวิธี HI test เป็นอย่างดี และยังเก็บรักษาไว้ได้นานอีกด้วย ดังนั้นเชื้อนิวคาสเซิล Ishii จึงเหมาะที่จะใช้เป็นแอนติเจนสำหรับ HI test ในห้องปฏิบัติการของสถาบันต่าง ๆ

ตารางที่ 7. ผลของชนิดของแอนติเจน ระยะเวลาที่ซีรัมทำปฏิกิริยากับแอนติเจน และเวลาอ่านผลต่อค่า HI titers ในการทดสอบ HI test วิธีที่ 1

ชนิดของแอนติเจน	ค่าเฉลี่ย HI titers	ระยะเวลาที่ซีรัมทำปฏิกิริยากับแอนติเจน (นาที)	ค่าเฉลี่ย HI titers	เวลาอ่านผล (นาที)	ค่าเฉลี่ย HI titers
F	8.25 ^ก	10	8.19 ^ก	25	8.48 ^ก
LaSota	8.43 ^ข	25	8.57 ^ข	45	8.70 ^ก
Ishii	9.08 ^ก	45	9.00 ^ก	60	8.59 ^ข

อักษรภาษาไทยที่อยู่เหนือตัวเลขต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$)

ตารางที่ 8. ผลของชนิดแอนติเจน ระยะเวลาที่ซั่มทำปฏิกิริยากับแอนติเจน และระยะเวลาอ่านผลต่อค่า HI titers ในการทดสอบ HI test วิธีที่ 2

ชนิดของแอนติเจน	ค่าเฉลี่ย HI titers	ระยะเวลาที่ซั่มทำปฏิกิริยากับแอนติเจน(นาที)	ค่าเฉลี่ย HI titers	เวลาอ่านผล (นาที)	ค่าเฉลี่ย HI titers
F	7.52 ^ก	10	8.00 ^ก	25	8.33 ^ก
LaSota	8.59 ^ข	25	8.44 ^ข	45	8.48 ^ข
Ishii	9.29 ^ก	45	8.95 ^ก	60	8.59 ^ก

อักษรภาษาไทยที่อยู่เหนือตัวเลขต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$)

ตารางที่ 9. ผลของชนิดของแอนติเจน ระยะเวลาที่ซั่มทำปฏิกิริยากับแอนติเจน และเวลาอ่านผลต่อค่า HI titers ในการทดสอบ HI test วิธีที่ 3

ชนิดของแอนติเจน	ค่าเฉลี่ย HI titers	ระยะเวลาที่ซั่มทำปฏิกิริยากับแอนติเจน(นาที)	ค่าเฉลี่ย HI titers	เวลาอ่านผล (นาที)	ค่าเฉลี่ย HI titers
F	7.65 ^ก	10	7.62 ^ก	25	7.92 ^ข
LaSota	7.84 ^ข	25	8.22 ^ข	45	8.14 ^ก
Ishii	8.71 ^ก	45	8.37 ^ก	60	8.14 ^ก

อักษรภาษาไทยที่อยู่เหนือตัวเลขต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$)

ตารางที่ 10. ผลรวมของวิธีทำ HI test ชนิดของแอนติเจน ระยะเวลาที่ซึ้ร้่มทำปฏิกิริยากับแอนติเจน และระยะเวลาอ่านผลที่มีต่อค่า HI titers

วิธีทำ HI titers	ชนิดของแอนติเจน	ระยะเวลาที่ซึ้ร้่มทำปฏิกิริยากับแอนติเจน	ระยะเวลาอ่านผล
วิธีที่ 1 8.59 ^ก	นิวคาสเซิล F	7.81 ^ก 10 นาที 7.94 ^ก	25 นาที 8.25 ^ข
วิธีที่ 2 8.47 ^ข	นิวคาสเซิล LaSota	8.29 ^ข 25 นาที 8.41 ^ข	45 นาที 8.44 ^ก
วิธีที่ 3 8.07 ^ก	นิวคาสเซิล Ishii	9.03 ^ก 45 นาที 8.77 ^ก	60 นาที 8.44 ^ก

ตัวอักษรที่อยู่เหนือตัวเลขต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05)

ระยะเวลาที่ซึ้ร้่มทำปฏิกิริยากับแอนติเจน 10 นาที และ 45 นาที ให้ค่า HI titers แตกต่างกัน 0.83 log₂ จากการทดลองของ Brugh et al. (1978) ก็รายงานเช่นเดียวกันว่า ปัจจัยที่มีผลต่อค่า HI titers มากคือ ระยะเวลาที่ซึ้ร้่มทำปฏิกิริยากับแอนติเจน ถ้าใช้เวลา 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 37°ซ จะให้ค่า HI titers สูงขึ้นถึง 2.3 log₂ หรือ ประมาณ 5 เท่า นอกจากนี้ Allan and Gough (1974) เปรียบเทียบผลของระยะเวลาที่ซึ้ร้่มทำปฏิกิริยากับแอนติเจน 0, 5, 10, 15 และ 20 นาที ที่มีต่อค่า HI titers พบว่า เวลา 20 นาทีจะให้ค่า HI titers สูงกว่าเวลานั้นๆ เล็กน้อย และผู้วิจัยให้ความเห็นว่า การทำ HI test โดยวิธี micro test ไม่ควรมีระยะเว

ลาที่ซึ้ร้่มทำปฏิกิริยากับแอนติเจน เพราะจะช่วยให้เป็นการประหยัดเวลาที่ต้องรอได้มากในกรณีที่มีตัวอย่างที่ต้องทดสอบเป็นจำนวนมาก ระยะเวลาอ่านผลสุดท้ายหลังจากเติม เม็ดเลือดแดง มีผลต่อค่า HI titers น้อยมาก คือ อ่านผลเมื่อ 25 นาทีให้ค่า HI titers ต่ำกว่าอ่านผลเมื่อ 40 นาที 0.28log₂ และต่ำกว่าเมื่ออ่านผล 60 นาทีเพียง 0.11 log₂ ผลนี้สอดคล้องกับรายงานของ Brugh et al. (1978) ซึ่งพบว่า HI titers จะเพิ่มขึ้นในช่วงการอ่านผล 0.5-2.0 ชั่วโมง เพียง 0.2 log₂ เท่านั้น ส่วนอุณหภูมิที่เก็บ micro plate ในช่วงรออ่านผลสุดท้ายนั้น Allan and Gough (1974) รายงานว่าอุณหภูมิ 4°, 18° หรือ 37° ซ ไม่ทำให้ค่า HI

titers แตกต่างกัน ดังนั้นระยะเวลาอ่านผล
สุดท้ายหลังจากเติมเม็ดเลือดแดงควรเป็น 45
นาที โดยเก็บ micro plate ไว้ในอุณหภูมิ
ห้อง เพราะจะเป็นการสะดวกกว่าการที่จะเก็บ
ไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 °C

สำหรับผลของความเข้มข้นของเม็ดเลือด
แดงที่มีต่อค่า HI titers Brugh et al.
(1978) รายงานว่า ความเข้มข้นของเม็ด-
เลือดแดง 0.25, 0.50 0.75 และ 1.00%
มีผลต่อค่า HI titers เพียงเล็กน้อย โดย
ค่า HI titers จะเพิ่มขึ้นเพียง 0.3 log₂
เมื่อความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้นจาก
0.25 เป็น 0.50 % และจาก 0.50 เป็น
1.00 % ดังนั้นความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดง
ที่ใช้ อาจจะเป็น 0.50, 0.75 หรือ 1.00 %
ก็ได้ ซึ่งในวิธีที่ 1 และ 2 ในการศึกษาที่ใช้
เม็ดเลือดแดง 0.50 % และวิธีที่ 3 ใช้เม็ด
เลือดแดง 1.00 % แต่อย่างไรก็ตามพันธุ์ไก่
และอายุของไก่ที่จะใช้สำหรับเจาะเลือดควร
เป็นพันธุ์และอายุใกล้เคียงกัน เพราะจากการ
ศึกษาของ Murano et al. (1984) พบว่า
ในการทำ HI test เม็ดเลือดแดงที่เตรียม
จากไก่พันธุ์เล็กฮอร์นขาวจะให้ค่า HI titers
สูงกว่าเม็ดเลือดแดงที่เตรียมจากไก่พันธุ์โรด

ไอส์แลนด์แดง พลัมหรือค และลูกผสมของเล็ก
ฮอร์นขาวและโรดไอส์แลนด์แดง นอกจากนี้
เม็ดเลือดแดงจากไก่อายุน้อยจะให้ค่า HI
titers สูงกว่าเม็ดเลือดแดงจากไก่อายุมาก

สรุป

ปัจจัยต่าง ๆ ในการทำ HI test มีผล
ต่อค่า HI titers โดยเฉพาะอย่างยิ่งชนิดของ
แอนติเจนที่ใช้ และระยะเวลาที่ขี้นทำปฏิกิริยา
กับแอนติเจน ดังนั้นการทำ HI test ในห้อง
ปฏิบัติการของสถาบันต่าง ๆ ควรดำเนินการใน
วิธีเดียวกัน เพื่อให้ได้ค่า HI titers ที่เป็น
มาตรฐานเดียวกัน ทำให้สามารถเปรียบเทียบ
ค่า HI titers จากห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณต่อสัตวแพทยสมาคม
แห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์ที่ให้ทุน
อุดหนุนการวิจัยนี้ และขอบคุณ อาจารย์ ดร.
สุวิทย์ ธีรพันธุ์วัฒน์ คณะเกษตรศาสตร์ มหา
วิทยาลัยขอนแก่น ในการวิเคราะห์ข้อมูลทาง
สถิติ

เอกสารอ้างอิง

- วีณา มุกตาสกุลภิบาล. วงศ์ขวัญ จิตนุพงศ์. ช้องมาศ ชัยโกคา และ ชัยณรงค์ นามเข็ม
2528. การเตรียมซีรัมแอกกลูตินินสำหรับตรวจโรคนิวคาสเซิล. บทคัดยอการประชุม
วิชาการ ครั้งที่ 23 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาสัตวแพทย์ ณ คณะสัตวแพทย์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน, 6-7 กุมภาพันธ์ 2528. หน้า 55-56
- Allan, W.H. and R.E. Gough. 1974. A standard hemagglutination
inhibition test for Newcastle disease. (1) A comparison of macro
and micro methods. Vet. Rec. 95: 120-123.
- Brugh, M. Jr., W.C. Beard and W.J. Wilkes. 1978. The influence of
test conditions on Newcastle disease hemagglutination-inhibition
titers. Avian Dis. 22: 320-328.
- Murano, T., A. Honjo, T. Uchino and R. Ino. 1984. Effect of fowl
red-cell suspension of different breeds on hemagglutination-
inhibition titers in Newcastle disease.



อภินันทนาการจาก

บริษัท ยูเนียนแคสแทป จำกัด

67/224 ซอยเสนานิคม 1 ถนนพหลโยธิน

ลาดพร้าว บางกะปิ กรุงเทพฯ 10230

โทร. 5792328, 5794412, 5794591, 5795245

ผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มผลกำไรต่อปศุสัตว์ไทย

ผู้แทนจำหน่ายผลิตภัณฑ์สำหรับสัตว์จาก



วัคซีนสำหรับไก่ทุกชนิด

บริษัท ซีวา ลาบอราทอรี จำกัด, สหรัฐอเมริกา



วัคซีนสำหรับสุกรทุกชนิด

บริษัท ไทวันโตเมสติกแอนนิมอลเคมีคอล

แอนด์ฟาร์มาชูทีคอล จำกัด, ไทวัน



ยาฉีดและยาละลายน้ำ

บริษัท แคนาดาแพคเกอร์ จำกัด, แคนาดา



ยาฉีดและยาละลายน้ำ

บริษัท เอ เอส อี ยุโรป เอ็น วี จำกัด, เบลเยียม



ยาฉีดและยาละลายน้ำ

บริษัท โปรชีนา จำกัด, อิตาลี

- ราบิสน** – วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า ชนิดเชื้อตาย
- คานิฟฟา** – วัคซีนป้องกันโรคไข้หัดสุนัข, ตับอักเสบทดติดต่อและเลปโตสไปโรชีส
- พาโวตอก** – วัคซีนป้องกันโรคลำไส้อักเสบทดติดต่อ

RABISIN

CANIFFA

PARVODOG



M&B May&Baker

บริษัท เมย์แอนต์เบเกอร์ จำกัด

FM
RHONE MERIEUX

โรห์น เมอริเยล

โรคพิษสุนัขบ้า

โรคพิษสุนัขบ้า หรือโรคกลัวน้ำ เป็นโรคติดต่อร้ายแรงที่เกิดจากเชื้อไวรัส สามารถเป็นได้ทุกฤดูกาล พบมากในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม พวกสัตว์เลี้ยงและปศุสัตว์ ได้แก่ สุนัข, แมว, ม้า, โค, สุกร, แพะ, แกะ และพวกสัตว์ป่า เช่น สุนัขจิ้งจอก, แรคคูน โดยเฉพาะสุนัขเป็นพาหะในการแพร่ของโรคพิษสุนัขบ้าไปยังคน ที่สำคัญที่สุด การป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าในสัตว์จึงเป็นสิ่งแรกที่จะลดอัตราการเป็นโรคพิษสุนัขบ้าในคน

การติดต่อ

เชื้อไวรัสจะออกมทางน้ำลายของสัตว์ป่วย และจะเข้าสู่ร่างกายคนหรือสัตว์ทางบาดแผล ที่ถูกสัตว์หรือสุนัขที่เป็นโรคพิษสุนัขบ้ากัด หรือน้ำลายไปโดนกับบาดแผลตามผิวหนัง

ระยะฟักตัวของโรค

โดยเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 3-8 สัปดาห์ มีช่วงตั้งแต่ 10 วัน ถึง 6 เดือน

อาการของโรค แบ่งออกได้เป็น 3 ระยะคือ

อาการเริ่มแรก สัตว์จะมีลักษณะนิสัยเปลี่ยนแปลงไป เช่น สุนัขที่เคยมีนิสัยชอบเล่นกับเจ้าของจะแยกตัวออกไป มีอารมณ์หงุดหงิด สุนัขแสดงอาการระยะแรก 2-3 วัน แล้วเข้าสู่ระยะต่อไป

อาการระยะตื่นเต้น สุนัขเริ่มมีอาการทางประสาท ตื่นเต้น กระวนกระวายกัดสิ่งของ เช่น ดิน ก้อนหิน และเริ่มวิ่งโดยไม่มีจุดหมายกัดทุกสิ่งที่ขวางหน้า ปากอ้า ลิ้นห้อย น้ำลายไหลเนื่องจากการเกิดอัมพาตของกล้ามเนื้อที่เกี่ยวข้องกับการเคี้ยวและกลืน ไม่สามารถใช้ลิ้นเลียน้ำหรือตวัดอาหารได้ ต่อมาขาจะเริ่มไม่มีแรง

อาการระยะอัมพาต หลังจากมีอาการขาไม่มีแรงเดิน โอนเอน สุนัขจะล้มลงแล้วลุกไม่ได้ เป็นอัมพาตทั่วทั้งตัว และตาย

อาการบ้าแบบดุร้าย สุนัขจะแสดงอาการระยะตื่นเต้นให้เห็นเด่นชัด แล้วเข้าสู่ระยะสุดท้ายเลย ส่วนอาการบ้าแบบซึมนั้น สุนัขแสดงอาการระยะตื่นเต้นสั้นมาก จนอาจจะไม่สังเกตเห็น แต่แสดงอาการระยะอัมพาตชัดเจน

ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มป่วย จนถึงตาย จะอยู่ในระยะไม่เกิน 5-10 วัน

โรคไขหัดสุนัข

สาเหตุ เกิดจากเชื้อไวรัส

อาการ

ไวรัสจะใช้เวลา 1-3 อาทิตย์ในการฟักตัว และไวรัสจะเข้าไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกาย ทำให้สุนัขมีไข้สูง (103 - 106 ฟ) อาการไข้จะมียู่นาน 24 ชม. และหายไป ขณะที่ไข้สูงอยู่นี้ไวรัสจะเข้าไปยังเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของร่างกาย และเกิดการทำลายเนื้อเยื่อเหล่านั้น

ในระยะต่อมา แบคทีเรียจะเข้าไปยังเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย เกิดการติดเชื้อตามมา สุนัขจะแสดงอาการต่างๆ มีไข้สูงอีกครั้ง (103 - 104 ฟ) เมื่อแบคทีเรียติดเชื้อไปยังเยื่อของตาและจมูกสุนัขจะมีน้ำตาและน้ำมูกสีเหลือง เขียว ซึม และไม่กินอาหาร

เมื่อแบคทีเรียเข้าไปที่ส่วนทอนซิลและหลอดลม ทำให้เกิดการอักเสบ สุนัขจะมีอาการไอ ซึม และมีอาการปอดบวมร่วมด้วย

แบคทีเรียที่เข้าไปในเยื่อทางเดินอาหาร ก็จะทำให้เกิดกระเพาะและลำไส้อักเสบ บ่อยครั้งจะพบปากมีแผลและลมหายใจเหม็นมาก จะพบมีตุ่มหนองเกิดขึ้นที่ด้านในของขาหลัง

เมื่อเชื้อเข้าสู่สมองและไขสันหลัง สุนัขจะมีอาการกระตุกของกล้ามเนื้อ มีการชัก ขาหลังเป็นอัมพาตและตายในที่สุด



โรคเลปโตสไปโรซิส

เกิดจากเชื้อพวกสไปโรเชิส ซึ่งโรคนี้อาจติดต่อ
ได้
อาการ

ในช่วง 48 ชม. แรก สุนัขจะมีไข้สูง ($10^4 - 10^5$ ฟ)
อาการซึม ไม่กินอาหาร อาเจียนและกระหายน้ำมาก เยื่อ
เมือกจะมีสีเหลือง ในบางรายจะมีการลอกหลุดเป็นแผล
ผิวหนังจะมีสีเหลือง ในระยะต่อมา ถ้าจับกดช่องท้องสุนัข
จะแสดงอาการเจ็บปวดมาก อุจจาระจะมีสีดำคล้ำในตอนแรก
และมีอาการท้องเสียตามมา สุนัขป่วยจะตายภายใน 5-10 วัน
จึงแสดงอาการ

โรคตับอักเสบติดต่อ

เป็นโรคติดต่อที่เป็นได้กับสุนัขทุกอายุ และมักจะ
พบมากในลูกสุนัขอายุ 3-9 เดือน สาเหตุเกิดจากเชื้อไวรัส

อาการโดยทั่วไป

ในรายติดเชื้อรุนแรง สุนัขจะมีไข้สูง อาจถึง 10^6 ฟ
มีอาการอาเจียนและท้องเสีย ซึ่งเป็นอยู่ประมาณ 1 อาทิตย์
แล้วจะเริ่มมีอาการตัวเหลือง ต่อมาจะช้ำและตายในที่สุด

ในรายที่ไม่รุนแรง จะมีไข้ประมาณ 10^4 ฟ ซึม อาเจียน
ท้องจะนิ่มมาก หลังจากเริ่มป่วย 1-2 อาทิตย์ ตาจะอักเสบ
และขุ่น



โรคลำไส้อักเสบติดต่อ

เป็นโรคติดต่อร้ายแรงที่เกิดจากเชื้อไวรัส โดยเฉพาะ
ลูกสุนัขที่มีอายุต่ำกว่า 6 เดือน จะมีโอกาสติดโรคนี้นี้ได้
ง่ายที่สุด

อาการโดยทั่วไป

สุนัขจะแสดงอาการของโรคลำไส้อักเสบติดต่อหลังจาก
ได้รับเชื้อ 2-3 วัน สัตว์ป่วยจะมีอาการซึม เบื่ออาหาร มีอาการ
อาเจียน ในระยะแรก และต่อมาจะมีอาการท้องเสียอย่างรุนแรง
อุจจาระมีเลือดปน กลิ่นเหม็นคาวจัด ถ้าไม่ได้รับการรักษา
จะอยู่ในสภาวะขาดน้ำและตายภายใน 24-48 ชม.



โปรแกรมการใช้วัคซีน

ชื่อ	รายละเอียดวัคซีน	สัตว์	วัคซีนครั้งแรก	วัคซีนครั้งสอง	วิธีการให้วัคซีน	หมายเหตุ
คานีฟฟา (CANIFFA)	วัคซีนป้องกันไข้หัดสุนัข, ตับอักเสบดีติดต่อและเลปโตสไปโรซิส	สุนัข	7-10 อาทิตย์	ฉีดซ้ำหลังการฉีดครั้งแรก 3-4 อาทิตย์	ฉีดใต้ผิวหนังหรือเข้ากล้ามเนื้อ	ฉีดซ้ำทุกปี
พาโวด็อก (PARVODOG)	วัคซีนป้องกันโรคลำไส้อักเสบติดต่อ	สุนัข	6-8 อาทิตย์	12 อาทิตย์ขึ้นไป	ฉีดใต้ผิวหนังหรือเข้ากล้ามเนื้อ	ฉีดซ้ำทุกปี
ราบิสซิน (RABISIN)	วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าชนิดเชื้อตาย	สุนัข แมว, โค, กระบือ, ม้า, แพะ, แกะ	11 อาทิตย์	อายุครบ 1 ปี	ฉีดใต้ผิวหนังหรือเข้ากล้ามเนื้อ	ฉีดซ้ำทุกปี

ขนาดบรรจุ ราบิสซิน ขวด 10 โด๊สและ 1 โด๊ส
 คานีฟฟา กล่องละ 100 โด๊ส
 พาโวด็อก กล่องละ 100 โด๊ส



M&B May & Baker



บริษัท เมย์แอนด์เบเกอร์ จำกัด

51 ถนนสุขุมวิท 26 (ซอยอารี) กรุงเทพฯ - 10110

2590270-4, 2590073-5

ที่ สธ. 0707/2793 8 ก.ค. 2528

ผู้แทนจำหน่ายแต่ผู้เดียวในประเทศไทย

บริษัท ดกษา จำกัด

อาคารวานิช 1126/1 ถนนเพชรบุรีตัดใหม่ กรุงเทพฯ

โทร. 2523777