การตรวจแยกเชื้อโรคปากและเท้าเปื่อย

ที่สถานผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย หนองสาหร่าย

โดย พินิจ ศุภวิไล D.V.M. *หัวหน้าหน่วยซีโรโลยี่*

โรคปากและเท้าเปื่อยเป็นโรคระบาดของสัตว์กีบคู่ เช่น โค, กระบือ, สุกร, แพะ, แกะ และอาจติดต่อถึงคนได้ในบางคราว สาเหตุเกิดจากเชื้อไวรัส และไวรัสของโรคปากและเท้าเปื่อยนี้มีจำแนกออกเป็นหลาย Types แต่ละ Type ไม่ให้ความคุ้มโรคซึ่งกันและกัน เท่าที่ทราบขณะนี้มีอยู่ประมาณ ๗ Types เนื่องจากเชื้อไวรัสของโรคนี้มีหลาย Types ด้วยกันเช่นนี้จึงต้องมีการชันสูตร และแยกเชื้อเพื่อให้ทราบว่าเชื้อโรคปากและเท้าเปื่อยที่เกิดขึ้นนั้นเป็น Type ใด

แต่เดิมเมื่อมีโรคปากและเท้าเปื่อยเกิดขึ้นในประเทศไทย เราจะต้องส่งเชื้อซึ่งเก็บจากท้องที่นั้นไปจัดการตรวจแยกเชื้อที่ประเทศอังกฤษ, ประเทศฮอลแลนด์ หรือประเทศเดนมาร์ค ซึ่งกว่าจะได้ทราบผลก็เนิ่นช้าและเสียค่าใช้จ่ายสูง และไม่ทันกับเหตุการณ์ เพราะสัตวแพทย์ในท้องที่จะต้องนำเชื้อที่เก็บได้ส่งมายังกองวิชาการกรมปศุสัตว์ และจะต้องให้เจ้าหน้าที่ดำเนินการเพื่อนำออกนอกประเทศเพราะเป็นเชื้อโรคระบาดพร้อมทั้งโทรเลขแจ้งไปยังสถาบันที่จะส่งไปตรวจแยกเชื้อ แล้วจึงจะนำส่งทางเครื่องบินต่อไป ดังนั้นปีหนึ่ง ๆ โรคปากและเท้าเปื่อยระบาดในท้องที่หลายสิบแห่ง แต่โอกาสที่จะส่งไปตรวจแยกเชื้อจึงทำได้แต่ในรายที่สำคัญบางรายเท่านั้น ดังนั้นการป้องกันและควบคุมการระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อยจึงต้องกระทำไปโดยไม่ทราบว่าโรคเกิดขึ้นเพราะเชื้อ Type ใด โรคที่เกิดขึ้นใหม่ติดต่อมาจากท้องที่ใด

ต่อมา กรมปศุสัตว์ด้วยความร่วมมือขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติและองค์การร่วมมือแห่งสหรัฐอเมริกา (USOM) ได้จัดการตั้งสถานผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยขึ้นที่หนองสาหร่าย อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา งานตรวจแยกเชื้อโรคปากและเท้าเปื่อยจึงได้เริ่มดำเนินการขึ้นที่สถาบันแห่งนี้ โดยได้เริ่มทดลองงานแต่ต้น

ปี ๒๕๐๑ ในชั้นแรกได้ขอซีรัมแยกเชื้อมาจากสถาบันโรคปากและเท้าเปื่อยแห่งโลกที่ Pirbright ประเทศอังกฤษ และต่อมาก็สามารถผลิตส่วนประกอบต่าง ๆ สำหรับตรวจแยกเชื้อได้เองเป็นผลสำเร็จโดยมีคุณภาพและมาตราฐานเท่าเทียมกับของสถาบันในต่างประเทศ ทำให้การตรวจแยกเชื้อดำเนินการไปได้อย่างกว้างขวาง ได้ทำการตรวจแยกเชื้อแก่สัตว์ป่วยในท้องที่ สัตว์ที่จะส่งไปจำหน่ายยังต่างประเทศและจากประเทศเพื่อนบ้านตามที่ขอร้องมา นับว่าสถาบันนี้เป็นสถาบันเดียวในประเทศภูมิภาคส่วนนี้ ที่ทำการตรวจแยกเชื้อโรคปากและเท้าเปื่อยเป็นการประจำ (Routine work)

หลักดำเนินการทั่ว ๆ ไปในการตรวจแยกเชื้อโรคปากเท้าเปื่อย

๑. การทำ Complement fixation (C.F.) กับตัวอย่างที่ได้มาโดยตรง
๒. การผ่านเชื้อในหนูขาว แล้วจึงนำมาทำ ซี. เอฟ.
๓. การผ่านเชื้อในหนูขาว แล้วนำไปเพาะ แล้วจึงนำไปทำ ซี. เอฟ. อีกที *
๔. การผ่านเชื้อในโคกระบือ แล้วจึงนำมาทำ ซี. เอฟ.
๕. การทำ Serum neutralisation test ในหนูขาว *
๖. การทำ Cross immunity test ในหนูตะเภา *
๗. การทำ Cross immunity test ในโคกระบือ

* สถานผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย หนองสาหร่าย ยังมิได้ปฏิบัติงานดังกล่าวนี้

ส่วนประกอบที่ใช้ในการตรวจแยกเชื้อโรคปากและเท้าเปื่อย

๑. Antigen

ก. จากสัตว์ที่เป็นโรคปากเท้าเปื่อย ได้แก่ โค กระบือ แพะแกะ สุกร ฯ ล ฯ โดยใช้วิการจากลิ้น เหงือก หรือกีบ

ข. จากสัตว์ทดลอง ได้แก่ หนูตะเภา หนูขาว โดยใช้วิการจากฝ่าเท้าและจากกล้ามเนื้อ ตามลำดับ

ค. จาก **Culture** โดยใช้ Pure virus extract

๒. Specific Antiserum

ทำจากหนูตะเภาที่มีขนาดน้ำหนัก ๕๐๐ กรัมขึ้นไป โดยใช้เชื้อโรคปากเท้าเปื่อยที่

มีอยู่ในประเทศไทย (Field strain) คือ Type A, Asia I, และ O นำมาผ่านเชื้อให้ Adapted ในหนูตะเภาก่อนประมาณ 10 Passages แล้วจึงนำเชื้อที่ Adapted แล้วนี้ฉีดเข้าหนังฝ่าเท้าของหนูตะเภาที่จะใช้ทำซีรัม คัดเอาแต่ตัวที่แสดงอาการร้ายแรงไว้ หลังจากนั้น ๑ เดือนทดสอบหาความคุ้มในหนูตะเภาโดยใช้เชื้อที่ Adapted ในหนูตะเภามาละลาย 1 : 10 ฉีดเข้าหนังฝ่าเท้า คอยคัดหนูตะเภาที่มีวิการออก หลังจากนั้น ๑ สัปดาห์ทำ Hyper immunization ๒ ครั้งโดยเว้นระยะห่างกัน ๒ วัน ใช้เชื้อที่ Adapted ในหนูตะเภามาละลาย 1 : 10 ฉีดเข้าหัวใจหนูตะเภาที่มีความคุ้มโดยฉีดตัวละ ๐.๗๕ ซี. ซี. หลังจากฉีดครั้งที่ ๒ แล้ว ๓ วันเจาะเลือดจากหัวใจ ซีรัมที่ได้นำไปหา Titre ทีละตัว และคัดเอาที่มี Titre ต่ำกว่า ๑/๑๐๐ ออก นำเอาซีรัมจากแต่ละตัวที่มี Titre สูงกว่า ๑/๑๐๐ มารวมกัน นำมาอุ่น ๕๖° ซ. นาน ๓๐ นาที แล้วเติมเมอรทีโอเลท ๑/๑๐๐ ให้เป็น ๑/๑๐,๐๐๐ ในซีรัม แล้วบรรจุใส่หลอด ๆ ละ ๒ ซี. ซี. เก็บไว้ในตู้ฟรีเซอร – ๓๐° ซ.

ตารางที่ ๑ การหา Specificity ของ Serun (Types specification)

Dilution of serum	1/10	1/20	1/40	1/60	1/80	1/100	Control Antigen	Control Serum	Control H.S.
Serum	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	–	0.25	–
A. Antigen 1/10	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	–	–
Complement(2xtitre)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	–	–
Saline (0.85 %)	–	–	–	–	–	–	0.25	0.25	0.75
Water bath 37° C 30 minutes									
Hemolytic System	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Water bath 37° C 30 minutes									
Reading									
Fixation									

หมายเหตุ สำหรับ As 1 และ O Antigen ก็ทำเช่นเดียวกัน ดังตัวอย่าง

Specificity of As 1 G.P. Serum batch No 1

Dilution of serum	1/10	1/20	1/40	1/60	1/80	1/100	Control Antigen	Control serum	Control H.S.
A. Antigen	++	++	0	0	0	0	0	0	0
As 1. Antigen	++	+++	++++	++++	++++	++++	0	0	0
O. Antigen	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Result This As 1 G.P. Serum should be used not stro nger than 1/20

ตารางที่ ๒ การหา Titer ของ Serum (Titration of As 1 G.P. Serum Batch No 1)

Diluton of serum	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{120}$	$\frac{1}{140}$	$\frac{1}{160}$	$\frac{1}{180}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{220}$	$\frac{1}{240}$	$\frac{1}{260}$	$\frac{1}{280}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{320}$
Serum	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0 25	0.25	0.25	0.25	0.25
As 1 Antigen	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Comple-ment (2xtiter)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Water bath 37° C 30 minutes												
Hemolytic system	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Water bath 37° C 30 minutes												
Fixation Reading	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	0	0

Result Titer 1/280

๓. Complement หรือ Alexin

ทำจากหนูตะเภาที่มีขนาดใหญ่ ๕๐๐ กรัมขึ้นไป ตัวผู้หรือตัวเมียที่ไม่เป็นสัด ให้อดอาหาร ๑ วัน แล้วเจาะเลือดจากหัวใจ ทิ้งไว้ให้ Clot ในห้องธรรมดา ๑ ถึง ๒ ช.ม. แล้วนำเข้าตู้เย็น ๔° ซ. ๔ ช.ม. แล้วดูดเอาแต่ส่วนที่เป็นซีรัมนำไป Centrifuge แล้วบรรจุใส่หลอดๆ ละ ๒ ซี.ซี. เก็บไว้ใน Deep freeze — ๒๐° ซ.

การหาไตเตอร์ของคอมพลีเมนต์

ได้ทดลองหาไตเตอร์ ๓ วิธีด้วยกัน คือ

ก. วิธีของ Frederiks

ข. วิธีของ Kolmer

ค. วิธีของ Ubertini

และเปรียบเทียบผลปรากฏว่าใกล้เคียงกัน และการหาไตเตอร์ของคอมพลีเมนต์ที่ปฏิบัติเป็นประจำอยู่ขณะนี้ใช้วิธีของ Kolmer

ตารางที่ ๓ การหา **Titre** ของ **Complement** ของวิธี **Frederiks**

Tube No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Titer or % of complement	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
Complement 10 %	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30	0.35	0.40	0.45	0.50	–	0.50	–
Saline(0.85%)	1.45	1.40	1.35	1.30	1.25	1.20	1.15	1.10	1.05	1.00	2.00	1.50	1.50
Amboceptor 4xtiter	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	–	–	0.50
Goat blood Cells 2 %	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Water bath 37° C 30 minutes													
Hemolysis	0	0	4	4	4	4	4	4	4	4	0	0	0

ตารางที่ ๔ การหา Titer ของ Complement วิธีของ Kolmer

Tube No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Titer or % of complement	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
Antigen 1/10	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Complement 10 %	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30	0.35	0.40	0.45	0.50
Saline (0.85 %)	0.45	0.40	0.35	0.30	0.25	0.20	0.15	0.10	0.05	0.00
Amboceptor (4 x titer)	0.20	0.25	0.15	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Goat blood Cell 2 %	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
	Water bath 37° C 30 minutes									
Hemolysis	0	2	4	4	4	4	4	4	4	4

ตารางที่ ๕ การหา Titer ของ Complement วิธีของ Ubertini

Tube No	1	2	3	4	5
Titer or % of Complehnt	2	4	6	8	10
Complement 10 %	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
Saline (0.85 %)	0.70	0.65	0.60	0.55	0.50
Amboceptor (4 x ititer)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Goat blood cells 2 %	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
	Water bath 37° C 30 minuaes				
Hemolysis	0	4	4	4	4

๔. Amboceptor หรือ Hemolysin

การทำ Hemolysin มีอยู่หลายวิธี แต่ฝ่ายเซอโรโลยีของสถานผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย หนองสำหร่าย ได้ทดลองทำตามแบบ Cell stroma ซึ่งผลที่ได้รับเป็นที่พึง

พอใจ คือ Hemolysin มีไตเตอรสูงและทำเสร็จในระยะเวลาเร็ววัน ถึงแม้วิธีการค่อนข้างยุ่งยากและสลับซับซ้อน และก็ได้ดัดวิธีนี้เป็นแนวปฏิบัติเป็นประจำ คือ เนื่องจากใช้เม็ดเลือดแพะ จึงต้องทำ Antigoat Amboceptor วิธีทำมีดังต่อไปนี้

— ใช้เม็ดเลือดแพะที่ล้างและ Centrifuge แล้ว ๑ ซี.ซี. เติม Complement ๑ ซี.ซี. และ Undiluted Amboceptor (Titer 1 : 2000 หรือสูงกว่า) ๐.๓ ซี.ซี. เขย่าให้เข้ากัน Incubated ๓๗° ซ. ๑๕ นาที

— เติม ๐.๘๕ % Saline ให้ครบ ๑๕ ซี.ซี. เขย่าให้เข้ากันแล้ว Centrifuge ๕ นาที แล้วดูดเอาส่วนที่ใสออกใส่หลอดไว้

— เติม 0.85 % Saline ๑๕ ซี.ซี. เขย่าให้เข้ากันแล้วจึงเทรวมกับส่วนใสที่ดูดใส่หลอดไว้ ด้วยวิธีนี้จะทำให้ Complete Hemolysis

— Centrifuge ด้วยความเร็วสูงนาน ๓๐ นาที แล้วดูดเอาส่วนที่ใสทิ้ง ระวังอย่าดูดเอา Cell stroma ซึ่งนอนก้น (Pack cell) ออกไปด้วย แล้วเติม ๐.๘๕ % Saline ๑๕ ซี.ซี. เขย่าให้เข้ากันเพื่อล้าง Complement และ Hemolysin ที่เหลืออยู่ Centrifuge ด้วยความเร็วสูงอีก ๓๐ นาทีแล้วดูดเอาส่วนที่ใสออกทิ้ง เหลือ Stroma ที่โปร่งแสง สีส้มอ่อน นอนก้นอยู่เป็น Pack cell

— Pack cell ที่ได้เติม ๐.๘๕ % Saline ให้ครบ ๑ ซี.ซี. เขย่าให้เข้ากันแล้วฉีดกระต่าย I/V ได้ ๑ ตัว เป็น Dose ที่ ๑

— ส่วน Dose ที่ ๒ ใช้ ๒ ซี.ซี. โดยทำวิธีเดียวกันแต่ทำคราวละ ๑ ซี.ซี. ถ้าทำคราวละ ๒ ซี.ซี. จะได้ Stroma น้อยกว่า

— เนื่องจาก Cell stroma เก็บไว้ในตู้เย็นนานไม่ได้จึงต้องเตรียมตอนเช้าและฉีดตอนบ่าย การฉีด Stroma Dose ที่ ๑ และ Dose ที่ ๒ เว้นระยะห่างกัน ๕ วัน เมื่อครบ ๑๐ วัน เจาะเลือดกระต่ายจากหัวใจประมาณตัวละ ๑๐ ซี.ซี. แยกเอา Serum นำไปหา Titer ของ Hemolysin เป็นรายตัว

— Hemolysin ที่มี Titer สูงนำมารวมกันและ Inactivated ๕๖° ซ. ๓๐ นาที แล้วเติม Merthiolate ๑/๑๐๐ ให้ได้ Final concentration ๑/๑๐,๐๐๐ แล้วบรรจุหลอด ๆ ละ ๒ ซี.ซี.

ตารางที่ ๖ การหาTiter ของ **Hemolysin** (Goat Hemolysin Batch No 1)

Dilution	1/100	1/500	1/1000	1/2000	1/3000	1/4000	1/5000
Hemolysin	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Complement (2 x titer)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Red cell	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Water bath 37° C 30 minutes							
Hemolysin	++++	++++	++++	++++	+++	+	0

Result Titer =1/2000

๕. เม็ดโลหิตแดง (Red blood cell or Goat Erythrocytes) ใช้ Whole blood ผสมกับ Alsever's Sol ในอัตราส่วน 1 : 1

วิธีทำ ใส่ Alsever's Sol ลงในขวดที่เก็บเลือด เจาะเลือดจากหลอดโลหิตดำที่คอของแพะที่สมบูรณ์ให้เลือดไหลลงขวดโดยตรง และระวังอย่าให้มีเชื้อสกปรกปะปนลงไปได้ (With Aseptic Precaution) เมื่อได้เลือดตามจำนวนที่ต้องการแล้วจะต้องเขย่าตลอดเวลาให้เม็ดเลือดแตก โลหิตจะได้ไม่แข็งตัวแล้วแยกตัวออกเป็นซีรัม เมื่อเขย่าจนเข้ากันดีแล้วแยกบรรจุใส่ขวดเล็ก ๆ สำหรับใช้แล้วเก็บเข้าตู้เย็น ๔° ซ. จะใช้ได้เป็นเวลานานเมื่อจะใช้นำเม็ดโลหิตแพะนี้มาเติมน้ำเกลือ ๐.๘๕ % และเข้าเครื่องปั่นและล้าง ทำเช่นนี้ประมาณ ๓ – ๕ ครั้ง จนได้ที่แล้วจึงนำส่วนที่เป็นเม็ดโลหิตแท้ ๆ มาเติมน้ำเกลือ ๐.๘๕ % ให้ได้ ๒ % Suspension

วิธีทำ Sensitised blood cell หรือ Hemolytic system ใช้ ๒ % Suspension ของเม็ดโลหิตแพะผสมกับ Hemolysin (4x titer) ในอัตราส่วน 1 : 1 โดยค่อยเท Hemolysin ลงไปใน ๒ % Suspension ของเม็ดเลือดแพะและคอยเขย่าให้เข้ากันตลอดเวลา

ตามธรรมดาในต่างประเทศใช้เม็ดโลหิตแกะ การที่ฝ่ายเซโรโลยี่ใช้เม็ดโลหิตแพะเพราะได้ทดลองตามแบบของญี่ปุ่น และก็ได้ผลดี จึงใช้โลหิตจากแพะตลอดมา

การตรวจแยกเชื้อโรคปากและเท้าเปื่อยโดยวิธี Complement fixation test

ก. แบบ Field หรือ Main test

Antigen ใช้เยื่อประมาณ ๑ กรัม หรือถ้าได้น้ำเหลืองจากตุ่มวิการบนลิ้นก็ใช้น้ำเหลืองประมาณ ๐.๕ – ๑ ซี.ซี. สำหรับเยื่อบดในโกร่งกับทรายสะอาดและเติม Physiological Saline ให้ได้ ๑๐ % และนำมาปั่น ส่วนน้ำใสที่ได้ใช้เป็น Antigen สำหรับน้ำเหลืองเติม Physiological Saline ให้ได้ ๑๐ % เช่นกัน และนำน้ำยานี้มาใช้เป็น Antigen

เติม Antigen ลงในหลอดแก้วที่เตรียมไว้หลอดละ ๐.๒๕ ซี.ซี.

เติม Hyperimmune Serum ซึ่งละลายเป็น ๑/๑๐๐ ลงในหลอด ๆ ละ ๐.๒๕ ซี.ซี. โดยใช้ซีรัมชนิดละหลอด (A., As 1, & O)

เติม Complement ตามลงไปหลอดละ ๐.๒๕ ซี.ซี.

เติม Physiological Saline ลงไปในหลอด Control เพื่อให้แต่ละหลอดมีปริมาณเท่ากัน

อุ่นใน Water bath ๓๗° ซ. นาน ๓๐ นาที

นำขึ้นมาเติม Hemloytic System ทุกหลอด ๆ ละ ๐.๕. ซี.ซี.

อุ่นใน Water bath ๓๗° ซ. นาน ๓๐ นาที

และนำขึ้นมาอ่านผล ดังตารางหมายเลข ๗

ตารางที่ ๗ Main test

	Serum A	Serum As 1	Serum O	Control Antigen	Control Serum A	Control Serum As 1	Control Serum O	Control H.S.
Antigen 10 %	0.25	0.25	0.25	0.25	–	–	–	–
Serum 1/100	0.15	0.25	0.25	–	0.25	0.25	0.25	–
Complement(2 x titer)	0.25	0.25	0.25	0.15	0.25	0.25	0.25	–
Saline (0.85 %)	–	–	–	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25

	Water bath 37° C 30 minutes							
Hemolytic System	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	Water bath 37° C 30 minutes							
Reading fixation	0	++++	0	0	0	0	0	–

Result Antigen is As 1 type

ข. สำหรับไวรัสที่เพาะได้ (Cultured Virus)

ทำแบบเดียวกับ Main test (ข้อ ก.) สำหรับ Antigen ใช้ไวรัสที่สกัดได้ (Pure Culture extract) และเนื่องจากไวรัสที่เพาะได้ยังมีไตเตอร์ต่ำจึงต้องใช้ปริมาณเป็น ๒ เท่า คือ ๐.๕. ซี.ซี. ดังตารางที่ ๘

ตารางที่ ๘ Culture test

	Serum A	Serum As 1	Serum O	Control Antigen	Control Serum A	Control Serum Asi	Control Serum O	Control H.S
Antigen (Extract pure)	0.5	0.5	0.5	0.5	–	–	–	–
Serum 1/100	0.25	0.25	0.25	–	0.25	0.25	0.25	–
Complement (2 x titer)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	–
Saline (0.85 %)	–	–	–	0.25	0.5	0.5	0.5	1.0
	Water bath 37° 30 minutes							
Hemolytic System	0.5	0.5	0.5	0.5	0 5	0.5	0.5	0.5
	Water bath 37° 30 minutes							
Reading Fixation	0	++++	0	0	0	0	0	–

Result Antigen (Culture) is As 1 type

ค. วิธีตรวจอย่างเร็ว (Plate test)

แบบนี้ สถาบัน ทดลอง ค้นคว้า สัตวแพทย์ ที่เมือง เบรสเซ่ย ประเทศ อิตาลี ได้ ใช้ เป็น Preliminary test โดยดัดแปลงจาก Main test โดยใช้ Persplex Plate แทนหลอดแก้ว ใช้ Antigen, Serum, Complement, Saline และ Hemolytic System เป็นหยดซึ่งทำได้เร็วและสดวกกว่า ใช้ตู้อบแทน Water bath

ดังตารางที่ ๙

ตารางที่ ๙ **Plate test for main test**

	Serum A	Serum As 1	Serum O	Cyntrol Antigen	Control O	Serum As 1	Control O	Control H.S.
Antigen 10 %	2	2	2	2	–	–	–	–
Serum 1/100	2	2	2	–	2	2	2	–
Complement 2 x titer	2	2	2	2	2	2	2	–
Saline 0.85 %	–	–	–	2	2	2	2	6
Incubator 37° C, 30 minutes								
Hemolytic System	4	4	4	4	4	4	4	4
Incubator 37° C, 30 minutes								
Reading Fixation	0	++++	0	0	0	0	0	0

Result Antigen is As 1 type

การตรวจแยกเชื้อโรคปากและเท้าเปื่อยนี้จะทราบผลได้ภายใน ๑ วัน ถ้ามีทุกอย่างพร้อมสรรพ และเจ้าหน้าที่เก็บเชื้อในระยะเริ่มแรกของโรคและเก็บได้มากพอ แต่ถ้าการเก็บเชื้อไม่ดีพอ จะต้องนำมาฉีดสัตว์เสียชั้นหนึ่งก่อนแล้วจึงจะทำการตรวจ การทราบผลก็จะเนิ่นนานออกไป

เมื่อก่อนเราทราบว่าประเทศไทยมีเชื้อโรคปากและเท้าเปื่อยเป็นประจำอยู่ ๒ Types คือ A Type, และ Asia 1 Type แต่จากผลของการตรวจแยกเชื้อได้เองปรากฏว่าประเทศไทยมี O Type ระบาดอยู่ทั่วไปด้วย โดยได้ตรวจพบเชื้อ O Type ในท้องที่ต่าง ๆ ไม่น้อยกว่า ๓ ครั้งในปลายปี ๒๕๐๑ และได้ส่งเชื้อไปตรวจยืนยันเพื่อความแน่นอนกับสถาบันโรคปากและเท้าเปื่อยแห่งโลกที่ Pirbright ประเทศอังกฤษและได้ผลตรงกันแสดงให้เห็นได้ว่าการตรวจแยกเชื้อได้เองนี้เป็นคุณประโยชน์ในการป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อยได้เป็นอย่างยิ่ง

ผู้เขียนขอขอบคุณผู้ร่วมดำเนินงานที่ช่วยเหลือให้งานริเริ่มการตรวจแยกเชื้อสำเร็จเป็นผลจนปฏิบัติเป็นงานประจำได้ คือ

๑. Dr. H.C. Girard

๒. นายอุดม จารุตามระ

๓. นายประดิษฐ์ จุ่นพิจารณ์

๔. นายประภัศ สมิตินันท์

๕. ร.ต. พยม ตรงสวัสดิ์

๖. ร.ต. สุชรรม ปุณยอุปพัทธ์ เจ้าหน้าที่ในสถานผลิตวัคซินโรคปากเท้าเปื่อยหนองสาหร่าย