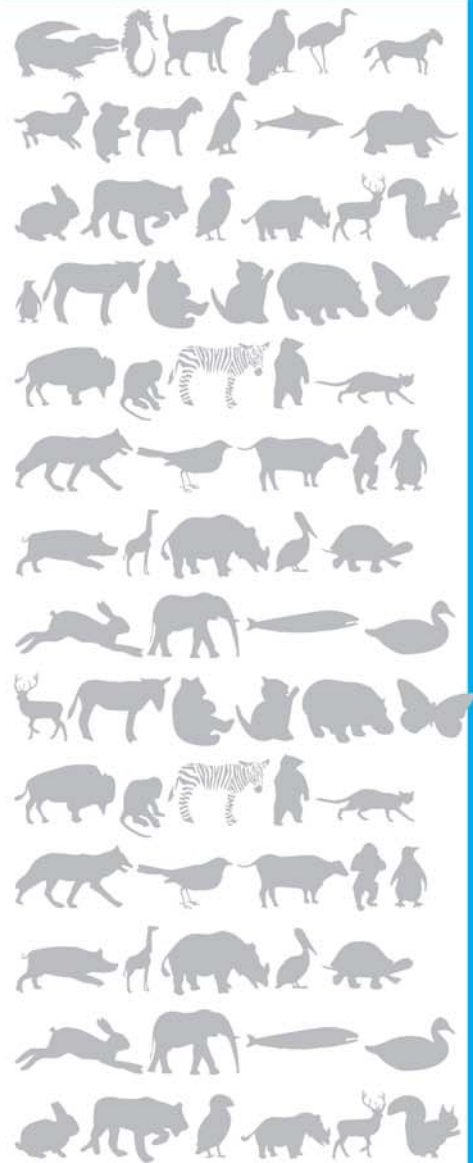




The Journal of

วารสารสัตวแพทย์ KASETSART VETERINARIANS



ISSN 0125-5169

- ชาร์ : โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน หรือเพียงแค่การข้ามสปีชีส์
- การแยกเชื้อริโอไวรัสในไก่ที่มีการตายเฉียบพลันในไก่ไข่ และการกักตุนภูมิคุ้มกันชนิดชั่วคราวต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล
- เปรียบเทียบผลของกลุ่มยาปฏิชีวนะในน้ำเชื้อโคแช่แข็งต่อการเจริญของตัวอ่อนโดยการปฏิสนธิในอกร่างกาย
- ประสิทธิภาพของวัคซีนฝีดาษไก่และนกพิราบเชื้อเป็น สำหรับป้องกันการติดเชื้อไวรัสฝีดาษนกกระทาสายพันธุ์ NK992/43
- การสำรวจสารพิษจากเชื้อราโวมิตอกซินที่ปนเปื้อนในธัญพืช
- บทความคัดย่อจากการประชุมวิชาการ ครั้งที่ 41 (2546) สาขาสัตวแพทยศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ก.ย.-ธ.ค. ปีที่ ๑๓ ฉบับที่ ๓ ๒๕๔๖
Sept. - Dec. Vol.13 No.3 2003



ด้วยการสนับสนุนจากสมาคมนิสิตเภัสัตวแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วารสารสัตวแพทย์

KASETSART VETERINARIANS

วัตถุประสงค์

1. เพื่อส่งเสริมและเผยแพร่ ความรู้ทางวิชาการ ทางสัตวแพทย์และสาขาวิชาอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง
2. เพื่อเป็นสื่อสร้างความสัมพันธ์ระหว่างบุคลากรในสาขาวิชาชีพสัตวแพทย์และบุคลากรในสาขาวิชาอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง

ISSN 0125-5169

กันยายน – ธันวาคม ปีที่ ๑๓ ฉบับที่ ๓ ๒๕๔๖
September – December Volume 13 No.3 2003

วารสารสัตวแพทย์**ที่ปรึกษา**

คณบดี คณะสัตวแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บรรณาธิการ

มาลีวรรณ เหลี่ยมศิริเจริญ

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

อภิรักษ์ สุประเสริฐ

สุมาลี บุญมา

กองบรรณาธิการ

| | |
|------------|-----------------|
| พรณจิตต์ | นิลกำแหง |
| มาลีณี | ลิมโสภา |
| อาคม | สังข์วรานนท์ |
| ธวัชชัย | ศักดิ์ภู่อรัมย์ |
| ธเนศร | ทิพย์รักษ์ |
| ธีระศักดิ์ | พราพงษ์ |
| สถาพร | จิตตपालพงศ์ |
| กมลชัย | ตรงวานิชนาม |
| ธีระพล | ศิรินฤมิตร |
| ธีระ | รักความสุข |
| วรวิทย์ | วัชชวัลคุ |
| ศิริชัย | วงษ์นาคเพ็ชร |
| ธัญ | ภิญโญภูมิมินทร์ |
| วิรัช | นิมิตสันตวงค์ |
| ทวีศักดิ์ | สงเสริม |
| ชรินทร์ | ติรวัฒน์วานิช |
| สุณี | คุณากรสวัสดิ์ |

สำนักงาน

กองบรรณาธิการ สำนักงานวารสารสัตวแพทย์ คณะสัตวแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 50 ถนนพหลโยธิน ลาดยาว จตุจักร
กรุงเทพฯ 10900 โทร. 5790058-9 ต่อ 1205, 1219 โทรสาร 5611591

กำหนดออก ปีละ 3 ฉบับ

Publications 3 issues / year

วารสารสัตวแพทย์ เป็นวารสารของคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ซึ่งพิมพ์เผยแพร่ผลงานทางวิชาการทางด้านการศึกษาค้นคว้าวิจัย รายงานสัตว์ป่วย การตรวจวินิจฉัยโรคสัตว์ วิทยาการที่ทันสมัยและบทความทางวิชาการทางสัตวแพทย์และสาขาที่เกี่ยวข้อง ทั้งจากภายในและภายนอกมหาวิทยาลัย โดยวารสารสัตวแพทย์ มีกำหนดออกปีละ 3 ฉบับ คือ เดือนเมษายน สิงหาคม และธันวาคม

Kasetsart Veterinarians**Editorial Advisor**

Dean of Faculty of Veterinary Medicine
Kasetsart University

Editor

Maleewan Liumsiricharoen

Assistant Editors

Apinun Suprasert

Sumalee Boonma

Editorial Board

| | |
|------------|-------------------|
| Parnchit | Nilkamhang |
| Malinee | Limpoka |
| Arkorn | Sangvaranond |
| Thavajchai | Sakpuaram |
| Thanasorn | Thipayarak |
| Teerasak | Prapong |
| Sataporn | Jittapalpong |
| Kamolchai | Trongvanichnam |
| Teerapol | Sirinarumitr |
| Theera | Rakkwamsuk |
| Worawidh | Wajjawalku |
| Sirichai | Wongnarkpet |
| Tanu | Pinyopummintr |
| Wirat | Nimitsuntiwong |
| Thaweesak | Songserm |
| Chanin | Tirawattanawanich |
| Sunee | Kunakornsawat |

OFFICE

Kasetsart Veterinarians, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University,
50 Phaholyothin Road, Lardyoa Chatuchak, Bangkok. 10900. Thailand.
Tel.662-5790058-9 ext. 1205, 1219, Fax.662-5611591,

Email:fvvetwin@ku.ac.th

บรรณาธิการแถลง

วารสารฉบับนี้ มีบทความพิเศษเรื่อง “ซาร์ : โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน หรือเพียงแค่การข้ามสปีชีส์” ซึ่งเป็นเรื่องที่เกี่ยวข้องกับเหตุการณ์สำคัญที่กำลังเกิดขึ้นในขณะนี้ คือ การระบาดของโรคซาร์ จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจและติดตาม นอกจากนั้น ในวารสารฉบับที่ 3 ของปี 2546 ฉบับนี้ ยังมีผลงานวิจัย และบทคัดย่อ จากการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41 (2546) สาขาสัตวแพทยศาสตร์ จำนวน 13 เรื่อง กองบรรณาธิการหวังเป็นอย่างยิ่งว่าจะเป็นประโยชน์กับผู้ทำงานในสาขาที่เกี่ยวข้องและผู้สนใจ

กองบรรณาธิการ

วารสารสัตวแพทย์

Volume 13 No.3 2003

ปีที่ ๑๓ ฉบับที่ ๓ ๒๕๔๖

สารบัญ

บทบรรณาธิการ

บรรณาธิการแถลง

งานวิจัย

- การแยกเชื้อรีโอไวรัสในไก่ที่มีการตายเฉียบพลันในไก่ไข่ และการกดภูมิคุ้มกันชนิดชั่วคราว
ต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล 1
- Avian Reovirus Infection Associated with Sudden Death in Laying Chickens and
Transient Immune Suppression to Newcastle Disease Virus Vaccination
เปรียบเทียบผลของกลุ่มยาปฏิชีวนะในน้ำเชื้อโคแซ่แข็งต่อการเจริญของตัวอ่อน
โดยการปฏิสนธิในอกร่างกาย 15
- Effect of two different antibiotic groups in frozen bovine semen on *in vitro* produced embryo.
ประสิทธิภาพของวัคซีนฝีดาษไก่และนกพิราบเชื้อเป็น สำหรับป้องกัน
การติดเชื้อไวรัสฝีดาษนกกระทาสายพันธุ์ NK992/43 23
- Experimental Assessment of Live Virus Fowl Pox and Pigeon Pox Vaccines
for Control of Quail Pox Virus NK992/43 Isolate
การสำรวจสารพิษจากเชื้อราโวมิตอกซินที่ปนเปื้อนในธัญพืช 32
- Survey of Mycotoxin "Vomitoxin" Contamination in Cereal Grains

บทความ

- ซาร์ : โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน หรือเพียงแค่การข้ามสปีชีส์ 37
- SARS : ZOONOSIS OR INTERSPECIES TRANSMISSION

ทั่วไป

- บทคัดย่อจากการประชุมวิชาการสาขาสัตวแพทยศาสตร์ ครั้งที่ 41 (2546)
ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 45
- การผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งในช้างเอเชีย (*Elephas maximus*) โดยใช้กล้องส่อง
ตรวจภายในและอุลตราซาวด์นำทาง 46
- Frozen semen artificial insimulation in an Asian elephants (*Elephas maximus*)
using endoscope and ultrasound guide
- การศึกษาเบื้องต้นหลังการรักษาสุนัขที่มีภาวะหัวใจล้มเหลวต่อค่าความเข้มข้นของ
cardiac troponin T ในซีรัม 47
- A preliminary study on serum concentration of cardiac troponin T after treatment
in canine heart failure

| | |
|---|----|
| การตรวจหาตัวที่เป็นแหล่งรังโรคของเชื้อเลปโตสไปโรซิสในประเทศไทย โดยการประสานเทคนิค PCR และ MAT | 49 |
| PCR-Based and MAT combination methods for identifying <i>Leptospira</i> reservoir cows in Thailand รายงานสัตว์ป่วย : การอุดตันของหลอดอาหารในช้างเอเชีย (<i>Elephas maximus</i>) | 50 |
| Esophageal obstruction (Choke) in Asiatic elephant (<i>Elephas maximus</i>): case report การใช้โปรแกรมการจัดการสุขภาพและผลผลิตระดับฝูงเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ การผลิตในฟาร์มโคนมรายย่อย : ผลต่อโคสาวทดแทน | 52 |
| The application of herd health and production management program for productivity improvement in small dairy herd : the effect on heifer replacement ผลของ Levamisole ชนิดฉีดในการกำจัดพยาธิตัวกลมในระบบทางเดินอาหารของแกะ | 54 |
| Effect of an injectable levamisole in elimination of gastrointestinal nematodes of sheep จรรยาบรรณของกรดซัดชินิกต่อการตายของเชื้อก่อโรคอาหารเป็นพิษ : แคมไพโรแบคเตอร์ เจจุนิ อี 93/2835 | 56 |
| Death kinetics of succinic acid on foodborne pathogen : <i>Campylobacter jejuni</i> E93/2835 ผลของการใช้หุ่นจำลองยางพาราลูกสุกรในการเรียนการสอนวิชาวิทยาเอมบริโอ | 57 |
| Results of using pig embryo para rubber models in ebyrology teaching class การศึกษาประสิทธิภาพการเรียนการสอนโดยการใช้หุ่นจำลองอวัยวะระบบสืบพันธุ์โค จากยางพารา | 58 |
| Comparative anatomical teaching aids of bovine reproductive organs Between para rubber models and real specimens การตรวจวัดระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในอุจจาระเพื่อประเมินการทำงานของ ของรังไข่ในสุกรสาว | 60 |
| The use of fecal progesterone profile to determine ovarian function in gilts ปัจจัยที่มีผลกระทบต่ออัตราการเข้าคลอดในแม่สุกรพันธุ์แลนด์เรซและยอร์กเชียร์ ในฟาร์มสุกรพันธุ์แท้ 2 แห่งในประเทศไทย | 62 |
| FActors influencing farrowing rate in Landrace and Yorkshire sows in two commercial farms in Thailand การศึกษาย้อนหลัง เกี่ยวกับเนื้องอกในสุนัข ที่มารักษาที่โรงพยาบาลสัตว์มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ กำแพงแสน ระหว่าง มีนาคม พ.ศ. 2542 – สิงหาคม พ.ศ. 2545 | 64 |
| A retrospective study of canine tumors at veterinary teaching hospital, Kasetsart Kamphaeng Saen during March 1999 – August 2002 ยาออกซีเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อปลาในเขตกรุงเทพมหานครและเขตปริมณฑล | 66 |
| Oxytetracycline residues in fish meat in Bangkok and near-by areas | |

คำแนะนำสำหรับผู้เขียน

วารสารสัตวแพทย์ (Kasetsart Veterinarians) เป็นวารสารทางวิชาการของคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำหนดออกทุก 4 เดือน คือ เมษายน สิงหาคม และ ธันวาคม จัดทำขึ้นเพื่อเป็นการเผยแพร่ผลงานทางวิชาการและผลงานวิจัยทางด้านสัตวแพทย์ และ สาขาวิชาที่เกี่ยวข้อง

เรื่องที่จะพิจารณาลงพิมพ์ในวารสารสัตวแพทย์ จะต้องไม่เป็นเรื่องที่กำลังอยู่ระหว่างการพิจารณาของวารสารอื่น หรือไม่เคยลงพิมพ์ในวารสารอื่น ยกเว้นตีพิมพ์ในลักษณะบทความย่อในการประชุมวิชาการ เรื่องที่ส่งมาจะได้รับการตรวจโดยคณะกรรมการบรรณาธิการ หรือ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ซึ่งบรรณาธิการพิจารณาและมอบหมายให้ดำเนินการตรวจแก้ไข สำหรับเรื่องที่ตรวจรับแล้ว จะลงตีพิมพ์ตามลำดับก่อนหลังของวันที่ได้รับการตรวจรับครั้งสุดท้าย

ลักษณะของเรื่อง

เรื่องที่ส่งมาเพื่อพิจารณาจะต้องเป็นเรื่องทางวิชาการทางสาขาสัตวแพทย์และสาขาที่เกี่ยวข้อง ซึ่งอาจจะเป็น งานค้นคว้าวิจัย รายงานทางคลินิก รายงานสัตว์ป่วย บทความทางวิชาการ หรือจดหมายถึงบรรณาธิการ

การส่งเรื่อง

เรื่องที่ส่งมาเพื่อพิจารณาตีพิมพ์ ต้องประกอบด้วยต้นฉบับจำนวน 3 ชุดซึ่งพิมพ์บนกระดาษ 8.5x11 นิ้ว (A4) พิมพ์หน้าเดียว โดยระยะระหว่างบรรทัดเป็นแบบ double spaces รวมทั้งให้ใส่เลขหน้าที่ยู่ด้านล่างด้านขวามือของกระดาษ เว้นช่องว่างขวามือ ซ้ายมือ บนและล่าง อย่างละ 3 เซนติเมตร

ส่งเรื่องมาที่

บรรณาธิการวารสารสัตวแพทย์

คณะสัตวแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

(ส่วนการส่งแผ่นดิสเก็ต (diskette) จะส่งเมื่อแก้ไขต้นฉบับเป็นที่เรียบร้อยแล้วพร้อมส่งเรื่องพิมพ์)

การเตรียมต้นฉบับ

1. ต้นฉบับจะเป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษก็ได้ ถ้าเป็นภาษาไทยจะต้องมีบทคัดย่อ (abstract) เป็นภาษาอังกฤษ หรือ ถ้าเป็นภาษาอังกฤษจะต้องมีบทคัดย่อเป็นภาษาไทย จำนวนหน้าที่จะพิมพ์ไม่ควรเกิน 10 หน้าตีพิมพ์ รวมรูปภาพและแผนภูมิ

2. ชื่อเรื่อง บอกทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ควรกะทัดรัดและตรงกับเนื้อเรื่อง ชื่อเรื่อง

ภาษาอังกฤษให้พิมพ์ขึ้นต้นด้วยตัวพิมพ์ใหญ่ ชื่อผู้เขียน ใช้ภาษาไทยและภาษาอังกฤษ บอกชื่อเต็ม และสถานที่ทำงาน โดยระบุจังหวัดและรหัสไปรษณีย์ โดยให้สถานที่ทำงานอยู่ตอนล่างของหน้าวารสารตามตัวอย่างเรื่องที่จัดพิมพ์ในวารสาร

ตัวอย่างการเขียนชื่อเรื่องและชื่อผู้เขียน

พาราทูเบอร์คิวโลซิส:

I. การศึกษาทางซีรัม-ระบาดวิทยาของโรคพาราทูเบอร์คิวโลซิสในโคนม

Paratuberculosis:

I. Sero-epidemiological Studies of Paratuberculosis in Dairy Cattle

มนยา เอกกัทธร์ ยอดยศ มีพีชน์ ดิลก เกษรสมบัติ ชิต ศิริวรรณ จตุพร สมิตานนท์

Monaya Ekgatath, Yodyot Meephuch, Dilok Gesornsombat, Chit Sirivan,

and Jatuporn Smitanon

สถาบันสุขภาพสัตว์และผลิตสัตว์แห่งชาติ กองวิชาการ กรมปศุสัตว์

เกษตรกลางบางเขน กรุงเทพฯ 10900

National Animal Health and Production Institute, Veterinary Research Division,

Department of Livestock Development, Bangkhen, Bangkok 10900

3. บทคัดย่อ (ABSTRACT) ให้เขียนนำหน้าตัวเรื่อง เป็นการสรุปสาระสำคัญของ เรื่อง โดยเฉพาะวัตถุประสงค์ วิธีการทดลอง ผลการทดลอง และ บทสรุป ไม่ควรเกิน 200 คำ (3%ของตัวเรื่อง) และให้ระบุคำสำคัญ (Key words) ท้ายบทคัดย่อ จำนวนไม่เกิน 5 คำ

4. เนื้อหา (Text) ควรประกอบด้วยหัวข้อตามลำดับดังนี้

4.1 คำนำ (INTRODUCTION) เพื่ออธิบายถึงปัญหาและบ่งชี้ถึงวัตถุประสงค์ที่ชัดเจน และรวบรวมการตรวจเอกสารอ้างอิงที่เกี่ยวข้อง (related references) การอ้างอิง เอกสารให้ใช้ระบบชื่อและปี (name and year system) เช่น พีระศักดิ์ (2536) สุพจน์และคณะ (2536) หรือ (จินตนา และอารีย์, 2530) ในกรณีภาษาอังกฤษหรือภาษาอื่นที่เขียนด้วยภาษาอังกฤษให้ใช้ชื่อสกุล แล้วตามด้วย คศ. เช่น Backman (1984), Yoneyama *et al.* (1990) หรือ (Cochran and Cox, 1968) เป็นต้น

4.2 อุปกรณ์และวิธีการ (MATERIALS AND METHODS) ควรประกอบด้วย

4.2.1 คำอธิบายเกี่ยวกับอุปกรณ์หรือชนิดสัตว์ที่ใช้ในการทดลองอย่างชัดเจน

4.2.2 คำอธิบายถึงวิธีการทดลอง อย่างเหมาะสมเพื่อเป็นแนวทางให้นักวิจัยท่านอื่นได้ทำการศึกษาต่อไปได้ แต่ไม่จำเป็นต้องอธิบายวิธีการที่ถือว่าเป็นแบบฉบับ ซึ่งเป็นที่เข้าใจกันดีโดยทั่วไปอยู่แล้ว แต่ให้อ้างถึงวิธีการนั้นๆ โดยอาศัยการอ้างอิงเอกสาร

4.2.3 คำอธิบายถึงวิธีการทดสอบทางสถิติที่นำมาใช้ในการศึกษา รวมทั้งบอกชนิดของโปรแกรมคอมพิวเตอร์ (computer software) ที่ใช้ในการทดสอบทางสถิติ

4.3 ผล (RESULTS) เป็นการเสนอผลการทดลอง ไม่ควรอธิบายเกินความจำเป็น ผลการ

ทดลองควรเสนอตามลำดับที่เหมาะสมในลักษณะของการบรรยายเนื้อหา ตาราง และ รูปภาพ โดยเน้นและรวบรวมเฉพาะผลการทดลองที่สำคัญ

4.3.1 หน่วยวัดภาษาไทยให้ใช้คำย่อทั้งหมด

4.2.2 ให้ใช้เครื่องหมายที่เป็นสากลนิยม เช่น °C แทน องศาเซลเซียส และ % แทน เปอร์เซ็นต์ เป็นต้น

4.4 วิจารณ์ (DISCUSSION) เป็นการวิจารณ์การทดลองในด้านที่สำคัญ ไม่ควรเสนอข้อมูลที่กล่าวไปแล้วในส่วนของบทนำ อุปกรณ์และวิธีการ และ ผลการทดลอง การวิจารณ์มีจุดประสงค์ดังนี้

4.4.1 เพื่อให้ผู้อ่านเห็นคล้ายถึงหลักการที่แสดงออกมาจากการทดลอง

4.4.2 เพื่อสนับสนุนหรือคัดค้านด้านทฤษฎีที่มีผู้เสนอมาก่อน

4.4.3 เพื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลอง และการตีความหมายของผู้อื่น

4.4.4 สรุปสาระสำคัญ และประจักษ์พยานของผลการทดลอง ควรพยายามเน้นถึงปัญหา ข้อโต้แย้งในสาระสำคัญของเรื่องที่กำลังกล่าวถึง ตลอดจนข้อเสนอแนะเพื่อการวิจัยในอนาคต และ แนวทางที่จะนำผลการทดลองไปใช้ในอนาคต

4.5 คำขอบคุณ (ACKNOWLEDGMENTS) อาจมีหรือไม่ก็ได้ เป็นการแสดงความขอบคุณแก่ผู้ที่ช่วยเหลือให้งานวิจัยสำเร็จด้วยดี แต่มิได้เป็นผู้ร่วมงาน

4.6 เอกสารอ้างอิง (REFERENCES)

4.6.1 การเรียงลำดับเอกสาร ไม่ต้องมีเลขที่กำกับ ให้เรียงลำดับชื่อผู้แต่งหรือผู้รายงานตามตัวอักษรเริ่มด้วยเอกสารภาษาไทยก่อน แล้วต่อด้วยเอกสารภาษาต่างประเทศ เอกสารอ้างอิงหลายเรื่องที่มีผู้แต่งผู้เดียว หรือชุดเดียวกัน ให้เรียงตามลำดับปีของเอกสาร ถ้ามีเอกสารอ้างอิงหลายเรื่องโดยผู้แต่งคนเดียวกัน หรือชุดเดียวกันภายในปีเดียวกัน ให้ใส่อักษร ก ข ในเอกสารภาษาไทย และ a, b, ในเอกสารภาษาต่างประเทศไว้หลังปีของเอกสาร

4.6.2 การเขียนชื่อผู้เขียน กรณีเอกสารภาษาไทยให้ใช้ชื่อเต็ม โดยใช้ชื่อตัวนำหน้าตามด้วยชื่อ สกุล ในกรณีที่ผู้แต่งไม่ได้เขียนชื่อเต็ม หรือไม่อาจหาชื่อเต็มของ ผู้แต่งอนุโลมให้ใช้ชื่อย่อได้ กรณีเอกสารภาษาต่างประเทศให้เอาชื่อสกุลขึ้นก่อน ตามด้วยชื่อย่ออื่น ๆ สำหรับชื่อสกุลให้เขียนเต็ม ส่วนชื่อย่ออื่น ๆ ให้เขียนเฉพาะอักษรตัวแรก ยกเว้นกรณีที่จำเป็นต้องเขียนเต็ม เช่น Van, de, der, von เป็นต้น

4.6.3 หลักเกณฑ์ที่สำคัญของการเขียนรายชื่อเอกสารอ้างอิงมีดังนี้

(1) ชื่อเมือง ชื่อรัฐ และชื่อประเทศ ให้เขียนเต็ม

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

(3) ชื่อวิทยาศาสตร์ของสิ่งมีชีวิต ให้ใช้ตัวเอน หรือขีดเส้นใต้

- (4) คำว่า in vitro, in vivo หรือคำอื่นที่คล้ายกัน ให้ใช้ตัวเอนหรือขีดเส้นใต้
- (5) เอกสารที่มีใช้วารสาร ต้องบอกจำนวนหน้าด้วย โดยใช้ p. หลังตัวเลขแสดงจำนวนหน้าและให้ใช้ n. หลัง ตัวเลขสำหรับเอกสารภาษาไทย
- (6) ชื่อ Journal ต้องเขียนด้วยคำย่อ ยกเว้นชื่อที่ย่อไม่ได้
- (7) ชื่อเรื่องภาษาอังกฤษที่เอกสารนั้นอ้างถึงอีกทอดหนึ่งทุกคำจะต้องขึ้นต้นด้วยตัวพิมพ์ใหญ่ (capital letter) ยกเว้นคำที่เป็นคำนำหน้านาม (article) คำสันธาน (conjunction) และคำบุรพบท (preposition) ในบางกรณี เช่น ชื่อ species ซึ่งขึ้นต้นด้วยตัวพิมพ์เล็กอยู่แล้วให้ขึ้นต้นด้วยตัวพิมพ์เล็กแต่หากคำเหล่านี้เป็นคำแรกของชื่อเรื่องให้ขึ้นต้นด้วยตัวพิมพ์ใหญ่ส่วนเอกสารที่ผู้เขียนอ้างถึงหากมิใช่หนังสือตำรา ให้พิมพ์เช่นเดียวกับเรื่องในวารสาร
- (8) ชื่อ conference ให้เขียนเต็ม

4.6.4 ตัวอย่างการเขียนรายชื่อเอกสารอ้างอิง

- จินตนา อุปติสสกุล และ อารีย์ วรรณวิวัฒน์. 2530. ปริมาณกรดไขมันในถั่วลิสงบางพันธุ์ของ ไทย น. 657-660. ในรายงานการสัมมนาเรื่องงานวิจัยถั่วลิสงครั้งที่ 6, 18-20 มีนาคม 2530 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา และวนอุทยานแห่งชาติ ทะเลบัน สตูล.
- ทิม พรรณศิริ. 2518. การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับควายไทย. อ้างโดย จรัญ จันทลักษณ์. ควายในระบบไรนาไทย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ 171 น.
- ปรียพันธุ์ อุดมประเสริฐ, กิจจา อุไรรงค์, ธวัชชัย ศักดิ์ภู่อ่วม และ วรวิทย์ รัชชวัลคุ. 2538 การศึกษาประสิทธิภาพการผลิตในฟาร์มสุกร 30 แห่ง: 1. สถานภาพในการผลิต. ว. เกษตรศาสตร์ (วิทพ.). 28: 413-421.
- Cochran, W.G. and G.M. Cox. 1968. Experimental Desings. 2nd ed., John Wiley and Sons, Inc., New York. 611p
- Johnston, L.J. 1989. Influence of energy and protein intake during lactation on sow performance, pp. 97-106. In Proc. Of Minnesota Swine Herd Health Programming Conference. St. Paul. Minnesota
- Nelssen, J.L., A.J. Lewis and E.R. Peo Jr. 1985. Effect of dietary energy intake during lactation on performance of primiparous sows. J. Anim. Sci. 61: 1164-1171.
- Reinemeyer, R. and J.E. Henton. 1987. Observations on equine strongyle control in southern temperate USA. Equine Vet. J. 19: 505-508.

5. ภาพประกอบ (FIGURES) ต้องมีเนื้อหาและคำอธิบายที่เข้าใจและชัดเจน และให้ใช้ภาพประกอบเท่าตามความเหมาะสมของผลการทดลอง

5.1 ภาพที่ถูกสร้างด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ ขนาดตัวอักษร สัญลักษณ์ต่าง ๆ ควรมีมาตราส่วนที่เหมาะสมอ่านง่าย เส้นโครงร่างต่างๆ ควรมีความเข้มที่เพียงพอ

5.2. ภาพถ่าย ควรเป็นภาพขาว-ดำ หากเป็นภาพสี ผู้ส่งเรื่องจะเป็นผู้เสียค่าใช้จ่ายในการพิมพ์ ขนาดของภาพอย่างต่ำควรเป็นขนาดโปสการ์ด (3.5 × 5 นิ้ว) หรือเท่าตัวจริงที่จะปรากฏในหนังสือ ผิวนั้นเรียบ เขียนคำอธิบายแยกไว้ต่าง อย่าเขียนลงบนรูป อย่าหนีบด้วยคลิป หรือ กัดด้วยเข็มหมุด

5.3. ภาพเขียน เขียนด้วยหมึกดำบนกระดาษอาร์ตหนาพอสมควร ตัวหนังสือควรเขียนด้วย lettering guide

6. ตาราง (TABLES) ต้องมีเนื้อหาและคำอธิบายที่เข้าใจและชัดเจน ถ้าเป็นไปได้ ตารางควรมีการจัดวางตามขวางของกระดาษ และให้ใช้เฉพาะเส้นตามแนวนอน (horizontal line) เท่าที่จำเป็น ห้ามใช้เส้นตามแนวตั้ง (vertical line)

6.1 คำว่าหมายเหตุ ให้ใช้คำว่า note

6.2 คำอธิบายเพิ่มเติมความหมายส่วนใดส่วนหนึ่งของตารางให้ใช้การพิมพ์ด้วยตัวเลขแบบตัวยก (superscript)

6.3 หน่วยต่างๆ ในภาษาไทยให้ใช้คำย่อทั้งหมด เช่น มก./ล กม./ชม. ไม่ใช้ระบบยกกำลังยกเว้นในรายของสาขาวิชาเฉพาะที่จำเป็นเท่านั้น

การเขียนบทความประเภท รายงานสัตว์ป่วย (Case report) และ short communication

การเขียนให้ใช้ตามแบบการเขียนบทความเรื่องเต็ม ซึ่งควรที่จะมีบทคัดย่อ (Abstract) ที่มีความยาวไม่เกิน 150 คำ โดยแบ่งหัวข้อส่วนต่าง ๆ เป็นบทคัดย่อ กิตติกรรมประกาศ และหนังสืออ้างอิง ควรจะเริ่มต้นด้วยประวัติ และอาการทางคลินิก ตามด้วยการพรรณนาถึงการตรวจร่างกายตามลำดับเวลาหรือขั้นตอนที่จำเป็น และจบลงด้วยการวิจารณ์อย่างกระชับ จำนวนหน้าที่จะตีพิมพ์ไม่ควรเกิน 4 หน้าตีพิมพ์ ไม่จำเป็นที่จะต้องแบ่งเป็นหัวข้อส่วนต่าง ๆ เช่น บทนำ (Introduction) อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and Methods) ผลการทดลอง (Results) และวิจารณ์ผลการทดลอง (Discussion)

การตรวจแก้ไข

คณะกรรมการฯ ขอสงวนสิทธิ์การตรวจแก้ไขเรื่องที่ส่งมาตีพิมพ์ทุกเรื่องตามแต่จะเห็นสมควร ในกรณีจำเป็นจะส่งต้นฉบับเดิมหรือที่แก้ไขแล้วกลับคืนผู้เขียนเพื่อพิจารณาข้อเสนอของคณะกรรมการฯ อีกครั้งหนึ่ง

Instruction for Authors

The Kasetsart Veterinarians Journal, a peer-reviewed scientific journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, is published every four-month period and devoted to all aspects of veterinary medicine and other related fields.

Editorial Policy

By submission to the journal, the authors guarantee that they have authority to publish the work that the manuscript, or one with substantially the same content, was not published previously, is not being considered or published elsewhere with an exception of abstract published for a scientific meeting. The Kasetsart Veterinarians Journal does not endorse activities related to redundant publication. It will make every effort to monitor, investigate, and report such activities through appropriate channels. The authors should provide a cover letter, which makes a full statement to the editor about all submissions and previous reports that might be regarded as prior or duplicate publication of the same or very similar work. The accepted manuscript will be published in a timely manner.

Conflict of Interest Policy

The Editorial Board believes it is in the best interest of authors and reviewers to learn of any potential conflict of interest before initiating a review. Such information will not alter established editorial and review policies, but will assist the editorial staff in avoiding any potential conflicts that could give the appearance of a biased review.

Potential reviewers of all manuscripts submitted to the Kasetsart Veterinarians Journal are asked to thoughtfully consider any potential conflict of interest they may have in reviewing a manuscript.

Submission of Manuscripts

Manuscripts should be sent with a cover letter that clearly states the corresponding author's address, telephone and telefacsimile numbers, and E-mail address to Editor of Kasetsart Veterinarians Journal, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Jatujak, Bangkok 10900.

Manuscripts must be letter quality submitted in triplicate, typewritten, and double-spaced (including references) on one side of 8.5 × 11-inch (A4) white paper with 3-centimeters margins on all sides (number each page at bottom right). A digital copy should accompany typewritten copies of manuscripts that have been accepted for publication. The preferred format for digital files is Microsoft Word™. Files

should be sent to the editor on 3.5" diskette.

Manuscript preparation

1. Original manuscripts written in Thai or English will be accepted. Manuscripts written in Thai should have abstract written in English and vice versa.

2. Title must be concise and pertinent with the content. English title should be written in capital letter.

Example:

Paratuberculosis:

I. Sero-epidemiological Studies of Paratuberculosis

in Dairy Cattle

Monaya Ekgatat, Yodyot Meephuch, Dilok Gesornsombat, Chit Sirivan
and Jatuporn Smitanon

National Animal Health and Production Institute,

Veterinary Research Division, Department of Livestock Development,

Bangkheng, Bangkok 10900

3. Each Full-Length paper must begin with an informative, rather than descriptive, abstract of 200 words or less (3% of the content) that summarizes the essential data and is a concise, factual condensation of the article. Five or less key words are placed alphabetically after the Abstract.

4. Text is organized under the following headings:

4.1 **Introduction:** The Introduction should supply sufficient pertinent background information to allow readers to understand and interpret results. It must include the rationale for the study, the investigators' hypothesis, and a clear statement of the purpose of the study. It also includes related references, which are written as following. For example: Backman (1984), Yoneyama *et al.* (1990) or (Cochran and Cox, 1968) etc.

4.2 **Materials and Methods:**

4.2.1 Should describe clearly about the instruments or species of the experimental animal.

4.2.2 Should describe the experimental design in sufficient detail to allow others to reproduce the results.

4.2.3 Should describe and provide the detail of the statistical methods including

computer software used to summarize data and test the hypothesis and the level of significance used for hypothesis testing.

4.3 **Results:** The Results section should provide data that are clearly and simply stated without discussion or conclusions. Results can be expressed in descriptive form, table and illustrations.

4.3.1 Standard metric units expressed in Thai should be abbreviated.

4.3.2 Should use international symbols for standard units instead of spelling the whole word; for example, °C instead of Celsius and % instead of percent etc.

4.4 **Discussion:** The Discussion section should provide an interpretation of the results in relation to previously published work and to the experimental system at hand. It must not contain extensive repetition of the results section or reiteration of the introduction. The objectives of the discussion section are as following.

4.4.1 To convince the reader with the experimental design and results of the study.

4.4.2 To support or contradict with the previous reports.

4.4.3 To compare the results and interpretation of this experiment with the previous reports.

4.4.4 To conclude the essential findings, to emphasize the contradiction of the essential finding and to suggest what should have been studied in the future to answer the questions.

4.5 **Acknowledgments:** The source of any financial support received for the work being published must be indicated in the Acknowledgment section. Recognition of personal assistance should be given as a separate paragraph. It will be assumed that the absence of such an acknowledgment is a statement by the authors that no support was received.

4.6 **References:** Authors bear primary responsibility for accuracy of all references. References to published work must be limited to what is necessary and must be cited in the text.

4.6.1 The sequential of the references should be in the order of the letter of the authors' names. There is no need to number the references. References, which have same author/ authors, should be ordered according to the published year. If there are several same author references published in the same year, authors should used letter a, b, for English articles after the published year.

4.6.2 References should start with the full last name of the authors and follows by initial of the first name with an except for Van, de, der, von.

4.6.3 The styles used for writing references as follows:

1. Name of the city, state and country should be written in full.

2. For English articles, page of references should use p. in case of one page reference or pp. in case of multiple page reference and follows by page number.
3. Scientific names of the living organisms should be written in italic or underlined.
4. Should underline or use italic for words *in vitro*, *in vivo*
5. Page number of English references, which are not articles in the journal, should use p. and follows by number of the page.
6. Name of the journal should be abbreviated with an exception of no abbreviated name.
7. Title of the English articles should be started with capital letter of each word with an exception of article, conjunction and preposition. Name of the species is usually start with small letter, however, it should be written in capital letter if it is the first word of the title. References, which are not textbooks, should be written in the same way as journal.
8. Name of the conference should be written in full.

4.6.4 The following are the styles for references:

Cochran, W.G. and G.M. Cox. 1968. *Experimental Designs*. 2nd ed., John Wiley and Sons, Inc., New York. 611p

Johnston, L.J. 1989. Influence of energy and protein intake during lactation on sow performance, pp. 97-106. In Proc. Of Minnesota Swine Herd Health Programming Conference. St. Paul. Minnesota.

Nelssen, J.L. A.J, Lewis and E.R. Peo Jr. 1985. Effect of dietary energy intake during lactation on performance of primiparous sows. *J. Anim. Sci.* 61: 1164-1171.

Reinemeyer, R. and J.E. Henton. 1987. Observation on equine strongyle control in southern temperate USA. *Equine Vet. J.* 19: 505-508.

5. **Figures** must accompany with a concise and pertinent legend.

5.1 Computer-generated graphics should used appropriate letter size for easy reading and line illustrations should be drawn with highest resolution as much as possible.

5.2 Photographs should be furnished as black-white glossy prints (no larger than 3.5 × 5 inches). The full cost for all color illustrations must be borne by the author. Figure legends must be submitted on a separate page at the end of the manuscript. The figure number, author's name, and top of picture should not be written on the back of the prints and should not use pin or staple to attach any information with the prints.

5.3 Line illustrations should be drawn on drafting paper or illustration board. Letter

should be written using lettering guide.

6. **Tables** should be typed on separate pages and should be placed after the text in numerical order rather than incorporated into it. The heading or title of the table should be complete enough that the reader is able to understand the table without having to refer to the text. All parts of a table must be double-spaced and in full-size type. Omit all vertical rules.

6.1 In case that authors wishing to explain more about certain specific information use note.

6.2 Explanatory about certain specific information should be written in superscript.

7. **Case reports and short communications** should have the same structure, including a concise 150 words abstract, as the full-length submissions, but in much shorter form. Sections heading are used only for the Abstract, Acknowledgments, and References. Short communications may be about any suitable subject that does not warrant a full paper. Case reports begin with the signalment of the animal(s), followed by a chronological description of pertinent aspects of the diagnostic examination, and ends with a brief discussion. The length may not exceed 4 printed pages. It is not necessary to be divided into the Introduction, Material and Methods, Results and Discussion.

8. **Peer review process:** The Kasetsart Veterinarians Journal reserves the right to make any changes according to the scientific editor. Manuscripts that, in the reviewers' opinion, require major revisions will be send back to the author to respond to reviewer comments and make appropriate revision within 30 days. Manuscripts that pass peer review are accepted for publication provided that authors respond meaningfully to questions and concerns raised by the scientific editor.

การแยกเชื้อรีโอไวรัสในไก่ที่มีการตายเฉียบพลันในไก่ไข่ และการกดภูมิคุ้มกันชนิดชั่วคราวต่อวัคซีนป้องกัน โรคนิวคาสเซิล

Avian Reovirus Infection Associated with Sudden Death in Laying Chickens and Transient Immune Suppression to Newcastle Disease Virus Vaccination

ชื่องมาศ อันตรเสน¹ นฤพล พร้อมขุนทด¹ วันดี คงแก้ว¹
พรทิพย์ พรหมเมือง¹ ลัดดา ตรงวงศา² และ ไพรสน พรหมเมือง¹
Chongmas Antarasena¹ Naruepol Promkuntod¹ Wandee Kongkaew¹
Porntip Prommuang¹ Ladda Trongwongsa² and Praisorn Prommuang¹

Abstract

Forty seven-day-old, New hubbard-type laying chickens from a commercial flock in Tung yai district Nakhon si thammarat province, exhibited sudden death with bursal atrophy. The morbidity and mortality rates were identical, 7.93% (119/1,500). The affected flock had been administered with Newcastle disease vaccine at 17 days of age. Pieces of bursa, kidney, liver, spleen, myocardium, trachea with lung and rectum were taken from necropsied birds and inoculated separately onto chick embryo liver (CELi) cells. A characteristic cytopathic effect (CPE) of rounding and pleomorphic syncytium formation was apparent in the first and second passages 2-4 days after inoculation. The infectious agent was isolated from all of the organs examined and could not agglutinated chicken red blood cell. Indirect immunofluorescence assay and transmission electron microscopy were used to confirm the presence of the isolated virus. The results

¹ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคใต้ อำเภอยะรัง จังหวัดนครศรีธรรมราช 80110.

Southern Veterinary Research and Development Center, Tung song, Nakhon si thammarat 80110, Thailand

² สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ เกษตรกลาง เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900.

National Institute of Animal Health, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand.

showed that avian reovirus was the causative agent of the disease and designated NK 548/44.

Newcastle disease virus (NDV) haemagglutination inhibition (HI) test was carried out to determine the post-vaccinated immune response of the affected flock. Serum samples were taken on five occasions for ND-HI titer measurement; the first bleed was 17 days after the onset of the disease, the second and the third were at 14 and 36 days after the first bleed. The geometric mean HI titers (GMTs) were $2.25(\pm 1.887)\log_2$ (1:4.76), $7.583(\pm 0.504)\log_2$ (1:191) and $1.478(\pm 1.039)\log_2$ (1:3.07) respectively. At 103 days of age, the chickens were revaccinated (vaccination schedule) and sera were titrated for NDV antibodies at 15 and 29 days later. The GMTs were $6.64(\pm 1.036)\log_2$ (1:99.69) and $6.00(\pm 1.225)\log_2$ (1:64) respectively. The results support the concept that avian reovirus induced transient immune suppression of chickens.

Key words : laying chickens, avian reovirus, immune response, ND-HI titer.

บทคัดย่อ

ไก่ไข่พันธุ์นิวฮัมบาร์ด อายุ 47 วัน จากฟาร์มเลี้ยงไก่แห่งหนึ่งในอำเภอทุ่งใหญ่ จังหวัดนครศรีธรรมราช แสดงอาการตายกระทันหัน มีอัตราการป่วยและการตายเท่ากัน คือ 7.93% (119/1,500) ไก่ฝูงนี้ได้รับวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลเมื่ออายุ 17 วัน ทำการผ่าซากไก่ป่วย เก็บตัวอย่างอวัยวะภายใน ได้แก่ ต่อมเบอริช่า ไต ตับ ม้าม กล้ามเนื้อหัวใจ หลอดลมรวมปอด และลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย เพื่อนำไปแยกเชื้อไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยงตับของเอ็มบริโอไก่ (chick embryo liver cells , CELi) ตรวจพบพยาธิสภาพของเซลล์เป็นแบบ syncytium formation จากทุกอวัยวะที่ทำการเพาะแยกเชื้อไวรัส เชื้อไวรัสที่แยกได้ไม่ทำให้เม็ดเลือดแดงของไก่เกาะกลุ่มกัน ทำการตรวจยืนยันชนิดของเชื้อไวรัสโดยวิธีอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดลำแสงส่องผ่าน ผลการชันสูตรโรคทั้ง 3 วิธี แสดงว่าไก่ป่วยเนื่องจากติดเชื้อ avian reovirus เรียกเชื้อไวรัสที่แยกได้ว่า NK548/44

จากการตรวจการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน โดยใช้ระดับ haemagglutination inhibition (HI) titers ต่อเชื้อไวรัสโรคนิวคาสเซิล (Newcastle disease virus, NDV) เป็นตัวชี้วัด โดยทำการเจาะเลือดไก่ร่วมฝูง รวมจำนวน 5 ครั้ง ครั้งแรกในวันที่ 17 หลังไก่แสดงอาการป่วย ครั้งที่ 2 และ 3 ห่างจากครั้งแรก 14 และ 36 วัน ตรวจพบระดับ ND-HI titers เท่ากับ $2.25(\pm 1.887)\log_2$ (1:4.76), $7.583(\pm 0.504)\log_2$ (1:191) และ $1.478(\pm 1.039)\log_2$ (1:3.07) ตามลำดับ เมื่อไก่มีอายุได้ 103 วัน ให้วัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลตามกำหนด ต่อมาในวันที่ 15 และ 29 หลังทำวัคซีนครั้งที่ 2 เจาะเลือดไก่ตรวจวัดระดับ ND-HI titers เท่ากับ $6.64(\pm 1.036)\log_2$ (1:99.69) และ $6.00(\pm 1.225)\log_2$ (1:64) ตามลำดับ การศึกษานี้บ่งชี้ว่าการติดเชื้อ avian reovirus มีผลลดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มโรคของไก่แบบชั่วคราว

คำสำคัญ : ไก่ไข่, เชื้อ avian reovirus, การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน, ระดับ ND-HI titers

คำนำ

เชื้อ avian reovirus (ARV) เป็น double-stranded RNA virus จัดอยู่ในกลุ่ม Reoviridae พบเชื่อนี้ในหลายประเทศทั่วโลกที่มีอุตสาหกรรมเลี้ยงไก่และไก่วง ทั้งในทวีปยุโรป อเมริกา และออสเตรเลีย (Rosenberger and Olson, 1997) เชื้อ ARV เป็นสาเหตุสำคัญของโรคข้อและเยื่อข้ออักเสบในไก่ (viral arthritis/tenosynovitis) (van der Heide, 1977; Robertson and Wilcox, 1986) และยังก่อให้เกิดโรคในอวัยวะหลายระบบของร่างกาย เช่น กล้ามเนื้อหัวใจและเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ (Tang *et al.*, 1987) ลำไส้อักเสบ (Dutta and Pomeroy, 1967) โรคในระบบทางเดินหายใจ (McNulty, 1993) เป็นสาเหตุการตายเฉียบพลันในลูกไก่กระทง (Bagust and Westbury, 1975) เป็นสาเหตุหรือสาเหตุร่วมของภาวะการดูดซึมอาหารผิดปกติ (malabsorption syndrome) (Hieronymus *et al.*, 1983) เชื้อ ARV ยังมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน (immune system) อีกด้วย Montgomery *et al.* (1985; 1986a) ศึกษาพบว่าเชื้อ ARVs หลายสเตรนที่แยกได้จากไก่ที่แสดงอาการป่วยในหลายกลุ่มอาการ เมื่อทดลองฉีดเชื้อไวรัสดังกล่าวเข้าลูกไก่อายุ 1 วัน จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระบบภูมิคุ้มกันทั้งโครงสร้างและหน้าที่ กล่าวคือ ตรวจพบต่อมเบอริชามีขนาดเล็กลง (bursal atrophy) ส่วนม้ามมีขนาดโตขึ้น (splenomegaly) และมีการตอบสนองของระดับ ND-HI titers ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม แต่การเปลี่ยนแปลงที่พบจะเป็นแบบชั่วคราว (transient) ดังนั้นเชื้อ ARV จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดการกดภูมิคุ้มกัน (immunosuppression) ในไก่ นอกจากนี้ยังแยกเชื้อ ARV

ได้จากไก่ปกติแสดงถึงการติดเชื้อไวรัสแบบไม่แสดงอาการ (subclinical infection) เมื่อมีการติดเชื้อจุลชีพอื่น ๆ แทรกซ้อน เช่น เชื้อ *E. coli*, *Mycoplasma synoviae*, เชื้อ infectious bursal disease virus (IBDV) และเชื้อ chicken anemia agent (CAA) ตลอดจนเชื้อโปรโตซัว เช่น เชื้อบิด (coccidia) เชื้อ ARV ที่แอบแฝงอยู่ในร่างกาย (latent infection) จะเป็นสาเหตุทำให้ภาวะของโรครุนแรงเพิ่มขึ้น (McNulty, 1993)

ในการแยกเชื้อ ARV อาจใช้ไข่ไก่ฟักหรือเซลล์เพาะเลี้ยง เช่น เซลล์เพาะเลี้ยงไตไก่ (chicken kidney cells, CKC) หรือเซลล์เพาะเลี้ยงตับของเอ็มบริโอไก่ (chick embryo liver cells, CELi) (Guneratne *et al.*, 1982; Rosenberger *et al.*, 1998) ส่วนการพิสูจน์ชนิดของเชื้อไวรัสนั้น อาจใช้การตกตะกอนในเนื้อวุ้น (agar gel precipitation test, AGPT) หรือวิธีอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ทั้งชนิด direct และ indirect methods ก็ได้ ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อ ARV มี group-specific antigen ร่วมกันจึงเกิดปฏิกิริยาข้ามกัน (cross-reaction) ระหว่างเชื้อ ARV แต่ละสเตรน (Kawamura and Tsubahara, 1966) ส่วนอวัยวะที่ใช้ในการแยกเชื้อไวรัสนั้น สามารถแยกเชื้อไวรัสได้จากอวัยวะหลายส่วนของร่างกาย ได้แก่ ต่อมเบอริช่า ตับ ม้าม ลำไส้เล็ก ไต กล้ามเนื้อหัวใจ และเยื่อข้อ (synovium) ในกรณีที่พบรอยโรคที่ข้อและเยื่อข้อ (Rosenberger *et al.*, 1998; Czekaj *et al.*, 1999)

ในประเทศไทยจิโรจและราตรี (2531) ตรวจพบภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ ARV โดยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay ในฟาร์มพ่อ-แม่พันธุ์ไก่กระทง, ไก่ไข่ และไก่กระทง ซึ่งมีประวัติไก่ขาพิการ กระดูกพรุน มีอัตราการเจริญเติบโตช้าและไม่

สม่ำเสมอหรือไม่มีประวัติการแสดงอาการดังกล่าว โดยพบอัตราการติดเชื้อตั้งแต่ 10-85% ส่วนในภาคใต้ของประเทศไทย ซึ่งมาศและคณะ (2545) รายงานการแยกเชื้อ ARV จากไก่ป่วยที่แสดงอาการแตกต่างกัน 3 กลุ่มอาการ โดยพบโรคในฟาร์มไก่ไข่ไก่กระທง และไก่พื้นเมือง และเชื้อ ARV ที่แยกได้ทั้ง 3 สเตรณ neutralize อิมมูนซีรั่มจำเพาะต่อเชื้อ avian reovirus สเตรณอ้างอิง S1133 ซึ่งเป็นวัคซีนสเตรณที่นิยมใช้ควบคุมและป้องกันโรคโรโอไวรัสในไก่

รายงานนี้กล่าวถึง การแยกเชื้อ avian reovirus จากไก่ป่วยที่แสดงอาการตายกระทันหัน และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของไก่ร่วมฝูง โดยใช้ระดับ ND-HI titers เป็นตัวบ่งชี้วัด ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการเฝ้าระวังและควบคุมโรคนี้ในท้องที่ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

สัตว์ป่วย

ไก่ไข่พันธุ์นิวฮัมบาร์ดจากฟาร์มเลี้ยงไก่แห่งหนึ่งในอำเภอทุ่งใหญ่ จังหวัดนครศรีธรรมราช ไก่ฝูงนี้ได้รับวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลและหลอดลมอักเสบติดต่อกันครั้งแรกเมื่อไก่มีอายุ 17 วัน ต่อมาเมื่อไก่มีอายุได้ 47 วัน แสดงอาการป่วยและตายกระทันหัน โดยมีอัตราการป่วยและตายเท่ากันคือ 7.93% (119/1,500) เจ้าของสัตว์นำตัวอย่างไก่ตายจำนวน 2 ตัว ส่งชันสูตรเพื่อหาสาเหตุของโรคที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคใต้ในวันที่พบไก่ตาย ต่อมาเมื่อไก่ร่วมฝูงมีอายุได้ 103 วัน เจ้าของสัตว์ทำวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลครั้งที่ 2 ตามกำหนดการ

ป้องกันโรค

การผ่าซากและการเตรียมตัวอย่างสำหรับแยกเชื้อไวรัส

ทำการชันสูตรซากไก่ป่วยทั้ง 2 ตัว จุดบันทึกการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะภายใน และเก็บตัวอย่าง ได้แก่ ต่อมเบอริช่า ม้าม ตับ ไต กล้ามเนื้อหัวใจ ปอดรวมหลอดลม และลำไส้ส่วนปลายของไก่ป่วยทั้ง 2 ตัว บดอวัยวะแต่ละส่วนแยกกัน ทำเป็น 10% organ suspension ใน phosphate buffer saline (PBS) pH 7.2 ปั่นแยกน้ำใสส่วนบน (supernatant) นำมากรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.45 μ m เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ -80°C จนกว่าจะใช้แยกเชื้อไวรัส

ไก่ทดลองและไข่ไก่ฟัก

ได้จากพ่อแม่ไก่พันธุ์ไวท์เล็คฮอร์น ที่เลี้ยงภายในคอกสัตว์ทดลองของศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคใต้ และไม่เคยทำวัคซีนป้องกันโรคใดๆ นำมาฟักในตู้ฟักที่อุณหภูมิ 37°C และนำมาใช้เตรียม chick embryo liver (CELi) cells เมื่อไข่ฟักมีอายุ 14 วัน

เซลล์เพาะเลี้ยงและอาหารเลี้ยงเซลล์

เตรียม CELi cells ตามวิธีของซ็องมาศและคณะ (2536) เพาะเลี้ยงเซลล์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบด้วย Eagle's minimum essential medium (MEM) มี tryptose phosphate broth 0.3%, fetal calf serum 10%, เพนนิซิลลินและสเตรปโตมัยซิน ความเข้มข้นสุดท้าย 100 ยูนิตและ 100 มก./มล. ตามลำดับ และ NaHCO_3 1.125 มก./มล. เลี้ยงใน 6-well tissue culture plate อบอุ่นในตู้อบ ($5\% \text{CO}_2$, 90%

humidity) ที่อุณหภูมิ 37°C นำมาใช้เพื่อแยกเชื้อไวรัสเมื่อเซลล์มีอายุ 3 วัน

อิมมูนิซั่มและคอนจูเกตโกลบูลิน

ใช้อิมมูนิซั่มจำเพาะต่อเชื้อ ARV สเตรณอ้างอิง S1133 และ rabbit anti-chick IgG FITC (Sigma®) เพื่อใช้พิสูจน์เชื้อไวรัสโดยวิธี indirect fluorescent antibody (IFA) test

การแยกเชื้อไวรัส

ทำการแยกเชื้อไวรัสใน CELi cells โดยนำตัวอย่างที่เตรียมขึ้นได้แก่ supernatant ของต่อมเบอร์ซ่า ม้าม ตับ ไต กล้ามเนื้อหัวใจ ปอดรวมหลอดลม และลำไส้ส่วนปลาย เพาะแยกเชื้อใน CELi cells หลุมละ 0.3 มล. ตัวอย่างละ 3 หลุมอบในตู้อบ (5% CO₂, 90% humidity) ที่อุณหภูมิ 37°C นาน 1 ชม. เติมหาอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี fetal calf serum 1% ออบต่อในตู้อบ ตรวจพยาธิสภาพของเซลล์ (cytopathic effect, CPE) ทุกวันนาน 7 วัน

เมื่อตัวอย่างใดตรวจพบ CPE ประมาณ 50-80% เก็บอาหารเลี้ยงเชื้อและเซลล์ นำไป freeze and thaw 1 ครั้ง นำ culture fluid ทดสอบการเกาะกลุ่มกัน (haemagglutination test) กับเม็ดเลือดแดงของไก่ที่มีความเข้มข้น 0.5 % แล้วเพาะเชื้อไวรัสต่อใน CELi cells ชุดใหม่อีก 3 ครั้ง ส่วนตัวอย่างที่ตรวจไม่พบ CPE ในการเพาะเชื้อครั้งแรก เก็บอาหารเลี้ยงเชื้อและเซลล์ในวันที่ 7 หลังเพาะแยกเชื้อ เพื่อนำไปเพาะแยกเชื้อไวรัสใน CELi cells อีก 2 ครั้ง (blind passage) ก่อนตัดสินว่าตรวจไม่พบเชื้อไวรัสในตัวอย่างนั้น

การตรวจทางแบคทีเรียวิทยา

นำตัวอย่างอวัยวะภายในได้แก่ ปอด, ตับ, หัวใจ และไตไก่ป่วยทั้งสองตัว เพาะแยกเชื้อบน blood agar และ MacConkey agar อบที่อุณหภูมิ 37°C นาน 18-24 ชม. ตรวจการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

การตรวจโดยวิธีอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์

1. นำต่อมเบอร์ซ่าไตและม้ามของไก่ป่วยทั้ง 2 ตัว ตรวจหาเชื้อ infectious bursal disease virus (IBDV) โดยวิธี direct FA test ตามวิธีการของซ็องมาศและนิมิตร (2536)

2. ตรวจยืนยันการติดเชื้อ avian reovirus ใน infected CELi cells โดยเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสที่แยกได้จากแต่ละอวัยวะของไก่ป่วยใน CELi cells 2 ครั้ง เมื่อตรวจพบการเกิด CPE ประมาณ 50% นำเซลล์ที่เลี้ยงบน coverglass ล้างด้วย PBS 1 ครั้ง แช่ใน acetone นาน 10 นาที จากนั้นนำ coverglass มาตรวจโดยวิธี indirect FA test โดยย้อมตัวอย่างด้วยแอนติบอดีจำเพาะต่อเชื้อ ARV สเตรณอ้างอิง S1133 และ rabbit anti-chick IgG FITC ตามวิธีการของ Kawamura (1977) ตรวจการติดเชื้อไวรัสด้วยกล้องฟลูออเรสเซนซ์

การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดลำแสงส่องผ่าน

ทำการตรวจลักษณะพยาธิสภาพของเซลล์ (CPE) ที่ติดเชื้อไวรัสโดยนำ infected CELi cells ที่เลี้ยงบน coverglass และ inoculate เชื้อไวรัสที่แยกได้จากแต่ละอวัยวะและเพาะเลี้ยงใน CELi cells มาแล้วจำนวน 2-3 ครั้ง เมื่อตรวจพบการเกิด CPE ประมาณ

50% นำ coverglass ล้างด้วย PBS 1 ครั้ง แช่ใน methanol นาน 5 นาที ย้อมด้วยสี Giemsa นาน 10 นาที ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง

สำหรับการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดลำแสงส่องผ่าน (TEM) เพื่อศึกษารูปร่างและลักษณะของเชื้อไวรัสที่แยกได้ โดยเฉพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสที่แยกได้จากต่อมเบอริช่า (passage ที่ 4) ใน CELi cells เพาะเลี้ยงนาน 18-20 ชม. เกิด CPE ประมาณ 50% ล้าง infected cells ด้วย phosphate buffer (pH 7.4) ที่ 4°C 3 ครั้ง fix ด้วย 2.5% glutaraldehyde และ 1% osmium tetroxide ที่ 4°C ตามลำดับ ผ่านขบวนการ dehydration ด้วย alcohol series จากนั้น infiltrate และ embed ด้วย epon mixture เพื่อทำเป็นบล็อก ตัดตัวอย่างให้ได้ขนาด 700Å ย้อมด้วยสี uranyl acetate และ lead citrate นำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดลำแสงส่องผ่าน (JEOL model TEM-1200) วัดขนาดของอนุภาคไวรัสบนรูปถ่ายภาพจากกล้อง TEM

การตรวจการตอบสนองของ humoral immunity ต่อเชื้อ NDV

ทำการเจาะเลือดไก่รวมฝูงจากเส้นเลือดดำที่ปีก (wing vein) จำนวน 5 ครั้งๆ ละ 25 ตัวๆ ละ 2 มล. ครั้งแรกในวันที่ 17 หลังพบไก่ในฝูงป่วยและตาย ครั้งที่ 2 และ 3 ห่างจากครั้งแรก 14 และ 36 วันตามลำดับ (ไก่อายุ 64, 78 และ 100 วัน หรือหลังทำวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลครั้งแรก 47, 61 และ 83 วันตามลำดับ) เมื่อไก่ในฝูงทำวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลครั้งที่สอง ที่อายุ 103 วันทำการเจาะเลือดอีก 2 ครั้ง ในวันที่ 15 และ 29 หลังทำวัคซีน (ไก่อายุ 118 และ 132 วัน ตาม

ลำดับ) นำซีรัมไก่ที่ได้ทั้ง 5 ครั้ง ตรวจระดับแอนติบอดีต่อเชื้อ NDV โดยวิธี microtiter HI test ตามวิธีการของ Shortridge *et al.* (1982) โดยใช้เชื้อ NDV สเตรน F เป็นแอนติเจน

นำผลการตรวจ ND-HI titer (\log_2 HI titer) ที่ได้คำนวณค่า Geometric mean titers (GMTs) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (\pm SD) และวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ย \log_2 HI titer ของครั้งที่ 1 กับครั้งที่ 2 และครั้งที่ 4 กับครั้งที่ 5 ด้วยวิธี Student's t-test

ผล

ผลการผ่าซากไก่ป่วย

จากการผ่าซากตรวจอวัยวะภายใน พบต่อมเบอริช่ามีขนาดเล็กลง (bursal atrophy) และปอดมีเลือดคั่ง (congestion) ในไก่ป่วยทั้งสองตัว

ผลการแยกเชื้อไวรัส

จากการนำตัวอย่างน้ำใส (supernatant) ที่เตรียมจากอวัยวะหลายส่วนของไก่ป่วยทั้งสองตัวเพาะแยกเชื้อไวรัสใน CELi cells พบว่าในวันที่ 2-4 หลังทำการแยกเชื้อไวรัส เซลล์ดับของเอ็มบริโอที่หยอดตัวอย่างที่เตรียมจากต่อมเบอริช่า ม้าม ตับ กล้ามเนื้อหัวใจ ปอดรวมหลอดลม และลำไส้ ส่วนปลาย เกิดพยาธิสภาพของเซลล์ (CPE) เป็นแบบ syncytium formation (Figure 1) เมื่อนำอาหารเลี้ยงเชื้อและ infected cells ไป freeze and thaw และเพาะเลี้ยงต่อใน CELi cells ใน passage ที่ 2 ตรวจพบ CPE เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 24 ชม. หลังเพาะเชื้อ ซึ่งต่อมาจะลอกหลุด พบ giant cells ลอยอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วน CELi cells

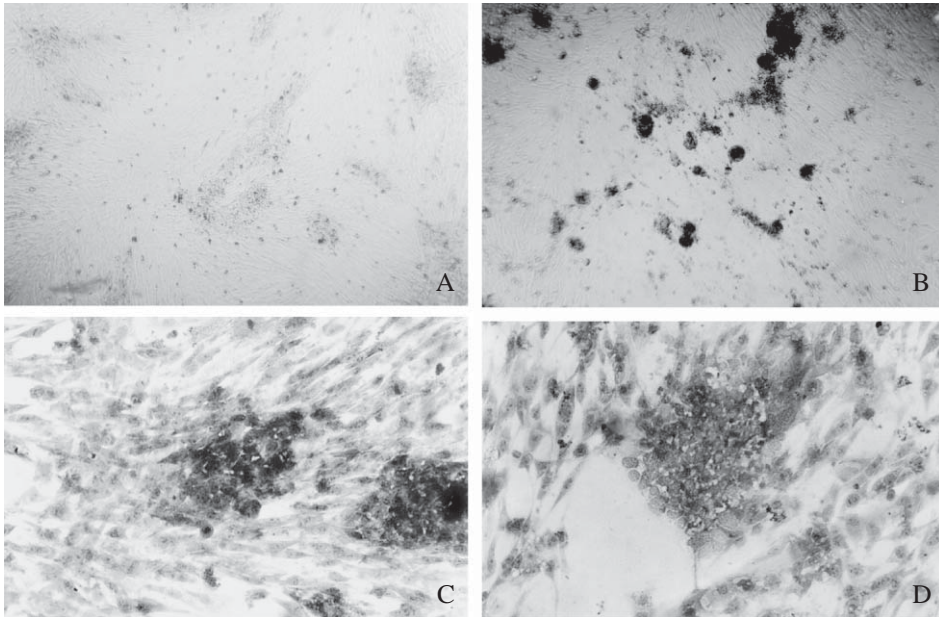


Figure 1 Syncytium formation induced by avian reovirus, a field isolate named NK 548/44 in CELi cell monolayers. (A and C) uninfected cells, (B and D) infected cells. (bottom row) The cell monolayers were fixed with methanol at 20 hr. post-inoculation and stained with Giemsa.

ที่เพาะเลี้ยงตัวอย่างจากไต ตรวจไม่พบ CPE ใน passage แรก เมื่อทำ blind passage ต่อใน CELi cells ตรวจพบ CPE แบบ syncytial ใน passage ที่ 2 ในวันที่สองหลังหยอดเชื้อ เชื้อไวรัสที่แยกได้จากทุกอวัยวะไม่ทำให้เม็ดเลือดแดงของไก่เกาะกลุ่มกัน เรียกเชื้อไวรัสที่แยกได้ว่า NK548/44

เมื่อตรวจลักษณะของ syncytial cells ที่ย้อมด้วยสี Giemsa พบว่าผนังเซลล์ทับหลายไปเกิดการรวมตัวเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ ภายในประกอบด้วยนิวเคลียสจำนวนมากอยู่ตรงกลาง (multinucleated giant cells) (Figure 1D)

ผลการแยกเชื้อแบคทีเรีย

จากการนำตัวอย่างปอด, ตับ, หัวใจ และไต ไก่ป่วยทั้งสองตัว เพาะแยกเชื้อแบคทีเรียบน blood

agar และ MacConkey agar ตรวจไม่พบเชื้อแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสองชนิด

ผลการตรวจด้วยวิธีอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์

จากการตรวจการติดเชื้อ IBDV ในเนื้อเยื่อของต่อมเบอรัซ่า ม้าม และไตของไก่ป่วยทั้งสองตัว ปรากฏว่าตรวจไม่พบเชื้อ IBDV โดยวิธี direct FA test เมื่อนำ infected CELi cells ตรวจยืนยันชนิดของเชื้อไวรัสโดยวิธี indirect FA test พบการเรืองแสงของเชื้อ avian reovirus ใน cytoplasm ของเซลล์ดับที่เกิดการรวมตัวกัน โดยพบการเรืองแสงของกลุ่มอนุภาคไวรัสมีลักษณะเป็นเม็ดมีขนาดต่างกันกระจายอยู่บริเวณใกล้เคียงกับนิวเคลียส (perinuclear regions) ของเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัส (Figure 2)

ผลการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ชนิดลำแสงส่องผ่าน

จากการนำ infected CELi cells ที่เพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสที่แยกได้จากต่อมเบอริชซ่าของไก่ป่วย ตรวจหาอนุภาคไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดลำแสงส่องผ่านเมื่อตรวจกำลังขยายต่ำ ($\times 10,000$) พบกลุ่มอนุภาคไวรัส (viral clusters) ขนาดต่างๆกระจายอยู่ภายใน cytoplasm บริเวณใกล้เคียงนิวเคลียสของ syncytial cells (Figure 3A) และเมื่อตรวจกำลังขยายสูงขึ้น ($\times 50,000$) พบว่าภายในแต่ละกลุ่มประกอบด้วยอนุภาคไวรัส (virion) เรียงเป็นแถว (crystalline arrays) มีรูปร่างเป็นหกเหลี่ยม (icosahedral) มี core อยู่ตรงกลาง มี capsid 2 ชั้น ไม่มี envelope และมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 60 nm. (Figure 3B) ซึ่งเป็นลักษณะของเชื้อไวรัสในกลุ่ม Reoviridae

ผลการตรวจการตอบสนองของ humoral immunity ต่อเชื้อ NDV

จากการตรวจการตอบสนองของ humoral immunity ของไก่ร่วมฝูงโดยใช้ระดับ HI titers ต่อเชื้อ NDV เป็นตัวชี้วัด โดยทำการตรวจรวมจำนวน 5 ครั้ง พบว่าค่าเฉลี่ย (\pm SD) ของ ND-HI titers ครั้งแรกและครั้งที่สอง ซึ่งตรวจในวันที่ 17 และ 31 หลังพบไก่ในฝูงป่วยและตาย (ไก่อายุ 64 และ 78 วัน หรือหลังทำวัคซีนป้องกันโรค 47 และ 61 วัน ตามลำดับ) เท่ากับ $2.25(\pm 1.887)\log_2$ (1:4.76) และ $7.583(\pm 0.504)\log_2$ (1:191) ตามลำดับ เมื่อทำการเจาะเลือดครั้งที่ 3 เมื่อไก่อายุ 100 วัน พบว่า ND-HI titers เท่ากับ $1.487(\pm 1.039)\log_2$ (1:3.07) เมื่อไก่ในฝูงทำวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลครั้งที่สอง ตามกำหนดเมื่ออายุ 103 วัน หลังจากนั้นในวันที่

15 และ 29 หลังทำวัคซีน ทำการตรวจ ND-HI titers พบว่ามีค่าเฉลี่ย (\pm SD) เท่ากับ $6.64(\pm 1.036)\log_2$ (1:99.69) และ $6.00(\pm 1.225)\log_2$ (1:64) ตามลำดับ (Table 1)

เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย \log_2 HI titers ของครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 พบว่าค่าเฉลี่ย \log_2 HI titers ของครั้งที่ 1 ต่ำกว่าครั้งที่สอง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ส่วนความแตกต่างของค่า \log_2 HI titers ของครั้งที่ 4 และ 5 ซึ่งตรวจหลังทำวัคซีนครั้งที่สอง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.01$)

วิจารณ์

จากผลการชันสูตรไก่ป่วยโดยการแยกเชื้อไวรัสใน CELi cells พิสูจน์เชื้อไวรัสด้วยวิธี indirect FA test และศึกษาขนาดและรูปร่างของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงว่าไก่ป่วยมีสาเหตุจากเชื้อ ARV ซึ่งเชื้อนี้ก่อให้เกิดโรคได้หลายกลุ่มอาการ ไก่ป่วยรายนี้แสดงอาการตายกระทันหัน ตรวจพบต่อมเบอริชซ่ามีขนาดเล็กลง (bursal atrophy) ลักษณะเช่นนี้สอดคล้องกับรายงานของ Bagust and Westbury (1975) ที่ตรวจพบไก่อายุระหว่าง 14-38 วัน แสดงอาการตายกระทันหันที่ประเทศออสเตรเลีย และตรวจพบรอยโรคที่ต่อมเบอริชซ่าเช่นเดียวกัน เชื้อไวรัสหลายชนิด เช่น เชื้อ infectious bursal disease virus (IBDV), chicken anaemia agents (CAA) และเชื้อ Marek's disease virus (MDV) ก่อให้เกิดรอยโรคที่ต่อมเบอริชซ่าได้เช่นกัน (อ้างถึงโดย Pastoret *et al.*, 1998) ดังนั้นการแยกเชื้อและพิสูจน์ชนิดของเชื้อไวรัสเพื่อหาสาเหตุที่แท้จริงของโรคจึงเป็นสิ่งสำคัญ

Table 1 Schedule of serum collection and mean ND-HI titers of ARV-infected chickens

| | Bleeding time | | | | |
|--------------------------------|---|-------------------------|-------------------------|---------------------------|------------------------|
| | 1 st | 2 nd | 3 rd | 4 th | 5 th |
| Age of birds (day) | 64 | 78 | 100 | 118 | 132 |
| Day after NDV vaccination | 47 ^(a) | 61 ^(a) | 83 ^(a) | 15 ^(b) | 29 ^(b) |
| Day after onset of the disease | 17 | 31 | 53 | 71 | 85 |
| mean ND-HI titers | 2.25(±1.887) ^{(c)*} (4.76) ^(d) | 7.583(±0.504)* (191) | 1.487(±1.039) (3.07) | 6.64(±1.036)** (99.69) | 6.00(±1.225)** (64) |

Note : (a) day after first NDV vaccination at 17 day-old

(b) day after second NDV vaccination at 103 day-old

(c) mean ND-HI titers expressed as log base 2 (± standard deviation)

(d) reciprocal geometric mean HI titers

* significant at the 0.01 probability level

** not significant

ในการแยกเชื้อ ARV นั้น อาจใช้ไข่ไก่ฟักหรือเซลล์เพาะเลี้ยง เช่น CK cells หรือ CELi cells ก็ได้ในการศึกษาครั้งนี้ทำการเพาะแยกเชื้อไวรัสใน CELi cells เนื่องจากเป็นเซลล์ที่มีความไวสูงต่อการแยกเชื้อ ARV ตรวจพบพยาธิสภาพของเซลล์อย่างรวดเร็วภายใน 24-72 ชม.หลังติดเชื้อไวรัสและยังให้เชื้อไวรัสในระดับสูงอีกด้วย (Guneratne *et al.*, 1982; McNulty *et al.*, 1993) และการยืนยันชนิดของเชื้อไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยงยังทำได้ง่ายกว่าและสะดวกกว่าโดยตรวจลักษณะ CPE ที่เกิดขึ้น และทำการยืนยันชนิดของเชื้อไวรัสด้วยวิธีอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์

เมื่อทำการเพาะแยกเชื้อไวรัสจากตัวอย่างไก่ป่วยใน CELi cells ตรวจพบ CPE เป็นแบบ syncytium formation โดยเซลล์ตัวกันเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ภายในประกอบด้วยนิวเคลียส

จำนวนมาก (Figure 1) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ van der Heide, 1977; Guneratne *et al.*, 1982; Heggen *et al.*, 2002 เซลล์ที่ติดเชื้อ ARV จะมี inclusion bodies เกิดขึ้นภายใน cytoplasm ของ multinucleated cells โดย inclusion จะมีขนาดไม่เท่ากันขึ้นกับระยะเวลาของการติดเชื้อไวรัสในเซลล์ ถ้าติดเชื้อนานขนาดของ inclusion จะใหญ่และอยู่ใกล้นิวเคลียสของเซลล์ (Tyler and Fields, 1996) เมื่อพิสูจน์ชนิดของเชื้อไวรัสโดยวิธี indirect FA test ตรวจพบลักษณะการเรืองแสงของ inclusion มีลักษณะเป็นเม็ดกระจายอยู่ภายใน cytoplasm ของ syncytial cells (Figure 2) (Robertson and Wilcox, 1986; Nibert *et al.*, 1996) และเมื่อนำ infected cells ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดลำแสงส่องผ่าน พบว่าภายใน inclusion ประกอบด้วยอนุภาคไวรัสมี capsid 2 ชั้น ไม่มี

envelope มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 60 nm. เรียงตัวเป็นแถวแบบ crystalline arrays (Figure 3) เชื้อไวรัสที่แยกได้จัดอยู่ในกลุ่ม Reoviridae (Glass *et al.*, 1973; Nibert *et al.*, 1996)

จากการทดสอบคุณสมบัติของเชื้อไวรัสต่อการเกาะกลุ่มกันของเม็ดเลือดแดงไก่ ตรวจไม่พบปฏิกิริยา haemagglutination จึงกล่าวได้ว่าเชื้อไวรัสที่แยกได้ไม่ใช่เชื้อไวรัสโรคนิวคาสเซิล (Shortridge *et al.*, 1982) และสอดคล้องกับรายงานของ Robertson and Wilcox (1986) ที่กล่าวว่าเชื้อ ARV ไม่ทำให้เม็ดเลือดแดงของไก่เกาะกลุ่มกัน

ในการเพาะแยกเชื้อไวรัสจากไก่ป่วยรายนี้ ตรวจไม่พบเชื้อแบคทีเรีย แต่ตรวจพบเชื้อ ARV จากทุกอวัยวะที่ทำการเพาะแยกเชื้อ (ต่อมเบอร์ซ่า

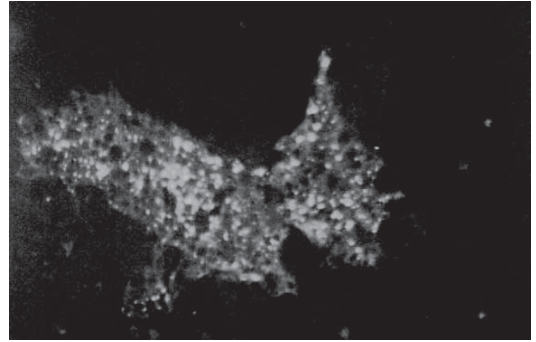


Figure 2 Intracytoplasmic fluorescence of CELi cells 24 hours after inoculation with avian reovirus strain NK 548/44. Indirect fluorescent antibody staining.

ดัม ม้าม ไต หัวใจ ปอดรวมหลอดลม และลำไส้ส่วนปลาย) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Jones *et al.* (1989) ที่ทดลองป้อนเชื้อ ARV สเตรน R2 เข้า

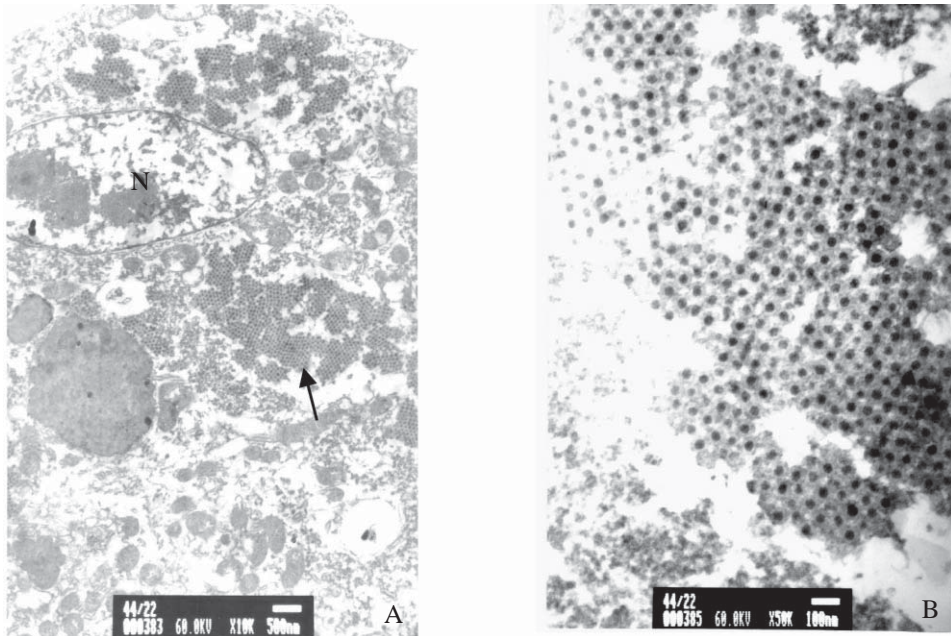


Figure 3 Electron micrograph of ARV-infected CELi cells. (A) Low-magnification ($\times 10,000$) of part of multinucleated cell 20 hr. post-inoculation, with viral inclusions (arrows) in the perinuclear region. (B) Higher magnification ($\times 50,000$) of one of the crystalline arrays of ARV, NK 548/44. (N=nucleus)

ปากลูกไก่อายุ 1 วัน และตรวจพบเชื้อไวรัสได้จากทุกอวัยวะที่ทำการศึกษา ตั้งแต่วันที่ 2 หลังป้อนเชื้อ ARV โดยพบเชื้อไวรัสในระดับสูงที่ต่อมเบอริช่าตั้งแต่วันที่ 1-2 หลังป้อนเชื้อ จากนั้นไวรัสไตเตอร์จะค่อยๆลดลงแต่ตรวจพบเชื้อได้จนถึงวันที่ 12 ซึ่งเป็นวันสิ้นสุดการทดลอง นอกจากตรวจพบเชื้อ ARV ในทุกอวัยวะที่ทำการศึกษแล้ว ยังตรวจพบเชื้อไวรัสในซีรัมตั้งแต่วันที่ 2-3 หลังหยอดเชื้อ Tang *et al.* (1987) และ Jones *et al.* (1989) กล่าวว่าไก่ที่ได้รับเชื้อ ARV โดยการกินเชื้อไวรัสจะเพิ่มจำนวนเป็นครั้งแรก (primary replication) ที่ต่อมเบอริช่าและผนังลำไส้ภายใน 12 ชม.หลังป้อนเชื้อ โดยเชื้อจะผ่าน M cells ที่อยู่บน Peyer's patches ของผนังลำไส้ จากนั้นจะแบ่งตัวใน epithelial cells และเชื้อไวรัสจะเข้าสู่กระแสเลือดไปยังอวัยวะต่างๆของร่างกาย ส่วนที่ต่อมเบอริช่าเชื้อไวรัสจะเพิ่มจำนวนใน bursal epithelium และ lymphoid follicles ต่อมาเชื้อไวรัสจึงเข้าสู่กระแสเลือดหรือกระแสน้ำเหลืองไปยังอวัยวะต่างๆของร่างกาย ทำให้เกิดภาวะ viraemia ซึ่งตรวจพบในวันที่ 2-5 หลังติดเชื้อไวรัส ดังนั้นจึงตรวจพบเชื้อ ARV ได้จากทุกอวัยวะที่ทำการแยกเชื้อ

ต่อมเบอริช่าเป็น central lymphoid organ ที่พบเฉพาะในสัตว์ปีกมีหน้าที่สำคัญเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน (avian immune system) คือเป็นแหล่งกำเนิดของ B lymphocytes (B cells) ซึ่งเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่ผลิต humoral immunity (antibody producing cells) (Pastoret *et al.*, 1998) เชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพของต่อมเบอริช่าที่สำคัญได้แก่เชื้อ IBDV และเชื้อ ARV (Sharma *et al.*, 1994) Kerr and Olson (1969) ทดลองพบว่าไก่ที่ติดเชื้อ

ARV จะมีจำนวน lymphocytes ในกระแสเลือดลดลง (lymphopenia) และเกิดการเสื่อมของ lymphoid cells ในต่อมเบอริช่า (lymphoid cells degeneration) Sharma *et al.* (1994) กล่าวว่าเชื้อ ARV ทำให้เกิดรอยโรคชนิดเนื้อตาย (necrosis) ของต่อมเบอริช่า ผลที่เกิดตามมาภายหลังต่อมเบอริช่าถูกทำลายคือการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในส่วนของ humoral immunity บกพร่อง และเกิดการกดภูมิคุ้มกัน (immunosuppression) ในการศึกษาครั้งนี้ตรวจพบต่อมเบอริช่ามีขนาดเล็กลง และจากการชันสูตรโรคตรวจไม่พบเชื้อ IBDV ในต่อมเบอริช่า โดยวิธี FA test และจากการเพาะแยกเชื้อไวรัสใน CELi cells ตรวจพบเชื้อ ARV จากต่อมเบอริช่าและอวัยวะอื่นๆทุกอวัยวะที่ทำการเพาะแยกเชื้อไวรัส และเมื่อศึกษาการตอบสนองของ humoral immunity ไก่ร่วมฝูง โดยใช้ระดับ ND-HI titers เป็นตัวชี้วัดและทำการตรวจจำนวน 5 ครั้ง โดย 2 ครั้งแรกตรวจหลังการเป็นโรค 17 และ 31 วัน ตามลำดับ พบว่าระดับ HI titers ครั้งแรกจะต่ำกว่าครั้งที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ทั้งนี้เนื่องจากจากการตรวจครั้งแรก ไก่ยังอยู่ในระยะภูมิคุ้มกันถูกกดจากสาเหตุการติดเชื้อ ARV และเมื่อไก่หายป่วยระบบภูมิคุ้มกันกลับคืนสู่สภาพปกติ จึงพบว่าระดับ HI titers ที่ตรวจพบครั้งที่สองมีระดับสูงขึ้นตามปกติ ต่อมาภูมิคุ้มกันจากการทำวัคซีนจะค่อยๆลดลง (Alexander, 1997) ดังจะเห็นได้ว่าระดับ HI titers ของการตรวจครั้งที่ 3 ที่ตรวจเมื่อไก่มีอายุได้ 100 วัน เพื่อประเมิน protective immunity ของไก่ในฝูงก่อนทำวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลซ้ำ (revaccination) ตามกำหนด มี HI titers ระดับต่ำ ระดับ HI titers ของการตรวจครั้งที่สองที่สูงขึ้นนั้นไม่ได้เพิ่มขึ้น

เนื่องจากการติดเชื้อ NDV Rahman *et al.*(2002) ทดลองพบว่าไก่ที่ทำวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล เชื้อเป็นสเตรน clone 30 เมื่ออายุ 10 วัน จะตรวจพบระดับ HI titers เท่ากับ 251.52(±60.10) เมื่อไก่มีอายุ 60 วัน และเมื่อไก่มีอายุได้ 120 วันระดับภูมิคุ้มกันจะลดลงโดยมีระดับ HI titers เท่ากับ 50.30(±17.76) Alexander (1997) กล่าวว่า ไก่ที่ติดเชื้อ NDV และรอดตายจะตรวจพบ ND-HI titers .ในระดับสูงได้นานมากกว่า 1 ปี ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าเชื้อ ARV เป็นสาเหตุสำคัญของภาวะการกดภูมิคุ้มกันไก่ในฝูงแต่เป็นแบบชั่วคราว ไก่ที่ภูมิคุ้มกันถูกกดจะไวต่อการติดเชื้อจุลชีพและการตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคตา (Sharma *et al.*,1994) เมื่อทำการตรวจ HI titers อีก 2 ครั้งหลังทำวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลครั้งที่สองเมื่อไก่มีอายุ 103 วัน พบว่าระดับ HI titers ที่ตรวจครั้งที่ 4 และ 5 ไม่แตกต่างกัน ($P>0.01$) Montgomery *et al.*(1985;1986a) ศึกษาพบว่าเชื้อ ARV หลายสเตรนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของต่อมเบอริช้ำคือทำให้ต่อมเบอริช้ำมีขนาดเล็กลงและยังทำให้การตอบสนองของ ND-HI titers ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ติดเชื้อไวรัส แต่การเปลี่ยนแปลงทั้งโครงสร้างและหน้าที่ของต่อมเบอริช้ำจะเป็นแบบชั่วคราวโดยพบในระยะแรกของการติดเชื้อไวรัส

ไก่ป่วยรายนี้มีระยะเวลาของการเป็นโรคสั้นซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Sharma *et al.* (1994) ที่กล่าวว่าไก่ที่ติดเชื้อ IBDV หรือ ARV จะเป็นโรคแบบเฉียบพลัน (acute disease) ส่วนอาการและความรุนแรงของโรคนั้น ขึ้นกับความรุนแรงของเชื้อไวรัส อายุของสัตว์ป่วย และทางที่เชื้อไวรัสเข้าสู่ร่างกาย ไก่อายุน้อยจะไวต่อการติดเชื้อ

ไวรัสและรุนแรงกว่าไก่อายุมาก (Montgomery *et al.*,1986b; Rosenberger and Olson,1997) ส่วนการควบคุมโรคในฝูงที่พบเชื้อ ARV นั้น เนื่องจากเชื้อ ARV มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมดังนั้นในฝูงที่พบการติดเชื้อไวรัส นอกจากคัดไก่ป่วยทิ้ง ควรใช้ยาฆ่าเชื้อที่มีส่วนประกอบของไฮโอดีน ความเข้มข้น 0.5% กำจัดเชื้อที่มีอยู่ในสภาพแวดล้อม และป้องกันโรคโดยการทำวัคซีนเชื้อเป็นให้ลูกไก่อายุ 1 วัน หรือทำทั้งชนิดเชื้อเป็นและเชื้อตายให้พ่อ-แม่พันธุ์ เพื่อถ่ายทอดแอนติบอดีทาง yolk จะลดอัตราการตายในลูกไก่ แต่ต้องพิจารณาชนิดของวัคซีนว่าเป็นซีโรไทป์เดียวกับเชื้อไวรัสที่ระบาดในพื้นที่ (Rosenberger and Olson,1997)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ Mr.K.T. Lim แห่ง Veterinary Research Institute เมืองอิลิปรี ประเทศมาเลเซีย ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อ avian reovirus สเตรนอ้างอิง S1133 และแอนติซีรัมจำเพาะต่อเชื้อ avian reovirus สเตรนอ้างอิง S1133 และคุณสมศักดิ์ อนันต์ เจ้าหน้าที่กลุ่มงานระบาดวิทยา ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคใต้ที่ช่วยเก็บตัวอย่างซีรัมไก่.

เอกสารอ้างอิง

- จิโรจ ศศิปรียจันทร์ และราตรี วงษ์วัชรดำรง. 2531. การสำรวจภูมิคุ้มเฉพาะต่อเชื้ออีโรวีไวรัสในไก่. สัตวแพทยสาร. 39(3): 101-103.
 ช้องมาศ อันตรเสน และ นิมิตร เชื้อเงิน.2536.

- การวินิจฉัยโรคกัมโบโรโดยวิธีอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์เทคนิค. วารสารสงขลานครินทร์. 15(4): 399-408.
- ชื่องมาศ อันตรเสน วิณา เชื้อเงิน และชวพันธ์ อันตรเสน. 2536. โรคไขลดในไก่ไข่ที่จังหวัด นครศรีธรรมราช. วารสารสงขลานครินทร์. 15(4): 413-421.
- ชื่องมาศ อันตรเสน พรทิพย์พรมเมือง นฤพลพร้อม ขุนทด ลัดดา ตรวงศา ไพโรสน พรมเมือง และสมจิตร์ รุจิขวัญ. 2545. การแยกเชื้อ avian reovirus จากไก่ป่วยในภาคใต้ของประเทศ ไทย. วารสารสงขลานครินทร์ ฉบับ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 24(2): 329-340.
- Alexander, D.J. 1997. Newcastle disease and other avian paramyxoviridae infections. In: Diseases of Poultry. 10th ed. Iowa State University Press. Ames, Iowa. pp. 541-569.
- Bagust, T.J. and Westbury, H.A. 1975. Isolation of reoviruses associated with diseases of chickens in Victoria. Aust. Vet. J. 51: 406-407.
- Czekaj, H., Samorek-Salamonowicz, E. and Kozdrun, W. 1999. Properties of avian reoviruses isolated from chickens in Poland. Bull. Vet. Inst. Pulawy. 43(1): 3-7.
- Dutta, S.K. and Pomeroy, B.S. 1967. Isolation and characterization of an enterovirus from baby chicks having an enteric infection. II. Physical and chemical characteristics and ultrastructure. Avian Dis. 11: 9-15.
- Glass, S.E., Naqi, S.A., Hall, C.F. and Kerr, K.M. 1973. Isolation and characterization of a virus associated with arthritis of chickens. Avian Dis. 17 : 415-424.
- Guneratne, J.R.M., Jones, R.C. and Georgion, K. 1982. Some observations on the isolation and cultivation of avian reoviruses. Avian Pathol. 11: 453-462.
- Heggen-Peay, C.L., Qureshi, M.A., Edens, F.W., Sherrey, B., Wakenell, P.S., Connell, P.H. and Schat, K.A. 2002. Isolation of reovirus from poult enteritis and mortality syndrome and its pathogenicity in turkey poults. Avian Dis. 46: 32-47.
- Hieronymus, D.R.K., Villegas, P. and Kleven, S.H. 1983. Identification and serological differentiation of several reovirus strains isolated from chickens with suspected malabsorption syndrome. Avian Dis. 27(1): 246-254.
- Jones, R.C., Islam, M.R. and Kelly, D.F. 1989. Early pathogenesis of experimental reovirus infection in chickens. Avian Pathol. 18: 239-253.
- Kawamura, A. 1977. Fluorescent Antibody Techniques and Their Application. 2nd ed. University Tokyo Press, Tokyo. pp. 13-76.
- Kawamura, A. and Tsubahara, H. 1966. Common antigenicity of avian reoviruses. Natl. Inst. Anim. Health Quart. 6: 187-193.
- Kerr, K.M. and Olson, N.O. 1969. Pathology of chickens experimentally inoculated or contact-infected with an arthritis-producing virus. Avian Dis. 13: 729-745.
- McNulty, M.S. 1993. Reovirus. In: Virus Infections of Birds. Elsevier Science Publisher Amsterdam. pp. 177-193.

- Montgomery, R.D., Villegas, P., Dawe, D.L. and Brown, J. 1985. Effect of avian reoviruses on lymphoid organ weights and antibody response in chickens. *Avian Dis.* 29(2): 552-560.
- Montgomery, R.D., Villegas, P., Dawe, D.L. and Brown, J. 1986a. A comparison between the effect of an avian reovirus and infectious bursal disease virus on selected aspects of the immune system of the chicken. *Avian Dis.* 30(2): 298-308.
- Montgomery, R.D., Villegas, P. and Kleven, S.H. 1986b. Role of route of exposure, age, sex and type of chicken on the pathogenicity of avian reovirus strain 81-176. *Avian Dis.* 30(3): 460-467..
- Nibert, M.L., Schiff, L.A. and Fields, B.N. 1996. Reoviruses and their replication. In: *Fields Virology*. Volume 2. 3rd ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, New York. pp.1557-1596.
- Pastoret, P-P., Griebel, P., Bazin, H. and Govaerts, A. 1998. Avian Immunology. In: *Handbook of Vertebrate Immunology*. Academic Press, London. pp. 73-136.
- Rahman, M.M., Bari, A.S.M., Giasuddin, M. Islam, M.R. and Sil, G.C. 2002. Evaluation of maternal and humoral immunity against Newcastle disease virus in chicken. *International Journal of Poultry Science*. 1(5): 161-163.
- Robertson, M.D. and Wilcox, G.E. 1986. Avian Reovirus. *Vet. Bulletin.* 56(3) : 155-175.
- Rosenberger, J.K. and Olson, N.O. 1997. Viral arthritis. In: *Diseases of Poultry*. 10th ed. Iowa State University Press. Ames, Iowa. pp. 711-719.
- Rosenberger, J.K., Olson, N.O. and van der Heide, L. 1998. Viral arthritis/tenosynovitis and other reovirus infections. In: *A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens*. 4th ed., American Association of Avian Pathologists. Rose Printing, Tallahassee, Florida. pp. 207-210.
- Sharma, J.M., Karaca, K. and Pertile, T. 1994. Virus-induced immunosuppression in chickens. *Poultry Sci.* 73: 1082-1086.
- Shortridge, K.F., Allan, W.H. and Alexander, D.J. 1982. Newcastle disease laboratory diagnosis and vaccine evaluation. Hong Kong University Press, Hong Kong. 53 pages.
- Tang, K.N., Fletcher, O.J., and Villegas, P. 1987. Comparative study of the pathogenicity of avian reoviruses. *Avian Dis.* 31: 577-583.
- Tyler, K.L. and Fields, B.N. 1996. Reoviruses. In : *Fields Virology*. Volumn 2. 3rd ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, New York. p.1597-1623.
- van der Heide, L. 1977. Viral arthritis/tenosynovitis : a review. *Avian Pathol.* 6: 271-284.

เปรียบเทียบผลของกลุ่มยาปฏิชีวนะในน้ำเชื้อโคแช่แข็ง ต่อการเจริญของตัวอ่อนโดยการปฏิสนธินอกร่างกาย Effect of two different antibiotic groups in frozen bovine semen on *in vitro* produced embryo.

สุรจิต ทองสอดแสง¹ สัมพันธ์ สิงหจันทร์²
Surachit Thongsodsaseng, Sumphan Singhachun.

ABSTRACT

This study was conducted to compare the effect of two different antibiotic groups, group1(PS): Penicillin and Streptomycin and group2(GTLS):Gentamycin, Tylosin, Lincomycin and Spectinomycin, in bovine frozen semen on *in vitro* produced embryonic development. Cumulus-oocyte-complexes(COC) were recovered from slaughtered cattle ovaries. Groups of 10 COC each were washed successively 10 times and washed medium was tested for any pathogenic bacteria, Ureaplasma and Mycoplasma contamination. Any groups of COC with positive test result would not be included in statistical analysis. COC were *in vitro* matured and then were randomly divided into 2 groups. The first group (PS) was inseminated by bovine semen mixed with PS and the second group (GTLS) was inseminated by semen mixed with GTLS. After IVF Embryos were cultured for another 7 days and their developmental competency was assessed. The result indicated that embryos at cleavage stage (48.11 VS 49.05) and morular/blastocystic stage (16.33VS16.48) between PS and GTLS groups, respectively exhibited no significant difference ($P>0.05$).

Keyword : Antibiotic, Bovine frozen semen, IVF

1 Department of Livestock Development, Phya Thai, Bangkok 10400.

กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

2 Technology Mahanakorn University Mahanakorn University

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้เพื่อเปรียบเทียบผลของยาปฏิชีวนะ 2 กลุ่มที่ผสมในน้ำเชื้อโคแช่แข็ง คือกลุ่มที่ 1 (PS) Penicillin และ Streptomycin กับกลุ่มที่ 2 (GTLS) คือ Gentamycin, Tylosin, Lincomycin และ Spectinomycin ต่อตัวอ่อนระยะ 2 เซลล์ และมอรร่าหรือบลาสโตซิสต์ โดยวิธีการปฏิสนธินอกร่างกาย (IVF) นำไข่อ่อนที่มีคูมูลัสเซลล์ล้อมรอบ 3 ชั้น (COC) จากรังไข่ที่เก็บจากโรงฆ่าสัตว์ เข้าขบวนการเพาะเลี้ยงให้ไข่อ่อนเจริญถึงขั้นพร้อมปฏิสนธิ (IVF) แล้วแบ่งไข่ที่ผ่าน IVF เป็น 2 กลุ่มเท่าๆกัน เพื่อเข้ากระบวนการปฏิสนธินอกร่างกาย (IVF) โดยกลุ่มที่ 1 ผสมกับน้ำเชื้อแข็งโคที่ผสม PS และกลุ่มที่ 2 ผสมกับ (GTLS) จากนั้นเพาะเลี้ยงตัวอ่อนต่อไป 7 วัน ซึ่งพบว่า จำนวนตัวอ่อนที่เจริญสู่ระยะ 2 เซลล์ (48.11VS 49.05) และมอรร่าหรือบลาสโตซิสต์ (16.33 VS 16.48) ในกลุ่ม PS และกลุ่ม GTLS ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) งานวิจัยครั้งนี้เพื่อเป็นการรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับการควบคุมเชื้อแบคทีเรีย มัยโคพลาสมา ยูเรีย พลาสมา ด้วยยาปฏิชีวนะชนิดต่างๆ ที่ใส่ลงในยาละลายน้ำเชื้อ และศึกษาผลข้างเคียง

คำสำคัญ : ยาปฏิชีวนะ น้ำเชื้อโคแช่แข็ง IVF

INTRODUCTION

Infertility and uterine inflammation happen when dairy cows are inseminated with contaminated semen such as the positive or negative bacteria; Mycoplasmas and Ureaplasma (Afshar, 1975; Eaglesome, et al., 1992; Kirbride, 1987). Infectious microbes primarily caused the impairment in reproductive organs of dairy cows and resulting in infertility, early embryonic death and abortion. In 1967 Erno et al., found that Mycoplasma bovis and Mycoplasmas bovigenitalium were the cause of infertility and abortion. Using contaminated semen in a dairy herd, the pregnancy rate was lower than the usual pregnancy rate in mating season (Gaines et al., 1988). Although there was 94% of Ureaplasma diversum in semen, it's

quality and Sires' health were not impaired. (Yokoki et al., 1985) Shin et al., (1988) showed that four antibiotics such as Gentamycin, Tylosin, Lincomycin and Spectinomycin (GTLS) could be used together to control the population of Mycoplasmas and Ureaplasma in semen. At the Bull Center, belonged to the Department of Livestock Development, Penicillin and Streptomycin (PS) have been used in semen processing. In 1996 Mycoplasmas and Ureaplasma were found in Thai bovine semen by Ratanapaskon et al., Then GTLS would be chosen instead of PS in deep frozen semen processing in the Bull Center. This study was conducted to compare the effect of two different antibiotic groups: group1(PS) and group2(GTLS) in bovine frozen semen on *in vitro* produced embryonic development.

MATERIALS AND METHODS

Semen preparation

Semen was collected from 6 Holstein bulls using artificial vagina. Collected semen from each bull was diluted with egg-yolk tris glycol extender (semen:extender as 1:5). Then it was equally divided into 2 portions, the first portion (PS) was mixed with Penicillin 1,000 i.u./ml and Streptomycin 1,000 µg/ml and the second one (GTLS) was mixed with Gentamycin 250 µg/ml, Tylosin 50 µg/ml, Lincomycin 150 µg/ml and Spectinomycin 300 µg/ml. The both mixed semen in 0.25ml. straws were cryopreserved by Paillete Technique

(Dieten,1976). Frozen semen samples were randomly determined for motility and morphology quality examination according to Largerof, 1962. (Table 1). They were also randomly tested for pathogenic bacterial contamination by Primary test and Secodary test (Cowan and Steel,1974). For Mycoplasma test, semen sample was cultured in Hayflick medium for 7 days then cultured in Hayflick agar at 37°C, 5%CO₂. After that the Mycoplasma species was identified by Polymerase chain reaction (Kobayashi et al.,1998). And for Ureaplasma test, semen sample was cultured in Taylor-Robinson medium according to method of Tanticharoenyos et al.,1999.(Table2). Only one

Table 1 The average after thawing motility of the two groups of sperm sample added by Penicillin 1,000 iu/ml and Streptomycin 1,000 µg/ml in group 1 and by 2Gentamycin 250 µg/ml, Tylosin 50 µg/ml, Lincomycin 150 µg/ml and Spectinomycin 300 µg/ml

| Sires | The sperm motility rate (%) | |
|---------------|-----------------------------|-------------------|
| | PS ¹ | GTLS ² |
| 1 | 48 | 45 |
| 2 | 47 | 44 |
| 3 | 47 | 42 |
| 4 | 45 | 43 |
| 5 | 43 | 44 |
| 6 | 51 | 46 |
| Total average | 46.8 | 44.0 |

¹ Penicillin 1,000 iu/ml and Streptomycin 1,000 µg/ml

² Gentamycin 250 µg/ml, Tylosin 50 µg/ml, Lincomycin 150 µg/ml and Spectinomycin 300 µg/ml

semen batch yielded best quality of after-thawed motility and morphology as well as negative test results of Pathogenic bacteria, Ureaplasma and Mycoplasma was used for *in vitro* fertilization in this experiment.

Oocytes recovery and *in vitro* maturation

(IVM) Bovine ovaries were obtained from abattoir and immatured oocytes were collected according to Yiengvisavakul et al, 1999. In brief, ovaries were transported to the laboratory in 35°C physiological saline (0.9% w/v NaCl) in an insulated container within 3 hours of recovery. The ovaries were washed twice in fresh PBS prior oocyte collection.

The ovarian surfaces were sliced in a checker-board pattern with a sterile razor blade then oocytes were released by shaking the sliced ovary in oocyte collecting medium. Cumulus-oocyte-complexes(COC), immatured oocytes surrounded by at least 3 layers of compact follicular cells, were picked up under stereomicroscope. COC washing procedure used in this study, based on the methodology recommended by the International Embryo Transfer Society (IETS) (Stringfellow and Seidel, 1990). Each group of 10 COC was washed 10 times successively in Dulbecco-PBS. All 10 washed medium of each group were pooled, centrifuged and the sediment was cultured for

Table 2 The numble of Ureaplasma (CCU/ml)¹ and Mycoplasmas (CFU/ml)² in the fresh semen and frozen treated with PS and GTLS.

| sires | Fresh semen | | Frozen semen | | | |
|-------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------|------------|
| | Ureaplasma | Mycoplasma | PS ³ | | GTLS ⁴ | |
| | Ureaplasma | Mycoplasma | Ureaplasma | Mycoplasma | Ureaplasma | Mycoplasma |
| 1 | 10 ⁴ | 10 ³ | 10 ³ | - | - | - |
| 2 | 10 ⁵ | 10 ⁴ | 10 ⁵ | - | - | - |
| 3 | 10 ⁷ | 10 ³ | 10 ⁵ | 10 | - | - |
| 4 | - | - | - | - | - | - |
| 5 | 10 ⁶ | 10 ⁴ | 10 ⁵ | 10 ⁴ | - | - |
| 6 | - | - | - | - | - | - |

¹ CCU/ml color changing unit

² CFU/ml colony forming unit

³ Penicilin 1,000 iu/ml Streptomycin 1,000 µg/ml

⁴ Gentamycin 250 µg/ml, Tylosin 50 µg/ml, Lincomycin 150 µg/ml Spectinomycin 300 µg/ml

isolation of pathogenic bacteria, Ureaplasma and Mycoplasma (Riddell et al, 1989; Cowan and Steel, 1974; Kobayashi et al., 1988 and Tanticharoenyos et al., 1999). The washed COC were *in vitro* matured (IVM) in TCM-199, 5% fetal bovine serum (Mycoplasma screened, virus screened, Gibco BRL, Life Technologies), 38°C, 5%CO₂, 20-22 hours (Yiengvisavakul et al,1997). However, any groups of COC used in *in vitro* fertilization (IVF) were not included in statistical analysis if their washed medium cultures showed positive results of any of pathogenic bacteria or Ureaplasma or Mycoplasma.

***In vitro* fertilization (IVF) and *in vitro* culture (IVC)** The IVM oocytes were randomly

divided into 2 groups and were inseminated by semen freed of any of pathogenic bacteria or Ureaplasma or Mycoplasma as mentioned earlier. The group 1 IVM oocytes (PS) was *in vitro* fertilized by the semen mixed with Penicillin and Streptomycin while the group 2 (GTLS) was *in vitro* fertilized by the semen mixed with Gentamycin, Tylosin, Lincomycin and Spectinomycin. A method of swim-up described previously (Bielanski and Loewen,1994) was used to prepare spermatozoa for IVF. The IVM oocytes were *in vitro* fertilized with approximately 1×10⁶sperm/ml in IVF-TALP, incubated at 38°C°, 5%CO₂, 18 hours. After IVF the embryos were cultured for another 7 days in TCM-199, 38°C°, 5%CO₂ (Xu et al.,1992). The embryonic development at cleavage stage (2-cell) was

Table 3 The stage of embryos after being *in vitro* fertilized by semen from the two groups added with different antibiotics.

| Antibiotics | Embryo at the stage of two cells (%) | Embryo at the stage of Morula or Blastocyst (%) |
|-------------------|--|---|
| PS ¹ | 84.11 ^a (n=240) ³ | 16.33 ^b (n=111) ⁴ |
| GTLS ² | 49.05 ^a (n=240) ³ | 16.48 ^b (n=117) ⁴ |
| Mean | 48.59 | 16.40 |

¹ Penicillin 1,000 iu/ml และ Streptomycin 1,000 µg/ml

² Gentamycin 250 µg/ml, Tylosin 50 µg/ml, Lincomycin 150 µg/ml และ Spectinomycin 300 µg/ml

³ the number of fertilized eggs.

⁴ the number of embryos at the stage of two cells.

^{ab} No significant difference in the same column (P>0.05).

determined 72 hours after insemination while morular/blastocyst stage were assessed on day 7 after insemination (Kanagawa et al., 1995). The experiments were repeated 5 times and data of embryonic developmental competency was analyzed using t-test (IRRISTAT, version3/93, Biometric Unit, International Rice Research Institute, Philippines).

RESULTS AND DISCUSSION.

The sperm after thawing in the first group added with PS had 46.8% of motility rate litter higher than the second one that had only 44.0% (Table 1). Both groups had the same quality and higher than 40% of the standard. The efficacy of GTLS was completely higher than PS when compared with the colony count of Mycoplasmas and Ureaplasma 100% Vs 50% (Table 2).

To check the effect of GLTS and PS added in semen on the quality of sperm by using fertility rate, the method of *IVF* was applied to the experiment 2. In this experiment, semen with Mycoplasmas and Ureaplasma were used in the fertility test. There was a report of Kirbirde in 1987 and a report of Eaglesome in 1992 indicated that Mycoplasmas and Ureaplasma had the effect on fertility if they contaminated in semen.

The results of the experiment 2 were shown in Table3. The number of embryos at the stage of two cells and at the stage of Morula or Blastocyst in both groups added with PS and GTLS

were not significantly different; 48.11 Vs 49.05; 16.33 Vs 16.48 respectively ($P > 0.05$). There was a report from Bielanski et al, 1999 that the contaminated semen with Mycoplasma causes lower number of embryos at the stage of Blastocyst that the semen without this microorganism when used in *IVF*

There was evidence by scanning with an electron microscope that this microorganism attached to sperm's acrosome and tail (Busolo et al., 1984). It was also found that Mycoplasmas could invade into sperm cells or embryos and thus could survive. (Riddle et al., 1989; Kalugden et al., 1996) From those reports, the cause of early embryonic death was due to Mycoplasmas and Ureaplasma. To control any pathogenic bacteria in semen including Mycoplasmas and Ureaplasma efficiently, GTLS was better than PS (Shin et al., 1988 and Bousseau et al., 1998).

REFERENCES

- Afsha, A. 1975. Diseases of bovine reproduction associated with Mycoplasma infections. Vet Bull 45 : 211-216.
- Bielanski A., J., and Loewen, K. 1994. In vitro fertilization of bovine oocytes with semen from bulls persistently infected with bovine viral diarrhea virus. Anim. Reprod. Sci. 1994:35:183-189
- Bielanski A., J., Devenish, and B. Phipps-Todd. 1999. Effect of Mycoplasma bevis and Myco-

- plasmas bovigentalium in semen on fertilization and association with *in vitro* produced morular and blastocyst stage embryos. Theriogenology 53 : 1213-1233.
- Bousseau S., J. P, Brillard, B. Marquant-Le Guiene, A., Camus. And M. Llechaet. 1998. Comparision of bacteriocidal qualities of various egg-yolk sources and the *in vitro* and *in vivo* fertilizing potential of bovine semen frozen in egg yolk or lecithin based diluents. Theriogenology. 50 : 699-706.
- Busolo F, R., Zanchetta, and Bertoloni, G. 1984. Bertoloni Mycoplasmastic localization patterns on spermatozoa from infertile men. Fert.Streil 42 :412-417.
- Cowan, S. T. and K. J. Steel. 1974. In: Manual for the identification of medical bacteria 2nd Cambridge University Press
- Eaglesome, M. D., M. M., Garcia, and R. B. Stewart. 1992. Microbial agents associated with bovine genital tract infection and semen. Part II Vet Bull. 62 : 887-910.
- Erno, H., W. N., Plastridge, and M. E. Tourtellottle. 1967. Mycoplasmas: Isolation from prepuce and semen of bull. Acta. Vet. Scand. 8 :123-125.
- Gaines, J. D., C. L. Smith, and W. T. K. Bosu. 1988. Isolation of Ureaplasma in two beef cow herds. Agri-Practice 9(2): 19-22.
- Kalugdan. T., P. J., I. M., Ahan Seraj, and A. King. 1996. Polymerase chain reaction enzyme-linked immuno-sorbent assay detection of mecoplasma consensus gene in sperm with low oocyte penetration capacity. Fertil Steril. ; 796-797.
- Kanagawa H., I., Shimohira, and , N. Saitoh 1995. Manual of Bovine Embryo Transfer. Japan Livestock Technology Association.
- Kirbride, C. A. 1987. Mycoplasmas, Ureaplasma, and acholeplasma infection of bovine genitalia. Vet Clin N. Am. Food Amin Pract 3 : 575-591.
- Kobayashi, H., K., A. Hirose, P. Worarach, Ito, N. Paugtes, Ito, N., T., Morozumi., and K. Yamamoto. 1998. In Vitro Amplification of the 16S rRNA Genes from Mycoplasmas bovirhinitis, Mycoplasmas alkalescens and Mycoplasmas bovigentalium by PCR . J. Vet. Med Sci. 60(12)1299-1303.
- Lagerlof, N.1963. Thirty years' experiences with a sperm laboratory for domestic animals. Zootec.e Vet. 17:343-348.
- Ratanapaskon, M., R., Ua-vechnikul, J., Suwimonteerabutr, and P. Virakul, 1996. Bacterial in bull's ejaculate and the use of antibacterial agents in deep frozen semen. The Thai Journal of Veterinary Medicine. 26(4) :369-378.
- Riddel, K. P., D.A., Stringfellow, and V.S. , Panangala, 1989. Interaction of Mycoplasmas bovis and Mycoplasmas bovigentilium with preimplantation embryos. Theriogenology. 32:633-641.
- Shin, S. J., D. H., Lein, V. H., Patten, and H. L.

- Ruhnke, 1988. A new antibiotic combination for Frozen bovine semen. I. Control of mycoplasmas, ureaplasma, Campylobacter fetus subsp. venerealis and Haemophilus Sommus. Theriogenology 1988. 29:577-591
- Stringfellow, D. A. and Seidel, S.M. 1990. Manual of the International Embryo Transfer Society : A procedural guide and general informal for the use of embryo transfer technology, emphasizing sanitary precautions. The Second Edition.
- Tanticharoenyos, T., M., A. Ratanapaskon, Worarach, and V. Narongsak, 1999. Isolation of Ureaplasmas from bulls semen and preputal washing. Thai J. Vet. Med. 29.(3):53-60.
- Van Dieten (1976). Paillete technique: **In:** Live-stock improvement by means of artificial insemination. N.J.Philips Gloeilampenfabrieken
- Xu, K. P., B. R., Yadar, R. W., Rorie, , L., K. J. PlunetBetteridge, and W. A. King, 1992. Development and viability of bovine embryos derived from oocytes matured and fertilized *in vitro* and co-cultured with bovine oviductal epithelial cells. J. Reprod. Fertil. : 94:33-43.
- Yiengvisavakul, V., M. Apimeteetumrong, and Sukwongs, Y. 1997. Preliminary study on *In Vitro* production of bovine blastocysts. The 35 th Kasetsart University Annual Conference. : 475-746.
- Yiengvisavakul, V., S., N., Songsasern, and Apimeteetumrong, M. 1999. Effects of Heparin Concentrations on *In Vitro* fertilization of swamp buffalo. The 37 th Kasetsart University Annual Conference: 345-350.
- Yokoki, Y., K., Hashimoto, and A. Ogasa, 1985. Effect of Ureaplasma diversum of motility and morphology of bull spermatozoa. Bulletin of the Nal. Insti. of Anim. Health. 88 :7-15.

ประสิทธิภาพของวัคซีนฝีดาษไก่และนกพิราบเชื้อเป็น
สำหรับป้องกันการติดเชื้อไวรัสฝีดาษนกกระทาสายพันธุ์
NK992/43

Experimental Assessment of Live Virus Fowl Pox and
Pigeon Pox Vaccines for Control of Quail Pox Virus
NK992/43 Isolate

นฤพล พร้อมขุนทด ช้องมาศ อันตรเสน พรทิพย์ พรหมเมือง
อัญญรัตน์ ทิพย์ธารา และไพรสน พรหมเมือง
Naruepol Promkuntod, Chongmas antarasena, Porntip Prommuang,
Anyarat Thiptara and Praison Prommuang

Abstract

Eighty 8-week-old Japanese quails were divided into 4 groups of 20 each. Three kinds of commercial live virus avipox vaccines were separately immunized in quails with fowl pox (Weybridge and Gibbs strains) and pigeon pox (attenuate strain), respectively and the control group was applied with normal saline. The major objective of this study was to assess the cross-protection between each of these vaccine strains and the quail poxvirus NK992/43 isolate obtained from the south of Thailand. By exhibiting typical pox infection after challenge, their immunities were challenged 14 days post-vaccination with the quail poxvirus. The percentages of vaccinated quails protected following challenge were 25% in the group that was immunized with fowl pox Weybridge strain and 85-90% both in the remaining groups. Based upon this assessment, it could be concluded that the Weybridge strain of fowl pox vaccine did not offer significant protection against challenge. Conversely, fowl pox (Gibbs strain) and pigeon pox vaccines were

excellent protectable from challenge (>80%) due to these vaccine strains could share immunologic relationship with the quail poxvirus NK992/43 isolate. Moreover, quail pox vaccine is not be used commercially in Thailand, thus, both fowl pox (Gibbs strain) and pigeon pox vaccines tested may be good vaccine candidates for control of quail pox virus NK992/43 isolate obtained from the south of Thailand.

Keywords: Japanese quail, quail poxvirus, fowl pox vaccine, pigeon pox vaccine, cross-protection

บทคัดย่อ

ศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนเชื้อเป็นโรคฝีดาษในสัตว์ปีก 3 ชนิด ที่ผลิตและจำหน่ายในรูปการค้าเพื่อใช้ป้องกันการติดเชื้อไวรัสฝีดาษนกกระทาสายพันธุ์ NK992/43 ที่แยกได้จากนกกระทาไซ (Japanese quail) ในภาคใต้ของประเทศไทย โดยแบ่งนกกระทาอายุ 8 สัปดาห์เป็น 4 กลุ่มๆละ 20 ตัว ทำวัคซีนในนกกระทาจำนวน 3 กลุ่ม แต่ละกลุ่มให้วัคซีน 1 ชนิด ส่วนกลุ่มควบคุมใช้วิธีฉีดสารละลายน้ำเกลือ อีก 14 วันต่อมาจึงฉีดเชื้อพิษทับด้วยเชื้อไวรัสท้องที่ฝีดาษนกกระทาเพื่อศึกษาความคุ้มโรคข้ามกันโดยตรวจลักษณะการเกิดรอยโรคของโรคฝีดาษพบว่านกกระทากลุ่มแรกที่ทำวัคซีนฝีดาษไก่สายพันธุ์ Weybridge ซึ่งเป็นชนิดที่ผลิตในประเทศไทยมีความคุ้มโรค 25% ส่วนนกกระทากลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 3 ทำวัคซีนฝีดาษไก่สายพันธุ์ Gibbs และวัคซีนฝีดาษนกพิราบซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ถูกทำให้อ่อนกำลังลงตามลำดับ โดยวัคซีนทั้งสองผลิตจากต่างประเทศมีความคุ้มโรค 85-90% เท่ากัน โดยอยู่ในระดับที่สามารถป้องกันการติดเชื้อได้ (มากกว่า 80%) ขณะที่ในปัจจุบันประเทศไทยยังไม่มีการใช้วัคซีนฝีดาษสำหรับนกกระทาโดยเฉพาะ ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสามารถนำทั้งวัคซีนฝีดาษไก่สายพันธุ์ Gibbs หรือวัคซีนฝีดาษนกพิราบ มาใช้ป้องกันการติดเชื้อไวรัสฝีดาษนกกระทาสายพันธุ์ NK992/43 ที่แยกได้จากภาคใต้ของประเทศไทยได้

คำสำคัญ : นกกระทา, เชื้อไวรัสฝีดาษนกกระทา, วัคซีนฝีดาษไก่, วัคซีนฝีดาษนกพิราบ, ความคุ้มโรคข้ามกัน

คำนำ

โรคฝีดาษในสัตว์ปีกเกิดจากการติดเชื้อไวรัสใน Genus Avipoxvirus พบได้ทั้งในสัตว์ปีกเลี้ยงและสัตว์ปีกป่ามากกว่า 60 ชนิด (Tripathy and Reed 1998; Bolte *et al.*, 1999) แต่มักไม่ก่อให้เกิดความสูญเสียอย่างรุนแรง ยกเว้นในกรณีการเลี้ยงปล่อยตามธรรมชาติจะมีโอกาสติดเชื้ออย่างรุนแรงได้เนื่องจากการสุขาภิบาลที่ไม่ดี เชื้อไวรัส

จึงสามารถผ่านเข้าทางบาดแผลได้ง่ายและมีแมลงดูดเลือด เช่น ยุง ริ้น เป็นพาหะสำคัญในการนำโรค หรืออาจเนื่องจากการติดเชื้อแบบ diphtheritic form และ/หรือมีการติดเชื้อไวรัสและแบคทีเรียอื่นๆแทรกซ้อน ทำให้โรคทวีความรุนแรงมากยิ่งขึ้น (Tripathy and Reed, 1997) ส่วนในกรณีการเลี้ยงเป็นระบบฟาร์มมักไม่ค่อยพบปัญหาการระบาดของโรคเพราะมีการใช้วัคซีนป้องกันโรคชนิดที่เหมาะสม โดยมักใช้วัคซีน

ฝัดาษจากเชื้อไวรัสที่จำเพาะกับชนิดของสัตว์(host specific) หรือวัคซีนชนิดรวมหลายสปีชีส์ (multivalent vaccine)

เนื่องจากเชื้อไวรัสโรคฝัดาษบางชนิด เช่น fowl pox, pigeon pox, turkey pox และ canary pox มีความสัมพันธ์ทาง antigenicity ต่อกัน โดยพบว่าไก่สามารถติดเชื้อ pigeon pox ได้แต่แสดงอาการไม่รุนแรง ในทางกลับกันไก่สามารถสร้างภูมิคุ้มโรคต่อเชื้อ pigeon pox ได้ (เกรียงศักดิ์, 2536; Tripathy and Reed, 1997) หรืออีกกรณีหนึ่งเช่น มีการศึกษาพบความแตกต่างกันทาง antigenicity ระหว่าง psittacine pox กับ mynah pox จึงเป็นสาเหตุให้นกทั้งสองชนิดนี้ไม่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันข้ามกันต่อการติดเชื้อไวรัสทั้งสองได้ (Boosinger et al., 1982; Reed and Fatunmbi, 1993)

มีรายงานหลายฉบับได้กล่าวถึงประสิทธิภาพของวัคซีนฝัดาษสัตว์ปีกต่างชนิดกันเพื่อศึกษาหรือนำมาใช้ป้องกันการติดเชื้อข้ามกัน ซึ่งมีทั้งวัคซีนที่มีประสิทธิภาพในการสร้างภูมิคุ้มกันข้ามกันได้และวัคซีนอีกหลายชนิดที่ไม่สามารถกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันข้ามกัน นฤพล และคณะ (2544) รายงานการแยกเชื้อไวรัสฝัดาษในเป็ดกากี และทดสอบความคุ้มโรคในเป็ดโดยใช้วัคซีนฝัดาษไก่ซึ่งพบว่าวัคซีนฝัดาษไก่ไม่คุ้มโรคต่อการติดเชื้อฝัดาษเป็ด Hertig et al. (1997) และ Singh et al. (2000) รายงานการอุบัติซ้ำของโรคฝัดาษในฟาร์มไก่ที่มีประวัติเคยทำวัคซีนป้องกันโรคนี้ ซึ่งคาดว่าอาจเกิดจากความแปรปรวนทางพันธุกรรม (genetic variation) ของเชื้อไวรัสหรือมีเชื้อไวรัสชนิดอื่น เช่น reticuloendotheliosis virus (REV) เข้าไปอยู่เป็นส่วนประกอบในอีโนมของ fowl pox virus ทำให้ลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสเปลี่ยนไป เชื้อไวรัสฝัดาษจึงอาจมีความรุนแรงมากยิ่งขึ้น

นอกจากนี้ Tripathy et al. (1975) และ Fatunmbi et al. (1995) รายงานการตรวจพบเชื้อ herpes virus ในนิวเคลียสร่วมกับเชื้อ fowl pox virus ในไซโตพลาสซึมของเซลล์เดียวกัน จึงอาจเป็นไปได้ว่าเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดนี้มีการแลกเปลี่ยนยีนต่อกัน ทำให้คุณสมบัติของเชื้อไวรัสเปลี่ยนแปลงไป หรือเชื้อไวรัสที่แปลกปลอมนี้อาจไปเสริม (enhancement) ให้พยาธิกำเนิดของโรคฝัดาษรุนแรงมากยิ่งขึ้นทำให้การใช้วัคซีนไม่ได้ผลดีเท่าที่ควร นอกจากนี้กรณีวิธีการทำวัคซีนที่ไม่ถูกต้องหรือเหมาะสมยังเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้การทำวัคซีนไม่สามารถคุ้มโรคจากการระบาดในท้องที่ หรือจากการติดเชื้อซ้ำได้ (Fatunmbi and Reed, 1996a และ Fatunmbi and Reed, 1996b)

ในประเทศไทยมีการเลี้ยงนกกระทากระจายอยู่ทั่วไปในทุกภาคของประเทศ ส่วนใหญ่เป็นนกกระทาพันธุ์ญี่ปุ่น (Japanese quail, *Coturnix coturnix japonica*) จุดประสงค์หลักของการเลี้ยงคือเพื่อบริโภคไข่ ฟาร์มนกกระทาในประเทศไทยบางแห่งมีการนำวัคซีนฝัดาษไก่มาใช้ป้องกันโรคซึ่งให้ผลดี นฤพล และคณะ (2545) รายงานการแยกเชื้อไวรัสฝัดาษนกกระทาในภาคใต้ของประเทศและทดสอบการติดเชื้อข้ามกันในสัตว์ทดลอง พบว่าเชื้อไวรัสฝัดาษนกกระทาสามารถทำให้ไก่เป็นโรคได้แต่แสดงอาการไม่รุนแรง และยังคงศึกษาพบว่านกกระทาสามารถติดเชื้อไวรัสฝัดาษไก่ได้

ปัจจุบันในประเทศไทยยังไม่มีวัคซีนฝัดาษสำหรับใช้ในนกกระทาโดยเฉพาะ ดังนั้นจุดประสงค์ของการศึกษาและทดลองครั้งนี้เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางภูมิคุ้มกัน (immunologic relationship) ระหว่างเชื้อไวรัสฝัดาษนกกระทาที่แยกได้ในภาคใต้ของประเทศไทยกับวัคซีนฝัดาษไก่ 2 สายพันธุ์ และวัคซีนฝัดาษนกพิราบ เพื่อ

เป็นแนวทางในการใช้หรือเตรียมวัคซีนสำหรับป้องกันโรคฝีดาษนกกระทาโดยเฉพาะ

อุปกรณ์และวิธีการ

นกกระทาทดลอง

นกกระทาทดลอง (Japanese quail) อายุ 8 สัปดาห์ คณะเพศ จำนวน 80 ตัว จากฟาร์มเอกชนที่ไม่เคยมีประวัติการทำวัคซีนและการระบาดของโรคฝีดาษมาก่อน นำมาเลี้ยงในคอกสัตว์ทดลองของศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคใต้ เป็นระบบกรงแยกและกางมุ้งรอบโรงเรือน ให้อาหารสำเร็จรูปสูตรสำหรับนกกระทาและน้ำดื่มโดยไม่จำกัดจำนวน

เชื้อไวรัส

เตรียม 20% quail pox virus-infected CAM suspension สายพันธุ์ NK992/43 ที่แยกได้จากวิธีการตุ้มหมูบนผิวหนังบริเวณแข้งและนิ้วเท้าของนกกระทาหลังผ่านการแยกเชื้อในไข่ไก่ที่พักมาแล้ว 2 ครั้ง (มีไวรัสไตเตอร์เท่ากับ 3×10^7 pock-forming unit/มล.) (นฤพล และคณะ 2545) ใช้เป็นตัวอย่างเชื้อไวรัสสำหรับฉีดเชื้อพิษหับ

วัคซีน

ใช้วัคซีนฝีดาษไก่เชื้อเป็นจำนวน 2 ชนิด และวัคซีนป้องกันโรคฝีดาษนกพิราบจำนวน 1 ชนิด ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ชนิดที่ 1 เป็นวัคซีนฝีดาษไก่สายพันธุ์ Weybridge มีไวรัสไตเตอร์ไม่น้อยกว่า 10^2 EID₅₀/มล. ซึ่งผลิตในประเทศไทย ส่วนชนิดที่ 2 และ 3 เป็นวัคซีนที่ผลิตจากต่างประเทศ ได้แก่ วัคซีนฝีดาษไก่สายพันธุ์ Gibbs*

และวัคซีนฝีดาษนกพิราบสายพันธุ์ที่ถูกทำให้อ่อนกำลังลง* มีไวรัสไตเตอร์ไม่น้อยกว่า $10^{2.8}$ และ $10^{5.6}$ EID₅₀/มล. ตามลำดับ

แผนการทดลอง

แบ่งนกกระทาเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 20 ตัว กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมไม่ทำวัคซีน กลุ่มที่ 2, 3 และ 4 เป็นกลุ่มทำวัคซีนฝีดาษไก่สายพันธุ์ Weybridge, สายพันธุ์ Gibbs และวัคซีนฝีดาษนกพิราบ ตามลำดับ การทำวัคซีนฝีดาษไก่ใช้วิธีแทงใต้ปีกขวา 2 ครั้ง ส่วนการทำวัคซีนฝีดาษนกพิราบในนกกระทาตัดแปลงโดยใช้วิธีดึงขนบริเวณโคนขาขวา ขนาดพื้นที่ประมาณ 1 ตร.ซม. จากนั้นใช้ปรองจุ่มวัคซีนและถูบริเวณที่ดึงขนออกตามวิธีที่แนะนำโดยผู้ผลิต เลี้ยงนกกระทาและสังเกตรอยโรคหลังการทำวัคซีนนาน 14 วัน จึงฉีดเชื้อพิษหับโดยใช้ cotton swab จุ่มใน 20% quail pox virus-infected CAM suspension ถูบริเวณมุมปากทั้งสองด้านและโคนขาด้านซ้ายที่ดึงขนออกแล้วและขูดให้เกิดแผลตามวิธีการของ Winterfield and Reed (1985) และ Reed and Schrader (1989) ในปริมาณตำแหน่งละ 20-25 μ l. ในนกกระทาทดลอง เลี้ยงนกกระทาและสังเกตอาการติดต่อกันนาน 1 เดือน หลังฉีดเชื้อพิษหับ

ผล

หลังการทำวัคซีนในนกกระทาทดลองทั้ง 3 กลุ่ม ตรวจพบรอยโรคมีลักษณะเป็นแผลตุ้มหมู และมีสะเก็ด เรียกรอยโรคเฉพาะนี้ว่า “vaccine take” (Tripathy and Reed, 1997) (Figure 1) ซึ่งพบในนกกระทากลุ่มที่ทำวัคซีนฝีดาษไก่สายพันธุ์

* NOBILIS® INTERVET INTERNATIONAL B.V., Boxmeer, the Netherlands

Weybridge จำนวน 90% (18/20) สำหรับกลุ่มที่ทำวัคซีนฝีดาษไก่สายพันธุ์ Gibbs และกลุ่มที่ทำวัคซีนฝีดาษนกพิราบตรวจพบรอยโรคจำนวน 85% (17/20) และ 95% (19/20) ตามลำดับ พบรอยโรคเหล่านี้ตั้งแต่วันที่ 4 และ 5 เป็นต้นไป และหายไประหว่าง 8-10 วัน หลังการทำวัคซีน

ตรวจพบรอยโรคฝีดาษในวันที่ 5-7 หลังการฉีดเชื้อพิษทัปในนกกระทาทดลองทั้ง 4 กลุ่ม โดยในนกกระทากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ทำวัคซีนฝีดาษไก่สายพันธุ์ Weybridge พบรอยโรคฝีดาษอย่างรุนแรงจำนวน 95% (19/20) และ 75% (15/20) ตามลำดับ โดยเริ่มพบรอยโรคมีลักษณะเป็นตุ่มนูนทั้งบริเวณมุมปากและรูขุมขนของโคนขาในวันที่ 4 หลังหยอดเชื้อ ต่อมาตุ่มนูนเหล่านี้จะเปลี่ยนเป็นตุ่มน้ำและตุ่มหนองตามลำดับ ตั้งแต่วันที่ 5 ถึงวันที่ 10 (Figure 2) จากนั้นรอยโรคยังคงอยู่และเริ่มแห้งเป็นสะเก็ดภายในวันที่ 10-14 และหายเองหลังจากนั้นภายใน 1-2 สัปดาห์ต่อมา ส่วนนกกระทากลุ่มที่ทำวัคซีนฝีดาษไก่สายพันธุ์ Gibbs และกลุ่มที่ทำวัคซีนฝีดาษนกพิราบ พบรอยโรคแบบไม่รุนแรงจำนวน 10-15% (2-3 ตัว) เท่ากัน (Table 1)

วิจารณ์

นกกระทาทั้ง 3 กลุ่ม ภายหลังจากการทำวัคซีนตรวจพบอาการตุ่มนูนและแผลสะเก็ดหรือเรียกว่า “vaccine take” ภายใน 4-10 วัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Tripathy and Reed (1997) โดยกล่าวว่า vaccine take ควรจะเกิดภายใน 7-10 วันหลังการทำวัคซีน ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่านกกระทาแต่ละกลุ่มมีการตอบสนองต่อวัคซีนแต่ละชนิดทั้ง 3 ชนิด ในกรณีหากไม่พบการเกิดอาการดังกล่าวอาจเนื่องจากนกกระทามีภูมิคุ้มกันต่อ



Figure 1 An 8-week old Japanese quail experimentally immunized with pigeon pox vaccine, There was proliferative and scabby lesion on the site of vaccination called “vaccine take” (tip of forceps) at 4-10 days post-immunization.



Figure 2 Japanese quails at 8-week old experimentally vaccinated with fowl pox vaccines (Weybridge strain, right) and (Gibbs strain, left) and challenged with quail poxvirus NK992/43 isolate, 14 days post-vaccination. There was proliferation of skin and accumulation of crusty exudate over the surface (arrow) of lateral thigh from Japanese quail immunized with the Weybridge strain compared with the other uninfected one.

Table 1 Response of Japanese quails vaccinated with fowl pox (Weybridge and Gibbs strains) and pigeon pox (attenuate strain) vaccines and then challenged with quail poxvirus NK992/43 isolate.

| Vaccine virus | Reaction from challenge (no. of affected bird/total of 20) | | | | | | | |
|----------------------|--|-----|--------|----|--------|----|--------|----|
| | Week 1 | | Week 2 | | Week 3 | | Week 4 | |
| | *LT | *BC | LT | BC | LT | BC | LT | BC |
| Unvaccinated | 17 | 18 | 19 | 17 | 14 | 15 | 9 | 0 |
| Fowl pox (Weybridge) | 13 | 8 | 13 | 15 | 10 | 9 | 4 | 0 |
| Fowl pox (Gibbs) | 3 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Pigeon pox | 2 | 0 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |

*LT = left lateral thigh

*BC = both angle of beak commissures

โรคฝีดาษอยู่ก่อนแล้วหรือปริมาณของวัคซีนที่ใช้ไม่เพียงพอหรืออาจเกิดจากวิธีการทำวัคซีนไม่เหมาะสม เป็นผลให้การทำวัคซีนไม่ให้ความคุ้มโรคต่อการติดเชื้อไวรัสฝีดาษ (Fatunmbi and Reed, 1996a; Tripathy and Reed, 1997)

Winterfield et al. (1985) และ Reed and Schrader (1989) ได้ศึกษาวิธีการทำวัคซีนฝีดาษที่แยกได้จากไก่อวงโดยวิธีแทงปีกและให้วัคซีนเข้าทางรูขุมขนของโคนขา จากนั้นจึงฉีดเชื้อพิษหับด้วยไวรัสฝีดาษที่แยกได้จากไก่อวง พบว่าการให้วัคซีนทางรูขุมขนของโคนขามีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคได้สูงถึง 100% ขณะที่วิธีแทงปีกป้องกันโรคได้เพียง 75% ซึ่งในกรณีวิธีแทงปีกนี้ถือว่าไม่ให้ผลคุ้มโรคเพราะต่ำกว่า 80-90% (Tripathy, 1996; Tripathy and Reed, 1997) ในขณะเดียวกันการให้วัคซีนเข้าทางรูขุมขนยังมีข้อควรระวังในขณะดึงขนออกเพื่อให้รูขุมขนเปิดนั้นหากมีเลือดไหลจะทำให้ขัดขวางการดูดซึมวัคซีนเข้าทางรูขุมขน นอกจากนี้การศึกษาของ Winterfield and Reed (1985) พบว่า นกกระทา

Coturnix ไม่มีปฏิกิริยาตอบสนองภายหลังการทำวัคซีนฝีดาษไก่และนกพิราบโดยวิธีแทงปีก แต่เมื่อเปรียบเทียบกับนกกระทา Bobwhite แล้วพบว่ามีการตอบสนองได้ดีเพราะพบการเกิด vaccine take ได้มาก อาจเนื่องจากความแตกต่างทางสายพันธุ์ของนกกระทา (genetic differences) หรืออาจเป็นไปได้ว่าการให้วัคซีนทางใต้ปีกมีการเหนียวนำให้เกิด vaccine take ได้น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่นๆ เช่น การให้วัคซีนทางผิวหนังที่เกิดบาดแผลหรือให้ทางรูขุมขนของโคนขา และ Winterfield and Reed (1985) ยังพบว่าในไก่ทดลองที่ทำวัคซีน psittacine pox virus โดยการแทงปีกไม่พบการเกิด vaccine take เลย แต่ภายหลังมีการฉีดเชื้อพิษหับด้วยไวรัสชนิดเดียวกันพบว่าไก่ทดลองทุกตัวมีความคุ้มโรคต่อเชื้อไวรัสนี้ การศึกษาของ Boosinger et al. (1982) พบว่าอาจไม่พบการเกิด vaccine take ภายหลังการทำวัคซีนโดยวิธีแทงปีกเพราะตำแหน่งและปริมาณของการทำวัคซีนน้อยจนไม่สามารถกระตุ้นให้เกิด vaccine take ได้เมื่อเปรียบเทียบ

กับการทำวัคซีนโดยวิธีชูดมผิวหนังให้เกิดบาดแผล หรือให้วัคซีนทางรูขุมขนของโคนขาซึ่งมีพื้นที่และ ปริมาณของวัคซีนมากกว่าจึงสังเกตพบ vaccine take ได้ง่าย ดังนั้นจากการศึกษาความคุ้มโรค ข้ามกันในการทดลองครั้งนี้ซึ่งใช้นกกระทา ทดลองที่นำมาจากฝูงที่ไม่เคยมีประวัติการทำ วัคซีนหรือการระบาดของโรคฝีดาษมาก่อน และ ทำวัคซีนโดยวิธีการแทงปีกสำหรับวัคซีนฝีดาษไก่ ทั้ง 2 สายพันธุ์ สำหรับวัคซีนฝีดาษนกพิราบใช้ วิธีทำวัคซีนที่โคนขาตามคำแนะนำของผู้ผลิต ต่อมาภายหลังตรวจพบ vaccine take ในนก กระทาทดลองทุกกลุ่มมากกว่า 80% ดังนั้นจึงถือ ได้ว่าปริมาณและวิธีการทำวัคซีนทั้ง 3 ชนิดนี้ เหมาะสมสำหรับนกกระทา แม้ว่าผู้ผลิตวัคซีนทั้ง 3 ชนิดนี้จะไม่ได้แนะนำให้ใช้ในนกกระทาก็ตาม

ปริมาณของเชื้อไวรัสฝีดาษที่เหมาะสมใน การฉีดพิษหับ Winterfield and Hitchner (1965), Boosinger et al. (1982) และ Winterfield and Reed (1985) ได้ศึกษาในไก่ทดลองและแนะนำให้ใช้ ไวรัสไตเตอร์ 10^5 EID₅₀/มล. สำหรับการทดลองนี้ ได้ฉีดเชื้อพิษหับที่มีไตเตอร์ 3×10^7 PFU/มล. โดยวัด ไตเตอร์จากจำนวน pock บน CAM ของไข่ไก่ฟัก (Villegas, 1998) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Singh et al. (2000) ที่ใช้ไวรัสไตเตอร์เท่ากับ 10^5 PFU/มล. แต่เนื่องจากยังไม่มีผู้ใดทำการศึกษาความคุ้ม โรคไวรัสฝีดาษในนกกระทา ดังนั้นจึงถือได้ว่า ปริมาณของเชื้อไวรัสที่ฉีดพิษหับไปนั้นมีความ เหมาะสมและสามารถใช้ประเมินประสิทธิภาพ เพื่อศึกษาความคุ้มโรคได้ จากการศึกษาความ คุ้มโรคในนกกระทาที่ทำวัคซีน 3 ชนิดนี้ จึงพบว่า วัคซีนฝีดาษไก่สายพันธุ์ Weybridge ไม่ให้ผลคุ้ม โรคต่อการติดเชื้อไวรัสโรคฝีดาษนกกระทา เนื่องจากมีความคุ้มโรคเพียง 25% ซึ่งเป็นไปได้ ว่าวัคซีนป้องกันโรคฝีดาษไก่นี้มีความ

สัมพันธ์ทางภูมิคุ้มกันเป็นบางส่วนกับเชื้อไวรัส โรคฝีดาษนกกระทาสายพันธุ์ NK992/43 และอยู่ ในระดับต่ำไม่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้สูง พอที่จะป้องกันโรคได้ ส่วนทั้งวัคซีนฝีดาษไก่สาย พันธุ์ Gibbs และวัคซีนฝีดาษนกพิราบต่างก็ให้ ความคุ้มโรคที่สูง (85-90%) แสดงว่าวัคซีนทั้ง 2 ชนิดนี้มีความสัมพันธ์ทางภูมิคุ้มกันอย่างใกล้ชิด (close immunologic relationship) กับไวรัสโรค ฝีดาษนกกระทาสายพันธุ์ NK992/43 ทำให้เกิด ปฏิกริยาข้ามกันของภูมิคุ้มกัน (cross-immunity) ในระดับสูงพอที่สามารถป้องกันโรคได้

การศึกษาของ Winterfield and Reed (1985) พบว่าทั้งนกกระทา Coturnix และ Bobwhite แม้ จะเกิด vaccine take ต่างกันหลังการทำวัคซีน ฝีดาษไก่และนกพิราบ แต่นกกระทาทั้งสองชนิด นี้ก็สามารถติดเชื้อไวรัสฝีดาษนกกระทาได้ ซึ่ง แสดงให้เห็นว่าเชื้อไวรัสฝีดาษทั้ง 3 ชนิดนี้ไม่มี ความสัมพันธ์ทางภูมิคุ้มกันต่อกัน Fatunmbi and Reed (1996a) และ Fatunmbi and Reed (1996b) ศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนฝีดาษไก่เชื้อเป็น (AVA-POXTM-LM, USA) และวัคซีนฝีดาษนกกระทา (Bio-PoxTM, USA) ต่อการป้องกันการติดเชื้อไวรัส ฝีดาษไก่นชนิดแวงเวียนท์สเตรน จำนวน 5 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากการระบาดในท้องถิ่นและพบว่าวัคซีน ดังกล่าวไม่สามารถกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มโรคได้ อย่างเพียงพอจึงทำให้มีการติดเชื้อขึ้นได้ รวมทั้ง มีรายงานการเกิดโรคอุบัติซ้ำในฟาร์มที่เคยทำวัคซีน มาก่อนแล้ว จึงเป็นไปได้ว่าโรคที่เกิดขึ้นกับ วัคซีนที่เคยใช้มี immunogenicity ต่างกัน นอกจากนี้ยังมีผู้ศึกษาความคุ้มโรคของวัคซีน ฝีดาษนกกระทากับ avian pox ชนิดอื่นๆหลายชนิด พบว่าต่างก็มี immunogenicity ที่ไม่สัมพันธ์กัน (Winterfield and Reed, 1985; Reed and Schrader, 1989; Reed and Fatunmbi, 1993)

Fatunmbi and Reed (1996a) และ Fatunmbi and Reed (1996b) ทดลองการใช้วัคซีนร่วมกันระหว่างวัคซีนฝีดาษไก่และนกพิราบในช่วงที่มีการระบาดของโรค พบว่าไม่มียอดการป่วยและตายลดลงมากกว่าการใช้วัคซีนชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงอย่างเดียว ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าการใช้วัคซีนฝีดาษในสัตว์ปีกควรจะใช่วัคซีนชนิดที่จำเพาะกับโฮสต์ หรือชนิดรวมหลายสปีชีส์ หรือใช้วัคซีนมากกว่า 2 ชนิด ซึ่งจะทำให้การควบคุมป้องกันโรคมมีประสิทธิภาพมากขึ้น

เชื้อไวรัสโรคฝีดาษที่แยกได้จากนกกระทา ในภาคใต้ของประเทศไทยมีความสัมพันธ์ทางภูมิคุ้มกันเป็นบางส่วนกับวัคซีนฝีดาษไก่สายพันธุ์ Weybridge ซึ่งเป็นชนิดที่ผลิตในประเทศไทย เพราะไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อไวรัสฝีดาษนกกระทาได้ ขณะที่วัคซีนอีก 2 ชนิด คือ วัคซีนฝีดาษไก่สายพันธุ์ Gibbs และวัคซีนฝีดาษนกพิราบมีความสัมพันธ์ทางภูมิคุ้มกันกับเชื้อไวรัสฝีดาษนกกระทาในระดับสูง และสามารถป้องกันการติดเชื้อไวรัสฝีดาษนกกระทาได้เป็นผลดี โดยที่ในปัจจุบันประเทศไทยยังไม่มีวัคซีนฝีดาษนกกระทาใช้ ฉะนั้นจึงสามารถนำวัคซีนทั้ง 2 ชนิดนี้มาใช้ป้องกันโรคฝีดาษนกกระทาสายพันธุ์ NK992/43 ได้ แต่เนื่องจากวัคซีนทั้ง 2 ชนิดนี้ต้องนำเข้าจากต่างประเทศซึ่งมีราคาสูง ดังนั้นหากมีการพัฒนาหรือผลิตวัคซีนป้องกันโรคฝีดาษนกกระทาใช้ในประเทศจะทำให้ลดการนำเข้าและการควบคุมป้องกันโรคมมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

เกรียงศักดิ์ พูนสุข 2536. โรคฝีดาษไก่ ใน โรคติดเชื้อในไก่ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย หน้า 65-67.

นฤพล พร้อมขุนทด พรทิพย์ พรหมเมือง ประสบพรทองนุ่น ชื่องมาศ อันตรเสน ลัดดา ตรวงศา สมจิตร รุจิขวัญ ไพรสน พรหมเมือง 2544. โรคฝีดาษในเป็ด : รายงานการแยกเชื้อไวรัส การศึกษาการติดเชื้อในเป็ดและไก่ทดลอง และการทดสอบความคุ้มโรคในเป็ดโดยใช้วัคซีนป้องกันโรคฝีดาษไก่. วารสารสัตวแพทย์ 11(3): 9-19.

นฤพล พร้อมขุนทด ชื่องมาศ อันตรเสน พรทิพย์ พรหมเมือง อัญญรัตน์ ทิพย์ธารา ลัดดา ตรวงศา และไพรสน พรหมเมือง 2545. การแยกเชื้อไวรัสโรคฝีดาษนกกระทา และการศึกษาการติดเชื้อข้ามกันในไก่และเป็ดทดลอง. สัตวแพทยสาร 53(3): 21-32.

Bolte, A.L., J. Meurer. and E.F. Kaleta. 1999. Avian host spectrum of avipoxviruses. Avian Pathol. 28: 415-432.

Boosinger, T.R., R.W. Winterfield, D.S. Feldman and A.S. Dhillon. 1982. Psittacine pox virus: virus isolation and identification, transmission and cross-challenge studies in parrots and chickens. Avian Dis. 26: 437-444.

Fatunmbi, O.O. and W.M. Reed. 1996a. Evaluation of a commercial modified live virus fowl pox vaccine for the control of "variant" fowl poxvirus infections. Avian Dis. 40: 582-587.

Fatunmbi, O.O. and W.M. Reed. 1996b. Evaluation of a commercial quail pox vaccine (Bio-Pox™) for the control of "variant" fowl poxvirus infections. Avian Dis. 40: 792-797.

Fatunmbi, O.O., W.M. Reed, D.L. Schwartz and D.N. Tripathy. 1995. Dual infection of chickens with pox and infectious laryngotracheitis (ILT) confirmed with specific pox and ILT DNA Dot-

- blot hybridization assays. *Avian Dis.* 39: 925-930.
- Hertig, C., B.E.H. Coupar, A.R. Gould, and D.B. Boyle. 1997. Field and vaccine strains of fowl pox carry integrated sequences from the avian retrovirus, reticulo-endotheliosis virus. *Virology.* 235: 367-376.
- Reed, W.M. and O.O. Fatunmbi. 1993. Pathogenicity and immunological relationship of quail and mynah poxviruses to fowl and pigeon poxviruses. *Avian Pathol.* 22:395-400.
- Reed, W.M. and D.L. Schrader. 1989. Pathogenicity and immunogenicity of mynah pox virus in chickens and Bobwhite quails. *Poultry Sci.* 68: 631-638.
- Singh, P., T.J. Kim and D.N. Tripathy. 2000. Re-emerging fowl pox: evaluation of isolates from vaccinated flocks. *Avian Pathol.* 29: 449-455.
- Tripathy, D.N. 1996. Fowl pox. In: *OIE Manual of standards for diagnostic tests and vaccines.* 3rd ed., Paris, p.701-705.
- Tripathy, D.N. and W.M. Reed. 1997. Pox. In: *Disease of Poultry.* 10th ed., Calnek, B.W. et al. (eds) Iowa State University Press, Ames, Iowa, p.643-659.
- Tripathy, D.N. and W.M. Reed. 1998. Pox. In: A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. 4th ed., Swayne, D. E. et al. (eds). American Association of Avian Pathologists, Rose Printing, Thallahassee, Florida, p.137-143.
- Tripathy, D.N., D.M. Sells, and L.E. Hanson. 1975. Natural pox and herpes as a dual viral infection in chickens. *Avian Dis.* 19:75-81.
- Villegas, P. 1998. Titration of biological suspensions. In: *A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens.* 4th ed., Swayne, D. E. et al. (eds). American Association of Avian Pathologists, Rose Printing, Thallahassee, Florida, p. 248-253.
- Winterfield, R.W. and S.B. Hitchner. 1965. The response of chickens to vaccination with different concentrations of pigeon and fowl pox viruses. *Avian Dis.* 9: 237-240.
- Winterfield, R.W. and W.M. Reed. 1985. Avian pox: infection and immunity with quail, psittacine, fowl and pigeon pox viruses. *Poultry Sci.* 64: 65-70.
- Winterfield, R.W., W.M. Reed and H.L. Thacker. 1985. Infection and immunity with a virus isolates from turkeys. *Poultry Sci.* 64: 2076-2080.

การสำรวจสารพิษจากเชื้อราไวomitoxinที่ปนเปื้อน ในธัญพืช

Survey of Mycotoxin “Vomitoxin” Contamination in Cereal Grains

ดวงจันทร์ สุประเสริฐ¹ สหเทพ จันทรวิมล² อภินันท์ สุประเสริฐ²
Duangchan Suprasert¹ Sahathep Juntaravimol² Apinun Suprasert²

ABSTRACT

Thirty samples of each kind of 9 cereal grains collected at Bangkok and suburb markets were analysed by Elisa test kit for the presence of vomitoxin (deoxynivalenol), a mycotoxin produced by fungi genus Fusarium that caused anorexia (decreased feed consumption) and emesis (vomiting) in animal, gastrointestinal upset, vomiting, diarrhoea and headache in human. All kinds of cereal grains were detected vomitoxin at low level in the range of 0.0-1.0 ppm. Among the cereal grains analysed, red rice was contaminated with vomitoxin at the highest level (1.0 ppm), while brown rice was contaminated at the highest frequency (47% found vomitoxin).

Key words : vomitoxin, deoxynivalenol, cereal grains

บทคัดย่อ

ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษจากเชื้อรา vomitoxin ที่เกิดจากเชื้อราตระกูล Fusarium ซึ่งมีฤทธิ์ทำให้สัตว์เบื่ออาหารและอาเจียน ทำให้คนเกิดปัญหาเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร อาเจียน ท้องเสีย และปวดศีรษะ ด้วยวิธี Elisa test kit ในธัญพืช 9 ชนิดที่เก็บจากตลาดสดในกรุงเทพมหานครและ

1 สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข นนทบุรี 11000

Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Nontaburi 11000

2 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

Faculty of veterinary Medicine, Kasetsart university, Chatujak, Bangkok 10900

เขตปริมาณลด จำนวนธัญพืชละ 30 ตัวอย่าง ตรวจพบการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อรา vomitoxin ในธัญพืชทั้ง 9 ชนิดปริมาณต่ำโดยพบระหว่าง 0.0-1.0 พีพีเอ็ม ข้าวแดงมันปูพบการปนเปื้อนมากที่สุด (1.0 พีพีเอ็ม) ในขณะที่ข้าวกล้องพบการปนเปื้อนน้อยที่สุด (ร้อยละ 47 ตรวจพบการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อรา vomitoxin)

คำสำคัญ : โวมิทอกซิน ไดออกซีนิวาไลน์อล ธัญพืช

คำนำ

โวมิทอกซิน (Vomitoxin) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า Deoxynivalenol ใช้คำย่อว่า DON เป็นสารพิษจากเชื้อราในกลุ่ม Trichothecenes type B มีสูตรโครงสร้างเป็น epoxysesquiterpenoids สร้างจากเชื้อราตระกูล *Fusarium* เช่น *F.graminearum* (*F.roseum*), *F. culmorum*, *F. tricinctum*, *F. nivale* สารพิษนี้พบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1972 โดยนักวิทยาศาสตร์ชื่อ N. Morooka พบว่าข้าวบาร์เลย์มีเชื้อราตระกูล *Fusarium* ขึ้นปนเปื้อนเมื่อบริโภคข้าวดังกล่าวทำให้เกิดโรค red mold toxicosis ในคนและสัตว์จึงตั้งชื่อสารพิษจากเชื้อรานี้ว่า Rd-toxin (Ueno, 1983) ในเวลาต่อมาไม่นานชาวอเมริกาก็ค้นพบสารพิษชนิดเดียวกันนี้จากข้าวบาร์เลย์ที่มีเชื้อรา *F.graminearum* ขึ้นโดยตั้งชื่อว่า Vomitoxin (Morooka, 1972) เนื่องจากสารพิษนี้ออกฤทธิ์โดยกระตุ้น chemoreceptor trigger zone ในสมองส่วน medulla oblongata ทำให้เกิดอาเจียน (vomiting) นอกจากนี้สารพิษดังกล่าวทำให้เกิดผลเสียต่อต่อมไทมัส ม้าม หัวใจ และตับ ทำให้เกิดอาการท้องเสีย เบื่ออาหาร น้ำหนักตัวลดลง การเจริญเติบโตลดลง องค์การ International Agency for Research on Cancer (IARC) ได้จัดแบ่งสารที่มีหลักฐานว่าสามารถทำให้เกิดมะเร็งในคนเป็น 4 ชนิดและได้จัดให้โวมิทอกซินเป็นสารก่อมะเร็ง group 3 คือไม่สามารถจัดได้ว่าเป็นสารก่อมะเร็งในคนเนื่องจากการทดลองที่ยังไม่ชัดเจนพอที่

จะสรุปได้ อย่างไรก็ตามหนูที่กำลังตั้งครรภ์ได้ 8-10 วันเมื่อได้รับโวมิทอกซินขนาด 5 มก./กก./วัน ในระยะเวลาไม่นานจะทำให้ลูกพิการจึงมีการสรุปว่า โวมิทอกซินน่าจะเป็นสารก่อลูกวิรูป (teratogenic) ค่า NOEL (No observed adverse effect level) มีขนาด 0.38 มก./กก./วัน นั่นคือเมื่อหนูได้รับสารดังกล่าวในขนาด 0.38 มก./กก./วัน ทุกวัน แล้วจะไม่ทำให้เกิดอาการผิดปกติขึ้นทั้งในแม่และลูกหนู (JECFA, 2001)

สารพิษโวมิทอกซินมักเกิดร่วมกับสารพิษจากเชื้อราซีราลีโนนเนื่องจากสร้างจากเชื้อราตัวเดียวกัน (*F.graminearum*) และมักพบในข้าวโพด โดยทำให้ข้าวโพดฝักเน่าและเส้นใยเป็นสีชมพู นอกจากนี้ยังพบสารพิษโวมิทอกซินในข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ ในปี ค.ศ. 1980 สารพิษดังกล่าวทำให้เกิดปัญหาใหญ่ในไร่ข้าวสาลี ในแคว้น Ontario และ Quebec ของประเทศแคนาดา ในประเทศสหรัฐอเมริกาสารพิษดังกล่าวมักทำให้เกิดความเสียหายในไร่ข้าวโพดโดยพบว่าสุกรที่เลี้ยงด้วยข้าวโพดที่มีสารพิษโวมิทอกซินจะปฏิเสธการกินอาหารและเกิดอาเจียน

สุกรเป็นสัตว์ที่มีความไวต่อสารพิษนี้มากกว่าสัตว์อื่น ๆ เช่น โค ไก่ แกะ เป็นต้น ไก่กระทงที่ได้รับสารพิษนี้ที่ระดับ 1.87 พีพีเอ็ม จะไม่เกิดผลเสียหายต่ออัตราการตาย การเพิ่มน้ำหนักตัว การเปลี่ยนอาหาร การกินอาหาร น้ำหนักของอวัยวะที่สำคัญของร่างกาย แต่ที่ระดับ 16 พีพีเอ็มทำให้น้ำหนักตัวลดลง ตับโตและเกิดภาวะ

โลหิตจาง ที่ระดับ 49 พีพีเอ็มทำให้เกิดรอยโรคที่ปาก มีเนื้อตายที่กระเพาะแท้และกระเพาะบิด ที่ระดับ 116 พีพีเอ็มทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง (เปล่งศรี, 2540)

มีรายงานการตรวจพบโวมิทอกซินในอาหารจากประเทศต่างๆเช่น สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น ปริมาณที่พบอยู่ในระดับต่ำ (Tanaka, 1988) ในขณะที่ประเทศจีน ประเทศในทวีปแอฟริกาและอเมริกาใต้ พบในปริมาณสูง (Luo, 1988) นอกจากนี้ยังมีรายงานการเจ็บป่วยจากการบริโภคอาหารที่ปนเปื้อนด้วยสารพิษนี้ในประเทศจีน อินเดีย (Bhat, 1989) เพื่อเป็นการเฝ้าระวังและคุ้มครองผู้บริโภค สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหารได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษจากเชื้อโวมิทอกซินในธัญพืช 9 ชนิดคือ ข้าวกล้อง ข้าวเหนียวกล้อง ข้าวมันญี่ปุ่น ข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต ข้าวบาร์เลย์ ข้าวฟ่าง ลูกเดือย และ เมล็ดบัว ดังรายงานนี้

อุปกรณ์และวิธีการ

เก็บตัวอย่างธัญพืช 9 ชนิดจากห้างสรรพสินค้าและตลาดสดบริเวณกรุงเทพและปริมณฑล ดังนี้คือ ข้าวกล้อง ข้าวเหนียวกล้อง ข้าวมันญี่ปุ่น ข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต ข้าวบาร์เลย์ ข้าวฟ่าง ลูกเดือย และ เมล็ดบัว จำนวนธัญพืชละ 30 ตัวอย่าง บดธัญพืชแต่ละตัวอย่างให้ละเอียด ชั่งมา 5 กรัม นำมาสกัดด้วย H₂O ปริมาตร 25 มล. โดยใช้เครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 190 รอบต่อนาที นาน 3 นาที นำไปกรองด้วยกระดาษกรอง แล้วนำสารละลายที่ได้ปริมาตร 100 ul ไปหาปริมาณสารพิษโดยใช้ Elisa test kit ชื่อ Veratox for vomitoxin อ่านค่า absorbance ด้วยเครื่อง Microwell reader ที่ 650 nm เทียบกับสารมาตรฐานซึ่งทราบความเข้มข้นและ

ผ่านวิธีการทดสอบข้างต้น จะทำให้ทราบปริมาณ vomitoxin ที่ตรวจได้ซึ่งมีหน่วยเป็นส่วนในล้านส่วน (ppm) นำค่าที่ตรวจพบในตัวอย่างทั้ง 270 ตัวอย่างมารวบรวมและวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้ค่าทางสถิติได้แก่ ค่าเฉลี่ย (average), ค่าร้อยละ (percent)

ผล

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษจากเชื้อราโวมิทอกซินด้วยวิธี Elisa โดยใช้ test kit ในตัวอย่างธัญพืชทั้ง 9 ชนิดจำนวนทั้งหมด 270 ตัวอย่าง นำมาคำนวณค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษโวมิทอกซินที่พบในตัวอย่างทั้ง 30 ตัวอย่างตามชนิดของธัญพืชดังแสดงใน Table 1 พบว่าธัญพืชทุกชนิดที่ทำการตรวจวิเคราะห์มีการปนเปื้อนจากสารพิษโวมิทอกซิน ประมาณร้อยละ 10-47 แต่ปริมาณที่พบมากบ้าง น้อยบ้างขึ้นอยู่กับธัญพืชแต่ละชนิด ปริมาณเฉลี่ยที่พบอยู่ระหว่าง 0.03-0.12 ppm พบว่าข้าวแดงมันญี่ปุ่นมีการปนเปื้อนจากสารพิษโวมิทอกซินมากที่สุดค่าเฉลี่ยที่พบคือ 0.12 ppm โดยปริมาณที่พบอยู่ระหว่าง 0-1.00 ppm โอกาสที่ตรวจพบสารพิษโวมิทอกซินปนเปื้อนในข้าวแดงมันญี่ปุ่นมีร้อยละ 33 ในขณะที่ข้าวบาร์เลย์มีการปนเปื้อนจากสารพิษโวมิทอกซินน้อยที่สุดค่าเฉลี่ยที่พบคือ 0.03 ppm โดยปริมาณที่พบอยู่ระหว่าง 0-0.30 ppm โอกาสที่ตรวจพบสารพิษโวมิทอกซินปนเปื้อนในข้าวบาร์เลย์มีร้อยละ 11 ทั้งนี้ได้หมายความว่าเมื่อกินธัญพืชแล้วจะได้รับสารพิษจากเชื้อราโวมิทอกซินในปริมาณดังกล่าว เนื่องจากปริมาณสารพิษคำนวณมาจากการเฉลี่ยปริมาณสารพิษโวมิทอกซินที่พบในธัญพืชแต่ละชนิดจาก 30 ตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนบ้างไม่พบบ้าง

Table 1 Vomitoxin found in cereal grains (average amount from 30 samples of each grain)

| Cereal grains (ppm) | Brown rice | Brown glutinous rice | Red rice | Wheat | Lotus seed | Job's tears | Sorghum | Barley | Oat meal |
|---------------------|------------|----------------------|----------|-------|------------|-------------|---------|--------|----------|
| %found | 47 | 37 | 33 | 30 | 10 | 30 | 29 | 11 | 29 |
| Max | 0.4 | 0.5 | 1.0 | 0.4 | 0.9 | 0.5 | 0.4 | 0.3 | 0.3 |
| Average | 0.09 | 0.09 | 0.12 | 0.07 | 0.04 | 0.09 | 0.06 | 0.03 | 0.04 |

วิจารณ์

การวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษจากเชื้อราไวมีทอกซินด้วยวิธี Elisa โดยใช้ test kit เป็นวิธีที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์เบื้องต้น (screening test) ว่ามีสารพิษดังกล่าวปนเปื้อนอยู่ในปริมาณมากน้อยเพียงใด ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวกและรวดเร็ว ได้ข้อมูลที่สามารถนำไปใช้ได้ทันทีเหตุการณ์ไม่ทำให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากใช้น้ำในการสกัดตัวอย่างไม่ได้ใช้ตัวทำละลายเช่น คลอโรฟอร์ม และ เฮกเซน สำหรับการสกัดตามวิธีวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการใช้อยู่โดยทั่วไปสำหรับการวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อรา จึงมีความปลอดภัยต่อนักวิเคราะห์และไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ปริมาณที่ใช้ในการวิเคราะห์ก็ใช้เพียงเล็กน้อย แต่ค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ค่อนข้างสูง เนื่องจากต้องซื้อ Elisa test kit จากต่างประเทศ

ปัจจุบันประเทศทั่วโลกยังไม่มีเกณฑ์กำหนดปริมาณสารพิษจากเชื้อราไวมีทอกซินที่แน่ชัดในอาหารชนิดต่างๆที่มักพบสารพิษดังกล่าวในประเทศไทยตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 98 (กระทรวงสาธารณสุข, 2522) กำหนด

ให้มีการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราเฉพาะ aflatoxin เท่านั้นในอาหารได้ไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม หรือ 20 ppb ไม่ได้กำหนดมาตรฐานสำหรับสารพิษจากเชื้อราไวมีทอกซิน ประเทศแคนาดา กำหนดให้มีไวมีทอกซินในข้าวสาลีชนิดนุ่มที่ยังไม่ได้ทำความสะอาดไม่เกิน 2000 พีพีบี และให้มีไวมีทอกซินในข้าวสาลีชนิดนุ่มที่ใช้เป็นอาหารเลี้ยงเด็กอ่อนได้ไม่เกิน 1000 พีพีบี ประเทศจีนกำหนดให้มีไวมีทอกซินในข้าวสาลีได้ไม่เกิน 1000 พีพีบี ประเทศโรมาเนียกำหนดให้มีไวมีทอกซินได้ไม่เกิน 5 พีพีบี ในอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์ทุกชนิด ประเทศสหรัฐอเมริกา กำหนดให้มีไวมีทอกซินได้ไม่เกิน 2000 พีพีบี ในข้าวสาลีและผลิตภัณฑ์ที่ใช้สำหรับโรงงานสีข้าวและไม่เกิน 1000 พีพีบี ในผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปที่ทำจากข้าวสาลี ในอาหารสัตว์ที่ทำจากข้าวสาลีและผลิตภัณฑ์ให้มีไวมีทอกซินได้ไม่เกิน 4000 พีพีบี

การศึกษาค้นคว้านี้จะเห็นว่าอาหารประเภทธัญพืชที่นำมาตรวจวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อราไวมีทอกซิน มีคุณภาพดีตรวจพบไวมีทอกซินในระดับที่ต่ำกว่ามาตรฐานที่กำหนดเพื่อความปลอดภัยจึงไม่มีผลกระทบต่อสุขภาพเมื่อรับประทาน

เป็นเวลานาน อย่างไรก็ตามเพื่อเป็นการป้องกันปัญหาโรคภัยไข้เจ็บที่เนื่องมาจากการรับประทานธัญพืชที่มีการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราโวมิทอกซิน ควรพิจารณาการเลือกซื้อธัญพืชมาใช้เป็นอาหาร โดยต้องเลือกซื้อที่คุณภาพไม่ใช่เลือกซื้อที่ราคา เนื่องจากธัญพืชที่ราคาสูงอาจมีคุณภาพไม่ดีเสมอไป ธัญพืชคุณภาพดีคือเมล็ดมีลักษณะสมบูรณ์ไม่มีร่องรอยของการถูกทำลายจากแมลงและเชื้อรา ไม่มีกลิ่นหืนและไม่มีลักษณะเป็นขุยเนื่องจากการเก็บไว้นานและเก็บไม่ถูกวิธีเช่นโดนฝนสาดทำให้มีความชื้นสูงเหมาะแก่การเจริญของเชื้อราเป็นต้น

คำขอบคุณ

ผู้เขียนขอขอบคุณ คุณศรีสิทธิ์ การุณยวณิช ที่ให้คำแนะนำในการศึกษาครั้งนี้ และบริษัท ไทย-นีโอ ไบโอเทค จำกัด และ Neogen Corporation ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในเรื่อง Elisa test kit, เครื่องมือ Microwell reader และผู้ช่วยในการวิเคราะห์

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงสาธารณสุข. 2522. ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 98 (พ.ศ. 2529) เรื่องมาตรฐานอาหารที่มี สารปนเปื้อน. แปลงศรี อิงคินันท์. 2540. สารพิษจากเชื้อรา ผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์ การประชุมวิชาการในวาระ 80 ปีแห่งการสถาปนาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะสัตวแพทยศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 13-14 มีนาคม 2540 แปลงศรี อิงคินันท์ บรรณาธิการ

- Bhat, R.V., S.R Beedu, Y Ramakrishna and K.L Munshi. 1989. Outbreak of trichothecene mycotoxicosis associated with consumption of mould-damaged wheat products in Kashmir Valley, India. *Lancet*, I, 35-37.
- JECFA, 2001. Joint FAO/WHO expert committee on food additives. Fifty-sixth meeting, Geneva, 6-15 February 2001.
- Morooka, N., N Uratsuji, T Yoshizawa and H Yamamoto.1972. Studies on the toxic substances in barley infected with *Fusarium* spp. *J. Food Hyg. Soc. Jpn*, 13, 368-375.
- Luo, Y.1988. *Fusarium* toxins contamination of cereals in China. In Aibara, K., Kumagai, S., Ohtsubo, K. and Yoshizawa, T., eds, Proceedings of the 7th International IUPAC Symposium on mycotoxins and phycotoxins, Tokyo, 16-19 August 1988, Tokyo, Japanese Association of Mycotoxicology, pp. 97-98.
- Tanaka, T., A Hasegawa, S Yamamoto, U-S Lee, Y Sugiura and Y Ueno. 1988. Worldwide contamination of cereals by the *Fusarium* mycotoxins nivalenol, deoxynivalenol and zearalenone.I. Survey of 19 countries. *J. Agric. Food Chem.*, 36, 979-983.
- Ueno, Y.1983. Trichothecenes chemical, biological and toxicological aspects. Kodansha Ltd., Tokyo, Japan, p73-82.

ซาร์ : โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน หรือเพียงแค่การข้ามสปีชีส์ SARS : ZONOSIS OR INTERSPECIES TRANSMISSION

พรทิพภา เล็กเจริญสุข
PORNTIPA LEKCHAROENSUK

บทคัดย่อ

การทบทวนเอกสารครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่ออธิบายถึงเชื้อก่อโรคระบบทางเดินหายใจเฉียบพลัน หรือ Severe acute respiratory syndrome (SARS) และบทบาทของสัตว์ในการระบาดของโรค SARS เป็นโรคติดต่อของระบบทางเดินหายใจที่รุนแรงในคน มีการระบาดถึง 29 ประเทศทั่วโลก และ องค์การอนามัยโลก (WHO) ได้จัดให้เป็นโรคที่ทั่วโลกต้องเฝ้าระวัง SARS มีสาเหตุจากเชื้อโคโรนาไวรัสชนิดใหม่ ที่แตกต่างจากโคโรนาไวรัสที่มีรายงานก่อนหน้านี้ ในการระบาดครั้งใหญ่ในฮ่องกง ได้มีการตรวจหาเชื้อก่อโรค SARS ในสัตว์เลี้ยงและพบว่า แมวและสุนัขให้ผลบวกต่อการตรวจวินิจฉัย นอกจากนี้ยังพบว่า 40% ของผู้ค้าสัตว์ป่าและคนฆ่าสัตว์ป่าในตลาดกวางตุ้ง ประเทศจีน มีภูมิคุ้มกันต่อไวรัส SARS และสามารถแยกไวรัสที่มีความคล้ายคลึงกับไวรัสก่อโรค SARS จากสัตว์ป่าประเภท ชะมด และ แรคคูน ซึ่งมีความคล้ายคลึงของพันธุกรรมกับไวรัสก่อโรค SARS ถึง 99.8% ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไวรัส SARS สามารถติดต่อข้ามสปีชีส์ได้ และสัตว์น่าจะเป็นแหล่งกักเก็บโรคที่สำคัญ

Abstract

Severe acute respiratory syndrome (SARS) is a virulent respiratory disease of human, which World Health Organization (WHO) has been declared as a global threat. This is a review of a causative agent of SARS and roles of animals in SARS outbreaks. SARS is caused by a new emerging coronavirus, which

is genetically distinct from previously known coronaviruses. In an outbreak in Hong Kong, domestic animals such as cats and dogs were tested positive for SARS coronavirus. In mainland China, 40% of wild animal traders had sero-conversion to SARS coronavirus. Additionally, SARS-like coronavirus was isolated from palm civets and raccoon dogs. The SARS-like coronavirus has 99.8% homology to SARS coronavirus at nucleotide level. This indicates that interspecies transmission of SARS is possible and animals are likely to be reservoirs.

บทนำ

โรคระบบทางเดินหายใจเฉียบพลัน หรือ SARS เป็นโรคติดเชื้อไวรัสที่อุบัติขึ้นครั้งแรกในจังหวัดกวางตุ้ง (Guangdong) ซึ่งอยู่ทางตอนใต้ของประเทศจีน ในเดือนพฤศจิกายน 2545 (WHO, 2003) จากนั้นการป่วยของ Dr. Carlo Urbani ในเวียดนามทำให้ WHO เริ่มตระหนักถึงความรุนแรงของ SARS และประกาศให้ SARS เป็นโรคที่ต้องเฝ้าระวังทั่วโลกในเดือนมีนาคม 2546 การระบาดของ SARS เกิดขึ้นใน 29 ประเทศทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทย โดยมีช่วงของการระบาดสูงสุดตั้งแต่มีนาคม - พฤษภาคม 2546 (WHO, 2003) วงจรการระบาดของ SARS ครั้งนี้ได้สิ้นสุดลงในเดือนกรกฎาคม 2546 (<http://www.who.int/esr/sars/postoutbreak/en>) ซึ่งมีรายงานการติดเชื้อทั้งสิ้น 8,098 ราย และมีผู้ป่วยตาย 774 ราย (http://www.who.int/esr/sars/country/table_2003_09_23/en)

โรค SARS

ไวรัสที่ก่อให้เกิดโรค SARS สามารถติดต่อโดยการสัมผัสอย่างใกล้ชิด เพื่อสามารถผ่านเข้าร่างกายทางเยื่อเมือกต่างๆ (mucous membrane) เช่น เยื่อเมือก เยื่อเมือกช่องจมูก และปาก นอกจากนี้

การสัมผัสกับละอองสิ่งขับถ่ายจากระบบหายใจ โดยการไอหรือจาม หรือวัสดุที่มีเชื้อปนเปื้อน (fomite) สามารถทำให้ติดโรคได้ (WHO, 2003) SARS มีระยะฟักตัวประมาณ 2-7 วัน อาการแสดงของโรคประกอบด้วย ไข้สูงมากกว่าหรือเท่ากับ 38°C ซึ่งอาจจะพบร่วมกับอาการหนาวสั่น ปวดศีรษะ และอ่อนเพลีย หลังจากนั้นจะเริ่มมีอาการของระบบหายใจ ซึ่งเริ่มจากไอแห้งๆ ไม่มีเสมหะ ตามด้วยหายใจลำบาก ซึ่งอาจจะมากขึ้นจนถึงภาวะขาดออกซิเจน ภาพรังสีวินิจฉัยแสดงให้เห็นถึง focal interstitial infiltrate จนถึง generalized, patchy infiltration ในระยะสุดท้าย 50% ของเนื้อปอดจะแน่นกว่าปกติ (lung consolidation) (Hoey, 2003) ส่วนลักษณะของผู้ป่วยที่เข้าข่าย SARS (case definition) ซึ่งกำหนดโดย WHO สามารถอ่านได้จาก www.cdc.gov/ncidod/sars/casedefinition.htm

ไวรัส SARS

จากผลการตรวจสอบตัวอย่างที่ได้จากผู้ป่วย SARS (Ksiazek et.al, 2003) พบว่าสาเหตุของโรคเป็นเชื้อไวรัสที่สามารถเจริญได้ในเซลล์ไตลิง (Vero 6) ไวรัสก่อให้เกิดพยาธิสภาพของเซลล์ (cytopathic effect) ในวันที่ 5 ซึ่งมีลักษณะเป็นวงแคบๆ เซลล์กลมขึ้นและสะท้อนแสง ตามด้วยการหลุดลอกของเซลล์จากพื้นผิว (detachment)

การตรวจสอบเซลล์ Vero 6 ที่มีพยาธิสภาพโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบกลุ่มไวรัสที่มีลักษณะคล้ายโคโรนาไวรัส (coronaviruses) อยู่ใน cisternae ของ rough endoplasmic reticulum และใน vesicles ซึ่งไวรัสมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 80-140 นาโนเมตร มีโครงสร้างที่ยื่นออกมาจากอนุภาคไวรัส (surface projection) ยาวประมาณ 20-40 นาโนเมตร และไม่พบว่ามี hemagglutinin esterase ซึ่งเป็น glycoprotein ที่พบในโคโรนาไวรัสกลุ่มเดียวกับโคโรนาไวรัสในโคและหนู mouse การทดสอบทางซีรัมวิทยาพบว่าไวรัส SARS ไม่มีความสัมพันธ์กับโคโรนาไวรัสทั้งสองชนิดที่ก่อโรคในคน (Human coronavirus 229-E และ Human coronavirus OC43)

นอกจากนั้น นักวิทยาศาสตร์กลุ่มอื่นๆ ได้ทำการศึกษาหาสาเหตุของ SARS โดยใช้วิธีต่างๆ เช่น การตรวจหาเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน microarrays, random primed Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) และการทดสอบทางซีรัมวิทยา ยืนยันว่า SARS เป็นไวรัสกลุ่มโคโรนาที่แตกต่างจากโคโรนาไวรัสชนิดอื่นๆ ที่ปรากฏในรายงาน (Drosten, *et al.*, 2003; Kaiser, *et al.*, 2003; Kuiken, *et al.*, 2003; Peiris, *et al.*, 2003) Kuiken และคณะ (2003) ได้ทำการทดสอบสมมติฐานของ Koch โดยทำให้ลิง macaque ติดเชื้อไวรัส SARS พบว่าไวรัส SARS ที่แยกได้จากผู้ป่วย SARS ทำให้ลิงแสดงอาการของโรค และสามารถก่อรอยโรคได้เช่นเดียวกับที่ก่อโรคในคน และสามารถตรวจยืนยันได้ว่ามีไวรัส SARS ปรากฏในเนื้อเยื่อของลิง macaque ที่ป่วย

แต่เดิมไวรัสในกลุ่มโคโรนาถูกแบ่งออกตามคุณสมบัติทางซีรัมวิทยาได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ (Lai

and Holmes, *et al.*, 2001) **กลุ่มที่ 1** ประกอบด้วยไวรัสที่ไม่มี glycoprotein ชนิด hemagglutinin esterase ได้แก่ human coronavirus – 229E (HCoV-229E), porcine epidemic diarrhea coronavirus (PEDV), transmissible gastroenteritis virus (TGEV), canine coronavirus (CCoV) และ feline infectious peritonitis virus (FIPV) **กลุ่มที่ 2** ประกอบด้วยไวรัสที่มี hemagglutinin esterase ได้แก่ mouse hepatitis virus (MHV), rat sialodacryoadenitis virus (Rat SDAV), human coronavirus-OC43 (HCoV-OC43), bovine coronavirus (BCoV) และ porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus (HEV) และ**กลุ่มที่ 3** ประกอบด้วยไวรัสในสัตว์ปีก เช่น avian infectious bronchitis virus (IBV) และ Turkey coronavirus (TCoV)

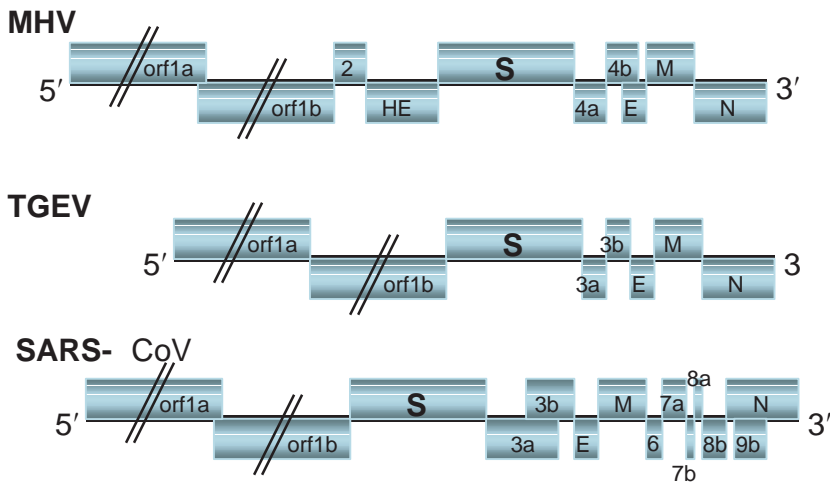
ผลการวิเคราะห์พันธุกรรมของไวรัส SARS

การวิเคราะห์ลำดับเบสทั้งจีโนม (complete genomic RNA) ของไวรัส SARS (Rota, *et al.*, 2003 และ Marra, *et al.*, 2003) ยืนยันอย่างแน่ชัดว่าไวรัส SARS เป็นไวรัสในกลุ่มโคโรนา และให้ชื่อว่า SARS Coronavirus (SARS-CoV) SARS-CoV มีพันธุกรรมชนิด RNA สายเดี่ยวชนิดบวก ขนาดประมาณ 29 กิโลเบส ประกอบด้วย 11 open reading frames (ORF) ซึ่งมีการจัดเรียงหน่วยพันธุกรรม (genome organization) เหมือนโคโรนาไวรัสทั้งสามกลุ่มข้างต้น (Rota, *et al.*, 2003; Morra, *et al.*, 2003; Ruan *et al.*, 2003 และ Snijder *et al.*, 2003) มีลำดับการเรียงของยีนส์หลักๆ จากปลาย 5' ไปยัง 3' ดังนี้ replicase/transcriptase (ORF 1 ab), peplomer ซึ่งเป็นยีนส์ที่บรจุรหัสของ glycoprotein ที่ประกอบเป็นโครงสร้างที่ยื่นออกมาจากอนุภาค

ไวรัส (ORF 2; S), small envelop protein (ORF 4; E), Matrix ซึ่งเป็นโปรตีนโครงร่างของอนุภาคไวรัส (ORF 5; M), และ nucleocapsid (ORF 9 ; N) (รูปที่ 1)

ผลการวิเคราะห์ลำดับกรดอะมิโนที่ถูกถอดรหัสจากยีนส์ (deduced amino acids) ของ SARS-CoV เปรียบเทียบกับของโคโรนาไวรัสชนิดอื่นๆ ที่มีรายงาน (Rota, *et al.*, 2003; Morra, *et al.*, 2003; Fouchier, *et al.*, 2003; Snijder, *et al.*, 2003) พบว่า SARS-CoV ไม่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิด กับโคโรนาไวรัสที่แยกได้จากคน สุกร วัว สุนัข แมว หนู mice หนูบ้าน ไก่และไก่วง แต่ละยีนส์ของ

SARS-CoV มีความคล้ายคลึงกับยีนส์แต่ละส่วนของโคโรนาไวรัสอื่นๆ เพียง 70% การวิเคราะห์และเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนในส่วน ORF1b (replicase gene) ของ SARS-CoV กับโคโรนาไวรัสอื่น ๆ ซึ่งให้เห็นว่า SARS-CoV แตกต่างจากโคโรนาไวรัสอื่นๆ อย่างเด่นชัด และสามารถแยกออกเป็นกลุ่มใหม่ได้ (รูปที่ 2) ถึงแม้ว่า SARS-CoV มีความใกล้ชิดกับโคโรนาไวรัสกลุ่มที่ 2 มากกว่ากลุ่มที่ 1 แต่ SARS-CoV ไม่มียีนส์ที่บรจุรหัสของ hemagglutinin esterase เช่นเดียวกับโคโรนาไวรัสกลุ่มที่ 1 จากลำดับเบสที่ประกอบเป็นจีโนม

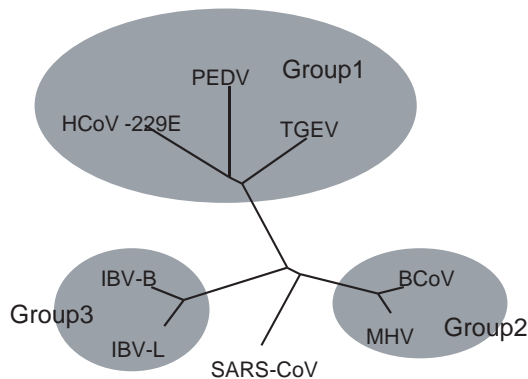


รูปที่ 1 ลำดับของยีนส์หรือ ORFs ของโคโรนาไวรัส จีโนม (genome) ของโคโรนาไวรัสมีขนาด 29-31 กิโลเบส ประกอบด้วย 7-9 ORFs ORF1 ประกอบด้วย ORF 1a และ ORF 1b ซึ่งมีกรอบของการอ่านรหัสพันธุกรรม ซ้อนทับกัน ORF 1b บรจุรหัสของโปรตีนที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการจำลองแบบ RNA (Replicase) ลำดับการเรียงยีนส์โครงสร้างของโคโรนาไวรัสที่สำคัญคือ S, E, M และ N ซึ่งมีรายละเอียดในเนื้อหา SARS-CoV ประกอบด้วยยีนส์ทั้งสิ้นชนิด และมีลำดับของ ORFs เหมือนกัน mouse hepatitis virus (MHV) เป็นตัวแทนของโคโรนาไวรัสกลุ่มที่ 2 ซึ่งมียีนส์ที่บรจุรหัสของ glycoprotein ชื่อ hemagglutinin esterase (HE) transmissible gastroenteritis virus (TGEV) เป็นตัวแทนของโคโรนาไวรัสกลุ่มที่ 1 ซึ่งไม่มียีนส์ HE SARS-Coronavirus (SARS-CoV) ประกอบด้วย 9 ORFs ซึ่งรวมถึง ORF 1ab, S, E, M และ N แต่ไม่มียีนส์ HE

(genome) ของ SARS-CoV ยืนยันว่า SARS-CoV ไม่ได้เกิดจากการผสมรวมกัน (recombination) ระหว่างจีโนมของโคโรนาไวรัสชนิดอื่น ที่มีรายงานอยู่ในขณะนั้น แต่อาจเป็นไปได้ว่า SARS-CoV เป็นไวรัสที่พบในสัตว์บางชนิดที่เราไม่รู้จัก ซึ่งปกติไม่มีโอกาสใกล้ชิดกับคน แล้วมีการติดเข้าไปยังคน (interspecies transmission) และก่อโรคอย่างรุนแรงในคน (Holmes, *et al.*, 2003)

หลักฐานสนับสนุนการข้ามสปีชีส์ของ SARS-CoV

ความคิดที่ว่าสัตว์อาจเป็นตัวนำเชื้อ SARS-CoV (Vector) สืบเนื่องมาจากการระบาดของ SARS ที่แฟลต Amoy Garden ในฮ่องกง ช่วงเดือนมีนาคม



รูปที่ 2 ที่มา : Holmes, K.V., 2003. The Journal of Clinical Investigation 11 (11) : 1605-1609 แผนผังต้นไม้ทางพันธุกรรมของโคโรนาไวรัส ที่สร้างจากการเปรียบเทียบยีนในส่วนของ ORF 1b ของ SARS-CoV และโคโรนาไวรัสชนิดอื่นๆ แสดงให้เห็นว่า SARS-CoV มีความแตกต่างโคโรนาไวรัสที่มีในรายงานทั้งสามกลุ่ม

2546 ซึ่งทำให้ผู้พักอาศัยในแฟลตดังกล่าวจำนวน 321 คน จาก 15 บล็อก ป่วยเป็นโรค SARS เหตุการณ์ดังกล่าวเรียกว่า “super-spreader event” เนื่องจากคนเพียงคนเดียวที่สัมผัสโรคและแสดงอาการ ไม่น่าจะแพร่โรคให้กับคนอื่นได้ถึง 321 คน ซึ่งไม่ได้มีโอกาสใกล้ชิดและทำให้ป่วยได้ในคราวเดียวกัน จึงมีการตั้งสมมติฐานว่าสัตว์อาจจะมีบทบาทสำคัญในการระบาดครั้งนั้น (Stephen, 2003) จากการทดสอบสัตว์เลี้ยงที่อยู่ในบริเวณที่มีผู้ป่วย พบว่า แมว 8 ตัว และสุนัข 1 ตัว มีสารพันธุกรรมของ SARS-CoV เมื่อตรวจด้วยวิธี RT-PCR และสามารถแยกเชื้อ SARS-CoV ได้จากแมวที่ให้ผลบวกต่อการตรวจด้วย RT-PCR ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสจาก SARS-CoV ที่แยกได้จากแมวพบว่าไม่แตกต่างจาก SARS-CoV ของคน (WHO, 2003) นอกจากนั้นสิ่งขับถ่ายของหนูบ้านที่ถูกเก็บในช่วงการสำรวจ Amoy Garden ให้ผลบวกจากการตรวจด้วย RT-PCR

เนื่องจากผู้ป่วยที่พบในช่วงแรกของการระบาดในจังหวัดกวางตุ้งของจีน ส่วนใหญ่เป็นคณงานในร้านอาหารซึ่งมีโอกาสสัมผัสกับสัตว์ป่า (Zhong, *et al.*, 2003) จึงมีการเพาะแยกเชื้อ SARS-CoV จากมูลสัตว์และสิ่งคัดหลั่งหลังจากจุมูกของสัตว์ป่าที่มีจำหน่ายในตลาด (Guan, *et al.*, 2003) และพบ SARS-like Coronavirus (SARS-like CoV) จากมูลและ/หรือสิ่งคัดหลั่งหลังจากจุมูกของชะมด (palm civet) และแรคคูน (raccoon dog) จีโนมของ SARS-like CoV ที่แยกได้ประกอบด้วย 29,701 เบส และมีความคล้ายคลึง (homologous) กับจีโนมของ SARS-CoV ถึง 99.8% แต่อย่างไรก็ตามจีโนมของ SARS-like CoV ที่แยกได้จากสัตว์ป่าแต่ละชนิดมีความคล้ายคลึงกันภายในกลุ่มมากกว่าจีโนมของ

SARS-CoV ที่แยกได้จากคน และจีโนมของ SARS-CoV จากผู้ป่วย SARS ในแต่ละพื้นที่ทั่วโลก มีความคล้ายคลึงกันภายในกลุ่มมากกว่าจีโนมของ SARS-like CoV ที่แยกได้จากสัตว์ป่า ทำให้สามารถแยกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ SARS-CoV ของคน และ SARS-CoV ของสัตว์ป่า นอกจากนี้ยังพบว่า 40% ของคนขายสัตว์ป่าและคนฆ่าสัตว์ป่าเพื่อประกอบอาหารมีภูมิคุ้มกันต่อ SARS-CoV

บทสรุป

รายงานครั้งนี้เป็นหลักฐานที่สำคัญ ซึ่งบ่งชี้ว่า การติดเชื้อข้ามสปีชีส์ระหว่างสัตว์ชนิดหนึ่งไปยังสัตว์อีกชนิดหนึ่งหรือจากสัตว์ข้ามไปยังคน เป็นสิ่งที่เกิดขึ้นได้ แต่อย่างไรก็ตามยังไม่สามารถยืนยันได้ว่า SARS-CoV มาจากไหน สัตว์ป่าที่ถูกนำมาขายในตลาด เช่น ชะมด และ แรคคูน อาจเป็นเพียงแค่อีกกลางที่นำ SARS-like CoV จากสัตว์ป่าชนิดอื่นๆ แล้วรอที่จะถ่ายต่อไปยังสปีชีส์อื่น ถึงแม้ว่า SARS-CoV จะติดต่อไปยังแมวบ้านได้ แต่ในขณะนี้ยังไม่มีความรู้ยืนยันว่า แมวจะสามารถถ่ายทอดโรคไปยังคนได้ และในปัจจุบันยังไม่มีหลักฐานที่ชี้ชัดว่า SARS-CoV เป็นโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน (zoonosis) แต่เป็นไปได้ว่าสัตว์อาจจะเป็นแหล่งกักเก็บโรค (reservoir) ที่สำคัญของ SARS-CoV ดังนั้นการศึกษา SARS-CoV ในสัตว์ชนิดต่างๆ เป็นสิ่งที่จำเป็นอย่างยิ่งเพื่อให้ทราบว่าสัตว์ชนิดใดเป็นแหล่งกักเก็บโรค และทราบถึงที่มาของ SARS-CoV

เอกสารอ้างอิง

- Drosten, C., S. Gunther, W. Preiser, S. van der Werf, H.R. Brodt, S. Becker, H. Rabenau, M. Panning, L. Kolesnikova, R.A. Fouchier, A. Berger, A.M. Burguiere, J. Cinatl, M. Eickmann, N. Escriou, K. Grywna, S. Kramme, J.C. Manuguerra, S. Muller, V. Rickerts, M. Sturmer, S. Vieth, H.D. Klenk, A.D. Osterhaus, H. Schmitz and H.W. Doerr. 2003. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med.* 348(20):1967-76.
- Fouchier, R.A., T. Kuiken, M. Schutten, G. van Amerongen, G.J. van Doornum, B.G. van den Hoogen, M. Peiris, W. Lim, K. Stohr, A.D. Osterhaus. 2003. Aetiology: Koch's postulates fulfilled for SARS virus. *Nature.* 423(6937):240.
- Guan, Y., B.J. Zheng, Y.Q. He, X.L. Liu, Z.X. Zhuang, C.L. Cheung, S.W. Luo, P.H. Li, L.J. Zhang, Y.J. Guan, K.M. Butt, K.L. Wong, K.W. Chan, W. Lim, K.F. Shortridge, K.Y. Yuen, J.S. Peiris and L.L. Poon. 2003. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science.* 302(5643):276-8.
- Holmes, K.V. 2003. SARS coronavirus: a new challenge for prevention and therapy. *J Clin Invest.* 111(11):1605-9. Review.
- Hoey, J. 2003. Severe acute respiratory syndrome. *CMAJ.* 168(8):1013.
- Kaiser, L., C. Deffernez, Y. Thomas, D. Koch, V.M.

- Spicher, I. Uckay, D. Schultze, G. Siegl, L. Perrin, H.C. Matter and W. Wunderli. 2003. Viral aetiology of acute respiratory illnesses in patients with a suspicion of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Switzerland. *Swiss Med Wkly.* 133(27-28):400-1.
- Ksiazek, T.G., D. Erdman, C.S. Goldsmith, S.R. Zaki, T. Peret, S. Emery, S. Tong, C. Urbani, J.A. Comer, W. Lim, P.E. Rollin, S.F. Dowell, A.E. Ling, C.D. Humphrey, W.J. Shieh, J. Guarner, C.D. Paddock, P. Rota, B. Fields, J. DeRisi, J.Y. Yang, N. Cox, J.M. Hughes, J.W. LeDuc, W.J. Bellini, L.J. Anderson and SARS Working Group. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med.* 2003 May 15;348(20):1953-66.
- Kuiken, T., R.A. Fouchier, M. Schutten, G.F. Rimmelzwaan, G. van Amerongen, D. van Riel, J.D. Laman, T. de Jong, G. van Doornum, W. Lim, A.E. Ling, P.K. Chan, J.S. Tam, M.C. Zambon, R. Gopal, C. Drosten, S. van der Werf, N. Escriou, J.C. Manuguerra, K. Stohr, J.S. Peiris and A.D. Osterhaus. 2003. Newly discovered coronavirus as the primary cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet.* 362(9380):263-70.
- Lai, M. M. C. and C. V. Holmes. 2001. Coronaviridae: The viruses and their replication, pp1163-1185. In *Fields Virology* fourth edition. Knipe, D. *et al.*, editors. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, Pennsylvania, USA.
- Marra, M.A., S.J. Jones, C.R. Astell, R.A. Holt, A. Brooks-Wilson, Y.S. Butterfield, J. Khattra, J.K. Asano, S.A. Barber, S.Y. Chan, A. Cloutier, S.M. Coughlin, D. Freeman, N. Girn, O.L. Griffith, S.R. Leach, M. Mayo, H. McDonald, S.B. Montgomery, P.K. Pandoh, A.S. Petrescu, A.G. Robertson, J.E. Schein, A. Siddiqui, D.E. Smailus, J.M. Stott, G.S. Yang, F. Plummer, A. Andonov, H. Artsob, N. Bastien, K. Bernard, T.F. Booth, D. Bowness, M. Czub, M. Drebot, L. Fernando, R. Flick, M. Garbutt, M. Gray, A. Grolla, S. Jones, H. Feldmann, A. Meyers, A. Kabani, Y. Li, S. Normand, U. Stroher, G.A. Tipples, S. Tyler, R. Vogrig, D. Ward, B. Watson, R.C. Brunham, M. Kraiden, M. Petric, D.M. Skowronski, C. Upton and R.L. Roper. 2003. The Genome sequence of the SARS-associated coronavirus. *Science.* 300(5624):1399-404.
- Peiris, J.S., S.T. Lai, L.L. Poon, Y. Guan, L.Y. Yam, W. Lim, J. Nicholls, W.K. Yee, W.W. Yan, M.T. Cheung, V.C. Cheng, K.H. Chan, D.N. Tsang, R.W. Yung T.K., Ng, K.Y. Yuen and SARS study group. 2003. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet.* 361(9366):1319-25.
- Rota, P.A., M.S. Oberste, S.S. Monroe, W.A. Nix, R. Campagnoli, J.P. Icenogle, S. Penaranda, B. Bankamp, K. Maher, M.H. Chen, S. Tong, A. Tamin, L. Lowe, M. Frace, J.L. DeRisi, Q. Chen, D. Wang, D.D. Erdman, T.C. Peret, C. Burns, T.G. Ksiazek, P.E. Rollin, A. Sanchez, S. Liffick, B. Holloway, J. Limor, K. McCaustland,

- M. Olsen-Rasmussen, R. Fouchier, S. Gunther, A.D. Osterhaus, C. Drosten, M.A. Pallansch, L.J. Anderson and W.J. Bellini. 2003. Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *Science*. 300(5624):1394-9.
- Ruan, Y.J., C.L. Wei, A.L. Ee, V.B. Vega, H. Thoreau, S.T. Su, J.M. Chia, P. Ng, K.P. Chiu, L. Lim, T. Zhang, C.K. Peng, E.O. Lin, N.M. Lee, S.L. Yee, L.F. Ng, R.E. Chee, L.W. Stanton, P.M. Long and E.T. Liu. 2003. Comparative full-length genome sequence analysis of 14 SARS coronavirus isolates and common mutations associated with putative origins of infection. *Lancet*. 361(9371):1779-85.
- Snijder, E.J., P.J. Bredenbeek, J.C. Dobbe, V. Thiel, J. Ziebuhr, L.L. Poon, Y. Guan, M. Rozanov, W.J. Spaan and A.E. Gorbalenya. 2003. Unique and conserved features of genome and proteome of SARS-coronavirus, an early split-off from the coronavirus group 2 lineage. *J Mol Biol*. 331(5):991-1004.
- Stephen, C.K. Ng. 2003. Possible role of an animal vector in the SARS outbreak at Amoy Gardens. *Lancet*. 362(9383):570-2.
- WHO. 2003. Consensus document on the epidemiology of severe acute respiratory syndrome (SARS). WHO/CDS/CRS/GAR/2003.11
http://www.who.int/crs/sars/country/table2003_09_23/en
<http://www.who.int/crs/sars/postoutbreak/en>

**บทคัดย่อจากการประชุมวิชาการสาขาสัตวแพทยศาสตร์
ครั้งที่ 41 (2546) ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์**

การผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งในช้างเอเชีย (*Elephas maximus*) โดยใช้กล้องส่องตรวจภายในและอูลตราซาวด์นำทาง

Frozen semen artificial insemination in an Asian elephants (*Elephas maximus*) using endoscope and ultrasound guide.

นิกร ทองทิพย์¹ มังกร ดำยั้ง¹ สิทธิเดช มหาสawangkul² อภิเชษ คงศิลา¹ ทวีโภค อังควาณิช² ศรัณย์ จันทร์สิทธิเวช² ฉัตรโชติ ชิตาราม³ และ พรสวรรค์ พงษ์โสภาวิจิตร³

Nikorn Thongtip¹, Mungkorn Damyang¹, Sittidet. Mahasawangkul², Apisek Kongsila¹, Taweepoke Angkawanich², Sarun Jansittiwate², Chatchote Thitaram³ and Pornsawan Phongsopawijit³

บทคัดย่อ

กล้องส่องตรวจภายใน (Endoscope) และอูลตราซาวด์ (Ultrasound) ใช้นำทางเพื่อสอดเข้าท่อมดลูกที่อยู่ด้านขวา เพื่อหลีกเลี่ยงท่อปัสสาวะที่อยู่ด้านซ้าย เมื่อสอดลึกเข้าไปถึงระดับ 120 เซนติเมตร จะถึงปากมดลูก และใช้ balloon catheter สอดผ่าน Endoscope เพื่อตรึงตำแหน่ง ทำการผสมเทียม 3 ครั้ง ด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งที่ละลายแล้ว แต่ละครึ่งห่างกัน 24 ชั่วโมง

ABSTRACT

The endoscope and ultrasound were guide to the right tube to avoid the urethral located by the left tube. At 120 cm. Length the cervix was reached, then balloon catheter that was inserted through the endoscope was fixed. The thawed of deep frozen semen was put 3 times, 24 hours apart the fix area.

¹ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140
Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Campaengsaen Campus, Nakornprathom, Thailand, 73140.

² ศูนย์อนุรักษ์ช้างไทย องค์การอุตสาหกรรมป่าไม้ อ.ห้างฉัตร จ.ลำปาง
Thai Elephant Conservation Center, Forest Industry Organization, Hangchart, Lampang, Thailand

³ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50000
Faculty of Veterinary Medicine, Chiangmai University, Chiangmai, Thailand, 50000.

การศึกษาเบื้องต้นหลังการรักษาสุนัขที่มีภาวะหัวใจล้มเหลว
ต่อค่าความเข้มข้นของ cardiac troponin T ในซีรัม

A preliminary study on serum concentration of cardiac Troponin T
after treatment in canine heart failure.

ทิพย์พร ตรีพุทธรัตน์¹ ชูศรี ศรีเพ็ญ² และ โขสิต ศรีเพ็ญ³

Tippayaporn Tribuddharatana, Choosri Sribhen and Kosit Sribhen

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาเพื่อพิสูจน์ว่าโปรตีนจำเพาะต่อกล้ามเนื้อหัวใจ cardiac troponin T (cTnT) ที่ถูกปลดปล่อยจากภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตายเข้าสู่กระแสโลหิต สามารถใช้พยากรณ์ผลการรักษาภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตายในสุนัขได้ สุนัขจำนวน 21 ตัวที่มีภาวะโรคหัวใจในลักษณะต่างๆได้รับการตรวจวัดค่า cTnT โดยวิธี electrochemiluminescence immunoassay ชนิดอัตโนมัติ และตรวจวัดค่า creatinine kinase (CK) ด้วยวิธี standard enzymatic method ชนิดอัตโนมัติ ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่าสุนัขที่มีพยาธิ์หนอนหัวใจ(heartworm disease) สุนัขที่มีความผิดปกติที่ลิ้นหัวใจ (valvular heart disease) และสุนัขที่มีภาวะการเต้นของหัวใจผิดจังหวะ(cardiac arrhythmia) จำนวน 12 ตัว มีค่า cTnT ในระดับต่ำและ หลังการรักษาค่า cTnT ไม่เปลี่ยนแปลง สุนัขที่มีภาวะหัวใจล้มเหลว (congestive heart failure, CHF) จำนวน 5 ตัวจาก 7 ตัว หลังการรักษามีค่า cTnT ลดลงอย่างชัดเจน หรือตรวจไม่พบค่า cTnT ส่วนสุนัขอีก 2 ตัว ที่มีภาวะหัวใจล้มเหลว (CHF) ตรวจค่า cTnT สูงมาก ก่อนการรักษา สุนัข 1 ตัว จาก 2 ตัวนี้ค่า cTnT ลดลงหลังการรักษา แต่สุนัขอีก 1 ตัวหลังการรักษาค่า cTnT ยังคงสูงไม่เปลี่ยนแปลง สุนัขตัวดังกล่าวตายภายใน 1 เดือน การตรวจวัดค่า CK หลังการรักษามีค่าไม่แน่นอนอาจจะสูงหรือต่ำและไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่า electrocardiogram (EKG) ที่บ่งชี้ถึงภาวะกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด ผลการศึกษาสรุปได้ว่า cTnT น่าจะมีประโยชน์ในการประเมินผลการรักษาในสุนัขที่มีภาวะหัวใจล้มเหลวได้

ABSTRACT

The aims of this preliminary study was to investigate the new cardiac specific troponin T (cTnT)

¹ โรงพยาบาลสัตวบางเขน คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

Veterinary Teaching Hospital, Kasetsart University, Bangkok 10900

² ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok 10900

³ ภาควิชาพยาธิวิทยาคลินิก คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ 10700

Department of Clinical Pathology, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University,

as a diagnostic and prognostic marker in canine heart failure. Serial measurements of this marker protein as well as the conventional marker creatine kinase (CK) were performed on 21 dogs with a variety of cardiac diseases using electrochemiluminescence immunoassay and standard enzymatic method, respectively. The results showed that cTnT levels in the 12 dogs with heartworm infection, valvular heart disease and cardiac arrhythmia with non-detectable or very low concentration of cTnT at the first visit were virtually unchanged at follow-up. In contrast, 5 out of 7 dogs with congestive heart failure (CHF) displayed a distinct decline in cTnT concentration or its level remained undetectable after treatment. The other 2 dogs with CHF has the highest cTnT level before treatment. One of them with CHF has the highest cTnT level showed no change in its concentration after treatment. This dog died suddenly 1 month. In all these animals a highly variable result for CK was observed and there were no ischemic changes on electrocardiogram. These results imply that cTnT may be a useful marker for assessing the effect of treatment in canine heart failure.

การตรวจหาวัวที่เป็นแหล่งรังโรคของเชื้อเลปโตสไปโรซิสในประเทศไทยโดยการประสาน
เทคนิค PCR และ MAT
PCR-Based and MAT Combination Methods for Identifying *Leptospira* Reservoir Cows
in Thailand

ศิริวรรณ พรพพงษ์¹ ดวงใจ สุวรรณเจริญ² และ นพพร โต๊ะมี²

Siriwan Prapong¹, Duangchai Suwanchareon², and Nopporn Tohmee²

บทคัดย่อ

คณะผู้วิจัยได้ใช้เทคนิค microscopic agglutination test (MAT) เพื่อตรวจระดับ titer ต่อโรคเลปโตสไปโรซิส และใช้เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) เพื่อตรวจสอบ DNA ของเชื้อเลปโตสไปรา จากปัสสาวะโค ในพื้นที่ กรุงเทพมหานคร ปทุมธานี นครปฐม และ นครราชสีมา เทคนิค PCR ที่ใช้ในการศึกษารั้งนี้ใช้ชุด primers ที่ได้รายงานโดย Gravekamp และคณะ (1993) ได้ทำการตรวจสอบเชื้อเปรียบเทียบของเชื้อเลปโตสไปรา จำนวน 24 strains (24 serovars) และเชื้อเลปโตนีมา 1 ชนิด ผลการตรวจสอบเชื้อเปรียบเทียบโดยวิธี PCR คณะผู้วิจัยพบว่าเชื้อเปรียบเทียบบางตัวให้ผล PCR แตกต่างจากที่รายงานโดย Gravekamp และคณะ (1993) ผลการตรวจสอบ MAT จากซีรัม พบระดับ titer $\geq 1:40$ มีอัตราสูงมากถึง 41% โดยการประสานเทคนิค PCR เพื่อตรวจสอบ DNA ของเชื้อเลปโตสไปรา จากปัสสาวะโค ร่วมกับวิธี MAT พบว่ามีโคจำนวน 17.8% ที่จัดอยู่ในกลุ่มที่เป็นแหล่งรังโรคของเชื้อเลปโตสไปรา ด้วยการผสมผสานสองเทคนิค ทำให้ได้ผลการตรวจที่เชื่อถือได้เพื่อกำจัด หรือ เพื่อกำจัดพื้นที่ของโคในกลุ่มนี้

ABSTRACT

We did microscopic agglutination test (MAT) and PCR-based method to detect *Leptospira* titer in serum and *Leptospira* DNA in urine samples. Serum and urine samples were collected from the same cows at area Bangkok, Pratumdranee, Nakornprathom, and Nakornrachaseema. The PCR was performed with primer sets reported by Gravekamp et al. (1993) to check *Leptospira* DNA from 24 strains (24 serovars) and one *Leptonema* spp. There was some discordance of our PCR results to that reported by Gravekamp et al (1993). The percentage of cows is large (41%) with seropositive titer at $\geq 1:40$. However, by using the combination methods of MAT and PCR, there were only 17.8% cows detected as *Leptospira* carrier and shedder. With these combination methods, we are confident in making decision to eliminate and/or to quarantine those animals.

¹ ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900 ประเทศไทย

Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, BKK, 10900, THAILAND.

² หน่วยโรคเลปโตสไปโรซิส สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ บางเขน กรุงเทพฯ 10900 ประเทศไทย

Section Leptospirosis, NIAH, BangKhane, BKK, 10900, THAILAND.

รายงานสัตว์ป่วย: การอุดตันของหลอดอาหารในช้างเอเชีย(*Elephas maximus*)
Esophageal Obstruction (Choke) in Asiatic elephant (*Elephas maximus*): Case report

อภิเชษ กงศิลา¹, นิกร ทองทิพย์², และ นันทวัน ญาติบรรทุง³
Apisek Kongsila¹, Nikorn Thongtip², and Nantawan Yatbantung³

บทคัดย่อ

ช้างเอเชีย (*Elephas maximus*) เพศเมีย อายุ 10 ปี ถูกส่งจาก จ.ชลบุรีเพื่อเข้ารับการรักษาต่อที่โรงพยาบาลสัตวศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน กินลูกตาลสุกเกิดการอุดตันที่ cranial esophagus 3 วัน ก่อนรักษาที่โรงพยาบาลสัตว์เคยได้รับการรักษาจากสัตวแพทย์ในพื้นที่โดยให้ยา xylazine HCl 0.56 mg/kg 3.5 ml. ล้วงตรวจโดยใช้แขนผ่านทางปากแต่ไม่ถึงตำแหน่งที่อุดตัน และให้ ยาบำรุง ยาบรรเทาอาการปวดและอักเสบ ทำการตรวจร่างกายข้างกินอาหารได้ตามปกติ แต่จะขย้อนออกมาหลังจากกินเข้าไปแล้ว 5 นาที ลักษณะอาหารที่ขย้อนออกมาปกติ ทดลองให้กินน้ำมีอาหารเช่นเดียวกัน ทำการเจาะเลือดเพื่อตรวจค่าโลหิตวิทยาพบว่าอยู่ในเกณฑ์ปกติ ก่อนรักษาให้สารน้ำและยาบำรุงเพื่อปรับสภาพร่างกาย จากนั้นจึงวางยาซึมด้วย xylazine HCl 0.4 ml. รัศบริเวณงวงด้วยผ้ายืดใช้รอกช่วยพยุงยกหัวขึ้น ใช้ Bayer's wedge สอดระหว่างกรามบนและกรากล่าง แล้วจึงใช้มือล้วงดึงลูกตาลออกมา จากนั้นจึงให้ยาแก้ฤทธิ์ xylazine HCl ด้วยยา yohimbin HCl (Reverzine[®] inj.) ขนาด 0.18 mg/kg. ทางเส้นเลือดดำที่ใบหู พร้อมกับให้วิตามิน ยาปฏิชีวนะ และสารน้ำ ช้างสามารถกินอาหารได้ตามปกติหลังการรักษาและไม่มีภาวะแทรกซ้อน

ABSTRACT

The ten years old female Asian elephant (*Elephas maximus*) was transfer from Chonburi province for treatment at Kampaengsaen Kasetsart University Veterinary Teaching Hospital. Three

¹หน่วยสัตว์ป่า โรงพยาบาลสัตวศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน อ. กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

Wildlife Unit, Kamphaeagsaen Kasetsart University Veterinary Teaching Hospital, Kasetsart University, Kamphaeagsaen Campus Nakorn Pathom. 73140

²ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ. กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

Department of Surgery, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Kamphaeagsaen Campus Nakorn Pathom. 73140

³ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ. กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

Department of Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Kamphaeagsaen Campus Nakorn Pathom. 73140

days ago she had esophageal obstruction (shoked) at cranial esophagus because the Palm seed (diameter 13 cm., round-shaped) was the obstruction. The local veterinarian used xylazine HCl 0.56 mg/kg. 3 ml. for preparing to oral palpation but not success and supportive with vitamins, analgesic drug and anti-inflammation drugs for primary treatment. She was appetited but regurgitation after 5 minutes eating. The content of regurgitated was normal and the water taken after the feed was regurgitated too. We collected blood sample for hematology and blood chemistry. Hematology value was done. The results reveal normal. We used fluid therapy and vitamin for supportive treatment. After that we used xylazine HCl 04 mg/kg and restraint her head, used Bayer's wedge insert between upper and lower mandibular for prepare oral palpation to take Palm seed off, antidote with yohimbin HCl (Reverzine®inj.) 0.18 mg/kg IV at ear vein and supportive treatment with vitamin, antibiotic and fluid therapy. She recovered and no have complication.

การใช้โปรแกรมการจัดการสุขภาพและผลผลิตระดับฝูงเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต
ในฟาร์มโคนมรายย่อย: ผลต่อโคสาวทดแทน

The Application of Herd Health and Production Management Program
for Productivity Improvement in Small Dairy Herd: The Effect on Heifer Replacement

เกียรติศักดิ์ ตันเจริญ^{1,2} ธนู ภิญโญภูมิมินทร์^{1,2} วิทยา สุริยาสถาพร³ และ จตุรงค์ วงศ์สิน^{1,4}

Kaittisak Tancharoen^{1,2}, Tanu Pinyopummintr^{1,2}, Witaya Suriyasathaporn³ and Jaturong Wongsanit^{1,4}

บทคัดย่อ

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เป็นการศึกษาถึงผลของการประยุกต์ใช้โปรแกรมการจัดการสุขภาพและผลผลิตระดับฝูงในฟาร์มโคนมรายย่อยที่มีผลต่ออายุเฉลี่ยเมื่อผสมติดของโคสาวทดแทน โดยใช้วิธีวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Cox's proportional-hazards model จากข้อมูลโคสาวทั้งสิ้น 550 ตัว พบว่าสัดส่วนของโคสาวที่ผสมติดภายในอายุ 18 เดือน และ 24 เดือน เท่ากับ 19% และ 61% ตามลำดับ จำนวนปีที่ใช้โปรแกรมการจัดการสุขภาพผลผลิตระดับฝูงมีผลต่อสัดส่วนของโคสาวที่ผสมติดเมื่ออายุ 18 และ 24 เดือนอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนั้นฤดูกาลเมื่อลูกโคเพศเมียคลอดและปัจจัยเรื่องระดับสายเลือด (ไฮลีสไตร์นพีรีเซียน) มีแนวโน้มที่จะเพิ่มสัดส่วนการผสมติดเมื่อโคสาวอายุ 18 เดือน

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the effect of implementing a herd health and production management program (HH-PM) on heifer replacement in small dairy herds. From 550 heifer records and statistical analysis using Cox's proportional hazard model, the number of years which farm enrolled in a HH-PM program significantly affects the proportion of heifers conceived at 18

¹ โรงพยาบาลสัตวศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ หนองโพ อ.โพธาราม จ.ราชบุรี 70120

Kasetsart University Veterinary Teaching Hospital Nongpho, Photharam, Ratchaburi 70120

² ภาควิชาสูติศาสตร์ฯ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

Department of Obs. Gyn. And Anim. Reprod., Faculty of Veterinary Medicine, KU., Kamphangsae, Nakhon Pathom 73140

³ ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Khonkhaen University, Khonkhaen 4002

⁴ ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

Department of Surgery, Faculty of Veterinary Medicine, KU., Kamphangsae, Nakhon Pathom 73140

and 24 months old. The season when those heifers born and the level of cross-breeding (Holstein-Friesian) also exhibited a trend for improvement of the proportion of heifers conceived at 18 months old.

Key words: heifer, fertility, conception, herd health, reproduction

ผลของ Levamisole ชนิดฉีดในการกำจัดพยาธิตัวกลมในระบบทางเดินอาหารของแกะ
Effect of an injectable levamisole in elimination of gastrointestinal nematodes of sheep

วรรณิ ชัยเสนะบัณฑิต¹ สุรัชชัย จันทร์ทิพย์² ดร.ณิ บูรีภักดี ลอว์สัน³ กาญจนา แขงค่อม² และ วันทนีย์ รัตนศักดิ์²
Vanni Chaisanabunthid¹, Surachai Chantip², Darunee Buripakdi Lawson³, Kanchana Kengkoom²
and Wantanee Ratanasak²

บทคัดย่อ

เนื่องจากแกะที่เลี้ยงภายใต้การดูแลของสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติเริ่มมีอาการคือยา Ivermectin ที่ใช้ได้ผลดีในช่วงปีแรกๆ ดังที่ได้รายงานไว้แล้ว และสำนักฯ มีความจำเป็นต้องนำเข้าแกะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ พร้อมทำการกำจัดพยาธิหากมีการตรวจพบ ด้วย Levamisole (laevo isomer ของ tetramisole) ซึ่งสามารถออกฤทธิ์ได้กว้างขวาง และได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลายในการกำจัดพยาธิตัวอ่อนและตัวแก่ในกระเพาะ ลำไส้และปอดของสัตว์เคี้ยวเอื้อง จึงเป็นตัวยาหนึ่งที่น่าสนใจ โดยสำนักฯ ได้ศึกษาผลของการฉีด Levamisole ขนาด 8 มก./กก. น้ำหนักตัว เข้ากล้ามเนื้อในการกำจัดพยาธิในระบบทางเดินอาหารของแกะ 18 ตัวที่นำเข้ามาใหม่ในสำนักฯ จากการศึกษพบว่าแกะทุกตัวมีพยาธิชนิด *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus spp.* และ *Trichuris ovis* และตัวยาให้ประสิทธิภาพเต็มที่ 100 % ในการกำจัด *Haemonchus contortus* และ *Trichostrongylus spp.* หลังการฉีดยาเพียงครั้งเดียว และให้ประสิทธิภาพสูง 96 % และเต็มที่ 100 % ในการกำจัด *Trichuris ovis* หลังการฉีดยาครั้งแรกและครั้งที่สองตามลำดับ จากผลดังกล่าว Levamisole อาจเป็นทางเลือกหนึ่งของยาถ่ายพยาธิสำหรับกำจัดพยาธิตัวกลมในระบบทางเดินอาหารของแกะเพื่อควบคุมให้แกะที่นำเข้ามาใหม่ในสำนักฯ ปลอดภัยจากโรคพยาธิ

ABSTRACT

Recent resistance to Ivermectin in sheep colony maintained by National Laboratory Animal Centre, had prompt a seeking alternative anthelmintic treatment. Levamisole, which in a laevo isomeric form of tetramisol, has been widely accepted for its anthelmintic activity on most adult and immature stomach, intestinal, and lung worms. The injectable Levamisole, which approved for used in cattle (via subcutaneous injection), was investigated for its efficacy when given intramuscularly (8 mg./kg. body weight) to 18 sheep newly introduced to the colony. All new sheep got infected with

¹ ฝ่ายควบคุมคุณภาพ สำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล

Division of Quality Control, National Laboratory Animal Centre, Mahidol University.

² ฝ่ายผลิตและบริการ สำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล

Division of Production and Supply, National Laboratory Animal Centre, Mahidol University.

³ ฝ่ายวิจัยและส่งเสริมวิชาการ สำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล

Division of Research and Academic Support, National Laboratory Animal Centre, Mahidol University.

Haemonchus contortus, *Trichostrongylus spp.*, and *Trichuris ovis*. Single treatment resulted in a complete 100 % removal of *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus spp.*. Additional treatment was required to completely remove *Trichuris ovis* (96% then 100%, respectively). There was no visible sign of adverse side effects in these animals. Thus, injectable Levamisole can be used to eliminate gastrointestinal parasites in sheep via intramuscular administration.

Keywords: Levamisole, tetramisol, sheep, gastrointestinal nematodes, intramuscular injection

จรรยาบรรณของกรดซ้คซนคกการตายของเชื้อก่อโรคอาหารเป็นพิษ:
แคมไพโรแบคเตอร์ เจจูนี อี 93/2835

Death kinetics of succinic acid on foodborne pathogen: *Campylobacter jejuni* E93/2835

บงกช นพผล จอห์น ดี บรูคส์ และ เกรแฮม เจ แอนเดอร์สัน

Bongkot Noppon, J. D. Brooks and Graham J. Manderson

บทคัดย่อ

แคมไพโรแบคเตอร์ เจจูนี อี 93/2835 เป็นเชื้อที่ใช้ในการทดลองและ กรดซ้คซนคก เป็นกรดอินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ กราฟการรอดชีวิตของเชื้อเมื่อใช้กรดซ้คซนคกพบว่าจะแสดงถึงการมีระยะแลคที่ยาวหรือที่เรียกว่ามีพื้นที่ได้กราฟแบบไหล่กว้างซึ่งหมายถึงว่ามีระยะเวลาที่ประชากรของเชื้อมีจำนวนคงเดิมก่อนที่จะลดลงอย่างช้าๆ และจะมีการลดลงอย่างรวดเร็วในที่สุด ไม่สามารถพบเชื้อได้เมื่อใช้กรดซ้คซนคกในความเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 6 นาที เป็นต้นไป โดยใช้วิธีการนับเชื้อรอดชีวิต สมการการตายของเชื้อที่ได้จากการใช้กรดซ้คซนคกนี้เป็นแบบไม่เป็นเส้นตรง

Abstract

Campylobacter jejuni E93/2835 was a test organism for the death kinetic and succinic acid was an organic acid employed for this inactivation study. Survivor curves of succinic acid exhibited lag periods or shoulders i.e. time periods where the populations remained steady or declined slowly, after which a more rapid decline was observed. *C. jejuni* E93/2835 could not be detected after treatment with 200 ppm concentration for 6 minutes. The equation derived from this biocide was non-linear.

ผลของการใช้หุ่นจำลองยางพาราลูกสุกรในการเรียนการสอนวิชาวิทยาेमบริโอ Results of Using Pig Embryo Para Rubber Models in Embryology Teaching Class

วรรณดา สุจริต ศิริรักษ์ จันทกรุ ฌฐนันท์ มากมี

ขจร กอบสันเทียะ อภินันท์ สุประเสริฐ คลดา ศรีใส และ นที นิลนพคุณ

Vanda Sujarit, Sirirak Chantakru, Nathanant Makmee,

Khajohn Kobsuntia, Apinun Suprasert, Dollada Srisai, and Nati Nilnopakoon

บทคัดย่อ

ในการทำความเข้าใจเนื้อหาของวิชาวิทยาेमบริโอทางสัตวแพทย์นั้น ผู้เรียนจะต้องใช้จินตนาการเกี่ยวกับการสร้างอวัยวะระบบต่าง ๆ ของลูกอ่อน ซึ่งเจริญเติบโตอยู่ในมดลูกของแม่ การจัดเตรียมตัวอย่างสดของจริงเพื่อนำมาใช้ในการเรียนวิชานี้มีข้อจำกัด จึงได้ทดลองสร้างหุ่นจำลองยางพาราของลูกสุกรขนาด 10 มิลลิเมตร ให้มีลักษณะภายนอกครบถ้วนตามอายุ และเปิดให้เห็นการเจริญของอวัยวะภายในของลูกอ่อนในอายุเดียวกัน มีการทดสอบความรู้ของนิสิตที่ลงทะเบียนเรียนวิชานี้ในภาคต้น ปีการศึกษา 2545 ก่อนและหลังการนำหุ่นจำลองไปใช้ ผลปรากฏว่านิสิตมีความเห็นว่าหุ่นจำลองช่วยให้เข้าใจเนื้อหาการเรียนและเข้าใจรูปแบบการเจริญเติบโตในลักษณะการตัดขวางลำตัวตามลำดับได้ดีขึ้นกว่าเมื่อไม่ได้ใช้หุ่นจำลอง วัดตามคะแนนของการทดสอบหลังการใช้หุ่นจำลองมีผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนสูงขึ้นกว่าก่อนใช้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 นิสิตให้ข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ในการปรับปรุงหุ่นจำลองต่อไป

ABSTRACT

To understand the embryonic development and organogenesis, the students must construct the image of development. Moreover, preparation of embryonic specimens is limited. Therefore, 10 mm. pig embryo para rubber models were developed and utilized as a learning tool. The results demonstrated that pig embryo para rubber models increased the learning capability in embryology class. Statistically by paired observation, the students significantly got higher score after using the models than before the utilizing ($p < 0.05$). The students gave the additional suggestions to improve the models for better understanding.

การศึกษาประสิทธิภาพการเรียนการสอนโดยการใช้หุ่นจำลองอวัยวะระบบสืบพันธุ์โคจากยางพารา
Comparative Anatomical Teaching Aids of Bovine Reproductive Organs
between Para Rubber Models and Real Specimens

เสรี กูญแจนาค¹ อีระศักดิ์ พรพวงษ์¹ ขจร กอบสันเทียะ¹ มาลีวรรณ เหลี่ยมศิริเจริญ¹ ศิริรักษ์ จันทครุ¹
ดลดา ศรีใส¹ ณฐนันท์ มากมี¹ กรรณิการ์ วงษ์พานิชย์² ทวีวัฒน์ ทัศนวัฒน์³ และ อภินันท์ สุประเสริฐ¹

Seri Koonjaenak^{1*}, Teerasak Prapong¹, Kajohn Kobsuntia¹, Maleewan Liumsiricharoen¹,
Dollada Srisai¹, Sirirak chantakru¹, Nathanant Makmee¹, Kannika Wongpanit², Thaveewat Tassanawat³
and Apinun Suprasert¹

บทคัดย่อ

การเรียนการสอนทางกายวิภาคศาสตร์ มีแนวโน้มใช้สื่อการเรียนการสอนรูปหุ่นจำลองเพิ่มมากขึ้น เพื่อลดจำนวนการใช้สัตว์ทดลอง และเป็นการสนับสนุนเรื่องจรรยาบรรณการใช้สัตว์ แต่สื่อหุ่นจำลองที่นำมาใช้ในปัจจุบันทำจาก เรซิน และหรือไฟเบอร์กลาสเป็นส่วนใหญ่ วัตถุประสงค์ทั้งสองที่กล่าวมาเป็นสารที่สังเคราะห์ขึ้น มีกลิ่นฉุน เป็นพิษและเป็นสารก่อมะเร็ง นอกจากนี้ยังต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ราคาค่อนข้างสูง เป้าหมายในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้เพื่อนำยางพาราซึ่งเป็นสารธรรมชาติมาทดแทนสารสังเคราะห์ดังกล่าว โดยพัฒนาและผลิตเป็นสิ่งประดิษฐ์ใหม่ในรูปหุ่นจำลองอวัยวะระบบสืบพันธุ์โคเพศผู้พร้อมต่อมอวัยวะระบบสืบพันธุ์ และระบบสืบพันธุ์เพศเมียพร้อมเต้านม แสดงให้เห็นองค์ประกอบของอวัยวะระบบสืบพันธุ์และความสัมพันธ์กับอวัยวะใกล้เคียง รวมทั้งสามารถถอดประกอบให้เห็นถึงโครงสร้างภายใน หุ่นจำลองนี้ถูกนำไปทดสอบประสิทธิภาพการเรียนการสอน โดยเป็นสื่อการสอนของนิสิตคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ผลการทดสอบพบว่าการใช้สื่อการสอนทำให้นิสิตเข้าใจและเรียนรู้ได้มากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับการเรียนการสอนแบบไม่มีสื่อการเรียนการสอน

¹ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University.

² คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร
Faculty of Natural Resource and Agro-Industry, Kasetsart University.

³ ภาควิชาสูติศาสตร์และ เภสัชวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
Department of Obstetrics, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University.

ABSTRACT

To decrease the number of experimental animals for teaching in anatomy course which ethic of animal usage is concerned, the tendency of teaching with models is increase. To date most of the models are made of resin or fiberglass. These synthetic materials have bad odor, toxic and are carcinogen. Moreover they are imported with high cost. The objective of this research was to replace the synthetic materials with natural para rubber for researching and developing bovine of both male and female reproductive organs model and mammary gland. The new inventive models were shown the components of reproductive organs and the relation with other organs. In addition, parts of models were able to disassemble to reveal the internal structures. The models were used as the anatomical teaching aids for students of the Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University. The result showed that students were learning and understanding more better than not using the models.

Keyword: para rubber, teaching aid, model, reproductive organs.

การตรวจวัดระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในอุจจาระเพื่อประเมินการทำงานของรังไข่ในสุกรสาว
THE USE OF FECAL PROGESTERONE PROFILE TO DETERMINE OVARIAN FUNCTION IN
GILTS

เผด็จ ธรรมรักษ์ จันเพ็ญ สุวิมลธีรบุตร วิชัย ทันตศุภารักษ์

มงคล เตชะกำฟู และ อรรณพ คุณาวงษ์กฤต

Padet Tummaruk Junpen Suwimonteerabutr Wichai Tantasuparak

Mongkol Techakumphu and Annop Kunavongkrit

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เพื่อวัดระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (P4) ในอุจจาระสุกรสาว เพื่อบ่งชี้การทำงานของรังไข่ร่วมกับการสังเกตพฤติกรรมการเป็นสัด และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับ P4 ในเลือดและในอุจจาระ การทดลองครั้งนี้ใช้สุกรสาวก่อนวัยเจริญพันธุ์จำนวน 5 ตัว ลักษณะของรังไข่ในสุกรทุกตัวถูกตรวจด้วยลาพาโรสโคปี สุกรสาวได้สัมผัสกับพ่อสุกรทุกวันและถูกตรวจการเป็นสัดทุกวัน ทั้งอุจจาระและเลือดถูกเก็บทุก 7 วัน ก่อนที่สุกรสาวจะแสดงอาการเป็นสัดครั้งแรก หลังจากเป็นสัดอุจจาระและเลือดถูกเก็บทุก 3 วัน จนกระทั่ง 40 วันหลังแสดงอาการเป็นสัด การเก็บอุจจาระทำโดยการเก็บจากก้นโดยตรงหรือเก็บทันทีที่สุกรขับถ่าย อุจจาระถูกเก็บประมาณ 10 กรัมและถูกแช่แข็งทันทีที่อุณหภูมิ -20°C เลือดจะถูกเก็บจากเส้นเลือดบริเวณคอและถูกแยกพลาสมาภายใน 20 นาที หลังเก็บและแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20°C อุจจาระถูกนำมาสกัดโดยใช้สารละลายฟอตเฟตบัพเฟอร์ ทำการปั่นแยกและนำส่วนใสมาตรวจระดับฮอร์โมน P4 ด้วยวิธี Radioimmunoassay (RIA) เช่นเดียวกับพลาสมา ความสัมพันธ์ระหว่างระดับฮอร์โมนในพลาสมาและในอุจจาระถูกวิเคราะห์ด้วยวิธี Spermán's correlation โดยเฉลี่ยระดับของ P4 ในอุจจาระสูงสุดในวันที่ 13 หลังสุกรสาวยืนนิ่ง ในขณะที่ระดับของ P4 ในพลาสมาสูงสุดในวันที่ 10 หลังยืนนิ่ง อย่างไรก็ตามระดับสูงสุดของ P4 ในอุจจาระที่ตรวจพบแตกต่างกันระหว่างสุกรโดยพบได้ตั้งแต่ 143-2303 นาโนโมล/ลิตร ในขณะที่ระดับต่ำสุดพบได้ตั้งแต่ 0.45-5.7 นาโนโมล/กิโลกรัม ระดับของ P4 ในอุจจาระกับ P4 ในพลาสมามีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญ ($r=0.73$, $P<0.001$, $n=65$) ความสัมพันธ์ของระดับฮอร์โมน P4 ในเลือดและในอุจจาระเป็นรายตัว คือ $r=0.63$ ($P<0.05$), $r = 0.64$ ($P<0.05$), $r = 0.92$ ($P<0.001$), $r = 0.81$ ($P<0.001$) และ $r = 0.69$ ($P<0.01$) ระดับของ P4 ในอุจจาระของสุกรสาวก่อนวัยเจริญพันธุ์อยู่ในระดับต่ำกว่า 1.5 นาโนโมล/กิโลกรัม ระดับของ

ภาควิชาสูติศาสตร์ เหนือเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน
กรุงเทพฯ 10330

Department of obstetrics Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Sciences, Chulalongkorn
University, Bangkok, Thailand 10330 .

ในอุจจาระสูงขึ้นประมาณ 7 วันหลังสุกรเป็นสัด และอยู่ในระดับสูงจนกระทั่งวันที่ 16 หลังยืนนิ่งจึงเริ่มลดลง โดยสรุประดับของ P4 ในอุจจาระมีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับระดับ P4 ในพลาสมาในสุกรทุกตัว และระดับของ P4 ในอุจจาระสามารถใช้บ่งชี้ถึงการทำงานของรังไข่ในสุกรสาวได้

คำสำคัญ : สุกร โปรเจสเตอโรนในอุจจาระ วงจรการเป็นสัด การทำงานของรังไข่

ABSTRACT

The objectives of the present study were to measure level of fecal progesterone (P4) metabolite in gilts in order to determine the ovarian function in relation to oestrous behaviour. In addition, correlation between plasma and fecal P4 metabolite were also analyzed. Five prepubertal crossbred gilts were included in the experiment. Laparoscopy was used to determine ovarian status in all gilts. Oestrus detection was performed daily and all gilts were allowed to have a direct boar daily. About 10 g of feces was collected either directly from rectum or immediately after defecation and then kept at -20°C until analysed. Blood was collected from a jugular vein and immediately put into heparinized tube. Plasma was separated within 20 minute after collection and then kept at -20°C until analysed. Both fecal and blood samples were collected every 7 days before the gilts showed signs of first oestrus. After first oestrus was observed the samples were collected every 3 days starting from day 1 (standing heat) until day 40. P4 metabolite in feces was extracted by using phosphate buffer solution. The measurement of P4 level in blood (plasma) and feces were performed by a solid-phase ^{125}I -radioimmunoassay and its correlation was calculated by Spearman's correlation. On average, fecal P4 metabolite was highest on day 13 after standing heat, whereas plasma P4 was highest on day 10 after standing heat. The maximum levels of P4 metabolite in feces varies among gilts from 143 to 2303 nmol/kg, whereas the minimum levels of P4 metabolite in feces varies from 0.45 to 5.7 nmol/kg. Level of plasma P4 and fecal P4 metabolite was positively correlated ($r=0.73$, $P<0.001$, $n=65$). The correlation coefficient within animal between plasma P4 and fecal P4 metabolite in 5 gilts were 0.63 ($P<0.05$), 0.64 ($P<0.05$), 0.92 ($P<0.001$), 0.81 ($P<0.001$) and 0.69 ($P<0.01$). The level P4 metabolite in feces was lower than 1.5 nmol/ml during prepubetal period. Levels of fecal P4 metabolite increased around day 7 after standing heat and remained in a high level (>20 nmol/kg) until day 16 after standing heat. In conclusions, levels of fecal P4 metabolite significantly correlated with P4 in plasma in all gilts and fecal progesterone profile can be a useful measurement to determine luteal function of ovaries in gilts.

ปัจจัยที่มีผลกระทบต่ออัตราการเข้าคลอดในแม่สุกรพันธุ์แลนด์เรซและยอร์กเชียร์ในฟาร์มสุกร
พันธุ์แท้ 2 แห่งในประเทศไทย

FACTORS INFLUENCING FARROWING RATE IN LANDRACE AND YORKSHIRE SOWS IN
TWO COMMERCIAL FARMS IN THAILAND

เผด็จ ธรรมรักษ์ วิชัย ทันตศุภารักษ์ มงคล เตชะกำพุ และ อรรณพ คุณาวงษ์กฤต
Padet Tummaruk Wichai Tantasuparuk Mongkol Techakumphu and Annop Kunavongkrit

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลย้อนหลังและอธิบายความแปรปรวนของอัตราการเข้าคลอดในแม่สุกรพันธุ์แลนด์เรซ (L) และยอร์กเชียร์ (Y) ในฝูงสุกรพันธุ์แท้ 2 ฝูง ในประเทศไทย ข้อมูลที่นำมาศึกษาประกอบด้วยแม่สุกรที่ถูกผสมในช่วง 3 ปี ตั้งแต่กรกฎาคม 2541 - มิถุนายน 2544 ข้อมูลที่ทำการวิเคราะห์ประกอบด้วย 4692 ข้อมูล จากแม่สุกร L 1545 ตัว และ 4249 ข้อมูล จากแม่สุกร Y 1255 ตัว การวิเคราะห์ทางสถิติใช้วิธี Generalized linear mixed model โดยใช้ GLIMMIX macro ของโปรแกรม SAS โมเดลทางสถิติประกอบด้วยผลกระทบของพันธุ์ของแม่สุกร (L กับ Y) ลำดับครอก (1, 2, 3, 4, 5, 6 และ ≥ 7) ฟาร์ม (A กับ B) ปีที่ผสม ภูมิภาคภายในฟาร์มและพันธุ์เดียวกัน ชนิดของการผสม (ผสมเทียม (AI) กับ ผสมธรรมชาติ (NM)) เดือนที่ผสม และปัจจัยร่วมระหว่างฟาร์มกับชนิดของการผสม ลำดับครอกกับชนิดของการผสม และฟาร์มกับเดือนที่ผสม จากการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่าแม่สุกรพันธุ์ L มีอัตราการเข้าคลอดต่ำกว่า Y 3.8% (86.7 กับ 90.5% ; $P < 0.001$) แม่สุกรลำดับครอกที่ 3-4 มีอัตราการเข้าคลอดสูงกว่าแม่สุกรลำดับครอกที่ 1, 6 และ ≥ 7 ($P < 0.05$) ทั้งเดือนและปีที่ผสมมีผลต่ออัตราการเข้าคลอด การผสมเทียมมีอัตราการเข้าคลอดดีกว่าผสมธรรมชาติ 2.8% ($P < 0.05$) ในฟาร์มที่มีอัตราการเข้าคลอดต่ำ จะพบความแปรปรวนของฤดูกาลต่ออัตราการเข้าคลอดมากกว่าฟาร์มที่มีอัตราการเข้าคลอดสูง ผลต่างระหว่าง AI กับ NM ก็พบได้มากกว่าในฟาร์มที่มีอัตราการเข้าคลอดต่ำ ในฟาร์มและพันธุ์เดียวกันอัตราการเข้าคลอดแตกต่างกันระหว่างภูมิภาค โดยสรุปอัตราการเข้าคลอดแตกต่างกันระหว่างพันธุ์และปัจจัยที่พบว่ามีผลต่ออัตราการเข้าคลอดประกอบด้วยลำดับครอก ฟาร์ม ปีที่ผสม เดือนที่ผสม ภูมิภาคภายในฟาร์มและพันธุ์เดียวกัน และชนิดของการผสม

คำสำคัญ : แม่สุกร ระบบสืบพันธุ์ อัตราการเข้าคลอด การศึกษาย้อนหลัง อากาศร้อนชื้น

ภาควิชาสัตวศาสตร์ เภสัชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน
กรุงเทพฯ 10330

Department of obstetrics Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Sciences, Chulalongkorn
University, Bangkok, Thailand 10330 e-mail address: Padet.T@chula.ac.th

ABSTRACT

The objective of the present study was to investigate and describe causes of variation on farrowing rate (FR) in Landrace (L) and Yorkshire (Y) sows in two swine breeding herds in Thailand. The data included sows mated during a three-year period from July 1998 to June 2001. The analyzed data set included 4692 observations from 1545 L sows and 4249 observations from 1255 Y sows. Generalized linear mixed model was used to analyse the data set including 4692 observations from 1545 L sows and 4249 observations from 1255 Y sows. L sows had a lower FR than Y sows (86.7 vs 90.5, $P < 0.001$). Sows parity 3-4 had a higher FR than sows parity 1, 6 and ≥ 7 ($P < 0.05$). Artificial insemination (AI) resulted in a higher FR than natural mating (NM) (90.1 vs 87.3, $P < 0.05$). Both year and months of mating significantly influenced FR ($P < 0.01$). Farm with a low FR had a higher seasonal fluctuation on FR than farm with a high FR. Differences between AI and NM on FR was more pronounced in farm with a low FR. FR also significantly differed between units within breed and farm. In conclusions, FR differed between breeds and was influenced by various factors including parity, farm, year and month of mating, units within breed and farm and mating type.

Key words: Sows, Reproduction, Farrowing rate, Retrospective study, Tropical climate

การศึกษาย้อนหลัง เกี่ยวกับเนื้องอกในสุนัข ที่มารักษาที่โรงพยาบาลสัตวมหาวิทยาลัย
 เกษตรศาสตร์ กำแพงแสน ระหว่าง มีนาคม พ.ศ. 2542 – สิงหาคม พ.ศ. 2545
 A retrospective study of canine tumors at Veterinary Teaching Hospital, Kasetsart
 Kamphaeng Saen during March 1999 – August 2002

สุนี คุณากรสวัสดิ์ และ อรวรรณ บุตรดี

Sunee Kunakornsawat and Orawan Boodde

บทคัดย่อ

จากการรวบรวมข้อมูลของสุนัขที่เป็นเนื้องอกและมารับการรักษาที่โรงพยาบาลสัตว มหาวิทยาลัย
 เกษตรศาสตร์ กำแพงแสน ระหว่าง มีนาคม 2542 – สิงหาคม 2545 จำนวน 52 ตัว พบว่า สุนัขเพศเมีย (55.8%)
 เป็นเนื้องอกมากกว่าสุนัขเพศผู้ (44.2%) สุนัขสายพันธุ์ผสม (57.7%) เป็นเนื้องอกมากกว่าสุนัขสายพันธุ์แท้
 (42.3%) เนื้องอกสามารถพบได้ในทุกช่วงอายุ แต่พบมากในสุนัขกลุ่มที่มีอายุ 5 ปีขึ้นไป (68.8%) เนื้องอกระบบ
 ผิวหนังและชั้นใต้ผิวหนัง (22.9%) พบมากที่สุด ในสุนัข รองลงมาคือ เนื้องอกเต้านม (20.8%) ตามด้วยเนื้องอก
 ระบบทางเดินปัสสาวะและสืบพันธุ์ (14.6%) ชนิดของเนื้องอกที่พบส่วนใหญ่ในระบบผิวหนังและชั้นใต้ผิวหนัง
 เป็น histiocytoma เนื้องอกที่เต้านมเป็น adenocarcinoma ส่วนเนื้องอกที่ระบบทางเดินปัสสาวะและสืบพันธุ์
 พบหลายชนิดในจำนวนใกล้เคียงกัน ได้แก่ cystadenocarcinoma nephroblastoma myxoma fibroma
 seminoma และ interstitial cell tumor.

คำสำคัญ: เนื้องอกสุนัข

ABSTRACT

Case records of fifty-two dogs with tumors from Veterinary Teaching Hospital, Kasetsart
 Kamphaeng Saen during March 1999 – August 2002 were reviewed retrospectively characterize the
 types of tumors and their association with age, gender, and breed of dogs affected. Incidence of
 tumors was greater in female dogs (55.8%) than in males (44.2%). Mix-breed (57.7%) had higher
 prevalence of tumors than pure breed (42.3%). Results revealed that tumors appeared during all
 periods of animal's life, but they were most prevalent in older animals (≥ 5 years) (68.8%). Tumors of
 skin & subcutaneous have been shown most frequently and accounted for 22.9%. Mammary gland
 tumors (20.8%) were the second most common tumors, followed by 14.6% in tumors of urogenital

system. Histiocytomas and adenocarcinomas predominated in skin & subcutaneous and mammary gland tumors, respectively. Various types such as cystadenocarcinoma, nephroblastoma, myxoma, fibroma, seminoma, and interstitial cell tumor have been noticed in tumors of urogenital system.

Key words: canine tumor

ยาออกซีเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อปลาในเขตกรุงเทพมหานครและเขตปริมณฑล
Oxytetracycline Residues in Fish Meat in Bangkok and Near-by Areas

อนงค์ บินทวิหค และ ดานิส ทวีติยานนท์
Anong Bintvihok and Danis Davitayananda

บทคัดย่อ

เพื่อศึกษายาออกซีเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อปลาตุ๊ก ปลาช่อน ปลานิล และปลาตะเพียน ในระหว่างเดือนมีนาคม พ.ศ. 2544 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2545 ได้เก็บตัวอย่างเนื้อปลาลำจำนวน 600 ตัวอย่าง โดยการสุ่มแบบหลายขั้นตอน จาก 10 แห่งในเขตกรุงเทพมหานครและเขตปริมณฑลของประเทศไทย นำมาตรวจวิเคราะห์หาออกซีเตตราซัยคลินตกค้างโดยใช้เอชพีแอลซี พบยาตกค้างร้อยละ 4.67 ของตัวอย่างปลาตุ๊ก (7/150 ตัวอย่าง) ร้อยละ 7.33 ของตัวอย่างปลาช่อน (11/150 ตัวอย่าง) ร้อยละ 6.00 ของตัวอย่างปลานิล (9/150 ตัวอย่าง) และร้อยละ 11.33 ของตัวอย่างปลาตะเพียน (17/150 ตัวอย่าง) ในปริมาณ 13.48 ถึง 26.23 พีพีบี (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม), 10.56 ถึง 20.35 \pm 1.54 พีพีบี, 10.74 ถึง 28.63 พีพีบี และ 10.58 ถึง 34.54 \pm 1.68 พีพีบี ตามลำดับ ตัวอย่างจากฤดูฝนพบยาตกค้างมากที่สุด (ร้อยละ 9.5) รองลงไปที่ฤดูหนาว (ร้อยละ 8.5) และฤดูร้อน (ร้อยละ 4) ตามลำดับ ตัวอย่างจากเขตอุตสาหกรรมพบยาตกค้างมากที่สุด รองลงไปที่เขตสัมพันธวงศ์ บางซื่อ บางกอกใหญ่ มีนบุรี บางกอกน้อย ธนบุรี นนทบุรี จตุจักรและบางเขนตามลำดับ ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าตัวอย่างเนื้อปลา มียาออกซีเตตราซัยคลินตกค้างในปริมาณน้อยกว่าปริมาณสูงสุด (เอ็มอาร์แอลเท่ากับ 200 พีพีบี) ที่อนุญาตให้มีตกค้างได้ ซึ่งกำหนดโดยคณะกรรมการโครงการมาตรฐานอาหาร เอฟ เอ โอ/ดับลิว เอช โอ หรือโคเด็กซ์ แสดงว่าตัวอย่างเนื้อปลามีความปลอดภัยจากออกซีเตตราซัยคลินตกค้างต่อผู้บริโภค

คำสำคัญ : ยาออกซีเตตราซัยคลินตกค้าง เนื้อปลา เอ็มอาร์แอล โคเด็กซ์

ABSTRACT

This study was undertaken to determine oxytetracycline residues in catfish, snakehead, tilapia and carp. Six hundred samples of fish meat were collected from ten regions of Bangkok and near-by areas, during the period March 2001 to February 2002, using multistage random sampling. The samples were screened for the detection of oxytetracycline residues by HPLC. 4.67% (7/150) of the catfish samples, 7.33% (11/150) of the snakehead samples, 6.00%

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนอังรีดูนังต์ เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Henri Dunang Street, Pathumwan Bangkok 10330, Thailand.

(9/150) of the tilapia samples and 11.33% (17/150) of the carp samples were found to contain oxytetracycline with a mean value of 13.48 to 26.23 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$), 10.56 to 20.35 \pm 1.54 ppb, 10.74 to 28.63 ppb and 10.58 to 34.54 \pm 1.68 ppb, respectively. Samples collected in rainy season contained the highest oxytetracycline residues with the highest frequency (9.5%) followed by samples of winter season (8.5%) and summer season (4%), respectively. The samples collected from Dusit region contained the highest oxytetracycline residues, followed by samples of Sumpuntawong, Bangsua, Bangkokyai, Minburi, Bangkoknoi, Thonburi, Nonthaburi, Chathuchak and Bangkhen region, respectively. The findings from the above data indicated that the fish meat samples contained lower level of oxytetracycline residues in the tissues than the maximum residue limit (MRL = 200 ppb) which set up by Codex Alimentarius Commission (CAC). It revealed that the studied samples could be safety enough from oxytetracycline residue for the consumers.

Key words : oxytetracycline residue, fish meat, MRL, Codex

รายนามผู้ทรงคุณวุฒิ

วารสารสัตวแพทย์ ปีที่ 13 พ.ศ. 2546 ได้รับการตรวจแก้ไขต้นฉบับจากผู้ทรงคุณวุฒิ ดังรายนามต่อไปนี้

- | | |
|---------------------|---------------|
| 1. ศ.ดร.มาลินี | ลิม โภคา |
| 2. รศ.ดร.อาคม | สังข์วรานนท์ |
| 3. ผศ.ดร.ธวัชชัย | ศักดิ์ภู่อราม |
| 4. รศ.ดร.วรวิทย์ | วัชชวัลคุ |
| 5. ผศ.ดร.ธีระ | รักความสุข |
| 6. ผศ.ดร.ธีระพล | ศิรินฤมิตร |
| 7. ผศ.ดร.เกษกนก | ศิรินฤมิตร |
| 8. ผศ.ดร.ปวิวรรต | พูลเพิ่ม |
| 9. รศ.ดร.มลิวัลย์ | ชุนถนอม |
| 10. ผศ.ดร.ศิริชัย | วงษ์นาคเพชร |
| 11. อ.ดร.ศิริรักษ์ | จันทครุ |
| 12. ผศ.ดร.ทวีศักดิ์ | สงเสริม |
| 13. รศ.สมชัย | พงศ์จรรยากุล |