รายงานผลการวิจัย
ทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช

เรื่อง

การเตรียมวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลชนิดเชื้อตาย จากไวรัสเสตรนต่าง ๆ

โดย

สมศักดิ์ ภัคภิญโญ
จิโรจ ศศิปรียจันทร์
นิวัตร จันทร์ศิริพรชัย

เมษายน 2539

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วพ
ฉพ 15
009272

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช

รายงานผลการวิจัย

การเตรียมวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลชนิดเชื้อตายจากไวรัสเสตรนต่าง ๆ

โดย

สมศักดิ์ ภัคภิญโญ
จิโรจ ศศิปรียจันทร์
นิวัตร จันทร์ศิริพรชัย

เมษายน 2539

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I18808855 5 ก.ย. 2542

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้จัดสรรเงินทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช ประจำปีงบประมาณ 2538 เพื่อสนับสนุนงานวิจัยครั้งนี้ งานวิจัยสำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี เพราะความร่วมมือ และช่วยเหลือจากบุคลากรของภาควิชาอายุรศาสตร์ คุณสุพล จันทรโคตร และคุณกฤษฎา ลังกา นิสิตที่ช่วยเลี้ยงไก่ทดลอง ผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการวิจัย การเตรียมวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลชนิดเชื้อตายจากไวรัสเสตรนต่าง ๆ
ชื่อผู้วิจัย สมศักดิ์ ภัคภิญโญ จิโรจ ศศิปรียจันทร์ และ นิวัตร จันทร์ศิริพรชัย
เดือนและปีที่ทำวิจัย เมษายน 2539

บทคัดย่อ

การเตรียมวัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อตาย 4 ชนิด จากไวรัสเสตรนที่ไม่รุนแรง (ลาโซต้า) และเสตรนแรงปานกลาง (เอ็มพี) โดยไวรัสแต่ละเสตรนนำมาผลิตวัคซีนเชื้อตาย 2 ชนิด คือ ชนิดที่มีไวรัสมาก และชนิดที่มีไวรัสน้อย วัคซีนที่ผลิตได้ทั้ง 4 ชนิด นำมาเปรียบเทียบกับวัคซีนเชื้อตายของบริษัทด้านคุณภาพทางกายภาพ ปฏิกิริยาของวัคซีนที่มีผลกับเนื้อเยื่อบริเวณที่ฉีด ความปลอดภัยของวัคซีน ระดับแอนติบอดี้ และความคุ้มโรค ผลการทดสอบพบว่าวัคซีนทุกชนิดที่ทดสอบมีความปลอดภัย วัคซีนที่ผลิตได้ทั้ง 4 ชนิด ชนิดที่ผลิตจากไวรัสเสตรนแรงปานกลางที่มีไวรัสมาก ให้ผลดีที่สุด

วัคซีนที่ผลิตจากไวรัสเสตรนแรงปานกลางที่มีไวรัสมาก นำมาทดลองเปรียบเทียบกับวัคซีนของบริษัทในไก่กระทงคัดเพศจำนวน 4 กลุ่ม เมื่อไก่อายุ 1 วัน หรือ 10 วัน โดยทำพร้อมกับวัคซีนเชื้อเป็นเสตรนบี 1 และมีไก่อีกกลุ่มหนึ่งเป็นกลุ่มเปรียบเทียบ (ไม่ได้ทำวัคซีน) เปรียบเทียบระดับแอนติบอดี้ ความคุ้มโรค น้ำหนักไก่ที่เพิ่มขึ้น อัตราแลกเนื้อ และผลตอบแทนที่ได้รับ ผลการทดลองพบว่า ไก่ที่ได้รับวัคซีนของบริษัท เมื่ออายุ 1 วัน ให้ผลดีที่สุด รองลงมาคือ ไก่ที่ได้รับวัคซีนของบริษัท เมื่ออายุ 10 วัน ไก่ที่ได้รับวัคซีนที่ผลิตเองเมื่อไก่อายุ 10 วัน และ 1 วัน ตามลำดับ

วัคซีนที่ผลิตเองและวัคซีนของบริษัท เก็บไว้นาน 6 เดือน พบว่า คุณสมบัติทางกายภาพไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ไก่ที่ได้รับวัคซีนของบริษัท มีระดับแอนติบอดี้และความคุ้มโรคดีกว่าวัคซีนที่เตรียมเอง

Project Title : Preparation of Newcastle disease inactivated vaccine from different strain of virus

Name of the Investigators : Somsak Pakpinyo
Jiroj Sasipreeyajan and
Niwat Chansiripornchai

Year : April, 1996

Abstract

Four inactivated Newcastle Disease (ND) vaccines were prepared. There were low and high virus titer vaccines prepared from either lentogenic (La Sota) or mesogenic (MP) strains. Physical properties, tissue reaction, safety, antibody and protection were compared among these vaccines and a commercial inactivated ND vaccine. All vaccines were safe. High virus titer vaccine prepared from MP strain (MP vac) was the best among the prepared vaccines.

Four groups of broiler chickens were vaccinated at 1-or 10-day-old with either MP vac or commercial vaccine simultaneously with live B1 strain. Another group was a non - vaccinated control. Antibody protection, weight gain, feed conversion ratio (FCR) and cost / benefit were compared. Comparison on performance of each vaccinated group from the best to the worst were : chickens received commercially vaccine at 1-day-old, 10-day-old, MP vac at 10-day-old and MP vac at 1-day-old, respectively.

MP vac and commercial vaccine were kept for 6 months. The physical properties of each vaccine were changed significantly. Chickens received commercial vaccine had better antibody level and protection when compared to MP vac.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ii
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	iii
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	iv
รายการแผนภูมิและกราฟประกอบ	vi
รายการตารางประกอบ	vii
บทนำ	1
วิธีการวิจัย	3
การเตรียมวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลเชื้อตายเสตรนที่ไม่รุนแรงและแรงปานกลาง	3
การทดสอบคัดเลือกวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น	5
การทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น และผ่านการคัดเลือก โดยเปรียบเทียบกับวัคซีนเชื้อตายของบริษัทที่นิยมใช้กันทั่วไป	6
การเก็บรักษาวัคซีน เป็นเวลา 6 เดือน	13
ผลการวิจัย	14
ผลการเตรียมวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลเชื้อตายเสตรนที่ไม่รุนแรงและแรงปานกลาง	14
ผลการทดสอบคัดเลือกวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น	16
ผลการทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น และผ่านการคัดเลือก โดยเปรียบเทียบกับวัคซีนเชื้อตายของบริษัทที่นิยมใช้กันทั่วไป	20
ผลการเก็บรักษาวัคซีน เป็นเวลา 6 เดือน	30
การอภิปรายผล	35
ข้อสรุป	39
ข้อเสนอแนะ	39
เอกสารอ้างอิง	40

เลขหมู่ ๑ฬ๕ ศพ๑๕
เลขทะเบียน 009272
วันเดือนปี 16 ม.ค. 41

รายการแผนภูมิและกราฟประกอบ

หน้า

แผนภูมิที่ 1 : การทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น และผ่านการคัดเลือก โดยเปรียบเทียบกับวัคซีนเชื้อตาย ของบริษัทที่นิยมใช้กันทั่วไป 12

กราฟที่ 1 : แสดงระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิลก่อนการได้รับเชื้อพิษ ไวรัสนิวคาสเซิล เมื่อไก่อายุ 21,28,35 และ ไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับ เชื้อพิษเมื่ออายุ 35วัน 23

กราฟที่ 2 : แสดงระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิลหลังการได้รับเชื้อพิษ ไวรัสนิวคาสเซิล เมื่อไก่อายุ 31,38,45 และ ไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับ เชื้อพิษเมื่ออายุ 45วัน 23

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการตารางประกอบ

		หน้า
ตารางที่ 1 :	แสดงรายละเอียดการทดลองในไก่กระทงช่วงอายุต่าง ๆ	9
ตารางที่ 2 :	แสดงเวลาการไหลของวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น	15
ตารางที่ 3 :	แสดงผลการพบปฏิกริยาการตอบสนองของเนื้อเยื่อที่เห็นด้วยตาเปล่า	16
ตารางที่ 4 :	แสดงระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิลของวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น	17
ตารางที่ 5 :	แสดงความคุ้มโรคหรือความต้านทานโรคของวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น ภายหลังการได้รับเชื้อพิษ	18
ตารางที่ 6 :	แสดงระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิลของวัคซีนเชื้อตายที่ผ่านการคัดเลือกแล้ว	19
ตารางที่ 7 :	แสดงความคุ้มโรคหรือความต้านทานโรคภายหลังได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล	19
ตารางที่ 8 :	แสดงระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิลของไก่กระทงอายุ 1,10,21,28,31,35,38 และ 45 วัน	22
ตารางที่ 9 :	แสดงอัตราการป่วยของไก่กลุ่มต่าง ๆ ภายหลังได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ช่วงอายุ 21-31 วัน 28-38 วัน และ 35-45 วัน และไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ ช่วงอายุ 35-45 วัน	24
ตารางที่ 10 :	แสดงอัตราการตายของไก่กลุ่มต่าง ๆ ภายหลังได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ช่วงอายุ 21-31 วัน 28-38 วัน และ 35-45 วัน และไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ ช่วงอายุ 35-45 วัน	25
ตารางที่ 11 :	แสดงน้ำหนักตัวไก่เฉลี่ย (กรัม) ก่อนและหลังได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ช่วงอายุ 21-31 วัน 28-38 วัน และ 35-45 วัน และไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ ช่วงอายุ 35-45 วัน	26

ตารางที่ 12 : แสดงน้ำหนักตัวไก่ที่เพิ่มขึ้นต่อกลุ่ม (กิโลกรัม) ก่อนและหลังได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ช่วงอายุ 21-31 วัน 28-38 วัน และ 35-45 วัน และไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ ช่วงอายุ 35-45 วัน 27

ตารางที่ 13 : แสดงปริมาณอาหารที่ไก่กินต่อกลุ่ม (กิโลกรัม) ก่อนและหลังได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ช่วงอายุ 21-31 วัน 28-38 วัน และ 35-45 วัน และไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ ช่วงอายุ 35-45 วัน 28

ตารางที่ 14 : แสดงอัตราการแลกเนื้อ ก่อนและหลังได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ช่วงอายุ 21-31 วัน 28-38 วัน และ 35-45 วัน และไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ ช่วงอายุ 35-45 วัน 29

ตารางที่ 15 : แสดงผลตอบแทนที่ได้รับ (บาท) ก่อนและหลังได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ช่วงอายุ 21-31 วัน 28-38 วัน และ 35-45 วัน และไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ ช่วงอายุ 35-45 วัน 30

ตารางที่ 16 : แสดงเวลาการไหลของวัคซีนเชื้อตาย (วินาที) ที่เก็บไว้ที่ 4-8 $^{\circ}$ซ. เป็นเวลา 6 เดือน 31

ตารางที่ 17 : แสดงระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิล ภายหลังจากการเก็บวัคซีนไว้เป็นเวลา 6 เดือน 32

ตารางที่ 18 : แสดงระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิล เมื่อไก่ได้รับวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น 33

ตารางที่ 19 : แสดงระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิลเมื่อไก่ได้รับวัคซีนเชื้อตายของบริษัท 33

ตารางที่ 20 : แสดงความคุ้มโรคหรือความต้านทานโรค ภายหลังการได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล เมื่อไก่ได้รับวัคซีนเชื้อตายที่เก็บไว้เป็นเวลา 6 เดือน 34

บทนำ (Introduction)

โรคนิวคาสเซิลเป็นโรคระบาดร้ายแรง และรุนแรงมากในไก่ ส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ พบได้ทั่วโลก สำหรับประเทศไทยพบการระบาดเสมอ สาเหตุของโรคเกิดจาก Newcastle disease virus ระยะฟักตัวเฉลี่ยของโรค 5-6 วัน (จิโรจ, 2535) ไก่ที่ป่วยด้วยโรคนิวคาสเซิลอาจไม่แสดงอาการเลย หรือแสดงอาการของระบบทางเดินหายใจ ระบบทางเดินอาหาร และระบบประสาท (Hofacre และคณะ, 1986) อัตราการตายของโรคตั้งแต่ 0-100% (Whiteman and Bickford, 1983) ดังนั้น จึงมีการป้องกันโรคทั้งด้านการจัดการที่ดี และการให้วัคซีนป้องกันโรค (Aini, 1990) วัคซีนที่ใช้มีทั้งวัคซีนเชื้อเป็น (Live vaccine) และวัคซีนเชื้อตาย (Inactivated oil emulsion vaccine) ในปัจจุบันนี้ การใช้วัคซีนเชื้อตาย พร้อมกับวัคซีนเชื้อเป็นสามารถกระตุ้นให้ร่างกายไก่สร้างแอนติบอดี้ และความคุ้มโรคที่ดีกว่า และยาวนานกว่าการใช้วัคซีนเชื้อเป็นเพียงชนิดเดียว (สมศักดิ์ และจิโรจ, 2536; Bennejean และคณะ, 1978) และสามารถนำมาใช้ป้องกันและควบคุมโรคนิวคาสเซิลอย่างได้ผล (Stone, 1991) อย่างไรก็ตาม การใช้วัคซีนเชื้อตายอย่างเดียว จะกระตุ้นให้ร่างกายสร้างแอนติบอดี้สูง แต่จะไม่สามารถป้องกันโรคนิวคาสเซิลที่มีผลต่อทางเดินหายใจได้ (Winterfield และคณะ, 1980; North and Bell, 1990)

อายุการให้วัคซีน สามารถให้ได้ตั้งแต่ 1 วันหรือ 7-12 วัน (จิโรจ, 2535; Alexander, 1991) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของวัคซีน ความสมบูรณ์ของลูกไก่ และช่วงอายุของการระบาดของโรค เป็นต้น

สำหรับปริมาณการผลิตไก่กระทงของไทยปี 2536 ศูนย์ข้อมูลบอกเหตุผลิตภัณฑ์ไก่เนื้อ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ได้คาดคะเนปริมาณการผลิตถึง 790 ล้านตัว และการส่งออกไก่สดแช่แข็งของประเทศไทยมีมูลค่า นับหมื่นล้านบาท (กรมปศุสัตว์, 2537) ซึ่งยังไม่รวมถึงตลาดภายในประเทศ ฉะนั้น เกษตรกรผู้เลี้ยงไก่ทุกราย จึงมีการให้วัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อเป็นอย่างเดียว หรือเชื้อเป็นควบคู่กับเชื้อตาย เพื่อป้องกันการระบาดของโรคนี้ แต่วัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลเชื้อตาย ยังไม่สามารถผลิตได้เองภายในประเทศ ยังต้องสั่งนำเข้าจากต่างประเทศจำนวนมาก เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ในบ้านเรา อีกทั้งเกษตรกรจะพบปัญหาว่า ควรให้วัคซีน เมื่ออายุเท่าใดจึงเหมาะสมที่สุด

ในประเทศไทยมีผู้ประมาณว่า สำหรับไก่พื้นเมืองทุกอายุ อัตราการตายจากโรคนิวคาสเซิล โดยเฉลี่ยแล้ว 30 - 50% ซึ่งคิดเป็นความสูญเสียทางด้านเศรษฐกิจคิดเป็น

จำนวนเงินถึง 600 ล้านบาทต่อปี (หนังสือพิมพ์บ้านเมือง, 2537)

จากการศึกษา การให้วัคซีนเชื้อตายที่ผลิตขึ้นเองจากเสตรนที่แยกเชื้อได้จากการระบาดของโรค (ชนิดรุนแรง) พร้อมกับวัคซีนเชื้อเป็นเพื่อป้องกันโรคนิวคาสเซิล โดยสมศักดิ์ และจิโรจ (2536) พบว่า สามารถให้ผลที่ดีในการป้องกันโรค และผลตอบแทนที่ได้รับดี อย่างไรก็ตาม การทำวัคซีนเชื้อตายจากเชื้อที่แยกได้จากการระบาดของโรคนั้น อาจจะเกิดการระบาดของโรคขึ้นได้ ถ้าหากทำการฆ่าเชื้อไวรัสนิวคาสเซิลไม่หมด อีกทั้งกลุ่มประเทศที่รับซื้อเนื้อไก่จากประเทศไทย ได้แก่ ญี่ปุ่นและยุโรป จะไม่อนุญาตให้นำเนื้อไก่ที่ได้รับวัคซีนชนิดรุนแรงเข้าประเทศ

ดังนั้น การวิจัยครั้งนี้ทำขึ้นเพื่อเตรียมวัคซีนเชื้อตายเสตรนที่ไม่รุนแรง (ชนิดอ่อน) หรือแรงปานกลางที่มีคุณภาพและมีความปลอดภัยในการใช้เป็นครั้งแรกในประเทศไทย และศึกษาโปรแกรมการให้วัคซีนในไก่อย่างเหมาะสม เพื่อให้มีคุณสมบัติในการป้องกันโรค ผลตอบแทนที่ได้รับดี คุ้มกับการผลิตวัคซีนเชิงอุตสาหกรรม ซึ่งจะเป็นประโยชน์ทั้งเกษตรกรผู้ผลิต ผู้บริโภคภายในและภายนอกประเทศ รวมถึงอุตสาหกรรมการส่งออกเนื้อไก่ของประเทศ

ในปี ค.ศ. 1991, Stone และคณะได้เตรียมและเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวัคซีนนิวคาสเซิลด้วยวิธีการใช้มือผสม และการใช้เครื่องปั่นผสม พบว่า ระดับแอนติบอดี้ทั้ง 2 วิธี ได้ผลต่างกันเล็กน้อย แต่เขาให้ข้อสังเกตที่ว่า การใช้มือผสมเหมาะในการเตรียมปริมาณวัคซีนเล็กน้อย นอกจากนี้มีผู้ศึกษา และทดลองในด้านวัคซีนเชื้อตายนิวคาสเซิลอีกมากมาย (Cessi and Nardelli, 1974; Stone และคณะ, 1978; Stone และคณะ, 1983; Stone, 1989)

อย่างไรก็ตาม ทางคณะผู้วิจัยโดยสมศักดิ์ และจิโรจ ในปี พ.ศ. 2536 ได้ศึกษาและเตรียมวัคซีนเชื้อตายนิวคาสเซิลเสตรนรุนแรง พบว่าได้ผลดีมาก แต่อาจเกิดการระบาดของโรคได้ถ้าหากทำการฆ่าเชื้อไวรัสไม่หมด และผู้วิจัยเองก็ได้ศึกษาเบื้องต้นในเรื่องการเตรียมวัคซีนเชื้อตายนิวคาสเซิลเสตรนไม่รุนแรง และแรงปานกลางมาพอสมควร จึงน่าจะสามารถเตรียมวัคซีนได้ประสบความสำเร็จ

วิธีการวิจัย (Procedure)

1. การเตรียมวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลเชื้อตายเสตรนที่ไม่รุนแรงและแรงปานกลาง

1.1 การเตรียมไวรัส (Antigen Preparation) ตามวิธีการของ Stone และคณะ (1978) ทำที่ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ไวรัสนิวคาสเซิลเสตรนลาโซต้า (La Sota) ซึ่งเป็นเสตรนที่ไม่รุนแรง และเสตรนเอ็มพี (MP) ซึ่งเป็นเสตรนแรงปานกลาง นำมาจากวัคซีนเชื้อเป็นของบริษัท และของกรมปศุสัตว์ ตามลำดับ นำมาผสมกับตัวทำละลายของวัคซีนที่ได้มาตามคำแนะนำของผู้ผลิต หลังจากนั้น ฉีดไข่ฟัก อายุ 9 วัน ฟองละประมาณ $1.0x10^5$ EID_{50} เก็บไข่ฟักเข้าตู้ฟักไข่อุณหภูมิ 37°ซ. เป็นเวลา 50 ชั่วโมง (โดยจะคัดไข่ฟักทิ้งหากตายภายใน 24 ชั่วโมงแรก) แล้วเก็บของเหลวจากไข่ฟัก (allantoic fluid) มาตรวจระดับความแรงของไวรัสด้วยวิธี Hemagglutination (HA) test และฆ่าไวรัส (inactivated) ด้วย formalin ที่ 24°ซ. เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อคิดปริมาณสัดส่วนแล้วมี formalin 0.1% ของปริมาณไวรัสที่เตรียมได้

1.2 การเตรียมอีมัลชั่น (Emulsion Preparation) จะได้ส่วนผสม aqueous : oil = 1 : 4

ทำที่ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ดังนี้

ก. เตรียมส่วนน้ำมัน (Preparation of oil phase)

1. Mineral oil	15.0 ส่วน
2. Oil-phase emulsifier	1.0 ส่วน

ผสมทั้ง 2 ชนิดเข้าด้วยกันเป็นเวลา 2-3 นาที

ข. เตรียมส่วนสารละลาย (Preparation of aqueous phase)

1. ไวรัสที่ฆ่าแล้ว	3.872 ส่วน
2. Aqueous-phase emulsifier	0.128 ส่วน

ผสมทั้ง 2 ชนิดเข้าด้วยกัน เป็นเวลา 2-3 นาที

ค. คนส่วน oil-phase ให้เข้ากัน และค่อย ๆ เท aqueous phase ลงไปผสมต่อเป็นเวลา 5 นาที

ง. ผสมให้เข้ากัน (Homogenized) ด้วยมือโดยการดูดฉีดและอัดด้วย

กระบอกฉีดยา (syringe) เป็นเวลา 30 นาที โดยสังเกตว่าวัคซีนนั้นผสมเข้ากันเป็นเนื้อเดียวกัน

จ. เก็บที่ 4 ^{O}ซ.

1.3 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของวัคซีน (Physical characteristic of emulsions) ทำที่ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก. ความหนืดสัมพัทธ์ (Relative viscosity)

ทดสอบโดยจับเวลาเฉลี่ยของการไหลของวัคซีนที่เตรียมขึ้นในแนวดิ่งปริมาณ 0.4 มิลลิลิตร โดยเริ่มจาก 0.5 จนถึง 0.9 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง เป็นวินาที ด้วย pipette ขนาด 1 มิลลิลิตร ของบริษัท HBG, W-Germany ที่ 24 ^{O}ซ.

ข. ความคงตัว (Stability)

ทดสอบโดยนำวัคซีนที่เตรียมขึ้นใส่หลอดแก้วที่ปิดสนิท เก็บที่ 37 ^{O}ซ. สังเกตทุกสัปดาห์ จำนวน 8 สัปดาห์ ว่าส่วนของชั้น aqueous มีการแยกตัวจากวัคซีนหรือไม่

1.4 ปฏิกริยาการตอบสนองของเนื้อเยื่อบริเวณที่ฉีดวัคซีน (Tissue reaction) ในตัวไก่ สังเกตจากการผ่าซาก ตรวจดูรอยโรคด้วยตาเปล่า

เลี้ยงไก่ทดลอง และทำที่ห้องเลี้ยงไก่ทดลอง ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทดสอบโดยนำวัคซีนที่เตรียมขึ้นมาฉีดใต้ผิวหนัง (subcutaneous route) บริเวณหลังคอในไก่ไข่ อายุ 5 สัปดาห์ กลุ่มละ 9-10 ตัว แบ่งเป็นกลุ่ม ดังนี้

ก. วัคซีนเชื้อตายเสตรนที่ไม่รุนแรงที่มีจำนวนไวรัสน้อย ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ($5.0x10^{9.1}$ ELD_{50}) สุ่มไก่ไข่มา 4-5 ตัว เพื่อทำการผ่าซาก สังเกตรอยโรคบริเวณที่ฉีดวัคซีนด้วยตาเปล่าโดยเปรียบเทียบกับวัคซีนเชื้อตายของบริษัท ภายหลังจากการฉีดวัคซีนเชื้อตาย 3 และ 4 สัปดาห์ ตามลำดับ

ข. วัคซีนเชื้อตายเสตรนที่ไม่รุนแรงที่มีจำนวนไวรัสมาก ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ($5.0x10^{9.2}$ ELD_{50}) ทดสอบเช่นเดียวกับ ก.

ค. วัคซีนเชื้อตายเสตรนที่แรงปานกลางที่มีจำนวนไวรัสน้อย ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ($5.0x10^{9.1}$ ELD_{50}) ทดสอบเช่นเดียวกับ ก.

ง. วัคซีนเชื้อตายเสตรนที่แรงปานกลางที่มีจำนวนไวรัสมาก ปริมาณ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

0.5 มิลลิลิตร ($5.0x10^{9.2}$ ELD_{50}) ทดสอบเช่นเดียวกับ ก.

จ. วัคซีนเชื้อตายของบริษัทที่นิยมใช้กันทั่วไป ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ($1.0x10^{9}$ EID_{50})

2. การทดสอบคัดเลือกวัคซีนที่เตรียมขึ้น (Screening test)

เลี้ยงไก่ทดลอง และทำที่ห้องเลี้ยงไก่ทดลอง ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตว-แพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การทดสอบคัดเลือกวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น และวัคซีนเชื้อตายของบริษัท จะทำการทดลอง 2 ตอน ตอนที่ 1 ทดสอบคัดเลือกวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้นทั้งหมด ส่วนตอนที่ 2 ทดสอบคัดเลือกวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น และผ่านการคัดเลือกแล้ว

2.1 การทดสอบคัดเลือกวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้นทั้งหมด

นำวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น มาทดสอบในไก่ไข่ อายุ 5 สัปดาห์ ฉีดใต้ผิวหนังบริเวณหลังคอ กลุ่มละ 4-6 ตัว ดังนี้

กลุ่ม 1 วัคซีนเชื้อตายเสตรนที่ไม่รุนแรงที่มีจำนวนไวรัสน้อย ปริมาณ 0.2 มิลลิลิตร ($2.0x10^{9.1}$ ELD_{50})

กลุ่ม 2 วัคซีนเชื้อตายเสตรนที่ไม่รุนแรงที่มีจำนวนไวรัสมาก ปริมาณ 0.2 มิลลิลิตร ($2.0x10^{9.2}$ ELD_{50})

กลุ่ม 3 วัคซีนเชื้อตายเสตรนแรงปานกลางที่มีจำนวนไวรัสน้อย ปริมาณ 0.2 มิลลิลิตร $2.0x10^{9.1}$ ELD_{50})

กลุ่ม 4 วัคซีนเชื้อตายเสตรนแรงปานกลางที่มีจำนวนไวรัสมาก ปริมาณ 0.2 มิลลิลิตร ($2.0x10^{9.2}$ ELD_{50})

กลุ่ม 5 วัคซีนเชื้อตายของบริษัทที่มีจำนวนไวรัส ปริมาณ 0.2 มิลลิ-ลิตร ($4.0x10^{8}$ EID_{50})

กลุ่ม 6 กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้วัคซีน

เจาะเลือดจากเส้นเลือดดำที่ปีกของไก่ทุกตัว ก่อนได้รับวัคซีนและหลังได้รับวัคซีน 1, 2, 3, 4 และ 5 สัปดาห์แยกซีรั่ม และตรวจระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิลโดยวิธี HI test ตามวิธีการของ Hsiung (1982) และศึกษาความปลอดภัยของวัคซีน ด้วยการสังเกตอาการไก่ที่ได้รับวัคซีนว่ามีความผิดปกติหรือเกิดโรคขึ้นหรือไม่ จากนั้นให้เชื้อ

พิษไวรัสนิวคาสเซิล (challenge) แก่ไก่ทุกตัว (ตัวละประมาณ $1.1x10^{3.4}$ LD_{50}) เพื่อดูความคุ้มโรค หรือความต้านทานโรค เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ประเมินผลการคัดเลือกวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น โดยพิจารณาจากความปลอดภัยของวัคซีนและประสิทธิภาพของวัคซีนที่ดีที่สุด

2.2 การทดสอบคัดเลือกวัคซีนเชื้อตายและผ่านการคัดเลือกแล้ว

คัดเลือกวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้นจากผลดีต่าง ๆ ข้างต้น มาทดสอบประสิทธิภาพซ้ำกับวัคซีนเชื้อตายของบริษัท และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับวัคซีน ในไก่ไข่อายุ 5 สัปดาห์ ฉีดใต้ผิวหนังบริเวณหลังคอ กลุ่มละ 30 ตัว ดังนี้

กลุ่ม 1 วัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้นและผ่านการคัดเลือก ปริมาณ 0.2 มิลลิลิตร

กลุ่ม 2 วัคซีนเชื้อตายของบริษัท ปริมาณ 0.2 มิลลิลิตร

กลุ่ม 3 กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้วัคซีน

ทำการทดลองเช่นเดียวกับ 2.1

3. การทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น และผ่านการคัดเลือกโดยเปรียบเทียบกับวัคซีนเชื้อตายของบริษัทที่นิยมใช้กันทั่วไป

3.1 การให้วัคซีน : แบ่งไก่กระทงคละเพศ (จากฟาร์มที่จำหน่ายทั่วไป) ออกเป็น 5 กลุ่ม ๆ ละ 112 ตัว และทดลองดังนี้

กลุ่ม 1 ให้วัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อเป็นเสตรน B_1 พร้อมกับวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น เมื่ออายุ 1 วัน

กลุ่ม 2 ให้วัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อเป็นเสตรน B_1 พร้อมกับวัคซีนเชื้อตายของบริษัท ที่นิยมใช้กันทั่วไป เมื่ออายุ 1 วัน

กลุ่ม 3 ให้วัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อเป็นเสตรน B_1 พร้อมกับวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น เมื่ออายุ 10 วัน

กลุ่ม 4 ให้วัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อเป็นเสตรน B_1 พร้อมกับวัคซีนเชื้อตายของบริษัท ที่นิยมใช้กันทั่วไป เมื่ออายุ 10 วัน

กลุ่ม 5 กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้วัคซีน

หมายเหตุ

วัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อเป็นที่ใช้กันทั่วไป ให้โดยการหยอดตา ปริมาณตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิตวัคซีน (ตัวละประมาณ $1.0x10^{6}$ EID_{50})

วัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อตายใช้ฉีดใต้ผิวหนัง บริเวณหลังคอ ตัวละ 0.2 มิลลิลิตร วัคซีนที่เตรียมขึ้นเองมีไวรัสประมาณ$2.0x10^{9.2}$ ELD_{50}ส่วนวัคซีนเชื้อตายของบริษัทมีไวรัสประมาณ $4.0x10^{8}$ EID_{50}

3.2 การเจาะเลือดและเก็บซีรั่ม

ไก่อายุ 1 วัน (ก่อนการให้วัคซีน) จำนวน 30 ตัว จากกลุ่ม 1 และ 2 เพื่อตรวจระดับแอนติบอดี้ที่มาจากแม่

ไก่อายุ 10 วัน (ก่อนการให้วัคซีน) จำนวน 30 ตัว จากกลุ่ม 3 และ 4 เพื่อตรวจระดับแอนติบอดี้ที่มาจากแม่

ไก่อายุ 21 วัน จำนวนกลุ่มละ 28 ตัว ก่อนให้เชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล

ไก่อายุ 28 วัน จำนวนกลุ่มละ 28 ตัว ก่อนให้เชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล

ไก่อายุ 35 วัน จำนวนกลุ่มละ 28 ตัว ก่อนให้เชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล

หมายเหตุ

การเจาะเลือด อายุ 1 และ 10 วัน จากหัวใจ

การเจาะเลือด อายุ 21 วันเป็นต้นไป จากเส้นเลือดดำที่ปีก

ตรวจหาระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิล โดยใช้วิธี Hemagglutination inhibition (HI) test ตามวิธีการของ Hsiung (1982)

3.3 ให้เชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ทุกกลุ่ม ๆ ละ 28 ตัว (ตัวละประมาณ $1.1x10^{3.4}$ LD_{50}) พร้อมกับชั่งน้ำหนักตัวไก่แต่ละตัว โดยให้มีน้ำหนักตัวไก่ของแต่ละกลุ่มใกล้เคียงกัน เมื่อไก่อายุ 21, 28 และ 35 วัน ตามลำดับ สังเกตอัตราการป่วย และตายบันทึกปริมาณอาหารที่ไก่กินทั้งกลุ่ม น้ำหนักตัวไก่ที่เพิ่มขึ้นทั้งกลุ่ม ผ่าซากตรวจรอยโรค เป็นเวลา 10 วัน และชั่งน้ำหนักตัวไก่ที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลองพร้อมกับเจาะเลือดและเก็บซีรั่ม (อายุ 21-31 วัน อายุ 28-38 วัน และ อายุ 35-45 วัน)

คำนวณอัตราการแลกเนื้อและผลตอบแทนที่ได้รับ ดังนี้ (สมศักดิ์ และจิโรจ, 2536)

$$\text{อัตราการแลกเนื้อ} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่ไก่กิน}}{\text{น้ำหนักไก่ที่เพิ่มขึ้นในช่วงเวลาเดียวกัน}}$$

ผลตอบแทนที่ได้รับ = [น้ำหนักไก่ที่เพิ่มขึ้น x ราคาเนื้อไก่]-[ปริมาณอาหารที่ไก่กิน x ราคาอาหาร]

3.4 เจาะเลือดและเก็บซีรั่มไก่ทุกตัว ทุกกลุ่ม เมื่อไก่อายุ 45 วัน แสดงผลดังตารางที่ 1 และแผนภูมิที่ 1

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1 แสดงรายละเอียดการทดลองในไก่ช่วงอายุต่าง ๆ

งานที่ต้องทำ	กลุ่ม 1 (ตัว)				กลุ่ม 2 (ตัว)				กลุ่ม 3 (ตัว)				กลุ่ม 4 (ตัว)				กลุ่ม 5 (ตัว)			
	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
อายุ 1 วัน																				
เจาะเลือด	a				a															
ให้วัคซีน	a	b	c	d	a	b	c	d												
อายุ 10 วัน																				
เจาะเลือด									a				a							
ให้วัคซีน									a	b	c	d	a	b	c	d				
อายุ 21 วัน																				
เจาะเลือด	a				a				a				a				a			
ชั่งน้ำหนักตัว	a				a				a				a				a			
ให้เชื้อพิษทับ	a				a				a				a				a			
สังเกตอาการและบันทึกปริมาณ	a				a				a				a				a			
อาหารที่กิน 10 วัน																				
อายุ 28 วัน																				
เจาะเลือด		b				b				b				b				b		
ชั่งน้ำหนักตัว		b				b				b				b				b		

ตารางที่ 1 แสดงรายละเอียดการทดลองในไก่ช่วงอายุต่าง ๆ (ต่อ)

งานที่ต้องทำ	กลุ่ม 1 (ตัว)				กลุ่ม 2 (ตัว)				กลุ่ม 3 (ตัว)				กลุ่ม 4 (ตัว)				กลุ่ม 5 (ตัว)			
	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
ให้เชื้อพิษทับ		b				b				b				b				b		
สังเกตอาการและบันทึกปริมาณ		b				b				b				b				b		
อาหารที่กิน 10 วัน																				
อายุ 31 วัน																				
เจาะเลือด	*				*				*				*				*			
ชั่งน้ำหนักตัว	*				*				*				*				*			
สังเกตอาการ	*				*				*				*				*			
อายุ 35 วัน																				
เจาะเลือด			c	d			c	d			c	d			c	d			c	d
ชั่งน้ำหนักตัว			c	d			c	d			c	d			c	d			c	d
ให้เชื้อพิษทับ			c				c				c				c				c	
สังเกตอาการและบันทึกปริมาณ			c	d			c	d			c	d			c	d			c	d
อาหารที่กิน 10 วัน																				
อายุ 38 วัน																				
เจาะเลือด		*				*				*				*				*		

ตารางที่ 1 แสดงรายละเอียดการทดลองในไก่ช่วงอายุต่าง ๆ (ต่อ)

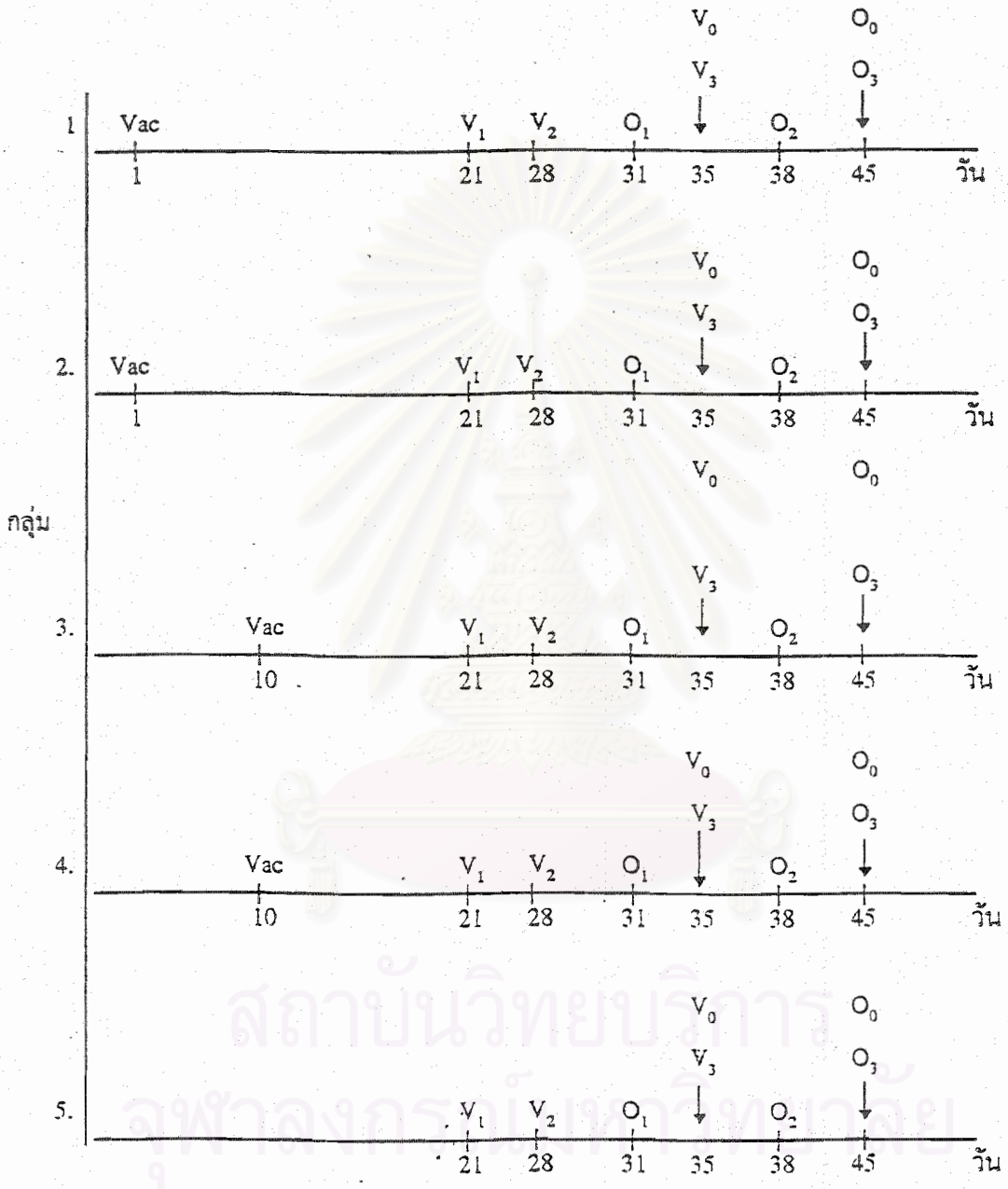
งานที่ต้องทำ	กลุ่ม 1 (ตัว)				กลุ่ม 2 (ตัว)				กลุ่ม 3 (ตัว)				กลุ่ม 4 (ตัว)				กลุ่ม 5 (ตัว)			
	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
ชั่งน้ำหนักตัว		*				*				*				*				*		
สังเกตอาการ		*				*				*				*				*		
อายุ 45 วัน																				
เจาะเลือด			*	d			*	d			*	d			*	d			*	d
ชั่งน้ำหนักตัว			*	d			*	d			*	d			*	d			*	d
สังเกตอาการและบันทึกปริมาณ			*	d			*	d			*	d			*	d			*	d

* = เฉพาะตัวที่เหลือ a, b, c, d, * = งานที่ต้องทำวันนั้น

หมายเหตุ หากไก่ที่ตายภายหลังได้รับเชื้อพิษ ผ่าซากตรวจรอยโรค

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แผนภูมิที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้นและผ่านการคัดเลือก โดยเปรียบเทียบกับวัคซีนเชื้อตายของบริษัทที่นิยมใช้กันทั่วไป



หมายเหตุ

$V_1 - O_1$ ช่วงอายุ 21-31 วัน ให้เชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล เจาะเลือด ชั่งน้ำหนักตัวไก่ บันทึกปริมาณอาหารที่ไก่กิน สังเกตอาการป่วยและตาย ก่อนและหลังการให้เชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล

$V_2 - O_2$ ช่วงอายุ 28-38 วัน ทำเช่นเดียวกัน

$V_3 - O_3$ ช่วงอายุ 35-45 วัน ทำเช่นเดียวกัน

$V_0 - O_0$ ช่วงอายุ 35-45 วัน ทำเช่นเดียวกัน แต่ไม่ได้ให้เชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล

4. อายุการเก็บรักษาวัคซีน (Shelf life)

เก็บวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้นซึ่งผ่านการคัดเลือกแล้ว และวัคซีนเชื้อตายของบริษัท ที่อุณหภูมิ 4-8°ซ (Cessi and Nardelli, 1974) เป็นระยะเวลา 6 เดือน หลังจากนั้น

4.1 ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของวัคซีน ดังหัวข้อ 1.3

4.2 ทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีน ดังหัวข้อ 2.2 โดยทำการฉีดวัคซีนเชื้อตายใต้ผิวหนังบริเวณหลังคอในไก่ไข่ กลุ่มละ 15 ตัว ๆ ละ 0.2 มิลลิลิตร

กลุ่ม 1 ให้วัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น

กลุ่ม 2 ให้วัคซีนเชื้อตายของบริษัท

กลุ่ม 3 กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้วัคซีน

5. วิเคราะห์ผลการทดลอง

การวิเคราะห์ข้อมูล นั้น ใช้โปรแกรม SPSS for MS windows 6.0 ด้วย one way ANOVA ชนิด DUNCAN Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ส่วนอัตราการป่วยและความคุ้มโรคหรือความต้านทานโรค วิเคราะห์ข้อมูล โดยใช้ Proportion T's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการวิจัย (Results)

1. การเตรียมวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลเชื้อตายเสตรนที่ไม่รุนแรง และแรงปานกลาง

1.1 ผลการเตรียมไวรัส

ภายหลังจากการฉีดเชื้อไวรัสที่ได้มาจากวัคซีนเชื้อเป็น เข้าสู่ไข่ฟักแล้วเก็บเข้าตู้ฟักไข่ อุณหภูมิ 37°ซ. เป็นเวลา 50 ชั่วโมง จากนั้นเก็บของเหลวจากไข่ฟัก (allan toic fluid) มาตรวจระดับความแรงของไวรัสด้วยวิธี Hemagglutination (HA) test พบว่า

ของเหลวจากไข่ฟัก ที่ได้จากการฉีดด้วยวัคซีนเชื้อเป็นเสตรนลาโซต้าของบริษัท และเสตรนเอ็มพีของกรมปศุสัตว์ นั้น มีความแรงระหว่าง 16-512 จากนั้น จึงนำของเหลวจากไข่ฟักแต่ละฟองที่มีความแรงเท่ากันมารวมกัน (pooled) โดยมีความแรงของไวรัส แบ่งเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

วัคซีนเชื้อเป็นเสตรนลาโซต้า ของบริษัท (เสตรนที่ไม่รุนแรง) ที่มีจำนวนไวรัสน้อย มี HA titer 256

วัคซีนเชื้อเป็นเสตรนลาโซต้า ของบริษัท (เสตรนที่ไม่รุนแรง) ที่มีจำนวนไวรัสมาก มี HA titer 512

วัคซีนเชื้อเป็นเสตรนเอ็มพี ของกรมปศุสัตว์ (เสตรนแรงปานกลาง) ที่มีจำนวนไวรัสน้อย มี HA titer 256

วัคซีนเชื้อเป็นเสตรนเอ็มพี ของกรมปศุสัตว์ (เสตรนแรงปานกลาง) ที่มีจำนวนไวรัสมาก มี HA titer 512

1.2 ผลการเตรียมอีมัลชั่น

พบว่าวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้นนั้นผสมเข้ากันเป็นเนื้อเดียวกัน โดยเตรียมชนิดละ 80 มิลลิลิตร ดังนี้ วัคซีนเชื้อตายเสตรนที่ไม่รุนแรง จำนวนไวรัสน้อย วัคซีนเชื้อตายเสตรนที่ไม่รุนแรง จำนวนไวรัสมาก วัคซีนเชื้อตายเสตรนแรงปานกลาง จำนวนไวรัสน้อย และวัคซีนเชื้อตายเสตรนแรงปานกลาง จำนวนไวรัสมาก

1.3 ผลการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของวัคซีน

ก. ความหนืดสัมพัทธ์ (Relative viscosity)

เวลาเฉลี่ยของการไหลของวัคซีนที่เตรียมขึ้น ปริมาณ 0.4 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้งเป็นวินาที แสดงผลดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงเวลาการไหลของวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น ($\bar{X} \pm S.D$)

ชนิดของวัคซีน	เวลาการไหลของวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น (วินาที)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	$\bar{X} \pm S.D.$
1. เสตรนที่ไม่รุนแรง จำนวนไวรัสน้อย	16.00	15.89	15.72	15.87 ± 0.12^{a}
2. เสตรนที่ไม่รุนแรง จำนวนไวรัสมาก	9.57	10.05	9.98	9.87 ± 0.21^{b}
3. เสตรนแรงปานกลาง จำนวนไวรัสน้อย	17.77	17.19	17.24	17.40 ± 0.26^{c}
4. เสตรนแรงปานกลาง จำนวนไวรัสมาก	6.25	6.34	6.08	6.22 ± 0.11^{d}
5. บริษัท	9.46	9.38	9.11	9.32 ± 0.15^{e}

$^{a, b, c, d, e}$ มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

พบว่าเวลาเฉลี่ยในการไหลของวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทุกกลุ่ม และมีความแตกต่างจากกลุ่มวัคซีนของบริษัทด้วย วัคซีนที่เตรียมจากเสตรนแรงปานกลางที่มีจำนวนไวรัสมากจะมีความหนืดสัมพัทธ์น้อยสุด หรือมีเวลาการไหลเฉลี่ยเร็วสุดโดยที่วัคซีนของบริษัทมีความหนืดสัมพัทธ์น้อยตามมา

ข. ความคงตัว (Stability)

ความคงตัวของวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้นทุกชนิด และวัคซีนเชื้อตายของบริษัท เมื่อเก็บไว้ในหลอดแก้วที่ปิดสนิท ที่อุณหภูมิ 37°ซ. โดยสังเกตทุกสัปดาห์ พบว่าวัคซีนที่เตรียมขึ้นทุกชนิด รวมถึงวัคซีนของบริษัทไม่มีการแยกชั้นกันของ aqueous phase ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 จนสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 8

1.4 ปฏิกริยาการตอบสนองของเนื้อเยื่อบริเวณที่ฉีดวัคซีน (Tissue reaction) ในตัวไก่ สังเกตจากการผ่าซาก ตรวจดูรอยโรคด้วยตาเปล่า

I18308855

แสดงผลออกมาในรูป พบ หรือ ไม่พบ โดยเปรียบเทียบกับวัคซีนเชื้อตายของบริษัท จากการผ่าซาก ตรวจดูรอยโรคด้วยตาเปล่า ภายหลังจากการฉีด 3 และ 4 สัปดาห์ นั้น พบว่าวัคซีนที่เตรียมขึ้น และวัคซีนของบริษัทสามารถพบหยดน้ำมันได้จากบริเวณที่ฉีดวัคซีน ซึ่งถือว่าปกติ สำหรับวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมจากน้ำมัน ขณะที่กลุ่มวัคซีนเชื้อตายเสตรนแรงปานกลาง จำนวนไวรัสน้อย สามารถพบการอักเสบ และเนื้อตายลักษณะ granuloma ซึ่งแสดงถึง เกิดปฏิกริยาการตอบสนองของเนื้อเยื่อบริเวณที่ฉีดวัคซีน แสดงผลดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงผลการพบปฏิกริยาการตอบสนองของเนื้อเยื่อที่เห็นด้วยตาเปล่า

ชนิดของวัคซีนเชื้อตาย	**ผ่าซากภายหลังการฉีดวัคซีน 3 สัปดาห์ (จำนวนไก่ที่พบ /จำนวนไก่ทั้งหมดที่ผ่าซาก)**	**ผ่าซากภายหลังการฉีดวัคซีน 4 สัปดาห์ (จำนวนไก่ที่พบ /จำนวนไก่ทั้งหมดที่ผ่าซาก)**
1. เสตรนที่ไม่รุนแรง จำนวนไวรัสน้อย	0/5	0/4
2. เสตรนที่ไม่รุนแรง จำนวนไวรัสมาก	0/5	0/5
3. เสตรนแรงปานกลาง จำนวนไวรัสน้อย	3/5	5/5
4. เสตรนแรงปานกลาง จำนวนไวรัสมาก	0/5	0/5
5. บริษัท	0/5	0/4

2. การทดสอบคัดเลือกวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น (Screening test)

2.1 การทดสอบคัดเลือกวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้นทั้งหมด

ก. ระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิล

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิลภายหลังการได้รับวัคซีนแล้ว สัปดาห์ที่ 2 เริ่มพบการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดี้ ยกเว้น กลุ่ม 6 ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้วัคซีน แสดงผลดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงระดับแอนติบอดี้ ต่อโรคนิวคาสเซิล (log_2 HI antibody titer)(X±S.D.) (n = 7 ยกเว้นจำนวนที่ระบุไว้)

กลุ่ม	ภายหลังการได้รับวัคซีน (สัปดาห์)					
	0	1	2	3	4	5
1	1.0±0.0 (n=30)	1.0±0.0[a]	1.3±0.7[a]	2.0±1.6[ad]	2.4±1.2[ac]	1.0±0.0[a] (n=6)
2		1.0±0.0[a]	2.4±1.8[a]	3.0±2.2[abcd]	4.0±2.0[ab] (n=6)	2.5±1.6[a] (n=6)
3		1.0±0.0[a]	2.7±2.0[a]	4.8±2.7[bc]	6.8±1.8[b] (n=6)	4.7±2.1[b] (n=6)
4		1.0±0.0[a]	1.8±1.7[a]	3.8±1.9[abc] (n=6)	3.7±1.7[a] (n=6)	2.4±1.3[a] (n=5)
5		1.0±0.0[a]	3.0±2.1[a] (n=6)	6.0±2.4[c] (n=4)	8.0±1.9[b] (n=4)	6.7±1.1[c] (n=4)
6		1.0±0.0[a]	1.0±0.0[a]	1.0±0.0[d] (n=6)	1.2±0.4[c] (n=6)	1.0±0.0[a] (n=6)

[a, b, c, d] ที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ข. ศึกษาความปลอดภัยของวัคซีน

กลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้นทุกกลุ่ม ไม่พบอาการผิดปกติภายหลังการได้รับวัคซีน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับวัคซีนของบริษัท และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้วัคซีน

ค. ศึกษาความคุ้มโรค หรือความต้านทานโรค

ศึกษาความคุ้มโรค หรือความต้านทานโรค โดยการให้เชื้อพิษไวรัสนิว-คาสเซิล แก่ไก่ทุกตัว เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าไก่กลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น มีความต้านทานโรคระหว่าง 67-80% ส่วนวัคซีนเชื้อตายของบริษัท มีความต้านทานโรค 100%

ตารางที่ 5 แสดง % ความคุ้มโรค หรือ % ความต้านทานโรค ภายหลังการได้รับเชื้อพิษ

กลุ่ม	%ความต้านทานโรค (จำนวนไก่ตาย/จำนวนไก่ที่ได้รับเชื้อพิษ)
1	67 (2/6)[a]
2	67 (2/6)[a]
3	75 (1/4)[a]
4	80 (1/5)[a]
5	100 (0/4)[a]
6	0 (6/6)[b]

[a,b] แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

จากผลดังกล่าวข้างต้นทางคณะผู้วิจัยได้คัดเลือกวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น กลุ่ม 4 (วัคซีนเชื้อตายเสตรนแรงปานกลาง จำนวนไวรัสมาก) มาทดสอบเปรียบเทียบกับกลุ่ม 5 (วัคซีนเชื้อตายของบริษัท) และกลุ่ม 6 (กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้วัคซีน)

2.2 การทดสอบคัดเลือกวัคซีนเชื้อตาย และผ่านการคัดเลือกแล้ว

ก. ระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิล

ระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิล ภายหลังการได้รับวัคซีน แล้ว สัปดาห์ที่ 2 เริ่มพบการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดี้ ยกเว้นกลุ่ม 3 ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้วัคซีน แสดงผลดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิล (Log_2 HI antibody titer) (X±S.D.)

กลุ่ม	ภายหลังการได้รับวัคซีน (สัปดาห์)						ภายหลังการได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล 2 สัปดาห์
	0	1	2	3	4	5	
1	1.1±0.5 (n=30)	1.1±0.5[a]	1.8±1.5[a]	2.8±1.5[a]	4.2±1.7[a]	4.0±1.7[a]	11.5±1.4[a]
2		1.1±0.2[a]	1.5±1.3[ab]	3.0±2.1[a]	4.2±2.5[a]	4.0±2.6[a]	12.0±0.9[a]
3		1.0±0.0[a]	1.0±0.0[b]	1.0±0.0[b]	1.0±0.0[b]	1.0±0.0[b]	*

* ไก่ตายหมด

[a, b] ที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ข. ศึกษาความปลอดภัยของวัคซีน

กลุ่ม 1 คือกลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น ไม่พบอาการผิดปกติภายหลังการได้รับวัคซีน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม 2 คือ กลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายของบริษัท และกลุ่ม 3 ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้วัคซีน

ค. ศึกษาความคุ้มโรค หรือความต้านทานโรค

ศึกษาความคุ้มโรค หรือความต้านทานโรคโดยการให้เชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล แก่ไก่ทุกตัว เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า ไก่กลุ่ม 1 และกลุ่ม 2 มีความต้านทานโรค 80 และ 60% ตามลำดับ แสดงผลดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดง % ความคุ้มโรค หรือ % ความต้านทานโรค ภายหลังการได้รับเชื้อพิษ

กลุ่ม	%ความต้านทานโรค (จำนวนไก่ตาย/จำนวนไก่ที่ได้รับเชื้อพิษ)
1	80 (6/30)[a]
2	60 (12/30)[a]
3	0 (20/20)[b]

[a, b] ที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

จากผลดังกล่าวข้างต้นทางคณะผู้วิจัยได้คัดเลือกวัคซีนเชื้อตายเสตรนแรงปานกลางที่มีจำนวนไวรัสมาก เพื่อทดสอบประสิทธิภาพ โดยเปรียบเทียบกับวัคซีนเชื้อตายของบริษัทที่นิยมใช้กันทั่วไป

3. การทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น และผ่านการคัดเลือกโดยเปรียบเทียบกับวัคซีนเชื้อตายของบริษัทที่นิยมใช้กันทั่วไป ซึ่งแต่ละกลุ่มได้รับวัคซีนดังนี้

กลุ่ม 1 คือ กลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น พร้อมกับวัคซีนเชื้อเป็นเสตรน B_1 เมื่ออายุ 1 วัน

กลุ่ม 2 คือ กลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายของบริษัท พร้อมกับวัคซีนเชื้อเป็นเสตรน B_1 เมื่ออายุ 1 วัน

กลุ่ม 3 คือ กลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น พร้อมกับวัคซีนเชื้อเป็นเสตรน B_1 เมื่ออายุ 10 วัน

กลุ่ม 4 คือ กลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายของบริษัท พร้อมกับวัคซีนเชื้อเป็นเสตรน B_1 เมื่ออายุ 10 วัน

กลุ่ม 5 คือ กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้วัคซีน

ระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิล ก่อนและหลังการได้รับวัคซีน และภายหลังการได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิลที่อายุต่าง ๆ ดังนี้

อายุ 1 วัน คือ 6.7 ± 1.2 (ก่อนได้รับวัคซีน)

อายุ 10 วัน คือ 4.0 ± 1.4 (ก่อนได้รับวัคซีน)

อายุ 21 วัน ของกลุ่ม 1, 2, 3, 4 และ 5 คือ 1.3 ± 0.7, 1.5 ± 0.9, 2.1 ± 1.1, 2.5 ± 1.4 และ 1.1 ± 0.4 พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ของกลุ่ม (1,3), (1,4), (2,3), (2,4), (3,5), (4,5)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อายุ 28 วัน ของกลุ่ม 1, 2, 3, 4 และ 5 คือ 1.1±0.3, 3.4±1.9, 1.5±1.1, 2.7±1.9 และ 1.0±0.0 พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ของกลุ่ม (1,2),(1,4), (2,3), (2,5), (3,4) และ (4,5)

อายุ 31 วัน ของกลุ่ม 1,2,3 และ 4 คือ 2.1±1.6, 5.1±2.5, 2.3±1.5 และ 5.9±2.7 ส่วนกลุ่มที่ 5 นั้นไก่ตายหมด พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ของกลุ่ม (1,2), (1,4), (2,3) และ (3.4)

อายุ 35 วัน ของกลุ่ม 1,2,3,4 และ 5 คือ 1.7±1.0, 4.3±1.4, 2.5±1.7, 4.8±1.8 และ 1.0±0.0 พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ของกลุ่ม (1,2),(1,3), (1,4), (2,3), (2,5), (3,4), (3,5), และ (4,5)

อายุ 38 วัน ของกลุ่ม 1,2,3,4 และ 5 คือ 10.3±3.3,9.4±3.1, 8.2±3.5 และ 8.0±1.9 ส่วนกลุ่ม 5 นั้นไก่ตายหมด พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ของกลุ่ม (1,3) และ (1,4)

อายุ 45 วัน ของกลุ่ม 1,2,3,4 และ 5 คือ 5.3±2.7, 5.6±1.7, 4.3±2.3, และ 5.4±1.4 ส่วนกลุ่ม 5 นั้นไก่ตายหมด พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ของกลุ่ม (2,3) และ (3,4)

อายุ 45 วัน* ของกลุ่ม 1,2,3,4 และ 5 (ไม่ได้รับเชื้อพิษ) คือ 1.8±1.2, 4.6±1.5, 2.4±1.3, 6.1±1.2 และ 1.0±0.0 พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ของกลุ่ม (1,2), (1,3), (1,4), (1,5), (2,3), (2,4), (2,5), (3,4), (3,5), และ (4,5) แสดงผลดังตารางที่ 8 และ กราฟที่ 1 และ 2

* **หมายเหตุ** ไก่กลุ่ม 2,3 และ 5 ได้คัดตัวไก่ที่ไม่สมบูรณ์ออกตั้งแต่อายุ 35 วัน จึงเหลือ 25,27 และ 27 ตัว ตามลำดับ

ตารางที่ 8 . แสดงระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิล (Log_2 HI antibody titer) ($\bar{X}$±S.D)

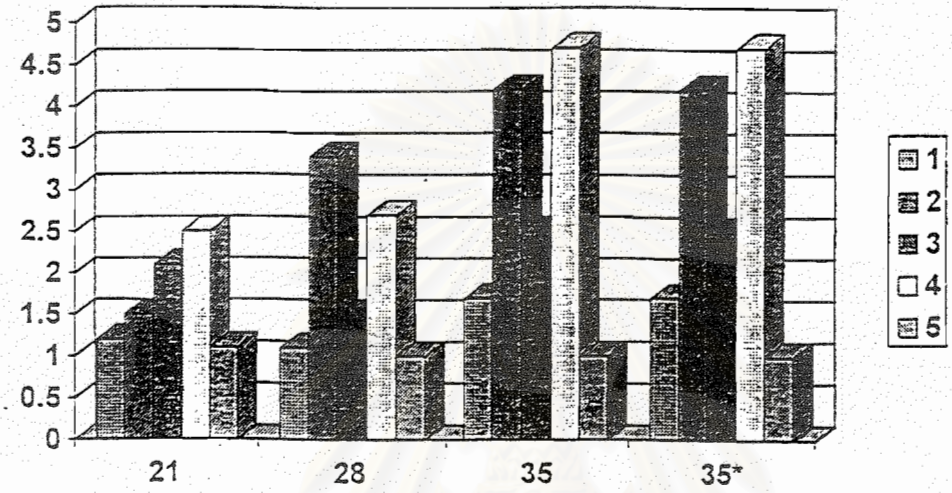
กลุ่ม	อายุ 1 วัน	อายุ 10 วัน	ก่อนและหลังได้รับเชื้อพิษในช่วงอายุ 21-31, 28-38 และ 35-45 วัน						ไม่ได้รับเชื้อพิษ	
			อายุ 21 วัน (ก่อน)	อายุ 31 วัน (หลัง)	อายุ 28 วัน (ก่อน)	อายุ 38 วัน (หลัง)	อายุ 35 วัน (ก่อน)	อายุ 45 วัน (หลัง)	อายุ 35 วัน	อายุ 45 วัน
1.	6.7±1.2 (n=30)	4.0±1.4 (n=30)	1.3±0.7^{ac}	2.1±1.6^{a}	1.1±0.3^{a}	10.3±3.3^{a}	1.7±1.0^{a}	5.3±2.7^{ab}	1.7±1.0^{a}	1.8±1.2^{a}
2.			1.5±0.9^{ac}	5.1±2.5^{b}	3.4±1.9^{b}	9.4±3.1^{ab}	4.3±1.4^{b}	5.6±1.7^{a}	4.3±1.4^{b}	4.6±1.5^{b}
3.			2.1±1.1^{b}	2.3±1.5^{a}	1.5±1.1^{a}	8.2±3.5^{b}	2.5±1.7^{c}	4.3±2.3^{b}	2.5±1.7^{c}	2.4±1.3^{c}
4.			2.5±1.4^{b}	5.9±2.7^{b}	2.7±1.9^{b}	8.0±1.9^{b}	4.8±1.8^{b}	5.4±1.4^{a}	4.8±1.8^{b}	6.1±1.2^{d}
5.			1.1±0.4^{c}	*	1.0±0.0^{a}	*	1.0±0.0^{a}	*	1.0±0.0^{a}	1.0±0.0^{c}

* ไก่ตายหมด

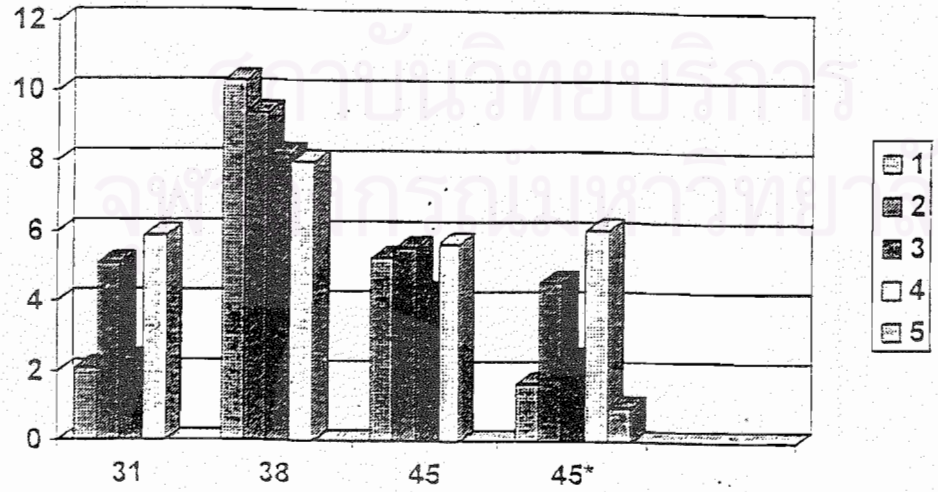
a, b, c, d, e ที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กราฟที่ 1 : แสดงระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิลก่อนการได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล เมื่อไก่อายุ 21, 28, 35 และไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษเมื่ออายุ 35 วัน(35*)



กราฟที่ 2 : แสดงระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิลหลังการได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล เมื่อไก่อายุ 31, 38, 45 และไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ เมื่อครบ 45 วัน(45*)



อัตราการป่วยของไก่กลุ่มต่าง ๆ ภายหลังได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ช่วงอายุต่าง ๆ คือ 21-31 วัน 28-38 วัน และ 35-45 วัน และไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ ช่วงอายุ 35-45 วัน พบว่าภายหลังการได้รับเชื้อพิษไก่จะแสดงอาการป่วย เช่น ซึม นอนสุมกัน ขนพอง ฟู ขี้เขียว น้ำตาไหล จาม และตาย โดยมีอัตราการป่วยระหว่าง 0-17.89% ขณะที่กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้วัคซีน มีอัตราการป่วยเป็น 100% แสดงผลดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงอัตราการป่วยของไก่กลุ่มต่าง ๆ ภายหลังได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ช่วงอายุ 21-31 วัน 28-38 วัน และ 35-45 วัน และไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ ช่วงอายุ 35-45 วัน

กลุ่ม	ช่วงอายุที่ได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล			ไม่ได้รับเชื้อพิษ
	21-31 วัน	28-38 วัน	35-45 วัน	อายุ 35-45 วัน
1	3/28[a]	5/28[a]	3/28[a]	0/28
2	1/28[a]	4/28[a]	0/28[a]	0/25
3	1/28[a]	4/28[a]	0/28[a]	027
4	1/28[a]	5/28[a]	0/28[a]	0/28
5	28/28[b]	28/28[b]	28/28[b]	0/27

[a, b] ที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

หมายเหตุ

1/28 = มีอัตราการป่วย 3.57% 4/28 = มีอัตราการป่วย 14.29%
2/28 = มีอัตราการป่วย 7.14% 5/28 = มีอัตราการป่วย 17.89%
3/28 = มีอัตราการป่วย 10.71% 28/28= มีอัตราการป่วย 100%

อัตราการตายของไก่กลุ่มต่าง ๆ ภายหลังได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ช่วงอายุต่าง ๆ คือ 21-31 วัน 28-38 วัน และ 35-45 วัน และไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ ช่วงอายุ 35-45 วัน โดยมีอัตราการตายระหว่าง 0-10.71% ขณะที่กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้วัคซีนมีอัตราการป่วยเป็น 100% แสดงผลดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 แสดงอัตราการตายของไก่กลุ่มต่าง ๆ ภายหลังได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ช่วงอายุ 21-31 วัน 28-38 วัน และ 35-45 วัน และไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ ช่วงอายุ 35-45 วัน

กลุ่ม	ช่วงอายุที่ได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล			ไม่ได้รับเชื้อพิษ
	21-31 วัน	28-38 วัน	35-45 วัน	อายุ 35-45 วัน
1	3/28[a]	3/28[a]	3/28[a]	0/28
2	1/28[a]	2/28[a]	0/28[a]	0/25
3	1/28[a]	3/28[a]	0/28[a]	027
4	1/28[a]	3/28[a]	0/28[a]	0/28
5	28/28[b]	28/28[b]	28/28[b]	0/27

[a, b] ที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

หมายเหตุ

1/28 = 3.57% มีความคุ้มโรค หรือความต้านทานโรค 96.43%
2/28 = 7.14% " 92.86%
3/28 = 10.71% " 89.29%
28/28 = 100% " 0%

น้ำหนักตัวไก่เฉลี่ยก่อนและหลังได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ช่วงอายุต่าง ๆ คือ 21-31 วัน 28-38 วัน และ 35-45 วัน และกลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ ช่วงอายุ 35-45 วัน โดยน้ำหนักตัวไก่เฉลี่ย ก่อนได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิลของไก่ทุกกลุ่มที่อายุต่าง ๆ นั้น (อายุ 21, 28 และ 35 วัน) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ภายหลังได้รับเชื้อพิษไปแล้ว 10 วัน จะมีน้ำหนักตัวไก่เฉลี่ย ที่อายุ 31, 38 และ 45 วัน ระหว่าง 867.1-908.9 กรัม 1081.8-1136.4 กรัม และ 1455.4-1671.1 กรัม ตามลำดับ ส่วนน้ำหนักตัวไก่เฉลี่ย ที่อายุ 35 วัน ในกลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิลนั้น กลุ่มที่ได้รับวัคซีน เมื่ออายุ 1 วัน จะมีน้ำหนักตัวไก่เฉลี่ยน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มที่ได้รับวัคซีน เมื่ออายุ 10 วัน โดยมีน้ำหนักตัวไก่เฉลี่ยระหว่าง 1055.6-1305.9 กรัม และ เมื่ออายุ 45 วัน จะมีน้ำหนักตัวไก่เฉลี่ยระหว่าง 1596.8-1815.2 กรัม โดยกลุ่ม 2 จะมีน้ำหนักตัวไก่เฉลี่ยน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่ม 1, 3, 4 และ 5 แสดงผลดังตารางที่ 11

น้ำหนักตัวไก่ที่เพิ่มขึ้นต่อกลุ่ม ก่อนและหลังได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ช่วงอายุต่าง ๆ คือ 21-31 วัน 28-38 วัน และ 35-45 วัน และกลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ ช่วงอายุ 35-45 วัน พบว่าทุกกลุ่มยกเว้นกลุ่ม 5 ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม ภายหลังการได้รับเชื้อพิษ น้ำหนักตัวไก่ที่เพิ่มขึ้นต่อกลุ่ม อยู่ระหว่าง 7.11-13.16 กิโลกรัม ส่วนกลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ ช่วงอายุ 35-45 วัน อยู่ระหว่าง 13.53-14.64 กิโลกรัม แสดงผลดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 น้ำหนักตัวไก่ที่เพิ่มขึ้นต่อกลุ่ม (กิโลกรัม) ก่อนและหลังได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ช่วงอายุ 21-31 วัน 28-38 วัน และ 35-45 วัน และกลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ ช่วงอายุ 35-45 วัน(n=28 ยกเว้นจำนวนที่ระบุไว้)

กลุ่ม	ช่วงอายุที่ได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล			ไม่ได้รับเชื้อพิษ
	21-31 วัน	28-38 วัน	35-45 วัน	อายุ 35-45 วัน
1	10.62	8.46	7.11	14.64
2	11.28	10.01	13.16	13.53 (n=25)
3	11.52	8.88	11.95	13.82 (n=27)
4	11.79	9.31	12.32	14.19 (n=28)
5	*	*	*	13.59 (n=27)

* ไก่ตายหมด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปริมาณอาหารที่ไก่กินต่อกลุ่ม ก่อนและหลังได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ช่วงอายุต่าง ๆ คือ 21-31 วัน 28-38 วัน และ 35-45 วัน และกลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ ช่วงอายุ 35-45 วัน พบว่าปริมาณอาหารที่ไก่กินอยู่ระหว่าง 11.10-32.96 กิโลกรัม แสดงผลดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ปริมาณอาหารที่ไก่กินกลุ่ม (กิโลกรัม) ก่อนและหลังได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ช่วงอายุ 21-31 วัน 28-38 วัน และ 35-45 วัน และกลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ ช่วงอายุ 35-45 วัน(n=28 ยกเว้นจำนวนที่ระบุไว้)

กลุ่ม	ช่วงอายุที่ได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล			ไม่ได้รับเชื้อพิษ
	21-31 วัน	28-38 วัน	35-45 วัน	อายุ 35-45 วัน
1	22.17	24.96	30.70	31.40
2	22.90	26.33	32.93	26.80(n=25)
3	22.90	25.74	31.00	32.00(n=27)
4	22.90	26.44	32.96	31.90
5	13.75	11.10	15.10	31.60(n=27)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อัตราการแลกเนื้อ ก่อนและหลังได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ช่วงอายุต่าง ๆ คือ 21-31 วัน 28-38 วัน และ 35-45 วัน และกลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ ช่วงอายุ 35-45 วัน พบว่าทุกกลุ่มยกเว้นกลุ่ม 5 ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม ภายหลังการได้รับเชื้อพิษ อัตราการแลกเนื้อ อยู่ระหว่าง 1.94-4.32 ส่วนกลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ ช่วงอายุ 35-45 วัน อยู่ระหว่าง 1.98-2.33 แสดงผลดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14 อัตราการแลกเนื้อ ก่อนและหลังได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ช่วงอายุ 21-31 วัน 28-38 วัน และ 35-45 วัน และกลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ ช่วงอายุ 35-45 วัน (n=28 ยกเว้นจำนวนที่ระบุไว้)

กลุ่ม	ช่วงอายุที่ได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล			ไม่ได้รับเชื้อพิษ
	21-31 วัน	28-38 วัน	35-45 วัน	อายุ 35-45 วัน
1	2.09	2.95	4.32	2.14
2	2.03	2.63	2.50	1.98(n=25)
3	1.99	2.90	2.59	2.32(n=27)
4	1.94	2.84	2.68	2.25
5	*	*	*	2.33(n=27)

* ไก่ตายหมด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลตอบแทนที่ได้รับ (บาท) ก่อนและหลังได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ช่วงอายุต่าง ๆ คือ 21-31 วัน 28-38 วัน และ 35-45 วัน และกลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ ช่วงอายุ 35-45 วัน พบว่าผลตอบแทนที่ได้รับของทุกกลุ่ม อยู่ระหว่าง -113.25 ถึง 159.78 บาท แสดงผลดังตารางที่ 15

ตารางที่ 15 ผลตอบแทนที่ได้รับ (บาท) ก่อนและหลังได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ช่วงอายุ 21-31 วัน 28-38 วัน และ 35-45 วัน และกลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษ ช่วงอายุ 35-45 วัน (n=28 ยกเว้นจำนวนที่ระบุไว้)

กลุ่ม	ช่วงอายุที่ได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล			ไม่ได้รับเชื้อพิษ
	21-31 วัน	28-38 วัน	35-45 วัน	อายุ 35-45 วัน
1	120.46	41.22	-38.28	159.78
2	132.81	72.79	108.34	164.31(n=25)
3	139.29	46.71	90.15	133.14(n=27)
4	146.58	53.07	85.44	143.89
5	-103.13	-83.25	-113.25	129.93(n=27)

4 อายุการเก็บรักษาวัคซีน (Shelf life)

ภายหลังจากการเก็บวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น ซึ่งผ่านการคัดเลือกแล้ว และวัคซีนเชื้อตายของบริษัท ที่อุณหภูมิ 4-8 $^{\circ}$ซ. เป็นเวลา 6 เดือน โดยศึกษาดังนี้

4.1 ผลการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของวัคซีน

ก. ความหนืดสัมพัทธ์

เวลาเฉลี่ยของการไหลของวัคซีนเชื้อตาย ปริมาณ 0.4 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง เป็นวินาที ดังนี้ คือ วัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น เฉลี่ย 6.06±0.11 และวัคซีนเชื้อตายของบริษัทเฉลี่ย 9.19±0.08 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญแสดงว่าวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น มีความหนืดสัมพัทธ์น้อยกว่า วัคซีนเชื้อตายของบริษัท แสดงผลดังตารางที่ 16

ตารางที่ 16 แสดงเวลาการไหลของวัคซีนเชื้อตาย (วินาที) โดยเก็บไว้ที่ 4-8°ซ. เป็นเวลา 6 เดือน (X±S.D.)

ชนิดของวัคซีน	เวลาการไหลของวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น (วินาที)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	$\bar{X} \pm S.D.$
วัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น	6.20	6.04	5.93	6.06 ± 0.11^{a}
วัคซีนเชื้อตายของบริษัท	9.07	9.07	9.92	9.19 ± 0.08^{b}

[a,b] ที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบกับเวลาการไหลของวัคซีนเชื้อตาย ก่อนการเก็บไว้นาน 6 เดือน (แสดงผลดังตารางที่ 2 วัคซีนชนิดที่ 4 และ 5) พบว่า เมื่อเก็บไว้นาน 6 เดือน เวลาการไหลลดลง แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น และวัคซีนเชื้อตายของบริษัท

ข. ความคงตัว (Stability)

ความคงตัวของวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น และวัคซีนเชื้อตายของบริษัท เมื่อเก็บไว้ในหลอดแก้วที่ปิดสนิท ไม่พบการแยกชั้นกันของ aqueous phase

4.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีน ภายหลังจากการเก็บวัคซีนไว้เป็นเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 4-8°ซ.

กลุ่มที่ 1 วัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น

กลุ่มที่ 2 วัคซีนเชื้อตายของบริษัท

กลุ่มที่ 3 กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้วัคซีน

ก. ระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิล

ภายหลังจากการเก็บวัคซีนที่อุณหภูมิ 4-8°ซ. เป็นเวลา 6 เดือน พบว่าระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิลของไก่กลุ่มที่ 1 มีค่าน้อยกว่า กลุ่มที่2อย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่ภายหลังได้รับวัคซีนแล้ว สัปดาห์ที่ 3 เป็นต้นไป โดยวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้นจะมีค่า

เฉลี่ยระหว่าง 1.0-3.6 ส่วนของวัคซีนเชื้อตายของบริษัทมีค่าเฉลี่ย 3.3-6.6 แสดงผลดังตารางที่ 17

ตารางที่ 17 แสดงระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิล (Log_2 HI antibody titer) ภายหลังจากการเก็บวัคซีนไว้เป็นเวลา 6 เดือน ($\bar{X}$±S.D.) (n=15)

กลุ่ม	ภายหลังการได้รับวัคซีน (สัปดาห์)						ภายหลังการได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล(สัปดาห์)
	0	1	2	3	4	5	
1	1.0±0.0	1.0±0.0[a]	1.0±0.0[a]	1.0±0.0[a]	3.6±1.2[a]	3.5±1.6[a]	12.7±2.0[a]
2		1.0±0.0[a]	1.0±0.0[a]	3.3±1.9[b]	5.6±2.0[b]	6.6±2.1[b]	10.4±1.1[b]
3		1.0±0.0[a]	1.0±0.0[a]	1.0±0.0[a]	1.0±0.0[c]	1.0±0.0[c]	*

[a, b, c] ที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* ไก่ตายหมด

เมื่อเปรียบเทียบระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิล เมื่อไก่ได้รับวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้นทันที (0 วัน) (ผลจากตารางที่ 5) และวัคซีนเชื้อตายโดยเก็บไว้ที่ 4-8 ^{o}ซ. เป็นเวลา 6 เดือน พบว่าระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิลของกลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้นทันที จะมากกว่ากลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายที่เก็บไว้นาน 6 เดือน อย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 2, 3 และ 4 ส่วนสัปดาห์ที่ 5 จะมีค่ามากกว่าอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงผลดังตารางที่ 18 ขณะที่กลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายของบริษัทเมื่อให้ทันที (0 วัน) จะมีระดับแอนติบอดี้น้อยกว่า อย่างไม่มีนัยสำคัญกับกลุ่มได้รับวัคซีนเชื้อตายที่เก็บไว้นาน 6 เดือน ยกเว้นสัปดาห์ที่ 5 ที่น้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงผลดังตารางที่ 19

ตารางที่ 18 แสดงระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิล (Log_2 HI antibody titer) ($\bar{X}$±S.D.) เมื่อไก่ได้รับวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น

ระยะเวลาการเก็บวัคซีน	ภายหลังการได้รับวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น (สัปดาห์)					
	0	1	2	3	4	5
0 วัน *	1.1±0.5[a]	1.1±0.5[a]	1.8±1.5[a]	2.8±1.5[a]	4.2±1.7[a]	4.0±1.7[a]
6 เดือน	1.0±0.0[a]	1.0±0.0[a]	1.0±0.0[b]	1.0±0.0[b]	3.6±1.2[b]	3.5±1.6[a]

[a, b] ที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* ผลที่แสดงไว้นำมาจากตารางที่ 6

ตารางที่ 19 แสดงระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิล (Log_2 HI antibody titer) ($\bar{X}$±S.D.) เมื่อไก่ได้รับวัคซีนเชื้อตายของบริษัท

ระยะเวลาการเก็บวัคซีน	ภายหลังการได้รับวัคซีนเชื้อตายของบริษัท (สัปดาห์)					
	0	1	2	3	4	5
0 วัน *	1.1±0.5[a]	1.1±0.2[a]	1.5±1.3[a]	3.0±2.1[a]	4.2±2.5[a]	4.0±2.6[a]
6 เดือน	1.0±0.0[a]	1.0±0.0[a]	1.0±0.0[a]	3.3±1.9[a]	5.6±2.0[a]	6.6±2.1[b]

[a, b] ที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* ผลที่แสดงไว้นำมาจากตารางที่ 6

ข. ศึกษาความปลอดภัยของวัคซีน

กลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น ไม่พบอาการผิดปกติ ภายหลังการได้รับวัคซีนเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับวัคซีนของบริษัท และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้วัคซีน

ค. ศึกษาความคุ้มโรค หรือความต้านทานโรค

ศึกษาความคุ้มโรค หรือความต้านทานโรคโดยการให้เชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล แก่ไก่ทุกตัวเป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าไก่กลุ่ม 1 และกลุ่ม 2 มีความต้านทานโรค 86.7% และ 93.3% ตามลำดับ แสดงผลดังตารางที่ 20

ตารางที่ 20 แสดง % ความคุ้มโรค หรือ % ความต้านทานโรค ภายหลังการได้รับเชื้อพิษ

กลุ่ม	% ความต้านทานโรค (จำนวนไก่ตาย/จำนวนไก่ที่ได้รับเชื้อพิษ)
1	86.7 (13/15)[a]
2	93.3 (14/15)[a]
3	0 (15/15)[b]

[a, b] แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การอภิปรายผล (Discussion)

จากผลการทดลองขั้นตอนการเตรียมวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลเชื้อตายเสตรนที่ไม่รุนแรงและแรงปานกลางนั้น ไวรัสที่เตรียมได้จากไข่ฟัก จะมีความแรง (HA titer) ระหว่าง 16-512 ซึ่งพบว่ามีความแตกต่างกัน อาจจะเนื่องจาก ไข่ฟักนั้นมีแอนติบอดี้ที่ถ่ายทอดมาจากแม่ (maternal antibody) ดังนั้น เมื่อทำการฉีดเชื้อไวรัสนิวคาสเซิลลงไปในไข่ฟัก จึงอาจจะมีผลต่อการเจริญของไวรัส ทำให้ได้ไวรัสที่มีความแรงแตกต่างกัน ซึ่ง Senne (1989) รายงานว่าไม่ควรใช้ไข่ฟักที่มีแอนติบอดี้ แม้ว่าจะไม่มีผลต่อการเตรียมไวรัส และยังพบว่าการที่ไข่ฟักนั้นตาย และยังคงอยู่ในตู้อบ 37^{o}ซ. หรือ การที่มีเม็ดเลือดแดงปนอยู่ใน allantoic fluid จะทำให้ความแรงของไวรัสนั้นลดลงได้ อย่างไรก็ตาม ทางคณะผู้วิจัยได้จัดความแรงของไวรัสเป็น 4 ชนิด ดังนี้ ไวรัสเสตรนลาโซต้า (เสตรนที่ไม่รุนแรง) ที่มีจำนวนไวรัสน้อย และจำนวนไวรัสมากคือ 256 และ 512 ไวรัสเสตรนเอ็มพี (เสตรนแรงปานกลาง) ที่มีจำนวนไวรัสน้อย และจำนวนไวรัสมาก คือ 256 และ 512 ซึ่งการเตรียมวัคซีนเชื้อตายในต่างประเทศนั้น ส่วนใหญ่จะมีจำนวนไวรัสมากกว่า $1.0x10^{9.1}$ ELD_{50}/0.1 ml. หรือ 256 ขึ้นไป (Cessi and Nardelli, 1974; Brugh และคณะ, 1983; Stone และคณะ, 1983; Pleg และคณะ, 1993) การที่ในต่างประเทศสามารถเตรียมวัคซีนเชื้อตายที่มีจำนวนไวรัสจำนวนมากได้ อาจเนื่องจากไข่ฟักนั้นเป็นไข่ฟักที่มาจากพ่อแม่พันธุ์ไก่ที่ปราศจากการได้รับเชื้อโรค หรือวัคซีน (Specific Pathogen Free) หลังจากนั้นจึงนำไวรัสที่เตรียมได้ทั้ง 4 ชนิด มาเตรียมวัคซีนเชื้อตาย โดยเปรียบเทียบกับวัคซีนเชื้อตายของบริษัท พบว่าความหนืดสัมพัทธ์ ของวัคซีนทุกชนิดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยวัคซีนเชื้อตายเสตรนแรงปานกลางจำนวนไวรัสมาก และวัคซีนเชื้อตายของบริษัทมีความหนืดสัมพัทธ์น้อยสุด หรือมีเวลาการไหลเฉลี่ยเร็วสุด ขณะที่วัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น ชนิดอื่นจะมีความหนืดสัมพัทธ์มาก อาจจะเนื่องจากการเตรียมวัคซีนเชื้อตายครั้งนี้เป็นการเตรียมด้วยมือ จึงอาจจะมีผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพของวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น และเวลาการไหลเฉลี่ยของวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้นนี้นานกว่าที่มีการศึกษาไว้ ซึ่งมีผลต่อการฉีดวัคซีน (Stone และคณะ, 1978) ส่วนปฏิกริยาการตอบสนองของเนื้อเยื่อบริเวณที่ฉีดวัคซีนในตัวไก่ โดยสังเกตจากการผ่าซาก ตรวจดูรอยโรคด้วยตาเปล่านั้น มีวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้นจากเสตรนแรงปานกลางจำนวนไวรัสน้อยเพียงชนิดเดียวที่เกิดปฏิกริยาการตอบสนองของเนื้อเยื่อ ลักษณะ granuloma ขึ้น โดยอาจเกิดจากขั้นตอนการเตรียมวัคซีน หรือมีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย (Aitken and Survashe, 1974) นอกจากนี้ทาง British

Pharmacopoeia (1993) รายงานว่ามาตรฐานของวัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อตาย นั้น จะต้องไม่พบปฏิกริยาการตอบสนองของเนื้อเยื่อบริเวณที่ฉีดวัคซีนแล้ว 14 วัน ดังนั้น วัคซีนเชื้อตายเสตรนแรงปานกลาง จำนวนไวรัสน้อย จึงไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในไก่กระทงเพราะจะมีผลต่อคุณภาพซาก ทำให้อาจมีการคัดซากไก่นั้นทิ้ง (Mutalib and Boyle, 1994)

จากผลการทดลองขั้นตอนการทดสอบคัดเลือกวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงด้านระดับแอนติบอดี้ ตั้งแต่ได้รับวัคซีนแล้ว 2 สัปดาห์ ใกล้เคียงกับรายงานของ Brugh และคณะ ในปี 1983 เมื่อพิจารณาวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น เสตรนแรงปานกลาง จำนวนไวรัสน้อย (กลุ่ม 3) จะมีระดับแอนติบอดี้สูงกว่าวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้นชนิดอื่น แต่ยังต่ำกว่าวัคซีนเชื้อตายของบริษัท โดยที่ไก่ได้รับวัคซีนเชื้อตายทุกชนิด ไม่พบอาการผิดปกติ ชี้ให้เห็นว่าไวรัสนิวคาสเซิลที่นำมาเตรียมวัคซีนเชื้อตายได้ตายหมด (inactivate) ด้วยฟอร์มาลิน 0.1% ตรงกับรายงานต่าง ๆ ที่ได้ศึกษาไว้ (Appleton และคณะ, 1963; Hassan และคณะ, 1992) ส่วนความคุ้มโรค หรือความต้านทานโรคของกลุ่ม 3 ต่ำกว่าอย่างไม่มีนัยสำคัญกับกลุ่ม 4 ซึ่งได้รับวัคซีนเชื้อตายเสตรนแรงปานกลางจำนวนไวรัสมาก เช่นเดียวกับการศึกษาของ Pleg และคณะ (1993) ทั้ง ๆ ที่ระดับแอนติบอดี้ของกลุ่ม 3 สูงกว่ากลุ่ม 4 ซึ่งคาดว่าน่าจะเกิดจากการที่กลุ่ม 3 มีปฏิกริยาการตอบสนองของเนื้อเยื่อบริเวณที่ฉีดวัคซีนมาก จึงกระตุ้นให้เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่าง ๆ มาสู่บริเวณที่ฉีดวัคซีนทำให้เกิดการตอบสนองต่อการสร้างแอนติบอดี้ได้ดีกว่า (Mitrivic และคณะ, 1962) ส่วนวัคซีนเชื้อตายเสตรนที่ไม่รุนแรงจำนวนไวรัสน้อย (กลุ่ม 1) มีระดับแอนติบอดี้ต่ำกว่าอย่างไม่มีนัยสำคัญกับวัคซีนเชื้อตายเสตรนที่ไม่รุนแรงจำนวนไวรัสมาก (กลุ่ม 2) ตรงกับการศึกษาของ Hofacre และคณะ (1986) และยังแนะนำว่าควรเลือกใช้วัคซีนเชื้อตายจำนวนไวรัสมากกับการให้วัคซีนแก่ไก่จำนวนมาก ซึ่งตามปกติแล้วจำนวนไวรัสที่มากกว่าน่าจะกระตุ้นให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันได้ดีกว่า ดังนั้น ทางคณะผู้วิจัยจึงได้คัดเลือกวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น ซึ่งพิจารณาจากข้อดีต่าง ๆ แล้วนำมาทดสอบอีกครั้ง โดยได้คัดเลือกวัคซีนเชื้อตายเสตรนแรงปานกลางจำนวนไวรัสมาก มาทดสอบเปรียบเทียบกับวัคซีนเชื้อตายของบริษัท และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้วัคซีน พบว่าระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิล ความคุ้มโรคหรือความต้านทานโรคของกลุ่มที่ได้รับวัคซีน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม ไก่กลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายของบริษัทมีความต้านทานโรคต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับวัคซีนที่เตรียมเอง ซึ่งขัดแย้งกับผลการทดลองในเบื้องต้น แต่ผลที่แตกต่างนี้ ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งจากการทดสอบลักษณะเช่นนี้หลายๆ ครั้งได้พบความแตกต่าง

ลักษณะเช่นนี้เสมอ โดยเฉพาะในการทดสอบที่ใช้ไก่จำนวนน้อย ดังนั้น ทางคณะผู้วิจัยจึงได้ตัดสินคัดเลือกวัคซีนเชื้อตายเสตรนแรงปานกลางจำนวนไวรัสมาก เพื่อทดสอบประสิทธิภาพโดยเปรียบเทียบกับวัคซีนเชื้อตายของบริษัทที่นิยมใช้กันทั่วไป

จากผลการทดลองขั้นตอนการทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้นและผ่านการคัดเลือกโดยเปรียบเทียบกับวัคซีนเชื้อตายของบริษัทที่นิยมใช้กันทั่วไป พบว่าไก่กลุ่ม 5 ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้วัคซีนนั้น มีระดับแอนติบอดี้ที่อายุ 21, 28 และ 35 วัน ลดลงต่ำกว่าโดยเฉลี่ย $2^{1.1}$ ดังนั้น เมื่อให้เชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิลทำให้ตัวไก่แสดงอาการป่วยและตายทั้งหมด ภายในวันที่ 4-9 หลังได้รับเชื้อ และเมื่อผ่าซากพบรอยโรคนิวคาสเซิลที่เด่นชัด ขณะที่กลุ่มได้รับวัคซีน จะมีความคุ้มโรคหรือความต้านทานโรคระหว่าง 89.29-100% เพราะร่างกายมีระดับภูมิคุ้มกันโรคจากการได้รับวัคซีนเชื้อเป็น หรือเชื้อเป็นร่วมกับเชื้อตาย ซึ่งถือว่าการป้องกันโรคได้ผล เช่นเดียวกับศึกษาของ สมศักดิ์ และจิโรจ (2536) ; Bennejean และคณะ (1978) ; Meulemans, (1988) ; Paulillo และคณะ (1987) ส่วนระดับแอนติบอดี้ของกลุ่มที่ได้รับวัคซีนนั้น สูงขึ้นเล็กน้อย ซึ่งต่างจาก Box and Furminger (1975) ; Alexander (1991) ได้รายงานไว้ว่าการให้วัคซีนเชื้อเป็นและตายจะให้ระดับแอนติบอดี้สูงกว่า 2^{8} ขึ้นไป ดังนั้น จึงมักแนะนำให้ใช้กันทั่วไป (Beard and Brugh, 1975) อย่างไรก็ตาม ภูมิคุ้มกันโรคที่เกิดขึ้นจากการให้วัคซีนอาจได้รับมาจาก ภูมิคุ้มกันจากเซลล์ (cellular immunity) ด้วย (Timms and Alexander, 1977 ; Easterday, 1981) ส่วนน้ำหนักตัวไก่เฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักตัวไก่ที่เพิ่มขึ้นต่อกลุ่ม อัตราการแลกเนื้อ และผลตอบแทนที่ได้รับ ภายหลังการได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิลของกลุ่มที่ได้รับวัคซีนนั้น กลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายของบริษัทเมื่ออายุ 1 วัน และ 10 วัน (กลุ่ม 2 และ 4 ตามลำดับ) ดีกว่ากลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น (กลุ่ม 1 และ 3 ตามลำดับ) เพราะมีจำนวนไก่ป่วยและตายมากในกลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น อาจเนื่องจาก ส่วนผสมหรือเทคนิคหรือสูตรในการเตรียมวัคซีนเชื้อตายของบริษัทมีความแตกต่างกับวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น ดังนั้น จึงอาจจะทำให้มีประสิทธิภาพที่แตกต่างกัน ดังเช่นมีการศึกษาถึงส่วนผสมต่าง ๆ ของวัคซีนเชื้อตายว่ามีประสิทธิภาพต่างกันอย่างไร (Stone และคณะ, 1978; Brugh และคณะ, 1983; Stone และคณะ, 1983; Stone and Xie, 1990) และเมื่อพิจารณาถึงโปรแกรมการให้วัคซีนเมื่ออายุ 1 และ 10 วันของไก่ที่ได้รับวัคซีนทั้ง 2 ชนิดนี้ พบว่ากลุ่ม 2 มีแนวโน้มว่าน้ำหนักตัวไก่ อัตราการแลกเนื้อ และผลตอบแทนที่ได้รับดีกว่ากลุ่ม 4 เช่นเดียวกับ กลุ่ม 3 มีแนวโน้มว่าดีกว่า กลุ่ม 1 อย่างไรก็ตาม น้ำหนักตัวไก่เฉลี่ย ช่วงอายุ 35-45 วัน

ของไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิลนั้น กลุ่ม 5 ซึ่งเป็นกลุ่มที่ไม่ได้ให้วัคซีน และกลุ่มที่ได้รับวัคซีน เมื่ออายุ 10 วัน จะมีน้ำหนักตัวไก่เฉลี่ยมากกว่ากลุ่มที่ได้รับวัคซีนเมื่ออายุ 1 วัน อาจเป็นไปได้ว่า การให้วัคซีนเมื่ออายุ 1 วัน นั้น ลูกไก่ยังมีร่างกายที่ไม่แข็งแรง หรือการปรับร่างกายให้เข้ากับสภาพแวดล้อมยังไม่ดีพอ จึงอาจจะมีผลต่อความสม่ำเสมอของการเจริญเติบโตของตัวไก่ (North and Bell, 1990) ซึ่งจะทำให้ระยะเวลาการเลี้ยงไก่เพื่อให้ได้น้ำหนักตามมาตรฐานยาวนานขึ้น

จากผลการทดลองขั้นตอนศึกษาอายุการเก็บรักษาวัคซีน (Shelf life) พบว่า ความหนืดสัมพัทธ์นั้นลดน้อยลงอย่างไม่มีนัยสำคัญกับวัคซีนเชื้อตายเมื่อ 6 เดือนแรก (ตารางที่ 18 และ 19) แต่ความคงตัวของวัคซีนเชื้อตายนั้นยังคงไม่มีการเปลี่ยนแปลง ส่วนการให้วัคซีนเชื้อตายแก่ตัวไก่นั้น พบว่า ระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิลของไก่กลุ่ม 2 จะสูงกว่ากลุ่ม 1 อย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 เป็นต้นมา อาจเนื่องจาก กลุ่ม 2 ซึ่งได้รับวัคซีนเชื้อตายของบริษัทที่มีส่วนผสมหรือเทคนิค หรือสูตรในการเตรียมวัคซีนเชื้อตายที่ดีกว่าวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น จึงอาจจะทำให้มีประสิทธิภาพที่แตกต่างกัน ดังได้กล่าวอ้างมาแล้วในตอนต้น เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาการเก็บวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้นเอง เป็นระยะเวลา 6 เดือน จะมีระดับแอนติบอดี้ต่อโรคนิวคาสเซิลต่ำลง อย่างมีนัยสำคัญกับไก่ที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้นทันที ส่วนวัคซีนเชื้อตายของบริษัท เมื่อพิจารณาโดยรวมแล้ว จะไม่มีความแตกต่างกันอย่างเด่นชัด อย่างไรก็ตาม จะเห็นว่าการเก็บวัคซีนเชื้อตายทั้งของที่เตรียมขึ้นเองและ ของบริษัทจะทำให้ระยะเวลาที่ตัวไก่สร้างแอนติบอดี้นานออกไป อาจจะเนื่องจากตัวเชื้อไวรัสนิวคาสเซิลที่ตายแล้วนี้เกิดการสูญเสียความเป็นแอนติเจน (antigenicity) ไปบ้างจึงกระตุ้นการสร้างแอนติบอดี้ได้ต่ำลง และระยะเวลาการสร้างนานออกไป สำหรับความแตกต่างของระดับแอนติบอดี้ที่ตรวจได้ในครั้งที่ 2 โดยเฉพาะจากกลุ่มที่ได้รับวัคซีนของบริษัท พบว่าค่อนข้างสูงในสัปดาห์ที่ 4 และ 5 อาจเนื่องมาจากจำนวนไก่ที่ใช้ทดลองน้อยเกินไป และอีกประการหนึ่งผลด้านแอนติบอดี้ก็ไม่ใช่ข้อสรุปถึงประสิทธิภาพของวัคซีน จึงต้องมีการทดสอบด้านความคุ้มโรคประกอบด้วย ซึ่งพบว่า ความคุ้มโรคหรือความต้านทานโรค ภายหลังการได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิลของกลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายนั้น ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แม้ว่าวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้น จะมีระดับแอนติบอดี้ต่ำกว่า แสดงว่าอาจจะมีภูมิคุ้มกันชนิดอื่นที่ช่วยป้องกัน หรือทำให้ตัวไก่มีความคุ้มโรคจากการให้เชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิล ดังได้กล่าวอ้างมาแล้วในตอนต้น จากผล

การทดสอบโดยภาพรวมแล้วสรุปได้ว่า วัคซีนทั้ง 2 ชนิดที่นำมาเปรียบเทียบสามารถเก็บรักษาไว้ที่ 4-8 °ซ ได้นานอย่างน้อย 6 เดือน

ข้อสรุป

วัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลเชื้อตายเสตรนแรงปานกลาง จำนวนไวรัสมาก ได้ถูกคัดเลือกให้นำมาทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับวัคซีนเชื้อตายของบริษัท โดยตัวไก่กระทงนั้น จะได้รับพร้อมกับวัคซีนเชื้อเป็นเสตรน B_1 เมื่ออายุ 1 และ 10 วัน พบว่าวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้นเองที่ให้พร้อมกับวัคซีนเชื้อเป็นเสตรน B_1 เมื่ออายุ 10 วัน จะให้ผลความคุ้มโรค อัตราการแลกเนื้อ และผลตอบแทนที่ได้รับ ภายหลังจากการได้รับเชื้อพิษไวรัสนิวคาสเซิลดีกว่าเมื่ออายุ 1 วัน ขณะที่วัคซีนเชื้อตายของบริษัทที่ให้พร้อมกับวัคซีนเชื้อเป็น เสตรน B_1 เมื่ออายุ 1 วัน มีแนวโน้มว่าดีกว่า เมื่ออายุ 10 วัน

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาในครั้งนี้ ได้มีการเปลี่ยนแปลงรายละเอียดของการทดลองในบางขั้นตอน เพื่อให้เหมาะสมกับการนำไปใช้จริงในเชิงอุตสาหกรรม แต่ยังคงไว้ซึ่งวัตถุประสงค์เดิมของงานวิจัยนี้ ซึ่งผลการวิจัยครั้งนี้ ถือได้ว่าเป็นการทดลองเพื่อผลิตวัคซีนเชื้อตายจากไวรัสเสตรนต่างๆ เพื่อป้องกันโรคนิวคาสเซิลเป็นครั้งแรกในประเทศไทย ขั้นตอนต่างๆ ในการเตรียมไวรัสและการเตรียมวัคซีน ตลอดจนสื่อต่างๆ ที่เป็นส่วนประกอบของวัคซีน จำเป็นต้องมีการพัฒนาต่อไป เพื่อนำไปสู่การผลิตวัคซีนที่มีประสิทธิภาพสูงเพื่อใช้เองในประเทศในอนาคต

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง (References)

กรมปศุสัตว์ ฝ่ายเศรษฐกิจการปศุสัตว์ กองแผนงาน. เมษายน 2537. หนังสือสถานการณ์เศรษฐกิจการปศุสัตว์ และวัตถุดิบอาหารสัตว์ ปี 2536

จิโรจ ศศิปรียจันทร์. 2535. คู่มือโรคไก่ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 49 หน้า.

สมศักดิ์ ภัคภิญโญ และจิโรจ ศศิปรียจันทร์. 2536. ประสิทธิภาพของวัคซีนเชื้อเป็นนิวคาสเซิลลาโซต้า เมื่อให้พร้อมกับวัคซีนเชื้อตายชนิดต่าง ๆ เวชชสารสัตวแพทย์. 23(1) : 35-47.

หนังสือพิมพ์บ้านเมือง. 2537. ปศุสัตว์สนทนา ประจำวันที่ 13 มิถุนายน 2537 หน้า 21.

Aitken, I.D. and Survashe, B.D. 1974. Observations on the serological and dermal responses of turkeys to a single subcutaneous inoculation of inactivated Newcastle disease vaccine in mineral oil adjuvant. Avian Pathology. 3(3) : 211-222.

Aini, I. 1990. The control of Newcastle disease by vaccination-A review. Journal of Veterinary Association Malaysia. 2(1) : 1-13.

Alexander, D.J. 1991. Newcastle disease and other paramyxovirus infections. In : Disease of Poultry. 9th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, U.S.A. p : 496-519.

Alexander, D.J. 1995. Newcastle disease in countries of the European Union. Avian Pathology. 24(1) : 3-10.

Appleton, G.S. and Hitchner, S.B. 1963. A comparison of the Immune Response of Chickens Vaccinated with Formalin- and Beta-Propiolactone-Inactivated Newcastle Disease Vaccines. Am J Vet Res. 24(101) : 827-831.

Awan, M.A., Otte, M.J. and James, A.D. 1994. The epidemiology of Newcastle disease in rural poultry : a review. Avian Pathology. 23 : 405-423.

Beard, C.W. and Brugh, M. Jr. 1975. Immunity to Newcastle Disease. Am J Vet Res. 36(4) : 509-512.

Bennejean, G., Guittet, M., Picault, J.P., Bouquet, J.F., Devaux, B., Gaudry, D. and Moreau, Y. 1978. Vaccination of one day-old chick against Newcastle disease using inactivated oil adjuvant vaccine and/or live vaccine. Avian Pathology. 7(1) : 13-27.

Box, P.G. and Furminger, I.G.S. 1975. Newcastle disease antibody levels in chickens after vaccination with oil emulsion adjuvant killed vaccine. Vet. Rec. 96(5) : 108-111.

British Pharmacopoeia (Veterinary). 1993. Newcastle Disease Vaccine, Inactivated. Her Majesty Stationary Office, London. p : 134-135.

Brugh, M., Stone, H.D. and Lupton, H.W. 1983. Comparison of inactivated Newcastle disease viral vaccines containing different emulsion adjuvants. Am J Vet Res. 44(1) : 72-75.

Cessi, D. and Nardelli, H. 1974. Vaccination against Newcastle disease : efficacy of an oil emulsion vaccine. Avian Pathology. 3(4) : 247-253.

Chen, J. D., Yong, H. P., Yong, Y., Li, J. S. and Zhu, G. Z. 1993. Study of an inactivated oil-emulsion vaccine against Newcastle disease in pigeons. Cited by Vet. Bulletin 64(6) 1994 (abst. 3509).

Easterday, B.C. 1981. Immunity to Newcastle disease and avian influenza In : Avian Immunity. M.E. Rose, L.N. Payne and B.M. Freeman (eds.). British Poultry Science Limited, Edinburgh, England. p : 179-185.

Hassan, N., Khashaba, E., EL-Bordiny, F., EL-Asily. S., EL-Eblary, E., Washba, S. and Barhoma, N. 1992. Trials for production of aluminium hydroxide gel and oily adjuvant inactivated Newcastle disease vaccines, in comparison with commercial imported oily vaccine. Cited by Vet.Bulletin 62(11) 1992. (abst 6855).

Hofacre, C.L., Villegas, P, and Page, R.K. 1986. Newcastle disease vaccination of broilers with high and low titered commercial vaccines. Avian Diseases. 30 (3) : 623-627.

Hsiung, G.D. 1982. Hemagglutination and hemagglutination inhibition test. In : Diagnosis Virology. 3rd ed. Yale University Press, New Haven and London. p : 35-41.

Meulemans, G. 1988. Control by Vaccination In : Newcastle Disease D.J. Alexander (ed.). Kluwer Academic Publishers, London. p : 318-332.

Mitrivic, M., Matischeck, P.H. and Lynch, L.C. 1962. Studies on local tissue reaction and adjuvant effect on the antigenicity of fowl cholera emulsified bacterins in chickens. Poult Sci. 41(1) : 87-91.

Mutalib, A. and Boyle, C.R. 1994. Influence of Site of Inoculation of Inactivated Vaccines on the Immune Response in Chickens. Avian Diseases. 38(4) : 857-860.

North, M.O. and Bell, D.D. 1990. Developing Immunity In : Commercial Chicken Production Manual. 4th ed. An avi Book, NewYork, USA. p : 753-766.

Paulillo, A.C., Pinto, A.A., Berchieri, A. Jr., Ariki, J., Salcedo, P.O., Kronka, S.N., Richitzenhain, L.J., Nakaghi, L.S.O. and Quintana, J.L. 1987. Newcastle disease : Immune response to live vaccine (La Sota strain) and inactivated vaccine (oil-based) in broiler chicks carrying maternal antibodies. Ars-Veterinaria. 3(2) : 235-242. Cited by CAB Abstracts 1987-1989.

Pleg, B.A., Samina, I. and Brenner, J. 1993. Immunization of chickens with live Newcastle disease vaccine adjuvated with oil. Vaccine. 11(10) : 1074-1076.

Senne, D.A. 1989. Virus propagation in Embryonating Eggs In : A laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens. 3rd ed. H.G. Purchase, L.H. Arp, C.H. Domermuth and J.E. Pearson (eds.). Kendall/Hunt Publishing Company, Iowa, USA. p : 176-181.

Stone, H.D., Brugh, M., Hopkins, S.R., Yoder, H.W. and Beard, C.W. 1978. Preparation of Inactivated Oil-Emulsion Vaccines with Avian Viral or Mycoplasma Antigens. Avian Diseases. 22(4) : 666-674.

Stone, H.D., Brugh, M. and Beard, C.W. 1983. Influence of formulation on the efficacy of experimental oil-emulsion Newcastle disease vaccines. Avian Diseases. 27(3) : 688-697.

Stone, H.D. 1989. Efficacy of Oil-Emulsion Vaccines Prepared with Pigeon Paramyxovirus-1, Ulster and La Sota Newcastle Disease Viruses. Avian Diseases. 33(1) : 157-162.

Stone, H.D. and Xie, Z. 1990. Efficacy of Experimental Newcastle Disease Water-in-Oil Oil-Emulsion Vaccines Formulated from Squalane and Squalene. Avian Diseases. 34(4) : 979-983.

Stone, H.D. 1991. The Preparation and Efficacy of Manually Emulsified Newcastle Disease Oil-Emulsion Vaccines. Avian Diseases. 35(1) : 8-16.

Timms, L. and Alexander, D.J. 1977. Cell-mediated Immune Response of Chickens to Newcastle Disease Vaccines. Avian Pathology. 6(1) : 51-59.

Whiteman, C.E. and Bickford, A.A. 1983. Newcastle disease. In : Avian Disease Manual. 2nd ed. American Association of Avian Pathologists, Kennett Square, Pennsylvania, U.S.A. p : 50-67.

Winterfield, R.W., Dhillon, A.S. and Alby, L.J. 1980. Vaccination of chickens against Newcastle disease with live and inactivated Newcastle disease viurs. Poult Sci. 59(2) : 240-246.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย