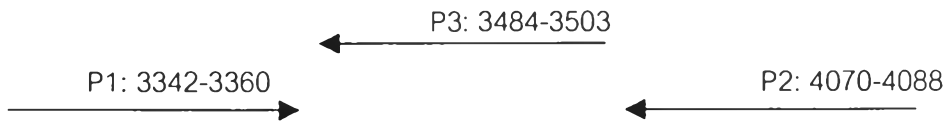
บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

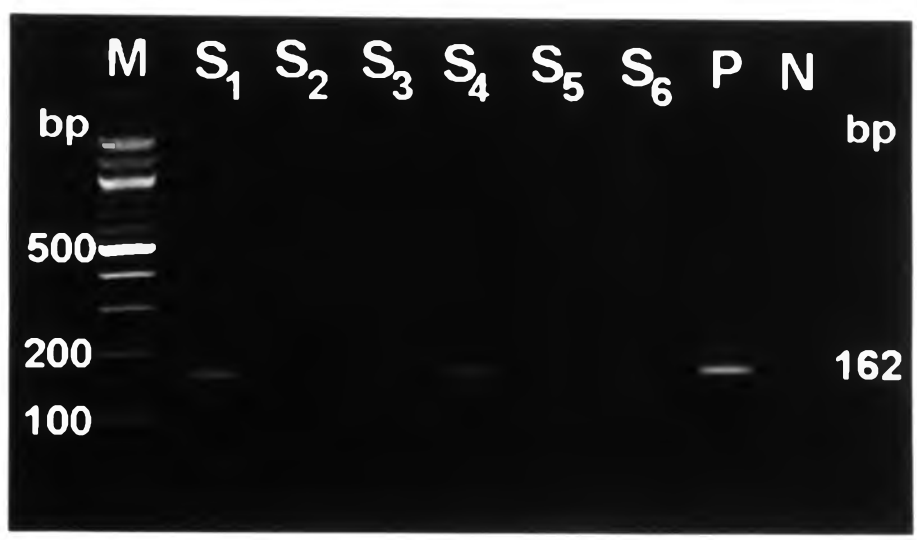
การตรวจหาเชื้อ CPV โดยวิธี seminested Polymerase Chain Reaction

การตรวจหาเชื้อ CPV โดยวิธี seminested PCR ในการทำปฏิกิริยา PCR รอบแรกใช้ primers P1 และ P2 และ ปฏิกิริยา PCR รอบสองใช้ primers P1 และ P3 ดังแสดงในรูปที่ 9



รูปที่ 9 ตำแหน่ง primers ที่ใช้ในการตรวจหาเชื้อ CPV
primers คู่นอก ได้แก่ P1 และ P2 ส่วน primers คู่ใน ได้แก่ P1 และ P3

ขนาดของผลิตภัณฑ์หลังจาก seminested PCR ได้แก่ 162 เบส ดังแสดงในรูปที่ 10



รูปที่ 10 ผลของการตรวจหา CPV DNA โดยวิธี seminested PCR
M = Marker 100 เบส ; S1-6 = ตัวอย่างที่ 1-6 ; N = Negative control ;
P = Positive control

ผลของการตรวจหาเชื้อ CPV โดยวิธี seminested PCR ในตัวอย่างอุจจาระสุนัขที่มีอาการท้องเสียและอาเจียนจำนวน 55 ตัวอย่าง ให้ผลบวก 34 ตัวอย่าง และ ในกลุ่มเปรียบเทียบ คือ สุนัขปกติทั้งหมด 55 ตัวอย่างตรวจไม่พบเชื้อ CPV รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 3

ในตัวอย่างที่ให้ผลลบจากการทำ seminested PCR หลังจากการตรวจหาสารยับยั้งปฏิกิริยา PCR (inhibitory substances) ด้วยการทำ seminested PCR อีกครั้ง ปรากฏว่าไม่พบสารยับยั้งปฏิกิริยา PCR ในทุกตัวอย่างอุจจาระหลังจากทำการสกัดดีเอ็นเอด้วยกรด-ด่าง

การตรวจหาปริมาณดีเอ็นเอในตัวอย่างอุจจาระหลังจากทำการสกัดดีเอ็นเอด้วยกรด-ด่าง โดยวัดการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่นแสง 260 นาโนเมตร โดยทำการวัดในกลุ่มตัวอย่างที่ให้ผลบวก (positive), ผลลบ (negative) และกลุ่มควบคุม (control) จำนวน 31, 20 และ 26 ตัวอย่างตามลำดับ ปริมาณดีเอ็นเอเฉลี่ยที่วัดได้ในแต่ละกลุ่มมีดังนี้

กลุ่มสุนัขป่วยที่ให้ผลบวก 206.8 (41.25-377.5) $\pm$ 110.5

กลุ่มสุนัขป่วยที่ให้ผลลบ 190.8 (27.5-442.5) $\pm$ 111.2

กลุ่มสุนัขปกติ 86.49 (27.5-183.75)$\pm$ 37.2

ปริมาณดีเอ็นเอที่วัดได้มีหน่วยเป็น นาโนกรัมต่อไมโครลิตร

ตารางที่ 3 ผลของการตรวจหา Canine Parvoviral DNA โดยวิธี seminested PCR

	Canine Parvoviral DNA		
	จำนวนตัวอย่าง	ผลบวก	เปอร์เซ็นต์ผลบวก
กลุ่มศึกษา	55	34	61.8
กลุ่มเปรียบเทียบ	55	0	0

ผลของการตรวจหาเชื้อ CPV โดยวิธี seminested PCR ในตัวอย่างอุจจาระสุนัขที่มีอาการท้องเสียและอาเจียนจำนวน 55 ตัวอย่าง ให้ผลบวก 34 ตัวอย่าง จำแนกตามเพศ อายุ และ พันธุ์ รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 4, 5 และ 6 ตามลำดับ

ตารางที่ 4 ผลของการตรวจหา Canine Parvoviral DNA โดยวิธี seminested PCR จำแนกตามเพศ

	จำนวนตัวอย่าง	ผลบวก	เปอร์เซ็นต์ผลบวก
เพศผู้	29	19	65.5
เพศเมีย	20	12	60
ไม่ระบุเพศ	6	3	50

Chi-Squares = 0.01 p-values > 0.05

ตารางที่ 5 ผลของการตรวจหา Canine Parvoviral DNA โดยวิธี seminested PCR จำแนกตามอายุ

	จำนวนตัวอย่าง	ผลบวก	เปอร์เซ็นต์ผลบวก
1-2 เดือน	8	5	62.5
3-6 เดือน	30	22	73.3
>6 เดือน	4	0	0
ไม่ระบุอายุ	13	7	53.8

ตารางที่ 6 ผลของการตรวจหา Canine Parvoviral DNA โดยวิธี seminested PCR จำแนกตามพันธุ์

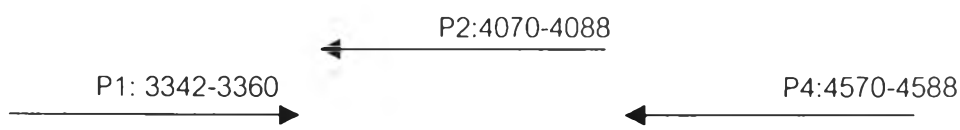
	จำนวนตัวอย่าง	ผลบวก	เปอร์เซ็นต์ผลบวก
พันธุ์ผสม	27	16	59.3
พันธุ์แท้	17	12	70.6
ไม่ระบุพันธุ์	11	6	54.5

พันธุ์แท้ในการศึกษานี้ ได้แก่ พุดเดิ้ล ดัลเมเชี่ยน ชิสุ และมิเนเจอร์

Chi-Squares = 0.01 p-values >0.05

การแยกชนิดของเชื้อ CPV โดยวิธี seminested Polymerase Chain Reaction และ Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) Analysis

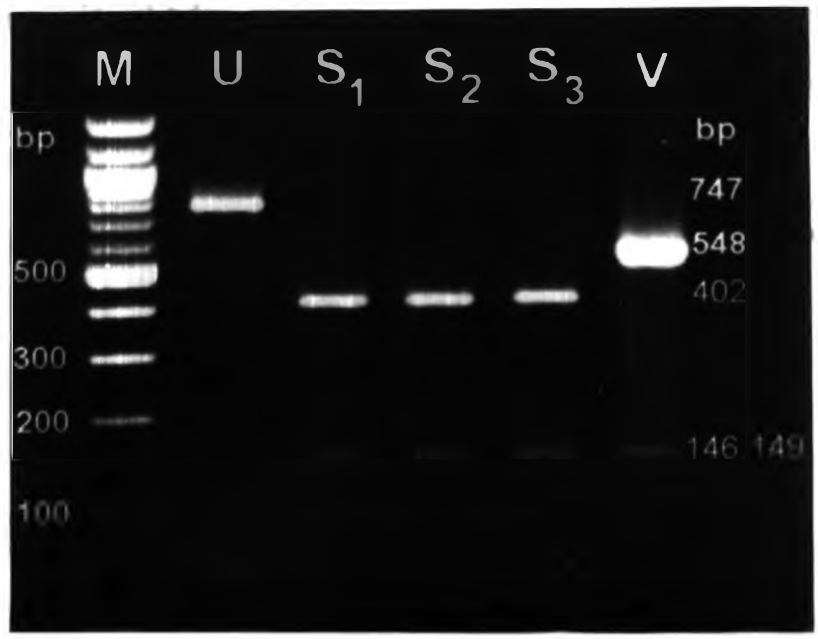
การตรวจหาเชื้อ CPVโดยวิธี seminested PCR ในการทำปฏิกิริยา PCR รอบแรก ใช้ primers P1 และ P4 และ ปฏิกิริยา PCR รอบสองใช้ primers P1 และ P2 ดังแสดงในรูปที่ 11



รูปที่ 11 ตำแหน่ง primers ที่ใช้ในการแยกชนิดเชื้อ CPV
primers คู่นอก ได้แก่ P1 และ P4 ส่วน primers คู่ใน ได้แก่ P1 และ P2

ขนาดของผลิตภัณฑ์ PCR รอบแรก ได้แก่ 1,247 เบส และ ขนาดของผลิตภัณฑ์ PCR รอบสอง ได้แก่ 747 เบส หลังจากนั้นนำผลิตภัณฑ์จาก PCR รอบลองไปตัดด้วยเอนไซม์ *Rsa* I และ *Hph* I ผลที่ได้แสดงในรูปที่ 12 และ 13 ตามลำดับ

พบว่า รูปแบบของการตัดด้วยเอนไซม์ *Rsa* I และ *Hph* I ของเชื้อ CPV ที่ตรวจพบในตัวอย่างอุจจาระจำนวน 34 ตัวอย่างและในวัคซีน ดูเป็นรูปแบบเดียวในทุกตัวอย่างอุจจาระและมีความแตกต่างจากรูปแบบของเชื้อ CPV ที่พบได้ในวัคซีน



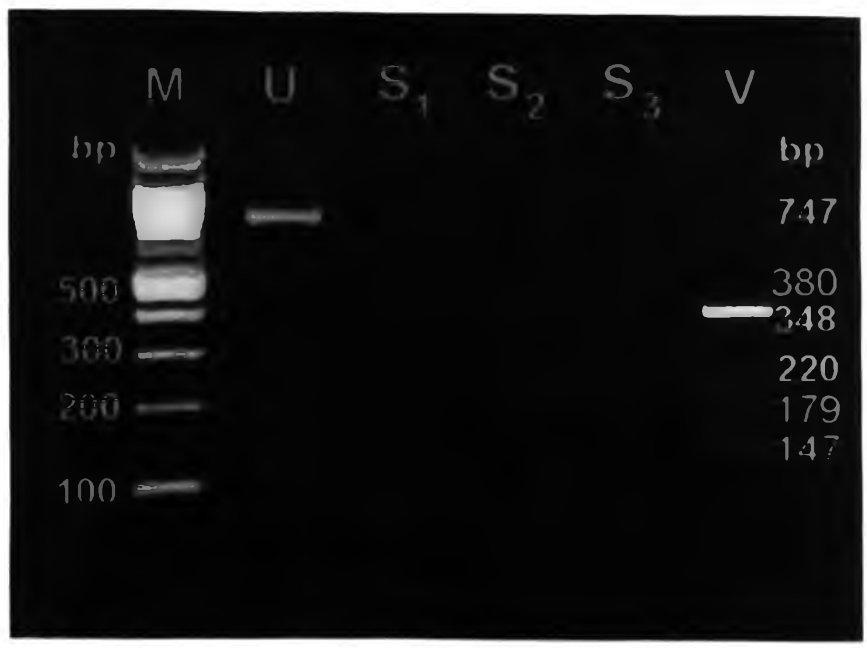
รูปที่ 12 รูปแบบ RFLP ของ CPV Products ที่ถูกตัดโดยเอนไซม์ *Rsa* I

M = Marker 100 เบส ;

U = ขนาดของผลิตภัณฑ์ PCR รอบสองก่อนตัดด้วยเอนไซม์

S1-3 = ขนาดของผลิตภัณฑ์ PCR รอบสองของตัวอย่างหลังตัดด้วยเอนไซม์

V = ขนาดของผลิตภัณฑ์ PCR รอบสองของวัคซีนหลังตัดด้วยเอนไซม์



รูปที่ 13 รูปแบบ RFLP ของ CPV Products ที่ถูกตัดโดยเอนไซม์ *Hph* I

M = Marker 100 เบส ;

U = ขนาดของผลิตภัณฑ์ PCR รอบสองก่อนตัดด้วยเอนไซม์

S1-3 = ขนาดของผลิตภัณฑ์ PCR รอบสองของตัวอย่างหลังตัดด้วยเอนไซม์

V = ขนาดของผลิตภัณฑ์ PCR รอบสองของวัคซีนหลังตัดด้วยเอนไซม์