

# The Thai Journal of Veterinary Medicine

Volume 20  
Issue 4 December, 1990

Article 1

12-1-1990

## การศึกษาเชิงเปรียบเทียบวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์ชนิดต่าง ๆ : III ผลการ ตรวจสอบวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์ที่ซื้อตาย ชนิดน้ำมัน 4 ชนิด

จารุณี สาตรา

วรรณวิมล ทองคง

สุวิจิต คงทน

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm>



Part of the [Veterinary Medicine Commons](#)

### Recommended Citation

สาตรา, จารุณี; ทองคง, วรรณวิมล; and คงทน, สุวิจิต (1990) "การศึกษาเชิงเปรียบเทียบวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์ชนิดต่าง ๆ : III ผลการตรวจสอบวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์ที่ซื้อตาย ชนิดน้ำมัน 4 ชนิด," *The Thai Journal of Veterinary Medicine*: Vol. 20: Iss. 4, Article 1.

DOI: <https://doi.org/10.56808/2985-1130.1557>

Available at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm/vol20/iss4/1>

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in The Thai Journal of Veterinary Medicine by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact [ChulaDC@car.chula.ac.th](mailto:ChulaDC@car.chula.ac.th).

**การศึกษาเชิงเปรียบเทียบวัคซีนป้องกันโรค  
อหิวาต์ชนิดต่าง ๆ : III ผลการตรวจสอบ  
วัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์เชื้อตาย  
ชนิดน้ำมัน 4 ชนิด**

จารย์      ศาสตรา<sup>1</sup>  
วรรณวิมล    ทองคง<sup>1</sup>  
สุนิจิต      คงทน<sup>1</sup>

**บทย่อ**

ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจสอบคุณภาพวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์เชื้อตายชนิดน้ำมัน 4 ชนิด ได้แก่ สับยูนิตวัคซีนผลิตจากเชื้อท้องที่สเตรนนครปฐมหนึ่งตัวอย่าง สับยูนิตวัคซีนสเตรน Kojnock นำเข้าจากต่างประเทศหนึ่งตัวอย่าง วัคซีนเชื้อตายสเตรน DSV-35 นำเข้าจากต่างประเทศหนึ่งตัวอย่าง และวัคซีนเชื้อตายสเตรน Yaun-Lin นำเข้าจากต่างประเทศหนึ่งตัวอย่าง วัคซีนทั้ง 4 ชนิดผ่านการตรวจสอบความปราศจากเชื้อแบคทีเรียหรือราปนเปื้อน วัคซีน 3 ชนิดแรกมีสภาพความคงตัวของออสโลมีลชิ้นดีกว่าวัคซีนเชื้อตายสเตรน Yaun-Lin วัคซีนทั้ง 4 ชนิดมีความปลอดภัยต่อกระต่ายและสุกรและสามารถกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันต่อไวรัสโรคอหิวาต์สเตรนนครปฐม โดยวัคซีนเชื้อตายสเตรน DSV-35 สามารถกระตุ้นระดับนิวตรอลไอซึ่งแอนติบอดีในกระต่ายได้สูงที่สุด ในขณะที่วัคซีนอีก 3 ชนิดสามารถกระตุ้นระดับนิวตรอลไอซึ่งแอนติบอดีได้ใกล้เคียงกัน เมื่อเปรียบเทียบค่า Protective dose-50 ( $PD_{50}$ ) วัคซีนเชื้อตายสเตรน DSV-35 และวัคซีนเชื้อตายสเตรน Yaun-Lin มีประสิทธิภาพให้ความคุ้มโรคในกระต่ายได้สูงกว่าสับยูนิตวัคซีนทั้ง 2 ชนิด วัคซีนเชื้อตายสเตรน DSV-35 สามารถกระตุ้นระดับนิวตรอลไอซึ่งแอนติบอดีในสุกรได้สูงกว่าวัคซีนอีก 3 ชนิด สำหรับสับยูนิตวัคซีนที่ผลิตจากเชื้อท้องที่สเตรนนครปฐมสามารถกระตุ้นระดับนิวตรอลไอซึ่งแอนติบอดีในสุกรได้สูงกว่าสับยูนิตวัคซีนสเตรน Kojnock ซึ่งนำเข้าจากต่างประเทศ การฉีดวัคซีนสองครั้งสามารถกระตุ้นระดับนิวตรอลไอซึ่งแอนติบอดีได้สูงกว่าการฉีดวัคซีนเพียงครั้งเดียว สุกรที่ฉีดวัคซีนทุกตัวมีความต้านทานต่อการฉีดพิษกับด้วยไวรัสโรคอหิวาต์สเตรนนครปฐมในขนาด  $10^{5.5}$  TCID<sub>50</sub> ในขณะที่สุกรในกลุ่มควบคุมแสดงอาการเป็นโรคอย่างเฉียบพลันหลังฉีดพิษกับ วัคซีนทั้ง 4 ชนิดผ่านการทดสอบคุณภาพ  
คำสำคัญ : ผลตรวจสอบ, วัคซีนอหิวาต์เชื้อตาย, ชนิดน้ำมัน

1 ศูนย์ควบคุมคุณภาพชีวภัณฑ์ กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

## บทนำ

วัคซีนป้องกันโรคคอกแซกซ์เชื้อเป็นและเชื้อตายสามารถป้องกันการเป็นโรคเนื่องจากการติดเชื้อไวรัส แต่ไม่สามารถป้องกันการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสในตัวสัตว์และการขับออกของเชื้อไวรัส (Cradell et al. 1979 และ Gutekunst and Pirtle 1979) ดังนั้นสุกรที่ฉีดวัคซีนเมื่อติดเชื้อไวรัส ถึงแม้จะไม่แสดงอาการเป็นโรคแต่ยังคงสามารถแพร่กระจายเชื้อไวรัสให้แก่สัตว์ตัวอื่น และเป็นตัวแอมพลูโรค (Lupton and Reed (1980) ได้รายงานการพัฒนาสับยูนิตวัคซีนป้องกันโรคโพรงจมูกและหลอดลมอักเสบติดต่อในโค ซึ่งเกิดจากเชื้อไวรัสเฮอร์ปีส์และสามารถป้องกันการเพิ่มจำนวนและการขับออกของเชื้อไวรัสชนิดพิษภัย สำหรับสับยูนิตวัคซีนป้องกันโรคคอกแซกซ์ ถูกเตรียมขึ้นโดยการสกัดโปรตีนแอนติเจนด้วย Nonnidel P - 40 ซึ่งเป็น nonionic detergent และทำลายความรุนแรงที่อาจเหลืออยู่ด้วยน้ำยาฟอร์มาลินแล้วผสมกับฟรอสต์อินคอมพลีทแอดจูแวนท์ (Turner et al., 1981; Maes and Schutz 1983) สุกรที่ฉีดวัคซีนสับยูนิต หลังจากฉีดพิษภัยไม่พบการขับออกของเชื้อไวรัส (Maes and Schutz 1983) การทดลองครั้งนี้เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจสอบคุณภาพของวัคซีนป้องกันโรคคอกแซกซ์เชื้อตายชนิดน้ำมัน 4 ชนิด เป็น

สับยูนิตวัคซีน 2 ชนิด และวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมจากไวรัสซีพีเอฟเอ็น 2 ชนิด

## อุปกรณ์และวิธีการ

## สัตว์ทดลอง

- ใช้กระต่ายอายุประมาณ 4 เดือน ไม่มีแอนติบอดีต่อไวรัสโรคคอกแซกซ์ แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 5 ตัว และแยกเลี้ยงในแต่ละกรง

- ใช้สุกรลูกผสม (Large White cross Landrace) อายุประมาณ 3 เดือน จากฟาร์มที่ไม่มีการระบาดของโรคคอกแซกซ์ และไม่ได้ฉีดวัคซีนป้องกันโรคคอกแซกซ์ สุกรทดลองทุกตัวไม่มีแอนติบอดีต่อไวรัสโรคคอกแซกซ์ แบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ๆ ละ 3 ตัว และเลี้ยงแยกในแต่ละคอก

## วัคซีน

- ใช้วัคซีนป้องกันโรคคอกแซกซ์เชื้อตาย 4 ชนิด ได้แก่

1. สับยูนิตวัคซีนผลิตตามวิธีของ Turner et al. (1981) จากเชื้อท้องที่สเตรณครปฐม โดยเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสในเซลล์ BHK-21 หลังจาก incubate ที่ 37° C นาน 24 ชั่วโมง และเกิด Cytopathic effect (CPE) 100 % ชูดเซลล์ออกจากผิวแก้ว ล้างด้วย Phosphate buffered saline (PBS) 2 ครั้ง ทำให้เซลล์แตกด้วยการสั่นสะเทือนของคลื่นเสียงอัลตรา (ultrasonic

vibration) แล้วปั่นกากเซลล์ออกด้วย เซนตริฟูกที่ความเร็ว 3,000 รอบ 30 นาที ใช้ 1 % Nonidet ซึ่งเป็น non-ionic detergent สกัดส่วนโปรตีนแอนติเจน หรือ nucleocapsid ออกจาก virus envelope เติม 0.1% Binary Ethylene Imine (BEI) ซึ่งจะไปทำลาย infectivity ของเชื้อไวรัสที่อาจเหลืออยู่ และ host cell DNA แล้วนำมาผสมกับออสล์แอคจูแวนท์ วัดขึ้นขนาดหนึ่งโดสเท่ากับ 2 ซี.ซี.

2. สับยูนิตวัคซีนสเตรน Kojnock นำเข้าจากต่างประเทศ ประกอบด้วย สับยูนิตของเชื้อไวรัสโรคอเจสกีผสมกับออสล์แอคจูแวนท์ วัดขึ้นขนาดหนึ่งโดสเท่ากับ 2 ซี.ซี.

3. วัคซีนเชื้อตายสเตรน DSV-35 นำเข้าจากต่างประเทศ ประกอบด้วย เชื้อไวรัสโรคอเจสกีเพาะเลี้ยงในเซลล์ BHK เก็บเอาไวรัสที่สัณเฑาะขึ้นมาทำลาย infectivity ด้วย glutaraldehyde แล้วนำมาผสมกับออสล์แอคจูแวนท์ วัดขึ้นขนาดหนึ่งโดสเท่ากับ 2 ซี.ซี.

4. วัคซีนเชื้อตายสเตรน Yaun-Lin นำเข้าจากต่างประเทศ ประกอบด้วย เชื้อไวรัสโรคอเจสกีเพาะเลี้ยงในเซลล์ RK-13 เก็บเอาไวรัสที่สัณเฑาะขึ้นมาทำลาย infectivity ด้วย formaldehyde แล้วนำมาผสมกับออสล์แอคจูแวนท์ วัดขึ้นขนาดหนึ่งโดสเท่ากับ 2 ซี.ซี.

## ไวรัส

- เชื้อไวรัสที่ใช้ในการฉีดพิษกับและการตรวจหาระดับแอนติบอดีในซีรัมเป็นเชื้อไวรัสโรคอเจสกีสเตรนนครปฐมที่แยกได้จากสุกรป่วยในท้องที่ ผ่านในเซลล์ PK-15 3 passages เก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $-80^{\circ}\text{C}$  และผ่านต่อในเซลล์ BHK-21 เพื่อใช้ในการผลิตสับยูนิตวัคซีนตรวจสอบ virus identity โดยวิธีนิวตริไลเซชัน (ตามมาตรฐาน USDA) และตรวจสอบ virological purity โดยการนิวตริไลซ์ด้วย Aujeszky disease specific immunoserum แล้ว inoculate ลงในเซลล์ PK-15 สังเกต Cytopathic effect (CPE) และใช้เซลล์เม็ดเลือดแดงหนูตะเภาในการทำ hemadsorption test เพื่อดูว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อไวรัสตัวอื่นหรือไม่

## การตรวจสอบคุณภาพวัคซีน

1. การตรวจสอบความปราศจากเชื้อแบคทีเรียหรือราปนเปื้อนในวัคซีน ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ ได้แก่ thio-glycolate broth, soybean-casein broth และ trypticase soya broth ใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 20 ซี.ซี. inoculate ตัวอย่างวัคซีนลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด ๆ ละ 4 หลอด ๆ ละ 0.5 ซี.ซี. แยก incubate ที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  และ  $37^{\circ}\text{C}$  อย่างละ 2 หลอด ครบ 7 วันนำไป

inoculate เข้าในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเดิม และอ่านผลใน 7 วันต่อมา ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อขึ้นขึ้นแสดงว่ามีการปนเปื้อน แต่ถ้าใสแสดงว่าปราศจากการปนเปื้อนของเชื้อราหรือแบคทีเรียในวัคซีน

2. การตรวจสอบสภาพความคงตัวของวัคซีนชนิดน้ำมัน ใส่ตัวอย่างวัคซีนลงในหลอดเซนตริฟิวท์หลอดละ 10 ซี.ซี. แล้วนำไปปั่นที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาทีนาน 30 นาที หลังการปั่นวัคซีนที่มีสภาพความคงตัวดีจะต้องไม่มีชั้นน้ำแยกออกมาหรือมีชั้นน้ำแยกออกมาน้อยที่สุดและไม่เกิน 10 %

3. การตรวจสอบความปลอดภัยฉีดวัคซีนเข้ากล้ามเนื้อกระต่าย 5 ตัว ๆ ละ 2 ซี.ซี. สังเกตอาการนาน 14 วัน หลังฉีดวัคซีนจนครบ 14 วัน กระต่ายทุกตัวต้องไม่แสดงอาการป่วยหรือตาย และฉีดวัคซีนเข้าใต้หนังสุกร 2 ตัว ๆ ละ 2 โดส์ (4 ซี.ซี.) สังเกตอาการและวัดอุณหภูมิร่างกายนาน 14 วัน เมื่อครบ 14 วันฆ่าผ่าซากและตรวจดูบริเวณที่ฉีดสุกรทุกตัวต้องไม่แสดงอาการป่วยหรือตายหลังฉีดวัคซีนจนครบ 14 วัน

#### 4. การตรวจสอบความคุ้มโรค

4.1 การตรวจสอบความคุ้มโรคในกระต่าย เป็นการตรวจสอบเพื่อหาค่า Rabbit protective dose-50 (RPD<sub>50</sub>) ซึ่งสามารถป้องกันกระต่ายจากการฉีดพิษตับได้ 50 % โดยแบ่งกระต่ายออกเป็นกลุ่ม ๆ ละ 5 ตัว กลุ่มแรกฉีด

ขึ้นในขนาด 1 โดส์ ปริมาณ 2 ซี.ซี. ต่อตัว กลุ่มที่สองฉีดวัคซีนในขนาด 1/3 โดส์ ปริมาณ 0.66 ซี.ซี. ต่อตัวและกลุ่มที่สามฉีดวัคซีนในขนาด 1/9 โดส์ ปริมาณ 0.22 ซี.ซี. ต่อตัว ฉีดวัคซีน 2 ครั้งห่างกัน 2 สัปดาห์ กลุ่มที่สี่เป็นกลุ่มควบคุมไม่ได้ฉีดวัคซีนแต่ฉีดออกสลิมัลลินซึ่งไม่มีแอนติเจนให้แทน ปริมาณ 2 ซี.ซี. ต่อตัว หลังฉีดวัคซีนครั้งแรก 4 สัปดาห์ฉีดพิษตับด้วยเชื้อไวรัสโรคคอแจกส์สเตรนครปฐมในขนาด 100 rabbit lethal dose 50 (RLD<sub>50</sub>) (Satra, 1983) โดยการฉีดเข้าใต้หนังบริเวณด้านข้างของลำตัว สังเกตอาการนาน 14 วัน เจาะเลือดก่อนฉีดวัคซีน ก่อนฉีดพิษตับและหลังฉีดพิษตับ 7 วัน เพื่อนำไปตรวจหาระดับนิวตรอลแอนติบอดีต่อไวรัสโรคคอแจกส์

4.2 การตรวจสอบความคุ้มโรคในสุกร ใช้สุกรจำนวน 5 กลุ่ม ๆ ละ 3 ตัว ในการทดสอบความคุ้มโรคของวัคซีนทั้ง 4 ชนิด ฉีดวัคซีนแต่ละชนิดเข้ากล้ามเนื้อสุกร 3 ตัว ๆ ละ 1 โดส์ ขนาด 2 ซี.ซี. ฉีดวัคซีนชนิดเดิมซ้ำให้สุกร 2 ตัว ใน 3 วันหลังฉีดวัคซีนครั้งแรก 2 สัปดาห์สุกรกลุ่มที่ทำเป็นกลุ่มควบคุมไม่ได้ฉีดวัคซีน หลังฉีดวัคซีนครั้งแรก 4 สัปดาห์ฉีดพิษตับด้วยเชื้อไวรัสโรคคอแจกส์สเตรนครปฐมในขนาด 10<sup>8</sup> TCID<sub>50</sub> โดยหยอดเข้าช่องจมูกข้างละ 0.5 ซี.ซี. สังเกตอาการนาน 14 วัน เจาะเลือดก่อนฉีดวัคซีน หลังฉีดวัคซีนทุกสัปดาห์ และหลังฉีดพิษตับ

1 วัน แล้วนำไปตรวจหาระดับนิวตรอลไลซิ่งแอนติบอดีในซีรัมต่อไวรัสโรคอแจสกีเมื่อครบ 14 วัน หลังฉีดพิษกับฆ่าสุกรที่เหลือทุกตัว ฆ่าซากตรวจดูอาการและแยกเชื้อไวรัสจากอวัยวะต่าง ๆ ได้แก่ ทอนซิล, ปอด, ต่อมน้ำเหลืองบริเวณคอ, ตับ, ม้าม, สมอง และช่องจมูก (nasal swab) และแยกเชื้อไวรัสโดยการเพาะเลี้ยงในเซลล์ PK-15

## 5. การตรวจหาความรุนแรงของเชื้อไวรัส

5.1 เชื้อไวรัสฉีดพิษกับสำหรับกระต่าย เจือจางเชื้อไวรัสแบบ 10 เท่าตามลำดับ ฉีดเชื้อไวรัสแต่ละความเจือจาง ( $10^{-3}$  -  $10^{-7}$ ) เข้าใต้หนังกระต่าย 5 กลุ่ม ๆ ละ 4 ตัว ๆ ละ 1 ซี.ซี. สังเกตอาการนาน 14 วัน เมื่อครบ 14 วันนับจำนวนกระต่ายที่ตายในแต่ละความเจือจาง คำนวณค่า  $RLD_{50}$  ตามวิธีของ Reed and Muench (1938) ปริมาณความรุนแรงของเชื้อไวรัสคือส่วนกลับของค่าความเจือจางสูงสุดของเชื้อไวรัสที่ทำให้กระต่ายตาย 50 % ในการฉีดพิษกับให้แก่กระต่ายใช้ปริมาณของเชื้อไวรัสเท่ากับ  $100 RLD_{50}$

5.2 เชื้อไวรัสฉีดพิษกับสำหรับสุกร เจือจางเชื้อไวรัสแบบ 10 เท่าตามลำดับ ใส่เชื้อไวรัสแต่ละความเจือจางลงในเซลล์เพาะเลี้ยง PK-15 จำนวน 8 หลอด ๆ ละ 0.1 ซี.ซี. นำไป incubate ที่อุณหภูมิ  $37^{\circ}C$  ตรวจดู CPE

ทุกวันนาน 5 วัน คำนวณค่า  $TCID_{50}$  ตามวิธีของ Reed and Muench ปริมาณความรุนแรงของเชื้อไวรัสคือส่วนกลับของค่าความเจือจางสูงสุดของเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพต่อเซลล์ (CPE) 50 %

5.3 เชื้อไวรัสสำหรับหาระดับแอนติบอดีโดยวิธีซีรัมนิวตรอลไลเซชันเจือจางเชื้อไวรัสแบบ 10 เท่าตามลำดับเพาะเชื้อไวรัสแต่ละความเจือจางลงในเซลล์เพาะเลี้ยง PK-15 ในไมโครเพลทจำนวน 8 หลุม ๆ ละ 0.05 ซี.ซี. นำไป incubate ที่อุณหภูมิ  $37^{\circ}C$  ตรวจดู CPE ทุกวันนาน 5 วัน คำนวณค่า  $TCID_{50}$  ตามวิธีของ Reed and Muench (1938) ปริมาณความรุนแรงของเชื้อไวรัสคือส่วนกลับของค่าความเจือจางสูงสุดของเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพต่อเซลล์ 50 % ในการตรวจหาระดับแอนติบอดีในซีรัมใช้ปริมาณของเชื้อไวรัสเท่ากับ  $200 TCID_{50} / 0.05$  ซี.ซี.

6. การตรวจหาระดับแอนติบอดีโดยวิธีซีรัมนิวตรอลไลเซชัน  
เซลล์ - เซลล์เพาะเลี้ยง PK-15 เพาะเลี้ยงใน MEM + 10 % Fetal bovine serum + 10 % Tryptose phosphate broth + 1 %  $NaHCO_3$  เตรียมในรูปเซลล์ซีสเพนขึ้นจำนวน  $10^5$  เซลล์/ซี.ซี.  
ไวรัส - เชื้อไวรัสโรคอแจสกีสเตรนนครปฐมเพาะเลี้ยงในเซลล์ PK-15 ปริมาณของเชื้อไวรัส  $200 TCID_{50} / 0.05$  ซี.ซี.

วิธีทำ - นำซีรัมกระต่ายและสุกรไป in-activate ที่อุณหภูมิ  $56^{\circ}\text{C}$  นาน 30 นาที

- เจือจางซีรัมแบบ 2 เท่าตามลำดับ แต่ละความเจือจางทำใน 2 หลุม หลุมละ 0.05 ซี.ซี.

- เติมไวรัสหลุมละ 0.05 ซี.ซี. ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเขย่าเฟลท แล้วนำไป incubate ที่อุณหภูมิ  $37^{\circ}\text{C}$  นาน 1 ชั่วโมง

- เติมเซลล์ซีสเพนชั้นหลุมละ 0.1 ซี.ซี. แล้วปิดเฟลทให้สนิทด้วย plate sealer นำไป incubate ที่อุณหภูมิ  $37^{\circ}\text{C}$  นาน 5 วัน

- ตรวจดู CPE ทุกวันเมื่อครบ 5 วันคำนวณค่าระดับนิวตรอลไลซิง แอนติบอดีในซีรัม ตามวิธีของ Reed and Muench ระดับนิวตรอลไลซิงแอนติบอดีในซีรัม คือส่วนกลับของความเจือจางสูงสุดของซีรัมที่คงมีแอนติบอดีที่สามารถนิวตรอลไลซ์เชื้อไวรัสได้ 50 % (50 % end point)

### ผลและวิจารณ์

ผลการตรวจสอบความปราศจากเชื้อแบคทีเรียหรือราบนเปื้อนในวัคซีนปรากฏว่าวัคซีนป้องกันโรคออกเจสกีเชื้อตาย 4 ชนิด ปราศจากการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียหรือรา ในการตรวจสอบสภาพความคงตัวของวัคซีนชนิดน้ำมัน ปรากฏว่าวัคซีน

3 ชนิดแรก ได้แก่ สับยูนิตวัคซีนผลิตจากเชื้อท้องที่สเตรนนครปฐม สับยูนิตวัคซีนสเตรน Kojnock และวัคซีนเชื้อตายสเตรน DSV-35 มีชั้นน้ำแยกออกมาน้อยกว่า 5 % ในขณะที่วัคซีนเชื้อตายสเตรน Yaun-Lin มีชั้นน้ำแยกออกมามากกว่าประมาณ 5 % แสดงว่าวัคซีน 3 ชนิดแรกมีสภาพความคงตัวของออยล์อิมัลชันดีกว่าวัคซีนเชื้อตายสเตรน Yaun-Lin อย่างไรก็ตามวัคซีนทั้ง 4 ชนิดผ่านการตรวจสอบสภาพความคงตัวของออยล์อิมัลชันตามมาตรฐานที่กำหนดให้มีชั้นน้ำแยกออกมาได้ไม่เกิน 10 %

ในการตรวจสอบความปลอดภัยของวัคซีนในกระต่ายเพื่อตรวจสอบว่ามีการฆ่าเชื้อไวรัสได้อย่างสมบูรณ์หรือไม่โดยการฉีดวัคซีนให้แก่กระต่าย เนื่องจากกระต่ายเป็นสัตว์ทดลองที่มีความไวต่อเชื้อไวรัสโรคออกเจสกี ถ้าในวัคซีนเชื้อตายการฆ่าเชื้อไวรัสทำได้ไม่สมบูรณ์ยังคงมีเชื้อไวรัสที่รุนแรงเหลืออยู่ก็จะทำให้กระต่ายป่วยและตาย ผลการตรวจสอบปรากฏว่าวัคซีนป้องกันโรคออกเจสกีเชื้อตายทั้ง 4 ชนิดมีความปลอดภัยต่อกระต่ายแสดงว่าการฆ่าเชื้อไวรัสทำได้อย่างสมบูรณ์ ในการตรวจสอบความปลอดภัยของวัคซีนในสุกร เนื่องจากวัคซีนทั้ง 4 ชนิดนี้ใช้สำหรับการป้องกันโรคในสุกร วัคซีนจะต้องไม่ทำให้สุกรมีอาการแพ้หรือแสดงอาการเป็นโรคหลังฉีดวัคซีน ทำการตรวจสอบโดยการฉีดวัคซีนในขนาดโดสสองเท่าของโดสปกติ

วัคซีนน้ำมันต้องฉีดเข้ากล้ามเนื้อเพื่อป้องกันการเกิดฝี แต่ในการตรวจสอบใช้วิธีฉีดเข้าใต้หนัง และสังเกตอาการนาน 14 วัน เมื่อครบ 14 วันผ่าซากและตรวจดูบริเวณที่ฉีดซึ่งจะต้องไม่เกิดเป็นฝี สุนัขทุกตัวต้องไม่แสดงอาการป่วยหรือตายหลังฉีดวัคซีนจนครบ 14 วัน ผลการตรวจสอบปรากฏว่าวัคซีนทั้ง 4 ชนิดมีความปลอดภัยต่อสุนัข

ในการตรวจสอบความคุ้มโรคที่ต้องใช้ทั้งกระต่ายและสุนัขเนื่องจากว่ากระต่ายเป็นสัตว์ทดลองที่มีความไวต่อเชื้อไวรัสโรคจอแจสกีมาก จะป่วยและตายทันทีแม้จะได้รับเชื้อไวรัสเพียงจำนวนเล็กน้อยในการฉีดพิษกับจึงใช้ปริมาณของเชื้อไวรัสในขนาด 100 เท่าของโดสที่ทำให้กระต่ายตาย หรือ 100 RLD<sub>50</sub> (McFerran and Dow, 1962) สำหรับสุนัขถ้าได้รับเชื้อไวรัสเพียงจำนวนเล็กน้อยมักจะไม่ได้แสดงอาการป่วยให้เห็นหรือแสดงอาการเพียงเล็กน้อย ดังนั้นจึงต้องให้เชื้อไวรัสฉีดพิษกับในปริมาณที่มาก เพื่อให้สุนัขในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ฉีดวัคซีนทุกตัวแสดงอาการเป็นโรคหรือบางตัวอาจตาย ตามมาตรฐานการตรวจสอบความคุ้มโรคของวัคซีนป้องกันโรคจอแจสกีในประเทศเนเธอร์แลนด์ใช้เชื้อฉีดพิษกับประมาณ 10<sup>8</sup> TCID<sub>50</sub> โดยการหยอดเข้าช่องจมูกทั้งสองข้าง ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพความคุ้มโรคของวัคซีนแต่ละชนิดการลดโดสเพื่อหาค่า Protective dose

หรือ PD<sub>50</sub> จะทำให้เห็นค่าความแตกต่างหรือบอกถึงประสิทธิภาพของวัคซีนได้ดีกว่าการฉีดเต็มโดสอย่างเดียว แต่เนื่องจากว่ากระต่ายเป็นสัตว์ทดลองราคาถูกกว่าและมีความไวต่อเชื้อไวรัสมากกว่าสุนัข จึงใช้กระต่ายในการหาค่า PD<sub>50</sub> ผลการตรวจสอบปรากฏว่า วัคซีนเชื้อตายสเตรน DSV-35 และวัคซีนเชื้อตายสเตรน Yaun-Lin มีค่า PD<sub>50</sub>/โดส  $\geq 15.58$  ในขณะที่สับยูนิตวัคซีนสเตรนนครปฐมและสับยูนิตวัคซีนสเตรน Kojnock มีค่า PD<sub>50</sub>/โดส เท่ากับ 8.13 ค่าวนตามวิธีของ Karber (อ้างตาม Finney, 1964) แสดงว่าวัคซีนเชื้อตายทั้ง 2 ชนิดมีประสิทธิภาพความคุ้มโรคในกระต่ายสูงกว่าสับยูนิตวัคซีนทั้ง 2 ชนิด วัคซีนเชื้อตายสเตรน DSV-35 สามารถกระตุ้นระดับนิวโทรไลซึ่งแอนติบอดีในกระต่ายได้สูงที่สุด ในขณะที่วัคซีนอีก 3 ชนิด สามารถกระตุ้นระดับนิวโทรไลซึ่งแอนติบอดีในกระต่ายได้ใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 1) ระดับนิวโทรไลซึ่งแอนติบอดีในกระต่ายหลังฉีดพิษกับลดต่ำกว่าระดับนิวโทรไลซึ่งแอนติบอดีก่อนฉีดพิษกับมาก ในกระต่ายกลุ่มที่ 1, 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11 และ 12 ซึ่งระดับนิวโทรไลซึ่งแอนติบอดีก่อนฉีดพิษกับโดยเฉลี่ยสูงกว่า 8 อาจเนื่องจากว่าวัคซีนป้องกันโรคจอแจสกีเชื้อตายไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อและการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสในตัวสัตว์ (Crandell et al 1979; Gutekunst and Pirtle 1979)

**ตารางที่ 1 :** การทดสอบความคุ้มโรคในกระด้ายเพื่อหาค่า  $PD_{50}$  และการกระตุ้นให้สร้างแอนติบอดีในซีรัมกระด้าย ของวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่า 4 ชนิด

ชนิดของวัคซีน	กระด้าย กลุ่มที่	โดส ที่ฉีด	ค่าเฉลี่ยของระดับนิวเคลียสไลต์แอนติบอดี			เปอร์เซ็นต์ ความคุ้มโรค
			ก่อนฉีดวัคซีน	ก่อนฉีดพิษ	หลังฉีดพิษ	
สับชนิดวัคซีน	1(5)	1	0	84.53	27.23	100 %
เชื้อท้องที่สเตรน	2(5)	1/3	0	19.59	16.71	100 %
นครปฐม	3(5)	1/9	0	3.99	6.72	40 %
สับชนิดวัคซีน	4(5)	1	0	78.89	39.36	100 %
สเตรน	5(5)	1/3	0	14.83	12.88	100 %
Kojnock	6(5)	1/9	0	4.27	6.72	40 %
วัคซีนเชื้อตาย	7(5)	1	0	147.23	22.39	100 %
สเตรน	8(5)	1/3	0	45.29	12.65	100 %
DSV-35	9(5)	1/9	0	16.98	6.02	100 %
วัคซีนเชื้อตาย	10(5)	1	0	89.12	14.22	100 %
สเตรน	11(5)	1/3	0	15.92	11.22	100 %
Yaun-Lin	12(5)	1/9	0	9.79	6.47	100 %
กลุ่มควบคุม	13(5)	-	0	0	-	0 %

(n) = จำนวนกระด้าย

ดังนั้นกระต่ายที่ฉีดวัคซีน และถูกกระตุ้นให้สร้างภูมิคุ้มกันในระดับแอนติบอดีที่สูงเมื่อได้รับเชื้อฉีดพิษทั้งซึ่งอาจเข้าไปเพิ่มจำนวนในตัวสัตว์ และอาจไปฆ่าฤทธิ์หรือนิวตรอลไลซึ่งแอนติบอดีได้บางส่วนทำให้ระดับแอนติบอดีลดลง เนื่องจากรายงานการทดสอบความคุ้มโรคของวัคซีนโรคคอเอแจกในกระต่ายยังมีน้อยมาก ดังนั้นคำอธิบายข้างต้นจึงเป็นเพียงสมมติฐานของผู้ทำการทดลองซึ่งจำเป็นต้องมีการศึกษาวิจัยให้ลึกซึ้งต่อไป ในขณะที่กระต่ายกลุ่มที่ 3 และ 6 ซึ่งมีระดับนิวตรอลไลซึ่งแอนติบอดีก่อนฉีดพิษทั้งโดยเฉลี่ยต่ำกว่า 8 เมื่อได้รับเชื้อฉีดพิษทั้งซึ่งสามารถเข้าไปเพิ่มจำนวนในตัวสัตว์ได้มาก เชื้อไวรัสก็จะไปช่วยกระตุ้นให้มีการสร้างแอนติบอดีได้มากขึ้น ด้วย สำหรับการตรวจสอบความคุ้มโรคในสุกร เนื่องจากว่าในการทดลองครั้งนี้ได้รับสุกรสำหรับทดลองจำนวนน้อยและเป็นการทดลองเพื่อหาข้อมูลเบื้องต้น จึงจัดแบ่งสุกรทดลองได้เพียงกลุ่มละ 3 ตัว โดย 2 ตัวแรกฉีดวัคซีนซ้ำสองครั้งห่างกันสองสัปดาห์และอีก 1 ตัวฉีดวัคซีนเพียงครั้งเดียว ในสุกรมีอายุไวรัสโรคคอเอแจกอาจจะไม่ทำให้สุกรในกลุ่มควบคุมตายถึง 80 - 100 % สุกรบางตัวอาจจะแสดงอาการเพียงเล็กน้อย จึงควรผลจากการตรวจหาระดับแอนติบอดีหลังฉีดวัคซีนด้วย อย่างไรก็ตามในการทดลองครั้งนี้ได้ทำการตรวจสอบความคุ้มโรคของวัคซีนในกระต่ายด้วย ทำให้สามารถสรุปได้ว่าวัคซีนทั้ง

4 ชนิดนี้ผ่านการตรวจสอบ และในการตรวจสอบความคุ้มโรคในสุกรควรผลจากการกระตุ้นระดับแอนติบอดีในสุกรหลังฉีดวัคซีน การสังเกตอาการสัตว์หลังฉีดพิษทั้งรวมถึงการกินอาหารและน้ำหนักสัตว์ที่เพิ่มขึ้น, การตรวจดูการตามอวัยวะต่าง ๆ หลังผ่าซาก, การแยกเชื้อไวรัสจากอวัยวะต่าง ๆ และการขับออกของเชื้อไวรัสฉีดพิษทั้ง ผลการตรวจสอบปรากฏว่า วัคซีนเชื้อตายสเตรน DSV-35 สามารถกระตุ้นระดับนิวตรอลไลซึ่งแอนติบอดีได้สูงกว่าวัคซีนอีก 3 ชนิด สับยูนิตวัคซีนที่ผลิตจากเชื้อทั้งที่สเตรนนครปฐมสามารถกระตุ้นระดับนิวตรอลไลซึ่งแอนติบอดีได้สูงกว่าสับยูนิตวัคซีนสเตรน Kojnock ซึ่งนำเข้าจากต่างประเทศ (ตารางที่ 2) ในการฉีดวัคซีนซ้ำให้แก่สุกรสองครั้งห่างกันสองสัปดาห์ วัคซีนเชื้อตายสเตรน DSV-35, วัคซีนเชื้อตายสเตรน Yaun-Lin และสับยูนิตวัคซีนสเตรนนครปฐม สามารถกระตุ้นระดับนิวตรอลไลซึ่งแอนติบอดีได้สูงขึ้นมากในสัปดาห์ที่ 3 และ 4 หลังฉีดวัคซีนครั้งแรก ซึ่งเป็นผลมาจากการฉีดวัคซีนซ้ำ ในขณะที่สุกรที่ได้รับการฉีดวัคซีนเพียงครั้งเดียวกระตุ้นระดับนิวตรอลไลซึ่งแอนติบอดีได้ต่ำมากไม่เกิน 8 สำหรับสับยูนิตวัคซีนสเตรน Kojnock ซึ่งนำเข้าจากต่างประเทศ กระตุ้นการสร้างแอนติบอดีในสุกรได้ต่ำมากถึงแม้ว่าจะฉีดวัคซีนให้แก่สุกรสองครั้งระดับนิวตรอลไลซึ่งแอนติบอดีก็ไม่เกิน 8 ตามมาตรฐานวัคซีนป้องกันโรคคอเอแจก

**ตารางที่ 2 :** ระดับนิเวศวิทยาซึ่งแอนติบอดีในซีรัมสกรีนซึ่งฉีดวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์  
ทั้ง 4 ชนิด และหลังฉีดพิษกับด้วยไวรัสโรคอหิวาต์สเตรนนครปฐม

ชนิดของวัคซีน	หมายเลข สกร	การฉีดวัคซีน	ระดับนิเวศวิทยาซึ่งแอนติบอดีต่อไวรัสโรคอหิวาต์					
			ก่อนฉีดวัคซีน (สัปดาห์ที่)	หลังฉีดวัคซีน (สัปดาห์ที่)				หลังฉีดพิษกับ (สัปดาห์ที่)
				1	2*	3	4**	
			0					5
สับยูนิตวัคซีน สเตรน นครปฐม	1	สองครั้ง	0	1.4	3	64	64	128
	2	สองครั้ง	0	0	1.4	16	32	128
	3	ครั้งเดียว	0	1.4	4	4	4	90
สับยูนิตวัคซีน สเตรน Kojnock	1	สองครั้ง	0	0	8	8	8	180
	2	สองครั้ง	0	2	4	4	4	90
	3	ครั้งเดียว	0	3	4	4	4	256
วัคซีนเชื้อตาย สเตรน DSV-35	1	สองครั้ง	0	1.4	4	128	128	180
	2	สองครั้ง	0	0	3	90	90	256
	3	ครั้งเดียว	0	1.4	2	4	6	90
วัคซีนเชื้อตาย สเตรน Yaun-Lin	1	สองครั้ง	0	0	12	45	45	180
	2	สองครั้ง	0	1.4	12	45	64	180
	3	ครั้งเดียว	0	0	4	8	8	90
กลุ่มควบคุม	1	ไม่ได้ฉีด	0	0	0	0	0	3
	2	ไม่ได้ฉีด	0	0	0	0	0	2
	3	ไม่ได้ฉีด	0	0	0	0	0	3

\* สปีดค่าที่ 2 ฉีดวัคซีนซ้ำครั้งที่สองให้แก่สกรกลุ่มละ 2 ตัว

\*\* สปีดค่าที่ 4 หลังฉีดวัคซีนครั้งแรก ฉีดพิษกับด้วยไวรัสโรคอหิวาต์สเตรนนครปฐม

เชื้อตายเมื่อฉีดให้แก่สุกรสองครั้งระดับนิว-  
ตรอลไลซิงแอนติบอดีไม่ควรต่ำกว่า 16  
ระดับนิวตรอลไลซิงแอนติบอดีหลังฉีด  
พิษทั้งในสุกรทุกตัวสูงกว่าก่อนฉีดพิษทั้งมาก  
แสดงว่าเมื่อสุกรที่ฉีดวัคซีนได้รับเชื้อฉีดพิษ  
ทั้งเข้าไป เชื้อไวรัสจะเข้าไปช่วยกระตุ้น  
ให้มีการสร้างแอนติบอดีมากขึ้น ผลการผ่า  
ซากตรวจไม่พบพิการและไม่สามารถแยก  
เชื้อไวรัสได้ตามอวัยวะต่าง ๆ แต่ตรวจ  
พบพิการและแยกเชื้อไวรัสได้จากสุกรใน  
กลุ่มควบคุม (ตารางที่ 3) ในการตรวจ  
หาเชื้อไวรัสที่อาจถูกขับออกมาทางช่องจมูก  
หลังฉีดพิษทั้ง ไม่สามารถตรวจพบในสุกร  
กลุ่มที่ฉีดวัคซีนเชื้อตายสเตรน DSV-35,  
สุกรกลุ่มที่ฉีดวัคซีนเชื้อตายสเตรน Yaun-  
Lin และสุกรกลุ่มที่ฉีดสับยูนิตวัคซีนสเตรน  
นครปฐมซึ่งฉีดวัคซีนสองครั้ง แต่สามารถ  
ตรวจพบเชื้อไวรัสในสุกรที่ฉีดวัคซีนเพียง  
ครั้งเดียวและในสุกรกลุ่มที่ฉีดสับยูนิตวัคซีน  
สเตรน Kojnock ไม่ว่าจะเป็นการฉีดวัค-  
ซีนสองครั้งก็ตาม จะเห็นว่าการตรวจพบ  
เชื้อฉีดพิษทั้งที่ถูกขับออกมาทางช่องจมูกมี  
ความสัมพันธ์กับระดับนิวตรอลไลซิงแอนติ-  
บอดีในสุกรก่อนฉีดพิษทั้งซึ่งไม่เกิน 8  
(ตารางที่ 2 และตารางที่ 3) และ  
สามารถตรวจพบเชื้อฉีดพิษทั้งที่ถูกขับออกมา  
ทางช่องจมูกของสุกรในกลุ่มควบคุมทุกตัว  
จากการศึกษาเปรียบเทียบผลการ  
ตรวจสอบคุณภาพวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์  
เชื้อตายทั้ง 4 ชนิด พอจะสรุปได้ว่า วัค-  
ซีนเชื้อตายชนิดที่ผลิตจากไวรัสซีสเพนชั้น

ในรูปของวัคซีนน้ำมันมีประสิทธิภาพดีในการ  
ฉีดวัคซีนสองครั้งสามารถกระตุ้นระดับนิว-  
ตรอลไลซิงแอนติบอดีได้สูงทั้งในกระต่าย  
และสุกร และสามารถให้ความคุ้มโรคแก่  
กระต่ายและสุกรหลังฉีดพิษทั้ง เมื่อเปรียบ  
เทียบค่า PD<sub>50</sub> ในกระต่ายปรากฏว่าวัค-  
ซีนเชื้อตายทั้ง 2 ชนิดมีประสิทธิภาพความ  
คุ้มโรคดีกว่าสับยูนิตวัคซีน อย่างไรก็ตาม  
เมื่อเปรียบเทียบวัคซีนเชื้อตายทั้ง 2 ชนิด  
วัคซีนเชื้อตายสเตรน DSV-35 มีสภาพ  
ความคงตัวของออสล์อิมัลชันดีกว่าและ  
สามารถกระตุ้นระดับนิวตรอลไลซิงแอนติ-  
บอดีได้สูงกว่าวัคซีนเชื้อตายสเตรน Yaun-  
Lin สำหรับสับยูนิตวัคซีนซึ่งผลิตจากเชื้อ  
ท้องที่สเตรนนครปฐมในห้องปฏิบัติการของ  
ศูนย์ควบคุมคุณภาพชีวภัณฑ์ก็สามารถกระตุ้น  
ระดับนิวตรอลไลซิงแอนติบอดีได้สูงเช่น  
เดียวกันและสามารถให้ความคุ้มโรคแก่  
กระต่ายและสุกรหลังฉีดพิษทั้ง เมื่อเปรียบ  
เทียบกับสับยูนิตวัคซีนสเตรน Kojnock  
ซึ่งให้ความคุ้มโรคในสุกรไม่ดีและกระตุ้น  
ระดับนิวตรอลไลซิงแอนติบอดีได้ต่ำกว่ามาก  
สับยูนิตวัคซีนมีข้อได้เปรียบวัคซีนเชื้อตายที่  
ผลิตจากไวรัสซีสเพนชั้นตรงที่การฆ่าเชื้อ  
ไวรัสทำได้สมบูรณ์ทั้งส่วนประกอบของ DNA  
ไม่เสี่ยงต่อการแอบแฝงของเชื้อไวรัสในตัว  
สัตว์ที่ฉีดวัคซีน สำหรับวัคซีนเชื้อตายที่ผลิต  
จากไวรัสซีสเพนชั้นมีข้อเสียเปรียบตรงที่  
ถ้าหากการฆ่าเชื้อไวรัสไม่สมบูรณ์หรือเชื้อ  
ไวรัสอาจกลับฟื้นขึ้นมารุนแรงอีก ก็อาจทำ  
ให้เชื้อไวรัสแอบแฝงอยู่ในตัวสัตว์ และมี

**ตารางที่ 3 : ผลการตรวจทางพยาธิวิทยา การตรวจแยกเชื้อไวรัสจากอวัยวะต่าง ๆ และ  
การรับออกของเชื้อไวรัสชนิดพิษทึบทางช่องจุก**

ชนิดของวัคซีน	หมายเลข	การฉีดวัคซีน	ผลการตรวจทางพยาธิวิทยาและการแยกเชื้อไวรัส								รับออกทาง
			ทอนซิล		ปอด		รังไข่		สมอง		ช่องจุก
			วิทยา	ไวรัส	วิทยา	ไวรัส	วิทยา	ไวรัส	วิทยา	ไวรัส	ไวรัส
สับขุนควักขึ้น สเตรน นครปฐม	1	สองครั้ง	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	สองครั้ง	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	ครั้งเดียว	-	-	-	-	-	-	-	-	+
สับขุนควักขึ้น สเตรน Kojnock	1	สองครั้ง	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	2	สองครั้ง	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	3	ครั้งเดียว	-	-	-	-	-	-	-	-	+
วัคซีนเชื้อตาย สเตรน DSV-35	1	สองครั้ง	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	สองครั้ง	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	ครั้งเดียว	-	-	-	-	-	-	-	-	+
วัคซีนเชื้อตาย สเตรน Yaun-Lin	1	สองครั้ง	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	สองครั้ง	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	ครั้งเดียว	-	-	-	-	-	-	-	-	+
กลุ่มควบคุม	1	ไม่ได้ฉีด	+	+	-	-	-	-	-	-	+
	2	ไม่ได้ฉีด	+	+	+	+	-	+	-	+	+
	3	ไม่ได้ฉีด	+	+	+	+	-	-	-	+	+

หมายเหตุ + ตรวจพบวิทยาหรือเชื้อไวรัส  
- ตรวจไม่พบวิทยาหรือเชื้อไวรัส

โอกาสแพร่กระจายเชื้อไวรัสให้แก่สัตว์ตัวอื่น อย่างไรก็ตามจากผลการตรวจสอบความปลอดภัยในกระต่าย ปรากฏว่าวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์เชื้อตายทั้ง 4 ชนิดมีความปลอดภัยต่อกระต่าย แสดงว่าการฆ่าเชื้อไวรัสในวัคซีนทั้ง 4 ชนิดทำได้อย่างสมบูรณ์

#### เอกสารอ้างอิง

- Crandell, R.A., Mock, R.E. and Mestlin, G.M. 1979. Latency in pseudorabies vaccinated pigs. Proc. Annu. Meet US Anim. Health Assoc. 83 : 444-447.
- Finney, J.D. 1964. Statistical method in biological assay. 2<sup>nd</sup> ed. Griffin. London. P. 525-531.
- Gutekunst, D.E. and Pirtle, E.C. 1979. Humoral and cellular immune responses in swine after vaccination with inactivated pseudorabies virus. Am. J. Vet. Res. 40 : 1343-1346.
- Lupton, H.W. and Reed, D.E. 1980. Evaluation of experimental subunit vaccines for infectious bovine rhinotracheitis. Am. J. Vet. Res. 41 : 383-390.
- Maes, R.K. and Schutz, J.S. 1983. Evaluation in swine of a subunit vaccine against pseudorabies. Am. J. Vet. Res. 44 : 123-125.
- McFerran, J.B. and Dow, C. 1962. Growth of Aujeszky's disease virus in rabbits and tissue culture. Br. Vet. J. 118 : 386-389.
- Reed, L.J. and Muench, H. 1938. A Simple method for estimating fifty percent endpoints. Am. J. Hyg. 27 : 493-497.
- Satra, J. 1983. Studies on properties of pseudorabies virus and adjuvants for pseudorabies vaccine. A Master Degree Thesis. Mahidol University.
- Turner, S.P., Hartley, C.E., Buchan, A. and Skinner, G.R.B. 1981. Preparation and efficacy of an inactivated subunit vaccine against Aujeszky's disease virus infection. Res. Vet. Sci. 31 : 261-263.
- USDA. 1985. Animal and Plant Health Inspection Service. 9 CFR Ch.1 (1-1-85 Edition)

#### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผู้อำนวยการกองผลิตชีวภัณฑ์ นายสัตวแพทย์ ร.ต.สุธรรม ปุ่มขลุ่ยพัทธ์ หัวหน้าศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ นายสัตวแพทย์ สละ กองสมัคร ที่ให้การสนับสนุนการทำวิจัย และพนักงานศูนย์ควบคุมคุณภาพชีวภัณฑ์ ที่ช่วยในการจับสัตว์ทดลอง การเจาะเลือด และการผ่าซากสุกร

**Comparative Studies on Various  
Kinds of Aujeszky's Disease  
Vaccine : III Assay Results of  
Killed Aujeszky's Disease  
Vaccine(4)**

*Jarunee        Satra<sup>1</sup>*  
*Wanwimol    Thongkong<sup>1</sup>*  
*Suneejit    Kongthon<sup>1</sup>*

**Abstract**

Comparative studied on the results of the assay of four kinds of killed Aujeszky's disease vaccine; local strain subunit vaccine (Nakhonpathom strain), imported subunit vaccine (Kojnock strain), imported DSV-35 strain killed vaccine and an imported Yaun-Lin strain killed vaccine. All vaccines passed the test for bacteriological and fungal sterility. The first three kinds of vaccine had the stability of oil emulsion better than a Yaun-Lin strain killed vaccine. However, all were safe for rabbits and pigs. All of them could enhance the immunity against Aujeszky's disease virus, Nakhonpathom strain. A DSV-35 strain killed vaccine could enhance the highest neutralizing antibody titer in rabbit. Another three kinds enhance nearly the same amount of neutralizing antibody titer. Comparative studied on  $PD_{50}$  of the vaccines were as followed : a DSV-35 strain killed vaccine and a Yaun-Lin strain killed vaccine had the higher protective dose for rabbits than the two subunit vaccine. A DSV-35 strain killed

---

1 Veterinary Biologic Assay Center, Veterinary Biologics Division,  
Department of Livestock Development, Pakchong, Nakhonratchasima,  
Thailand 30130

vaccine could enhance the highest neutralizing antibody titer in pig. A local strain subunit vaccine (Nakhonpathom strain) could enhance the neutralizing antibody titer higher than an imported subunit vaccine (Kojnock strain). Booster vaccination induced the higher neutralizing antibody titer than a single vaccina-

tion. All vaccinated pigs were protected against the challenge of Aujeszky's disease virus (Nakhonpathom strain) that contained virus of  $10^8$  TCID<sub>50</sub>/ml. whereas control pigs developed acute clinical signs after challenge. All four kinds of killed Aujeszky's disease vaccine passed the quality control test.

**Keyword(s) :** Assay results, killed Aujeszky's disease vaccine, oil adjuvant