# บทที่ 4

# ผลการทดลอง

## ผลการทดลองที่ 1. การเตรียมเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา สายพันธุ์ H5N1

### 1.1 การเตรียมเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา

เตรียมเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซาที่ได้จากตัวอย่าง ปอด ลำไส้ และตับ ซึ่งเก็บมาจากแหล่งที่พบการระบาดในประเทศไทย ช่วงเดือนมกราคม 2547 จำนวน 8 ตัวอย่าง นั้น และได้เก็บรักษาไว้ที่ตู้เย็น -80 องศาเซลเซียส

### 1.2 การเพิ่มจำนวนเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา

นำ allantoic fluid ที่เตรียมได้จากขั้นตอนการเตรียมเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซาซึ่งเก็บรักษาที่ตู้เย็น -80 องศาเซลเซียสมาฉีดในไข่ไก่ฟักที่อายุ 9-11 วัน เพื่อเพิ่มจำนวนเชื้อไวรัส และคำนวณหาความรุนแรงของเชื้อไวรัส

การคำนวณหาความสามารถในการติดเชื้อของเชื้อไวรัสทำโดยนำผลการทดสอบตั้งแต่ความเข้มข้น (dilution) ที่ทำให้ตัวอ่อนในไข่ไก่ฟักเกิดการเปลี่ยนแปลง 100% จ นถึงระดับความเข้มข้นที่ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง มาคำนวณหาค่าระดับความสามารถในการติดเชื้อของเชื้อไวรัสที่สามารถทำให้ตัวอ่อนในไข่ไก่ฟักตายได้ 50% จากจำนวนไข่ไก่ฟักที่ใช้ทั้งหมด (50% embryonated lethal dose/ml; $ELD_{50}$/ml) โดยได้ทำการคำนวณหาระดับความสามารถในการติดเชื้อของเชื้อไวรัส 3 ตัวอย่าง จากตัวอย่างทั้งหมด 8 ตัวอย่าง พบว่าเชื้อไวรัสที่เตรียมขึ้นมานั้นมีระดับความสามารถในการติดเชื้อคือ $10^{9}$ $10^{8.25}$ และ $10^{8.5}$ ต่อ 1 มิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.1

**ตารางที่ 4.1** แสดงผลการฉีดไข่ไก่ฟักที่อายุ 11 วัน โดยฉีดที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ $10^{-1}$ - $10^{-10}$

| ระดับการเจือจาง | จน.ไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิต/จน.ไข่ไก่ฟักที่รอดชีวิต | | |
|---|---|---|---|
| | No. 1 | No. 3 | No. 8 |
| $10^{-1}$ | 6/6 | 6/6 | 6/6 |
| $10^{-2}$ | 6/6 | 6/6 | 6/6 |
| $10^{-3}$ | 6/6 | 6/6 | 6/6 |
| $10^{-4}$ | 6/6 | 6/6 | 6/6 |
| $10^{-5}$ | 6/6 | 6/6 | 6/6 |
| $10^{-6}$ | 6/6 | 6/6 | 6/6 |
| $10^{-7}$ | 6/6 | 6/6 | 5/6 |
| $10^{-8}$ | 3/6 | 4/6 | 1/6 |
| $10^{-9}$ | 0/6 | 0/6 | 0/6 |
| $10^{-10}$ | 0/6 | 0/6 | 0/6 |

หมายเหตุ No. 1 : A/chicken/Chonburi/Thailand/CU-7/04(H5N1)

No. 3 : A/chicken/Suphanburi/Thailand/CU-9/04(H5N1)

No. 8 : A/chicken/Nakhon Pathom/Thailand/CU-14/04(H5N1)

1.3 การตรวจพิสูจน์ยืนยันชนิดของเชื้อไวรัสที่เตรียม

เมื่อนำเชื้อไวรัสที่เตรียมขึ้นมาจากตัวอย่างที่ 1 มาทดสอบด้วยวิธีการจับกลุ่มตกตะกอนของเม็ดเลือดแดง พบว่าเชื้อไวรัสสามารถจับกลุ่มตกตะกอนของเม็ดเลือดแดงได้ โดยระดับความเข้มข้นที่เจือจางที่สุดที่เชื้อไวรัสสามารถตกตะกอนเม็ดเลือดแดงได้คือ 256 HA unit/ 25 µl โดยผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.2

**ตารางที่ 4.2** แสดงผลวิธีการจับกลุ่มตกตะกอนของเม็ดเลือดแดง

| จำนวน | ระดับการเจือจาง | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| หลุม | $2^{-1}$ | $2^{-2}$ | $2^{-3}$ | $2^{-4}$ | $2^{-5}$ | $2^{-6}$ | $2^{-7}$ | $2^{-8}$ | $2^{-9}$ | $2^{-10}$ | $2^{-11}$ | $2^{-12}$ |
| 1 | x | x | x | x | x | x | x | x | - | - | - | - |
| 2 | x | x | x | x | x | x | x | x | - | - | - | - |
| 3 | x | x | x | x | x | x | x | x | - | - | - | - |
| 4 | x | x | x | x | x | x | x | - | - | - | - | - |

หมายเหตุ X : มีการจับกลุ่มตกตะกอนของเม็ดเลือดแดง

\- : ไม่เกิดการจับกลุ่มตกตะกอนของเม็ดเลือดแดง

การตรวจพิสูจน์เชื้อไวรัสโดยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรส (multiplex RT-PCR) พบว่าเชื้อไวรัสที่เตรียมขึ้นมาจากตัวอย่างทั้งหมด 8 ตัวอย่าง ซึ่งเก็บมาจากแหล่งที่พบการระบาดในประเทศไทย ช่วงปลายเดือนมกราคม 2547 นั้นเป็นเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา สายพันธุ์ H5N1 ซึ่งมีผลผลิต PCR ของ HA เท่ากับ 351 bp และ NA เท่ากับ 106 bp ดังแสดงรูปที่ 4.1 และเมื่อทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซาที่เตรียมด้วยโปรแกรม BioEdit version 7.0.5.2 พบว่าเชื้อไวรัสที่เตรียมขึ้นจากตัวอย่างทั้ง 8 ตัวอย่าง อยู่ในsubtype เดียวกันคือ H5N1 และมีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และตารางที่ 4.4 โดยในการศึกษาความคงทนของเชื้อไวรัสต่อสภาพแวดล้อม ต่าง ๆ ในครั้งนี้ได้เลือกใช้เชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา สายพันธุ์ H5N1 (A/chicken/Chonburi/Thailand/CU-7/04(H5N1))

**ตารางที่ 4.3** แสดงการเปรียบเทียบความแตกต่าง (pairwise distance) ของลำดับนิวคลีโอไทด์ในยีน H5 ของเชื้อไวรัสที่เตรียมขึ้นเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซาที่เตรียมขึ้น

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | | | | | | | | |
| 2 | 0.0036 | | | | | | | |
| 3 | 0.0036 | 0.0036 | | | | | | |
| 4 | 0.0018 | 0.003 | 0.003 | | | | | |
| 5 | 0.0036 | 0.0036 | 0.0036 | 0.003 | | | | |
| 6 | 0.003 | 0.0031 | 0.003 | 0.0024 | 0.0018 | | | |
| 7 | 0.0043 | 0.0043 | 0.0043 | 0.0037 | 0.0031 | 0.0025 | | |
| 8 | 0.0024 | 0.0024 | 0.0024 | 0.0018 | 0.0012 | 0.0018 | 0.0031 | |

หมายเหตุ 1 : A/chicken/Chonburi/Thailand/CU-7/04(H5N1)

2 : A/chicken/Prachinburi/Thailand/CU-8/04(H5N1)

3 : A/chicken/Suphanburi/Thailand/CU-9/04(H5N1)

4 : A/chicken/Chachoengsao/Thailand/CU-10/04(H5N1)

5 : A/chicken/Chachoengsao/Thailand/CU-11/04(H5N1)

6 : A/chicken/Nakhon Sawan/Thailand/CU-12/04(H5N1)

7: A/chicken/Nakhon Sawan/Thailand/CU-13/04(H5N1)

8 : A/chicken/Nakhon Pathom/Thailand/CU-14/04(H5N1)

I29917378

<u>ตารางที่ 4.4</u> แสดงการเปรียบเทียบความแตกต่าง (pairwise distance) ของลำดับนิวคลีโอไทด์ในยีน N1 ของเชื้อไวรัสที่เตรียมขึ้นเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซาที่เตรียมขึ้น

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | | | | | | | | |
| 2 | 0.0031 | | | | | | | |
| 3 | 0.0015 | 0.003 | | | | | | |
| 4 | 0.0031 | 0.003 | 0.003 | | | | | |
| 5 | 0.0015 | 0.0015 | 0.0015 | 0.0015 | | | | |
| 6 | 0.0015 | 0.0015 | 0.0015 | 0.0015 | 0 | | | |
| 7 | 0.0015 | 0.0015 | 0.0015 | 0.0015 | 0 | 0 | | |
| 8 | 0.0031 | 0.003 | 0.003 | 0.003 | 0.0015 | 0.0015 | 0.0015 | |

หมายเหตุ 1 : A/chicken/Chonburi/Thailand/CU-7/04(H5N1)

2 : A/chicken/Prachinburi/Thailand/CU-8/04(H5N1)

3 : A/chicken/Suphanburi/Thailand/CU-9/04(H5N1)

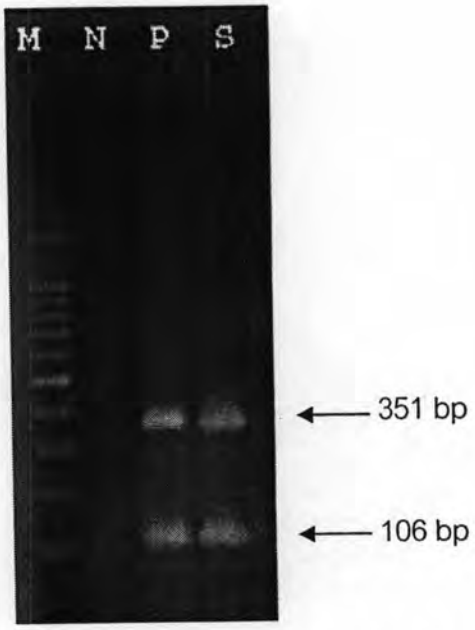
4 : A/chicken/Chachoengsao/Thailand/CU-10/04(H5N1)

5 : A/chicken/Chachoengsao/Thailand/CU-11/04(H5N1)

6 : A/chicken/Nakhon Sawan/Thailand/CU-12/04(H5N1)

7: A/chicken/Nakhon Sawan/Thailand/CU-13/04(H5N1)

8 : A/chicken/Nakhon Pathom/Thailand/CU-14/04(H5N1)




**รูปที่ 4.1** แสดงผลผลิต PCR ของ HA และ NA ของเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา สายพันธุ์ H5N1 ด้วยวิธี multiplex RT-PCR ซึ่งผลผลิต PCR ของ HA มีขนาด 351 bp และผลผลิตของ NA มีขนาด 106 bp; M: Marker ขนาด 100 bp N: Negative control P: Positive control (A/chicken/Nakhon Pathom/Thailand/CU-K2/04(H5N1)) และ S: ตัวอย่างเชื้อไวรัสที่ใช้ในการศึกษา (A/chicken/Chonburi/Thailand/CU-7/04(H5N1))

**ผลการทดลองที่ 2. การทดสอบความคงอยู่ของเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา สายพันธุ์ H5N1**

2.1 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อในการทำลายเชื้อไวรัส และระยะเวลาการใช้งานของน้ำยาฆ่าเชื้อภายหลังผสม

จากผลการทดสอบน้ำยาฆ่าเชื้อทั้งหมด 4 ชนิด พบว่าน้ำยาฆ่าเชื้อทั้ง 4 ชนิดที่นำมาทดสอบเมื่อเจือจางสัดส่วนตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิตทันทีและนำมาฆ่าเชื้อ สามารถทำลายเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซาได้ โดยน้ำยาฆ่าเชื้อกลูตารัลดีไฮด์ให้ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา สายพันธุ์ H5N1 สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำยาฆ่าเชื้ออีก 3 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 4.5 และ 4.6 และผลของอุณหภูมิต่อการเก็บรักษาน้ำยาฆ่าเชื้อ พบว่าการเก็บรักษาน้ำยาฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จะให้ประสิทธิภาพการทำลายเชื้อดีกว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยพบว่าน้ำยาฆ่าเชื้อที่ให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการทำลายเชื้อเมื่อเก็บรักษาที่

อุณหภูมิ 25 และ 37 องศาเซลเซียส คือ น้ำยาฆ่าเชื้อกลูตารัลดีไฮด์ ดังแสดงในตารางที่ 4.7 4.8 4.9 และ 4.10

**ตารางที่ 4.5** แสดงจำนวนของไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิต ภายหลังจากการฉีดเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซาที่ผสมด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อชนิดต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25 และ 37 องศาเซลเซียส ภายหลังการเก็บน้ำยาฆ่าเชื้อที่ผสมแล้วเป็นระยะเวลา 0 5 7 และ 14 วัน (n=6)

| ชนิดของน้ำยา | 0 วัน | | 5 วัน | | 7 วัน | | 14 วัน | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ฆ่าเชื้อ | 25 °C | 37 °C | 25 °C | 37 °C | 25 °C | 37 °C | 25 °C | 37 °C |
| Glutaldehyde | 1/6 | 1/6 | 3/6 | 2/6 | 0/6 | 0/6 | 1/6 | 0/6 |
| QAC | 0/6 | 0/6 | 3/6 | 3/6 | 3/6 | 3/6 | 3/6 | 0/6 |
| Formalin | 0/6 | 0/6 | 3/6 | 2/6 | 1/6 | 0/6 | 0/6 | 1/6 |
| Phenol | 0/6 | 0/6 | 1/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 |

**ตารางที่ 4.6** แสดงผลการจับกลุ่มตกตะกอนเม็ดเลือดแดงของไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิตในตารางที่ 4.5

| ชนิดของน้ำยา | 0 วัน | | 5 วัน | | 7 วัน | | 14 วัน | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ฆ่าเชื้อ | 25 °C | 37 °C | 25 °C | 37 °C | 25 °C | 37 °C | 25 °C | 37 °C |
| Glutaldehyde | <2 | <2 | <2 | <2 | ND | ND | <2 | ND |
| QAC | ND | ND | <2 | <2 | <2 | 64 | <2 | ND |
| Formalin | ND | ND | <2 | <2 | <2 | <2 | ND | <2 |
| Phenol | ND | ND | <2 | ND | ND | ND | ND | ND |

หมายเหตุ <2 : ไม่เกิดการจับกลุ่มตกตะกอนของเม็ดเลือดแดง

ND : ไม่ได้ทำการทดสอบเนื่องจากไข่ไก่ฟักที่รอดชีวิตทั้งหมด

**ตารางที่ 4.7** แสดงจำนวนไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิต เนื่องจากการฉีดไข่ไก่ฟักครั้งที่ 2 (secondary inoculation) โดยใช้น้ำไข่ไก่ฟักจากไข่ไก่ฟักที่รอดชีวิตในการฉีดไข่ไก่จากตารางที่ 4.5 (n=6)

| ชนิดของน้ำยา | 0 วัน | | 5 วัน | | 7 วัน | | 14 วัน | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ฆ่าเชื้อ | 25 °C | 37 °C | 25 °C | 37 °C | 25 °C | 37 °C | 25 °C | 37 °C |
| Glutaldehyde | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 1/6 | 1/6 |
| QAC | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 3/6 | 6/6 | 3/6 | 1/6 | 6/6 |
| Formalin | 6/6 | 6/6 | 0/6 | 2/6 | 1/6 | 3/6 | 6/6 | 2/6 |
| Phenol | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 1/6 | 0/6 | 0/6 |

**ตารางที่ 4.8** แสดงผลการจับกลุ่มตกตะกอนเม็ดเลือดแดงของไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิตในตารางที่ 4.7

| ชนิดของน้ำยา | 0 วัน | | 5 วัน | | 7 วัน | | 14 วัน | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ฆ่าเชื้อ | 25 °C | 37 °C | 25 °C | 37 °C | 25 °C | 37 °C | 25 °C | 37 °C |
| Glutaldehyde | ND | ND | ND | ND | ND | ND | <2 | <2 |
| QAC | ND | ND | ND | <2 | <2 | <2 | <2 | 32 |
| Formalin | <2 | <2 | ND | <2 | <2 | <2 | <2 | <2 |
| Phenol | ND | ND | ND | ND | ND | <2 | ND | ND |

หมายเหตุ <2 : ไม่เกิดการจับกลุ่มตกตะกอนของเม็ดเลือดแดง

ND : ไม่ได้ทำการทดสอบเนื่องจากไข่ไก่ฟักที่รอดชีวิตทั้งหมด

**ตารางที่ 4.9** แสดงจำนวนไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิต เนื่องจากการฉีดไข่ไก่ฟักครั้งที่ 2 (secondary inoculation) โดยใช้น้ำไข่ไก่ฟักจากไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิตในการฉีดไข่ไก่ฟักจากตารางที่ 4.5 (n=6)

| ชนิดของน้ำยา | 0 วัน | | 5 วัน | | 7 วัน | | 14 วัน | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ฆ่าเชื้อ | 25 °C | 37 °C | 25 °C | 37 °C | 25 °C | 37 °C | 25 °C | 37 °C |
| Glutaldehyde | 2/6 | 2/6 | 1/6 | 0/6 | ND | ND | 0/6 | ND |
| QAC | ND | ND | 0/6 | 3/6 | 6/6 | 6/6 | 0/6 | ND |
| QAC | ND | ND | 2/6 | 3/6 | ND | 1/6 | 0/6 | ND |
| Formalin | ND | ND | 3/6 | 4/6 | 3/6 | ND | ND | 2/6 |
| Phenol | ND | ND | 6/6 | ND | ND | ND | ND | ND |

หมายเหตุ ND : ไม่ได้ทำการทดสอบเนื่องจากไข่ไก่ฟักที่รอดชีวิตทั้งหมด

**ตารางที่ 4.10** แสดงผลการจับกลุ่มตกตะกอนเม็ดเลือดแดงของไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิตในตารางที่ 4.9

| ชนิดของน้ำยา | 0 วัน | | 5 วัน | | 7 วัน | | 14 วัน | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ฆ่าเชื้อ | 25 °C | 37 °C | 25 °C | 37 °C | 25 °C | 37 °C | 25 °C | 37 °C |
| Glutaldehyde | <2 | <2 | <2 | ND | <2 | ND | ND | ND |
| QAC | ND | ND | ND | 8 | 64 | 8 | ND | ND |
| QAC | ND | ND | 8 | 8 | ND | <2 | ND | ND |
| Formalin | ND | ND | <2 | <2 | <2 | ND | ND | <2 |
| Phenol | ND | ND | <2 | ND | ND | ND | ND | ND |

หมายเหตุ <2 : ไม่เกิดการจับกลุ่มตกตะกอนของเม็ดเลือดแดง

ND : ไม่ได้ทำการทดสอบเนื่องจากไข่ไก่ฟักที่รอดชีวิตทั้งหมด

2.2 การทดสอบความคงทนของเชื้อไวรัสต่ออุณหภูมิต่าง ๆ

จากผลการทดสอบความคงทนของเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซาต่ออุณหภูมิและระยะเวลาต่าง ๆ กัน พบว่าที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 60 นาที เป็นช่วงอุณหภูมิที่ต่ำที่สุดสามารถทำลายเชื้อไวรัสไข้หวัดนกได้ ดังแสดงในตารางที่ 4.11 นอกจากนี้ผลการฉีดไข่ไก่ฟักในครั้งที่ 2 โดยใช้น้ำไข่ไก่ฟักจากไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิตในครั้งแรกพบว่าสอดคล้องกับผลการฉีดไข่ไก่ฟักในครั้งแรก ดังแสดงในตารางที่ 4.12

**ตารางที่ 4.11** แสดงจำนวนของไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิต ภายหลังจากการฉีดเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 55 60 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 10 15 30 45 และ 60 นาที และผลการตกตะกอนเม็ดเลือดแดงของไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิต (n=6)

| ระยะเวลา | จน.ไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิต/จน.ไข่ไก่ฟักทั้งหมด | | | | | ผล HA ของไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิต | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| (นาที) | 55 °C | 60 °C | 65 °C | 70 °C | 75 °C | 55 °C | 60 °C | 65 °C | 70 °C | 75 °C |
| 10 | 6/6 | 6/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 32 | 32 | ND | ND | ND |
| 15 | 6/6 | 6/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 16 | 32 | ND | ND | ND |
| 30 | 6/6 | 6/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 16 | 32 | ND | ND | ND |
| 45 | 6/6 | 6/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 16 | 32 | ND | ND | ND |
| 60 | 2/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | <2 | <2 | ND | ND | ND |

หมายเหตุ ND : ไม่ได้ทำการทดสอบเนื่องจากไม่มีไข่ไก่ฟักเสียชีวิต

<2 : ไม่เกิดการจับกลุ่มตกตะกอนของเม็ดเลือดแดง

**ตารางที่ 4.12** แสดงผลการฉีดไข่ไก่ฟักครั้งที่ 2 (secondary inoculation) โดยใช้น้ำไข่ไก่ฟักจากไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิตและรอดชีวิตจากการฉีดไข่ไก่ฟักครั้งแรกภายหลังจากการทำลายเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา โดยใช้อุณหภูมิ 55 60 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 10 15 30 45 และ 60 นาที (n=6) และผลการทดสอบการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดงของไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิตจากการฉีดไข่ไก่ฟักครั้งที่ 2

| ระยะเวลา | จำนวนไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิต | | | | | ผล HA รวมของไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิต | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| (นาที) | 55 °C | 60 °C | 65 °C | 70 °C | 75 °C | 55 °C | 60 °C | 65 °C | 70 °C | 75 °C |
| 10 | 6 | 6 | ND | ND | ND | 64 | 32 | ND | ND | ND |
| 15 | 6 | 6 | ND | ND | ND | 32 | 32 | ND | ND | ND |
| 30 | 6 | 6 | ND | ND | ND | 32 | 16 | ND | ND | ND |
| 45 | 6 | 6 | ND | ND | ND | 32 | 16 | ND | ND | ND |
| 60 | 6 | ND | ND | ND | ND | 32 | ND | ND | ND | ND |

หมายเหตุ ND : ไม่ได้ทำการทดสอบเนื่องจากไม่มีไข่ไก่ฟักเสียชีวิต

2.3 การทดสอบความคงทนของเชื้อไวรัสต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ

จากผลการทดสอบความคงทนของเชื้อไวรัสไข้หวัดนก ที่สภาพ pH ต่าง ๆ พบว่าสภาพความเป็นกรด-ด่างที่ใช้ในการศึกษานี้ไม่สามารถทำลายเชื้อไวรัสได้ทั้งหมด ดังแสดงในตารางที่ 4.13 นอกจากนี้ผลการฉีดไข่ไก่ฟักในครั้งที่ 2 โดยใช้น้ำไข่ไก่ฟักจากไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิตในครั้งแรก พบว่าสอดคล้องกับผลการฉีดไข่ไก่ฟักในครั้งแรก ดังแสดงในตารางที่ 4.14

**ตารางที่ 4.13** แสดงจำนวนของไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิต ภายหลังจากการฉีดเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซาที่ pH 3 5 7 9 และ 12 เป็นระยะเวลา 5 และ 10 นาทีและผลการตกตะกอนเม็ดเลือดแดงของไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิต (n=6)

| ค่า pH | จน.ไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิต/จน.ไข่ไก่ฟักทั้งหมด | | ผล HA รวมของไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิต | |
|---|---|---|---|---|
| | 5 นาที | 10 นาที | 5 นาที | 10 นาที |
| 3 | 2/6 | 3/6 | 16 | <2 |
| 5 | 6/6 | 6/6 | 8 | 16 |
| 7 | 6/6 | 6/6 | 8 | 16 |
| 9 | 6/6 | 6/6 | 16 | 16 |
| 12 | 4/6 | 4/6 | 64 | 64 |

หมายเหตุ - : ไม่ได้ทำการทดสอบ

<2 : ไม่เกิดการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดง

**ตารางที่ 4.14** แสดงผลการฉีดไข่ไก่ฟักครั้งที่ 2 (secondary inoculation) โดยใช้น้ำไข่ไก่ฟักจากไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิตจากการฉีดไข่ไก่ฟักครั้งแรกภายหลังจากการทำลายเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซาที่ pH 3 5 7 9 และ 12 เป็นระยะเวลา 5 และ 10 นาที (n=6) และผลการทดสอบการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดงของไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิตจากการฉีดไข่ไก่ฟักครั้งที่ 2

| ค่า pH | จน.ไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิต/จน.ไข่ไก่ฟักทั้งหมด | | ผล HA รวมของไข่ไก่ฟักที่เสียชีวิต | |
|---|---|---|---|---|
| | 5 นาที | 10 นาที | 5 นาที | 10 นาที |
| 3 | 6/6 | 6/6 | 8 | <2 |
| 5 | 6/6 | 6/6 | 8 | 32 |
| 7 | 6/6 | 6/6 | 8 | 32 |
| 9 | 6/6 | 6/6 | 8 | 16 |
| 12 | 6/6 | 6/6 | 32 | 16 |

หมายเหตุ - : ไม่ได้ทำการทดสอบ

<2 : ไม่เกิดการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดง