รายงานผลการศึกษาวิจัย

ประจำปีงบประมาณ 2564

ชื่อโครงการวิชาการ เปรียบเทียบการใช้แอนติเจนนิวคาสเซิล สเตรน Lasota เชื้อตาย กับแอนติเจนนิวคาสเซิล สเตรน VG/GA เชื้อเป็น สำหรับตรวจระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสนิวคาสเซิลในซีรัมไก่ปลอดเชื้อเฉพาะ โดยวิธี Haemagglutination Inhibition

ชื่อภาษาอังกฤษ Comparison of Inactivated antigen Lasota strain and live antigen VG/GA strain for Newcastle Disease Virus antibody titer detection in serum Specific Pathogen Free chicken by Haemagglutination Inhibition Test

ผู้รับผิดชอบโครงการ

นางสาวเนตรกมล ยิ้มพิรัตน์ นักวิทยาศาสตร์

หน่วยงานรับผิดชอบ ศูนย์ทดสอบและวิจัยคุณภาพชีววัตถุสำหรับสัตว์ (ศทวช.) 1212 หมู่ 11 ตำบลปากช่อง อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

บทคัดย่อ

เปรียบเทียบการใช้แอนติเจนนิวคาสเซิล สเตรน Lasota เชื้อตาย กับแอนติเจนนิวคาสเซิล สเตรน VG/GA เชื้อเป็น สำหรับตรวจระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสนิวคาสเซิลในซีรัมไก่ปลอดเชื้อเฉพาะ โดยวิธี Haemagglutination Inhibition เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนรวมนิวคาสเซิล และหลอดลมอักเสบติดต่อในไก่ (ND/IB) ชนิดเชื้อเป็นของกรมปศุสัตว์ โดยการหาระดับภูมิคุ้มกันต่อไวรัสนิวคาสเซิลกับตัวอย่างซีรั่มไก่ จำนวน 100 ตัวอย่าง จากผลการทดสอบทางสถิติโดยใช้ Wilcoxon signed-rank test พบว่าแอนติเจนนิวคาสเซิลทั้ง 2 สเตรน มีค่า p-value เท่ากับ 0.46 ซึ่งมากกว่าค่า α ที่ 0.05 แสดงว่าแอนติเจนนิวคาสเซิลทั้ง 2 สเตรนให้ค่าระดับภูมิคุ้มกันแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

key word : Lasota strain, VG/GA strain, Newcastle disease virus, antibody detection

บทนำ

โรคนิวคาสเซิลเกิดจากเชื้อไวรัส Avian paramyxovirus ซีโรไทป์ 1 (APMV-1) ชนิดรุนแรง เป็นโรคติดต่อที่สำคัญในสัตว์ปีก ทำให้มีอาการทางระบบหายใจ ระบบทางเดินอาหาร ระบบสืบพันธุ์ และระบบประสาทในไก่ ซึ่งมีอัตราการตายสูงถึง 100% ในไก่ที่ไม่ได้รับวัคซีน จึงสร้างความเสียหายแก่อุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่เป็นอย่างมาก ประเทศไทยมีการใช้วัคซีนนิวคาสเซิล สเตรน Lasota เชื้อเป็น และประเมินระดับภูมิคุ้มกันหลังสัตว์ได้รับวัคซีนโดยวิธี Haemagglutination Inhibition (HI) ทั้งนี้ ภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสนิวคาสเซิลสามารถเกิดปฏิกิริยาข้ามระหว่างสเตรนได้ (OIE, 2021) การตรวจทางห้องปฏิบัติการจึงสามารถเลือกใช้แอนติเจนที่ต่างกันในการตรวจระดับภูมิคุ้มกัน เช่น Lasota, V4 หรือ VG/GA เป็นต้น โดย ศทวช. ใช้แอนติเจนเชื้อไวรัสโรคนิวคาสเซิลสเตรน VG/GA เชื้อเป็น ในการตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันในซีรัมไก่ปลอดเชื้อเฉพาะ (Specific Pathogen Free chicken, SPF) เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนรวมนิวคาสเซิลและหลอดลมอักเสบติดต่อในไก่ (ND/IB) ชนิดเชื้อเป็น ของกรมปศุสัตว์ ซึ่งการปฏิบัติงานกับไวรัสเชื้อเป็นมีข้อจำกัดหลายประการ โดยเฉพาะการครอบครองเชื้อ และการจัดส่งเชื้อให้แก่หน่วยงานที่เกี่ยวข้องสำหรับการทดสอบฝีมือระหว่างห้องปฏิบัติการ ดังนั้นหากสามารถใช้แอนติเจนนิวคาสเซิลสเตรน Lasota เชื้อตาย จะช่วยลดข้อจำกัดดังกล่าวและสะดวกในการปฏิบัติงานมากขึ้น

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบการใช้แอนติเจนนิวคาสเซิล สเตรน Lasota เชื้อตาย กับแอนติเจนนิวคาสเซิล สเตรน VG/GA เชื้อเป็น สำหรับตรวจระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสนิวคาสเซิลในซีรัมไก่ปลอดเชื้อ

เฉพาะ โดยวิธี Haemagglutination Inhibition เพื่อให้ได้แอนติเจนที่มีประสิทธิภาพสำหรับนำมาใช้ในการตรวจระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสนิวคาสเซิลในซีรั่มไก่ปลอดเชื้อของห้องปฏิบัติการ ศูนย์ทดสอบและวิจัยคุณภาพชีววัตถุสำหรับสัตว์ต่อไป

วัสดุ-อุปกรณ์

1. Erlenmeyer flask 250 ml
2. Glass bottle
3. 96 well plates V bottom
4. Disposable chamber
5. Plastic pipette 1 ml, 5 ml, 10 ml
6. Tip ขนาด 200 µl
7. Pipette aid
8. Multichannel micropipette
9. Single micropipette

สารเคมี

1. Beta-propiolactone (BPL)

เชื้อจุลินทรีย์

1. เชื้อไวรัสนิวคาสเซิล สเตรน Lasota
2. เชื้อไวรัสนิวคาสเซิล สเตรน VG/GA

วิธีการศึกษา

1. เตรียมแอนติเจนนิวคาสเซิล

เตรียมแอนติเจนนิวคาสเซิล 2 สเตรน คือ VG/GA และ Lasota โดยนำแอนติเจนนิวคาสเซิลทั้ง 2 สเตรน ที่มีปริมาณไวรัส 10^7- 10^8 EID_{50} มาเพิ่มปริมาณโดยฉีดเข้าไข่ไก่ฟักปลอดเชื้อ ฟองละ 0.1 มล. จำนวน 10 ฟอง บ่มในตู้ฟักไข่อุณหภูมิ 37$\pm$2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 55-65% ตรวจดูการตายรอดทุกวัน เป็นเวลา 4-7 วัน หากพบไข่ตายนำเข้าตู้เย็นอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส (หากไข่ไก่ฟักตายในวันแรกหลังการฉีดเชื้อ ไม่นำมาใช้) เมื่อครบ 7 วัน เก็บน้ำไข่ และนำไปปั่นที่ 10,000 รอบ 15 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำแอนติเจนส่วนใสมากรองด้วยหัวกรองขนาด 0.45 µm และ 0.2 µm แล้ว inactivate แอนติเจนนิวคาสเซิลสเตรน Lasota ด้วย Beta-propiolactone (BPL) 0.1% ปั่นบนเครื่อง magnetic stirrer เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แบ่งแอนติเจนเก็บใส่ cryotube หลอดละ 1 ml ทดสอบความสมบูรณ์ของการ inactivate โดยนำแอนติเจนนิวคาสเซิลสเตรน Lasota ฉีดเข้าไข่ไก่ฟักปลอดเชื้อ ฟองละ 0.1 มิลลิลิตร จำนวน 5 ฟอง บ่มในตู้ฟักไข่เป็นเวลา 7 วัน เพื่อดูการตายรอด และนำน้ำไข่ไก่ฟักมาทดสอบ HA โดยทำการทดสอบทั้งหมด 3 passages

2. เตรียมซีรัมไก่

เป็นตัวอย่างซีรัมไก่ปลอดเชื้อเฉพาะที่ทำการทดสอบการหาระดับแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสนิวคาสเซิล ในปีงบประมาณ 2561-2563 ของศูนย์ทดสอบและวิจัยคุณภาพชีววัตถุสำหรับสัตว์ โดยคัดเลือกมาทั้งหมด 100 ตัวอย่าง โดยสุ่มเลือกซีรัมจากกลุ่มควบคุมจำนวน 36 ตัวอย่าง และกลุ่มหลังให้วัคซีน จำนวน 64 ตัวอย่าง

3. การตรวจระดับแอนติบอดี โดยวิธี Haemagglutination Inhibition

นำแอนติเจนนิวคาสเซิลสเตรน Lasota เชื้อตายและ VG/GA เชื้อเป็น มาทดสอบหาระดับแอนติบอดีกับตัวอย่างซีรัมไก่ปลอดเชื้อเฉพาะแต่ละตัวโดย

3.1 การทดสอบโดยวิธี HA test เพื่อหาระดับความเข้มข้น 4 HA units ของแอนติเจน

3.1.1 เตรียมเพลท 96 หลุมรูปตัววี เติม PBS ปริมาตร 25 µl ลงในหลุมที่1-12

3.1.2 เติมแอนติเจนนิวคาสเซิล ปริมาตร 25 µl ลงใน หลุมที่ 1 Row A-D

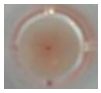
3.1.3 ทำการเจือจางแอนติเจน ลงแบบ two fold dilution จากหลุมที่ 1 ถึงหลุมที่ 11 (หลุมที่ 11 ดูดทิ้ง 25 µl หลุมที่ 12 ไม่เติมแอนติเจน เพื่อเป็นหลุมควบคุมเม็ดเลือดแดงไก่)

3.1.4 เติม PBS ปริมาตร 25 µl จากหลุมที่ 12 ถึงหลุมที่ 1

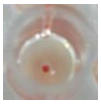
3.1.5 เติมเม็ดเลือดแดงไก่ความเข้มข้น 1% ปริมาตร 25 µl จากหลุมที่ 12 ถึงหลุมที่ 1 ผสมโดยการเคาะเพลทเบาๆแล้วปิดเพลท

3.1.6 บ่มที่อุณหภูมิห้อง 40 นาที

3.1.7 การอ่านผล โดยการอ่านค่าระดับความเข้มข้นของแอนติเจน (HA titer) จากการเกิดตะกอนของเม็ดเลือดแดง (Haemagglutination) ดังภาพ



HA ที่ให้ผลบวก จะเห็นการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงกับแอนติเจน (Agglutination) ในลักษณะกระจายเป็นร่างแหเต็มพื้นที่



HA ที่ให้ผลลบ จะเห็นลักษณะของเม็ดเลือดแดงรวมกันที่ก้นหลุมหรือมีลักษณะคล้ายกระดุม

HA ที่ให้ผลลบ เมื่อเอียงเพลทจะเห็นเม็ดเลือดแดงไหลตามแรงโน้มถ่วง

<u>แสดงตัวอย่างการอ่านค่าระดับความเข้มข้นของแอนติเจน (HA titer)</u>

หลุมที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
HA titer	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	control
แอนติเจน												

จากภาพ อ่านค่าระดับความเข้มข้นของแอนติเจน (HA titer) 1 HA unit เท่ากับ 1:512 และค่า 4 HA units เท่ากับ 1:128

3.2 การเตรียมแอนติเจน เชื้อไวรัสนิวคาสเซิล ให้มีความเข้มข้น 4 HA units

3.2.1 คำนวณหาปริมาณแอนติเจน (1 HA unit) ที่ต้องใช้ผสมกับ PBS สมมติหลุมที่มีค่า 1 HA unit มีค่าความเจือจางของแอนติเจนเท่ากับ 1:512 หาค่าการเจือจางแอนติเจนให้ได้เท่ากับ 4 HA unit นั่นคือ 512/4 = 128 หรือที่ 1:128 ดังนั้นถ้าต้องการเตรียมแอนติเจน 4 HA units ต้องเจือจางแอนติเจนด้วย PBS ในอัตราส่วน 1:128

<u>การคำนวณ</u> ต้องการเตรียม working antigen ปริมาตร 100 ml

ใช้แอนติเจน = 1/128*100

= 0.78 ml

ดังนั้น จะต้องใช้แอนติเจนตั้งต้นปริมาตร 0.78 ml ต่อ PBS 99.22 ml

3.2.2 ทดสอบ Back titration ในเพลท 96 หลุมรูปตัววี

3.2.3 เติม PBS ปริมาณ 25 µl ลงในหลุมที่ 1 ถึง 6 และหลุมที่ 12

3.2.4 เติมแอนติเจน (ที่เตรียมจากข้อ 3.2.1) ปริมาณ 25 µl ในหลุมที่ 1 Row E-H

3.2.5 ทำการเจือจางแอนติเจนลงแบบ two fold dilution จากหลุมที่ 1 ถึงหลุมที่ 6 (หลุมที่ 6 ดูดทิ้ง 25 µl) โดยหลุมที่ 12 เป็นหลุมควบคุมเม็ดเลือดแดงไก่

3.2.6 เติม PBS ปริมาณ 25 µl ในหลุมที่ 12 และหลุมที่ 6 ถึงหลุมที่ 1

3.2.7 เติมเม็ดเลือดแดงไก่ความเข้มข้น 1 % ปริมาณ 25 µl ในหลุมที่ 12 และหลุมที่ 6 ถึงหลุมที่ 1 ผสมโดยการเคาะเพลทเบาๆ

3.2.8 บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 40 นาที

3.2.9 อ่านผล ควรได้ผลการทดสอบเป็น 1:4 หรือ $\log_2$ 2 ดังภาพ

หลุมที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
HA titer	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	control
แอนติเจน												

จากภาพอ่านค่า Back titration ได้เท่ากับ 4 HA units

3.3 การตรวจระดับภูมิคุ้มกันต่อไวรัสนิวคาสเซิล โดยวิธี HI

3.3.1 นำซีรัมควบคุมลบ ซีรัมควบคุมบวก วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง ก่อนการทดสอบอย่างน้อย 30 นาที

3.3.2 เติม PBS ปริมาณ 25 µl ในหลุมที่ 1-11 ของแต่ละแถว หลุมที่ 12 เติม PBS 50 µl

3.3.3 เติมซีรัมควบคุมบวก 25 µl ลงในแถว A1 และ B1

3.3.4 เติมซีรัมควบคุมลบ 25 µl ลงในแถว C1 และ D1

3.3.5 ตั้งแต่แถว E เติมซีรัมตัวอย่าง 25 µl ตามลำดับของซีรัมตัวอย่าง (ตัวอย่างละ 2 หลุม) โดยให้หลุม 12 เป็นหลุมควบคุมเม็ดเลือดแดง

3.3.6 ทำการเจือจางซีรัมลงแบบ two fold dilution จากหลุมที่ 1-11 (หลุมที่ 11 ดูดทิ้ง 25 µl) หลุมที่ 12 เป็นหลุมควบคุมเม็ดเลือดแดง

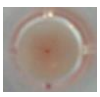
3.3.7 เติมแอนติเจน (ความเข้มข้น 4 HA units ที่ได้เตรียมไว้ในข้อ 3.2.1) ปริมาณ 25 µl ยกเว้นหลุมที่ 12 โดยการเติมให้เริ่มเติมจากหลุมที่ 11 ย้อนกลับไปหลุมที่ 1

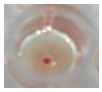
3.3.8 บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที

3.3.9 เติมเม็ดเลือดแดงไก่ความเข้มข้น 1% ปริมาณ 25 µl จากหลุมที่ 12 ถึงหลุมที่ 1 ผสมโดยการเคาะเพลทเบาๆแล้วปิดเพลท

3.3.10 บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 40 นาที

3.3.11 อ่านผลโดยการอ่านค่าระดับความเจือจางของแอนติบอดี (HI titer) ที่ยับยั้งปฏิกิริยา Haemagglutination ของแอนติเจนต่อเชื้อไวรัสนิวคาสเซิลกับเม็ดเลือดแดง


HI ที่ให้ผลบวก เกิดการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงกับแอนติเจน 4 HA units (Agglutination) ในลักษณะกระจายเป็นร่างแหเต็มพื้นที่


HI ที่ให้ผลลบ เม็ดเลือดแดงตกเป็นเม็ดกระดุม เนื่องจากมีแอนติบอดี ไปยับยั้งปฏิกิริยา Haemagglutination ของแอนติเจน 4 HA units กับเม็ดเลือดแดง

HI ที่ให้ผลลบ เมื่อเอียงเพลทจะเห็นเม็ดเลือดแดงไหลตามแรงโน้มถ่วง

แสดงตัวอย่างการอ่านค่าระดับ HI titer

หลุมที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
HI titer	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	control
ซีรั่ม												

จากภาพ แสดงถึงค่าระดับ HI titer เท่ากับ 1:64 ซึ่งบ่งชี้ถึงผลการตรวจแอนติบอดี

ผลการศึกษา

1. การทดสอบการฆ่าเชื้อ

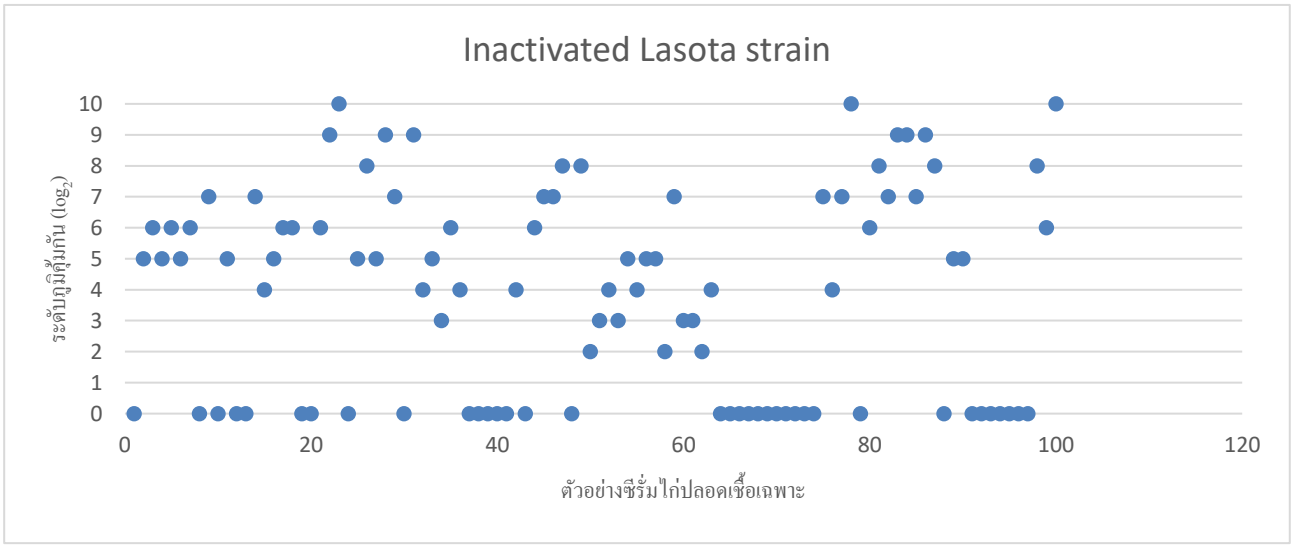
พบว่าแอนติเจนนิวคาสเซิลสเตรน Lasota เมื่อนำมา Inactivate แล้ว ไม่พบการตายของไข่ไก่ฟักและไม่พบการเกิด HA ทั้ง 3 passages

2. การหาระดับแอนติบอดี โดยวิธี Haemagglutination Inhibition

2.1 แอนติเจนนิวคาสเซิลสเตรน Lasota เชื้อตาย

ระดับภูมิคุ้มกันที่ได้ของแอนติเจนนิวคาสเซิลสเตรน Lasota เชื้อตายประกอบด้วยระดับแอนติบอดีที่ <$\log_2$ 1 ถึง $\log_2$ 3 จำนวน 44 ตัวอย่าง ระดับแอนติบอดีที่ $\log_2$ 4 ถึง $\log_2$ 6 จำนวน 29 ตัวอย่าง และระดับแอนติบอดีที่ $\log_2$ 7 ถึง $\log_2$ 10 จำนวน 27 ตัวอย่าง (ดังแสดงในแผนภูมิที่ 1)

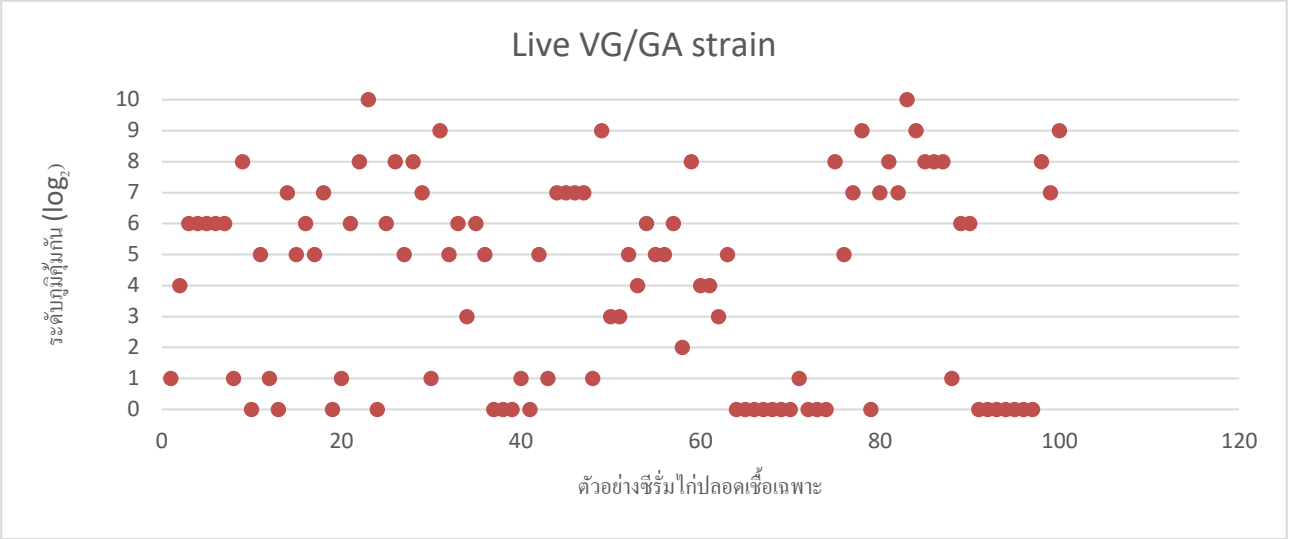
แผนภูมิที่ 1 ระดับภูมิคุ้มกันของแอนติเจนนิวคาสเซิลสเตรน Lasota เชื้อตาย



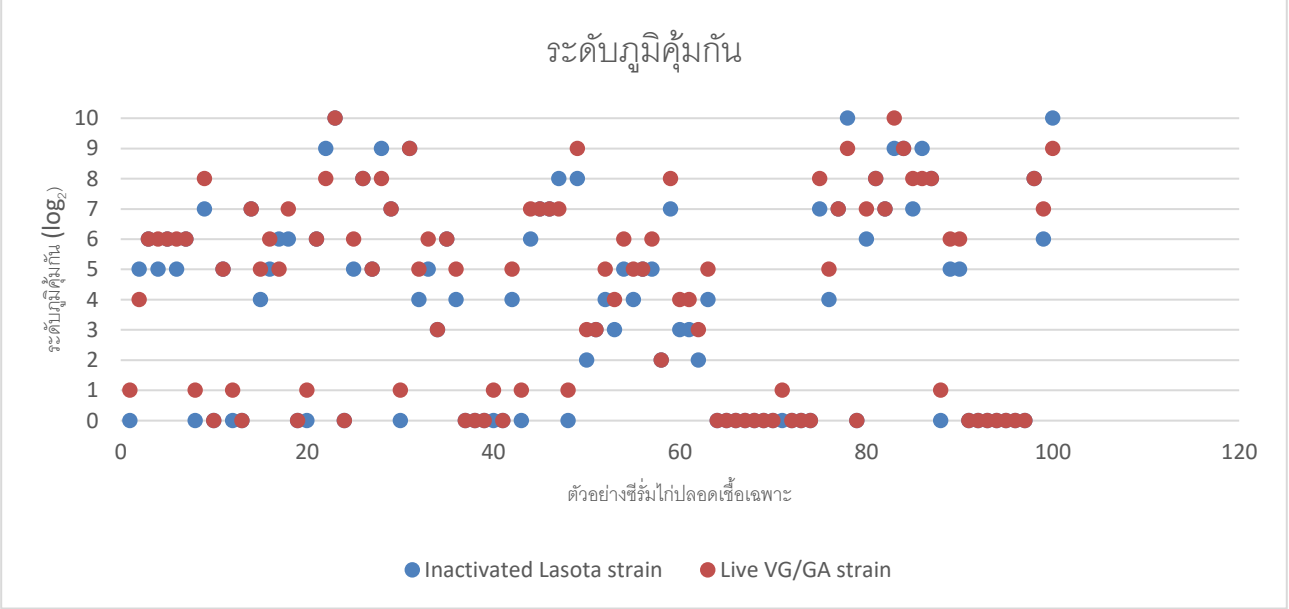
2.2 แอนติเจนนิวคาสเซิลสเตรน VG/GA เชื้อเป็น

ระดับภูมิคุ้มกันที่ได้ของแอนติเจนนิวคาสเซิลสเตรน VG/GA เชื้อเป็น ประกอบด้วยระดับแอนติบอดีที่ <$\log_2$ 1 ถึง $\log_2$ 3 จำนวน 42 ตัวอย่าง ระดับแอนติบอดีที่ $\log_2$ 4 ถึง $\log_2$ 6 จำนวน 27 ตัวอย่าง และระดับแอนติบอดีที่ $\log_2$ 7 ถึง $\log_2$ 10 จำนวน 31 ตัวอย่าง (ดังแสดงในแผนภูมิที่ 2)

แผนภูมิที่ 2 ระดับภูมิคุ้มกันของแอนติเจนนิวคาสเซิลสเตรน VG/GA เชื้อเป็น



แผนภูมิที่ 3 เปรียบเทียบระดับภูมิคุ้มกันของแอนติเจนนิวคาสเซิลสเตรน Lasota เชื้อตายและ VG/GA เชื้อเป็น



เมื่อนำค่าระดับภูมิคุ้มกันของตัวอย่างทดสอบแต่ละตัวอย่าง ที่ได้จากแอนติเจนนิวคาสเซิลสเตรน Lasota เชื้อตายและ สเตรน VG/GA เชื้อเป็นมาเปรียบเทียบกัน พบว่ามีระดับภูมิคุ้มกันที่ไม่แตกต่างกันตามค่าการยอมรับได้ ($\pm 1\log_2$)

2.3 ระดับภูมิคุ้มกันของแอนติเจนนิวคาสเซิลสเตรน Lasota เชื้อตาย และ VG/GA เชื้อเป็น ต่อซีรัมควบคุมบวกและซีรัมควบคุมลบ

ระดับภูมิคุ้มกันของซีรัมควบคุมบวก Lot.01/62, ซีรัมควบคุมลบ Lot.01/62, ซีรัมควบคุมบวก Lot.01/64 และ ซีรัมควบคุมลบ Lot.01/64 ที่ได้จากการทดสอบของแอนติเจนนิวคาสเซิลสเตรน Lasota เชื้อตายและ VG/GA เชื้อเป็น พบว่าระดับภูมิคุ้มกันอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (median$\pm 1\log_2$) ทุกตัวอย่าง (ดังแสดงในตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ระดับภูมิคุ้มกันของแอนติเจนนิวคาสเซิลสเตรน Lasota เชื้อตายและ VG/GA เชื้อเป็น ต่อซีรัมควบคุมบวก และ ซีรัมควบคุมลบ

Label		Inactivated Lasota strain (log_2)	Live VG/GA strain (log_2)	Median (log_2)	Acceptable titer (median $\pm log_2$)
ซีรัมควบคุมบวก 01/62	1	7	7	7	6-8
	2	7	7	7	6-8
	3	6	6	7	6-8
	4	7	7	7	6-8
	5	7	7	7	6-8
ซีรัมควบคุมลบ 01/62	1	0	0	0	0-1
	2	0	0	0	0-1
	3	0	0	0	0-1
	4	0	0	0	0-1
	5	0	0	0	0-1
ซีรัมควบคุมบวก 01/64	1	7	7	7	6-8
	2	7	7	7	6-8
	3	7	7	7	6-8
	4	7	7	7	6-8
	5	7	7	7	6-8
ซีรัมควบคุมลบ 01/64	1	0	0	0	0-1
	2	0	0	0	0-1
	3	0	0	0	0-1
	4	0	0	0	0-1
	5	0	0	0	0-1

หมายเหตุ : ซีรัมควบคุมบวก และ ซีรัมควบคุมลบ Lot. 01/62 หาค่า Median(log_2) จากแอนติเจนนิวคาสเซิลสเตรน VG/GA เชื้อเป็น
ซีรัมควบคุมบวกและ ซีรัมควบคุมลบ Lot. 01/64 หาค่า Median(log_2) จากแอนติเจนนิวคาสเซิลสเตรน Lasota เชื้อตาย

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

จากการทดสอบเชิงปริมาณพบว่าระดับภูมิคุ้มกันของตัวอย่างทดสอบแต่ละตัวอย่างที่ได้จากแอนติเจนนิวคาสเซิลสเตรน Lasota เชื้อตายและ สเตรน VG/GA เชื้อเป็นให้ค่าระดับภูมิคุ้มกันที่ไม่แตกต่างกันตามค่าการยอมรับได้ ($\pm 1 log_2$) และจากการทดสอบเชิงคุณภาพพบว่าระดับภูมิคุ้มกันที่ได้จากแอนติเจนนิวคาสเซิลสเตรน Lasota เชื้อตาย และ สเตรน VG/GA เชื้อเป็น มีตัวอย่างที่แปลผลเป็นบวก (HI titer $\geq$1:16 โดย log_2 16 = 4) และลบ (HI titer <1:16) ตามวิธีการทดสอบ Haemagglutination inhibition (OIE, 2021) ต่างกันอยู่ 3 ตัวอย่างคิดเป็น 3 เปอร์เซ็น เนื่องมาจากซีรั่มทั้ง 3 ตัวอย่าง มีค่าระดับภูมิคุ้มกันอยู่ระหว่างการแปลผลเป็นบวก หรือการแปลผลเป็นลบ

จากการทดสอบทางสถิติโดยใช้ Wilcoxon signed-rank test เพื่อเปรียบเทียบผลของระดับภูมิคุ้มกันที่ได้จากแอนติเจนนิวคาสเซิลทั้ง 2 สเตรนจากตัวอย่างซีรั่ม 100 ตัวอย่าง ได้ค่า p-value เท่ากับ 0.46 ซึ่งมากกว่าค่า α

ที่ 0.05 ดังนั้นแอนติเจนทั้ง 2 สเตรนที่นำมาทดสอบให้ค่าระดับภูมิคุ้มกันแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้นศูนย์ทดสอบและวิจัยคุณภาพชีววัตถุสำหรับสัตว์ จึงพิจารณาใช้แอนติเจนนิวคาสเซิลสเตรน Lasota เชื้อตาย มาทดแทนการใช้แอนติเจนนิวคาสเซิลสเตรน VG/GA เชื้อเป็น สำหรับตรวจระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสนิวคาสเซิลในซีรัมไก่ปลอดเชื้อเฉพาะ โดยวิธี Haemagglutination Inhibition

เอกสารอ้างอิง

World Organization for Animal Health (OIE). (2021). *“Chapter 3.3.14. Newcastle disease (Infection with Newcastle disease virus), version adopted in May 2021.”* https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.14_NEWCASTLE_DIS.pdf

กัลยา บุญหล้า, น้ำเพชร ยอดแสน และสุรีย์รัตน์ แก้วศรีเมือง. (2561). การเปรียบเทียบสถิติทดสอบเมื่อประชากร 2 กลุ่มไม่เป็นอิสระกัน. วารสารวิทยาศาสตรลาดกระบัง. 27 (1):78-87