



การวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการ

ตอน: **ไข่ (ไข่ไก่, ไข่เป็ด, ไข่ฟัก)** **ไข** **ความลับ**

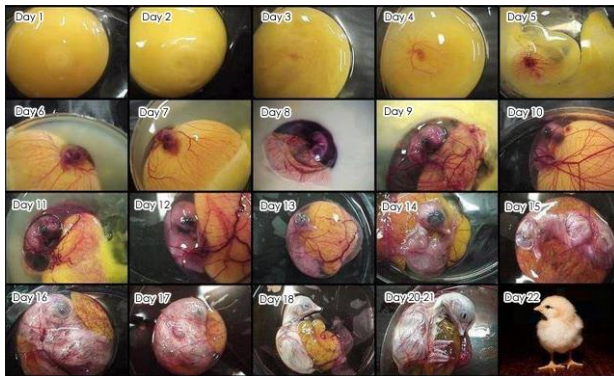
นายสัตวแพทย์นฤพล พร้อมขุนทด

นายสัตวแพทย์เชี่ยวชาญ

ผู้เชี่ยวชาญด้านวิจัยและชันสูตรโรคสัตว์

การตรวจวินิจฉัยโรคในปัจจุบันมีการนำเอาเทคนิคด้านชีวโมเลกุลมาใช้กันอย่างกว้างขวางทำให้การตรวจมีความรวดเร็ว ถูกต้อง แม่นยำ และลดค่าใช้จ่ายในห้องปฏิบัติการได้มาก อย่างไรก็ตามวิธีการตรวจแบบดั้งเดิม (Classical method) ยังมีความจำเป็นโดยเฉพาะห้องปฏิบัติการอ้างอิงหรือห้องปฏิบัติการของรัฐที่ให้บริการตรวจโรคตามวิธีมาตรฐานสากล

การใช้ไข่ฟัก (ไข่ไก่และไข่เป็ด) ยังมีความจำเป็นในการวินิจฉัยโรคในสัตว์ปีกเพราะเป็นโฮสต์ที่เหมาะสมที่เชื้อจุลินทรีย์ (เชื้อไวรัส และแบคทีเรียบางชนิด) สามารถเจริญเติบโตได้ดี อีกทั้งเป็นวิธีมาตรฐานที่ห้องปฏิบัติการทั่วโลกใช้ในการแยกเชื้อ (Isolation) เพิ่มจำนวนเชื้อ (Propagation) และทำให้เชื้อบริสุทธิ์ (Purification) นอกจากนี้ในอุตสาหกรรมการผลิตวัคซีนบางชนิดยังคงมีการใช้ไข่ฟักเพื่อเตรียมเป็นวัคซีนเนื่องจากเตรียมได้เป็นปริมาณมาก

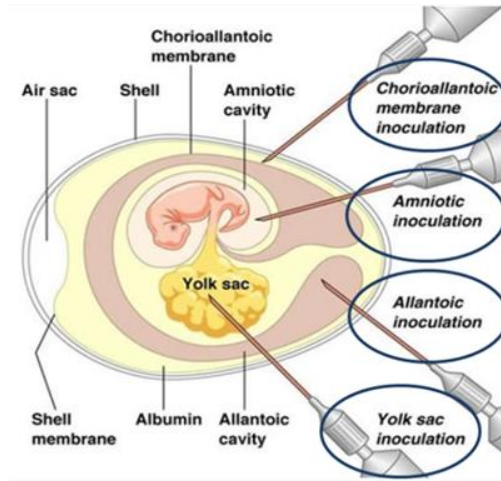


รูปที่ 1
การเจริญของเอ็มบริโอ

ดัดแปลงจาก: <http://mrsanish.weebly.com/blog/chick-egg-incubation> และ <https://www.quora.com/>



รูปที่ 2 แสดงการส่องไข่ฟักสำหรับคัดเชื้อ เปรียบเทียบระหว่างไข่ฟักที่ไม่มีเชื้อ ไม่มีการเจริญของหลอดเลือด (ซ้าย) กับไข่ฟักมีเชื้อ มีการเจริญของหลอดเลือดและการเคลื่อนไหวของเอ็มบริโอ (ขวา)



รูปที่ 3 แสดงวิธีการฉีดตัวอย่างเข้าไขฟักโดยช่องทางต่างๆ

ช่องทางการฉีดตัวอย่างเข้าไขฟัก (Route of egg inoculation)

1. การฉีดตัวอย่างเข้าไขฟักทาง Allantoic cavity (AC)

เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการเพาะแยกเชื้อและเพิ่มจำนวนเชื้อไวรัสมากที่สุด เนื่องจากเชื้อไวรัสส่วนใหญ่เจริญได้ดีใน Allantoic fluid (AF) วิธีนี้มีข้อดีคือ ฉีดง่าย สามารถเก็บตัวอย่าง AF หลังฉีดเชื้อได้จำนวนมาก (8-15 มล.) และนิยมใช้ในการเตรียมวัคซีน เชื้อไวรัสที่เจริญได้ดีใน AF ได้แก่ เชื้อไวรัสโรคนิวคาสเซิล เชื้อไวรัสไขหวัดนก เชื้อไวรัสกัมโบโร เชื้อไวรัสหลอดลมอักเสบติดเชื้อในสัตว์ปีก เชื้อพาร์โวไวรัสในเป็ด เชื้อไวรัสไหลดในเป็ด เชื้อไวรัสตับอักเสบในเป็ด เป็นต้น

2. การฉีดตัวอย่างเข้าไขฟักทาง Chorioallantoic membrane (CAM)

วิธีนี้ใช้สำหรับฉีดตัวอย่างเชื้อไวรัสที่เจริญได้ดีในเนื้อเยื่อ Epithelium ได้แก่ เชื้อไวรัสฝีดาษสัตว์ปีก (Poxvirus) และไวรัสกาฬโรคเป็ด (Herpes virus) โดยการเตรียมเป็น Artificial airsac เพื่อให้ตัวอย่างสามารถเจริญได้บน CAM เชื้อไวรัสในกลุ่ม Poxvirus และ Herpes virus จะให้รอยโรคที่มีลักษณะต่าง ๆ เช่น Foci หรือ Pocks ขนาดต่าง ๆ กัน ที่มองเห็นด้วยตาเปล่า ซึ่งการเกิด Pock 1 อัน จะเกิดจากไวรัส 1 virus Particle สามารถพบการบวมน้ำของ CAM ส่วนรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาอาจตรวจพบ Inclusion bodies นอกจากนี้ยังใช้ในการคำนวณหาปริมาณเชื้อไวรัส (Titration) โดยการนับจำนวน Pocks (Pock forming unit)

3. การฉีดตัวอย่างเข้าไขฟักทาง Yolk sac

เชื้อไวรัสหลายชนิดต้องการเจริญและเพิ่มจำนวนใน Yolk sac เช่น เชื้อไวรัสกาฬโรคเป็ด บางครั้งใช้ฉีดตัวอย่างเชื้อไวรัสเพื่อศึกษากระบวนการทางภูมิคุ้มกันวิทยา สามารถตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันที่ถ่ายทอดจากแม่มาสู่ลูก (Maternal immunity) นอกจากนี้ยังสามารถใช้เพาะแยกเชื้อแบคทีเรียบางกลุ่ม เช่น Chlamydiae และ Rickettsiae

4. การฉีดตัวอย่างเข้าไขฟักทาง amniotic cavity

นิยมใช้แยกเชื้อไวรัสไขหวัดใหญ่เพื่อให้เชื้อไวรัสมีการปรับตัวในโฮสต์ก่อนที่จะผ่านเชื้อไวรัสเข้าทาง AC โดยใช้ไขฟักที่อายุ 7-15 วัน กรณีเชื้อไวรัสที่มีการเจริญเติบโตช้าใช้ระยะเวลาการฟักเขื่อนาน ควรใช้ไขฟักที่มีอายุน้อยลง

หลังจากการเพาะแยกเชื้อจุลชีพในไขฟักแล้วมีความจำเป็นที่ต้องมีการตรวจพิสูจน์หาชนิดของเชื้อ (Identification) เช่น นำ AF ไปทดสอบการจับกลุ่มกับเม็ดเลือดแดงเพื่อพิสูจน์หาเชื้อจุลชีพในกลุ่ม Hemagglutinating agents (เช่น เชื้อไวรัสโรคนิวคาสเซิล เชื้อไวรัสไขหวัดนก และเชื้อไวรัสหลอดลมอักเสบติดเชื้อในสัตว์ปีก) หรือการตรวจหาไวรัสแอนติเจนด้วยวิธี Immunofluorescence วิธี Immunoperoxidase วิธี Immunohistochemistry การตรวจหา Inclusion bodies ของเชื้อไวรัสทางจุลพยาธิวิทยา การตรวจหาอนุภาคของเชื้อไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนจาก CAM รวมถึงการตรวจหาสารพันธุกรรมต่อเชื้อจุลชีพโดยเทคนิคทางชีวโมเลกุลโดยใช้ทั้ง AF และ CAM

ตัวอย่างช่องทางการฉีดเชื้อเข้าไข่ฟักของเชื้อไวรัสต่าง ๆ และรอยโรคที่ตรวจพบ

ช่องทางฉีดเชื้อ	อายุไข่ฟัก (วัน)	ปริมาณที่ฉีด (มล.)	ตัวอย่างเชื้อ	ระยะเวลาการเกิดโรคหลังฉีดเชื้อ (วัน)	การเก็บตัวอย่าง	รอยโรคหลังฉีดเชื้อ	
						เอมบริโอ	CAM
Allantoic cavity	9-11 (ไข่ฟัก)	0.1-0.2	IBV	2-7	AF		
	9-11 (ไข่ฟัก)	0.1-0.2	IBDV	4-6	AF		
	10-14 (ไข่เปิด)	0.1-0.2	GPV/MDPV	5-12	AF		
CAM	9-11	0.1-0.5	Pox	7	CAM		
	9-11	0.1-0.5	ILTV	7	CAM		
	9-14	0.1-0.5	Duck plague	4-6	AF		
Yolk sac	5-8	0.2-1.0	Duck plague	7-14	AF		

AF : allantoic fluid
 CAM : chorioallantoic membrane
 IBV : infectious bronchitis virus (เชื้อไวรัสหลอดลมอักเสบติดเชื้อในสัตว์ปีก)
 IBDV : infectious bursal disease virus (เชื้อไวรัสกัมโบโร)
 GPV/MDPV : goose and Muscovy duck parvovirus (เชื้อพาร์โวไวรัสในเป็ดและห่าน)
 Pox virus : เชื้อไวรัสฝีดาษสัตว์ปีก
 ILTV : infectious laryngotracheitis virus (เชื้อไวรัสกล่องเสียงและหลอดลมอักเสบติดเชื้อในไก่)
 Duck plague : เชื้อไวรัสกาฬโรคเป็ด