การศึกษาความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันและค่าอัตราพันธุกรรมในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดง

นางสาวกีรณา อยู่หัตถ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2552

IMMUNE RESPONSE AND GENETIC INFLUENCE ON INFECTIOUS BURSAL DISEASE IN THAI INDIGENOUS CHICKEN: DANG

Kirana Yoohat

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Animal Production Technology

Suranaree University of Technology

Academic Year 2009

การศึกษาความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันและค่าอัตราพันธุกรรมในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

_____

(รศ. ดร.พงษ์ชาญ ณ ลำปาง)
ประธานกรรมการ

_____

(ผศ. น.สพ. ดร.ภคนิจ คุปพิทยานันท์)
กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

_____

(รศ. ดร.ทัศนีย์ สุโกศล)
กรรมการ

_____

(ผศ. น.สพ. ดร.บัญชร ลิขิตเดชาโรจน์)
กรรมการ

_____

(ศ. ดร.ชูกิจ ลิมปิจำนงค์)
รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

_____

(ผศ. ดร.สุเวทย์ นิงสานนท์)
คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

กีรณา อยู่หัตถ์ : การศึกษาความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันและค่าอัตราพันธุกรรมในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดง (IMMUNE RESPONSE AND GENETIC INFLUENCE ON INFECTIOUS BURSAL DISEASE IN THAI INDIGENOUS CHICKEN : DANG) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.ภคนิจ คุปพิทยานันท์, 99 หน้า

ศึกษาความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (IBD) ในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงเปรียบเทียบกับไก่เนื้อพันธุ์อาเบอร์ เอเคอร์ส (Arbor Acres) โดยใช้แผนการทดลอง Completely Random Design with Repeated Measurement และ Polynomial trend โดยทำการศึกษาอิทธิพลของทรีทเมนต์และอิทธิพลของระยะเวลาที่เปลี่ยนแปลงต่อค่า Antibody titer โดยใช้ไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงจำนวน 100 ตัว และไก่เนื้อพันธุ์อาเบอร์ เอเคอร์ส (Arbor Acres) จำนวน 100 ตัว ที่อายุ 1 วัน ทำการแบ่งไก่ออกเป็น 4 กลุ่มการทดลอง กลุ่มการทดลองละ 5 ซ้ำ โดยแบ่งกลุ่มการทดลองเป็น กลุ่ม A คือไก่แดงที่ไม่ได้ให้วัคซีน IBD จำนวน 50 ตัว, กลุ่ม B คือไก่แดงที่ให้วัคซีน IBD จำนวน 50 ตัว, กลุ่ม C คือไก่เนื้อที่ไม่ได้ให้วัคซีน IBD จำนวน 50 ตัว, และกลุ่ม D คือไก่เนื้อที่ให้วัคซีน IBD จำนวน 50 ตัว โดยทำการทดลองเป็นระยะเวลา 7 สัปดาห์ ภายใต้การจัดการในโรงเรือนระบบปิด ซึ่งในกลุ่ม A และ C (กลุ่มควบคุม) ได้ทำการให้วัคซีนตามโปรแกรมวัคซีนของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์สุราษฎร์ธานี โดยยกเว้นการให้วัคซีน IBD ส่วนในกลุ่ม B และ D ได้ทำการให้วัคซีนตามโปรแกรมวัคซีนของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์สุราษฎร์ธานี โดยให้วัคซีน IBD เชื้อเป็น ที่อายุ 10 วัน ทำการเก็บตัวอย่างเลือดไก่ทุกกลุ่มการทดลองที่อายุ 9, 16, 23, 30, 37, 44, และ 51 วัน จากนั้นนำเลือดไปปั่นแยกเพื่อเก็บซีรั่มโดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และทำการตรวจปริมาณ Antibody (Ab) titer ต่อ IBD ด้วยวิธี ELISA ซึ่งผลการทดลองพบว่า ที่อายุ 9 วัน (ก่อนได้รับวัคซีน) ระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer ต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อของไก่เนื้อสูงกว่าไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) โดยพบค่า Ab titer ที่เปลี่ยนแปลงไปขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาร่วมกัน ($P<0.001$) ระหว่างอิทธิพลของทรีทเมนต์กับอิทธิพลของระยะเวลาที่เปลี่ยนแปลงไปจนถึงสิ้นสุดการทดลอง(ที่อายุ 51 วัน) ซึ่งที่อายุ 16 วัน กลุ่ม B มีค่าเฉลี่ย Ab titer สูงที่สุด (1781.70; $P<0.05$) และรองลงมา คือ กลุ่ม D (1184.00), C (786.70) และ A (82.30) ตามลำดับ ($P<0.05$) ที่อายุ 23 วัน พบว่า หลังจากได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 2 สัปดาห์พบว่าระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer ของกลุ่ม B (3580.30) และ กลุ่ม A (2834.30) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ในส่วนกลุ่ม C (525.40) และ D (563.80) มีค่าเฉลี่ย Ab titer ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ค่าเฉลี่ย Ab titer ในกลุ่ม A และ B มีค่าสูงกว่าค่าเฉลี่ย Ab titer ของกลุ่ม C และ D ($P<0.05$) และ

สัปดาห์ถัดมาที่อายุ 30 วัน หลังจากได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 3 สัปดาห์ พบว่ากลุ่ม C (121.4) และ D (407.40) มีค่าเฉลี่ย Ab titer ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ซึ่งกลุ่ม C และ D มีค่าเฉลี่ย Ab titer ต่ำกว่ากลุ่ม B (5503.60) และ A (4342.50) โดยกลุ่ม B มีค่าเฉลี่ย Ab titer สูงที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม A, C และ D ต่อมาที่อายุ 37 วัน หลังจากได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 4 สัปดาห์ พบว่ากลุ่ม A (6918.00) และ B (6356.00) มีค่าเฉลี่ย Ab titer ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และกลุ่ม C (312.6) และ D (1273.00) มีค่าเฉลี่ย Ab titer ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่พบว่ากลุ่ม A และ B มีระดับค่าเฉลี่ย Ab titer สูงกว่ากลุ่ม D และ C โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ที่อายุ 44 วัน หลังจากได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 5 สัปดาห์ พบว่ากลุ่ม A (8456.00), B (7449.00) และ D (6396.00) มีค่าเฉลี่ย Ab titer ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) กลุ่ม C (4796.00) มีค่าเฉลี่ย Ab titer ต่ำกว่ากลุ่ม A, B และ D โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับกลุ่ม A และ B แต่กลุ่ม C มีค่าเฉลี่ย Ab titerไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) กับกลุ่ม D ที่อายุ 51 วัน หลังจากได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 7 สัปดาห์พบว่ากลุ่ม C (2936.00) และ D (3246.00) ซึ่งเป็นกลุ่มของไก่เนื้อมีระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่มีระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer ของกลุ่ม C และ D แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับกลุ่ม A (11434.00) และ B (7960.00) ทั้งนี้กลุ่ม A มีระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับกลุ่ม B โดยพบว่ากลุ่ม A มีระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบทั้ง 4 กลุ่มการทดลอง และศึกษาถึงความคุมโรคพบว่าที่อายุ 30 วัน ไก่พื้นเมืองสายพันธุ์แดงกลุ่ม A และ B มีความสามารถคุมโรคได้ 100% จนกระทั่งสิ้นสุดระยะเวลาการทดลอง แต่ในไก่เนื้อมีระยะเวลาในการคุมโรคประมาณ 2 สัปดาห์ โดยหลังจาก 2 สัปดาห์ระดับของภูมิคุ้มกันลดลง สรุปได้ว่าไก่พื้นเมืองสายพันธุ์แดงมีความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อได้ดีกว่าไก่เนื้อ ซึ่งความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อนี้อาจจะมีอิทธิพลเนื่องจากพันธุกรรมเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย

จากการศึกษาหาค่าอัตราพันธุกรรมของการสร้างภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ โดยจัดกลุ่มการทดลองเพื่อให้ไก่จะได้รับวัคซีนตามโปรแกรมที่กำหนดของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์สุราษฎร์ธานี จำนวน 338 ตัว อยู่ในสภาพแวดล้อมภายในโรงเรือนระบบปิด โดยนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าอัตราพันธุกรรมโดยใช้ โปรแกรมสำเร็จรูป BLUPF90-Chicken PAK ซึ่งผลการเก็บตัวอย่างซีรั่มในไก่อายุ 51 วัน ซึ่งเป็นสัปดาห์ที่มีระดับ Ab titer สูงที่สุด พบว่าความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันต่อ

โรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อโดยทำการวัดโดยใช้ค่า Ab titer ในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์แดงอยู่ภายใต้อิทธิพลของพันธุกรรมเท่ากับ 0.032 ± 0.024 แสดงให้เห็นว่าอิทธิพลของพันธุกรรมแบบบวกสะสม (additive gene effect) มีส่วนเกี่ยวข้องกับลักษณะการตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อประมาณ 3.2% ดังนั้นการคัดเลือกควรเน้นการจัดการทางด้านสภาพแวดล้อมในด้านต่างๆ จะส่งผลต่อลักษณะการสร้างภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ดียิ่งขึ้น

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ ลายมือชื่อนักศึกษา_____
ปีการศึกษา 2552 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____

KIRANA YOOHAT : IMMUNE RESPONSE AND GENETIC INFLUENCE ON INFECTIOUS BURSAL DISEASE IN THAI INDIGENOUS CHICKEN : DANG. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. PAKANIT KUPITTAYANANT, Ph. D. (DVM), 99 PP.

ANITIBODY TITERS/THAI INDIGENOUS CHICKEN/DANG CHICKEN/ HERITABILITY/INFECTIOUS BURSAL DISEASE

The immune responsiveness against infectious bursal disease (IBD) vaccination and non-vaccination in Thai Indigenous (Dang) chickens (DC) line was investigated and the results were compared with Arbor Acres broiler chickens (BC) line. The experiments were conducted using Completely Random Design with Repeated Measurement and Polynomial Trend. Interaction between treatment and time effects on antibody titer was observed. One-day-old DC and BC were randomly allocated into four treatments referred to as A, B, C, and D. Each treatment has 5 replications. Group A consisted of 50 chickens (DC without IBD vaccination). Group B consisted of 50 chickens (DC with IBD vaccination). Group C possessed 50 chickens (BC without IBD vaccination). Group D possessed 50 chickens (BC with IBD vaccination). They were reared for 7 weeks under standard commercial broiler management in evaporative cooling system. Group A and C (control groups) were subjected to vaccination according to Suratthani Livestock Research and Breeding Center program except IBD vaccine. Group B and D were subjected to IBD live attenuated vaccination according to Suratthani Livestock Research and Breeding Center program on the 10^{th} day of age. Blood samples were collected on the 9th, 16th, 23rd, 30th, 37th, 44th and 51st days of age from both non-vaccinated and vaccinated groups. The sera were stored at -20 °C

until being tested. ELISA was used for the detection of antibody against IBD. A significant ($P<0.05$) high of maternally derived antibody (Ab) titer was observed in BC compared with DC on the 9th day of age (pre-vaccination). Ab titers were ($P<0.001$) affected by the interaction between treatment and timing until the experiment was finished (51st day). On the 16th day (1 week after vaccination), group B generated higher (1781.70; $P<0.05$) Ab titer than group D (1184.00), C (786.70), and A (82.30). On 23rd day (2 weeks after vaccination), group B (3580.3), and A generated higher ($P<0.05$) Ab titer than group D (563.80), and C (525.4). On the 30th day (3 weeks after vaccination), group B (5503.60) generated higher ($P<0.05$) Ab titer than group A (4342.50), D (407.4), and C (121.40). On the 37th day (4 weeks after vaccination), Ab titers among group A (6918.00) and B (6356.00) were not significantly different. They were higher ($P<0.05$) than group D (1273.00) and C (312.6). Ab titers among group A (8456.00), B (7449.00), and D (6396.00) were not significantly different, either. Likewise, Ab titers between group D (6396.00) and C (4796.00) were not significantly different. However, group A and B generated higher ($P<0.05$) Ab titers than group C in the 5th week after vaccination (44th day). On the 51st day (6 weeks after vaccination), Ab titers between group D (3246.00) and C (2936.00) were not significantly different. But Ab titers between group A (11434.00) and B (7960.00) were significantly different. However, group A generated higher ($P<0.05$) Ab titers than group B, D, and C. In addition, Ab titers against IBD in group A and B persisted (100%) until the end of the experiment but in group C and D they declined within 2 weeks. The results from this experiment indicated that DC vaccinated with IBD vaccine showed higher Ab titers compared with that of either vaccinated or non-vaccinated BC. The results also suggested that genetics could influence immunity development against IBD.

To determine heritability of IBD immune response trait, another 338 chicken (DC) were vaccinated in the same way as mentioned above. The antibody response was measured on the 51st day of age. Heritability estimation of immunity development against IBD in DC was 0.032 ± 0.024. These indicated that an improvement of the immune response trait would be slow due to low heritability and high standard error. Therefore, prevention and control of IBD should be considered by improving management and vaccination program rather than using selection process.

School of Animal Production Technology Student's Signature _____

Academic Year 2009 Advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature_____

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ อาจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.ภคนิจ คุปพิทยานันท์ ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้คำปรึกษาและแนวคิดที่เป็นประโยชน์ทั้งในด้านวิชาการและด้านการดำเนินการวิจัย ตลอดจนคำแนะนำในการเขียนตรวจแก้วิทยานิพนธ์และสนับสนุนค่าใช้จ่ายต่างๆในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ทัศนีย์ สุโกศล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการเขียนและตรวจแก้วิทยานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.พงษ์ชาญ ณ ลำปาง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.บัญชร ลิขิตเดชาโรจน์ รองศาสตราจารย์ ดร.มนต์ชัย ดวงจินดา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร.ศจีรา คุปพิทยานันท์ อาจารย์ ดร.อมรรัตน์ โมพี ที่กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำต่างๆ ที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการเขียนวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สกว.) ชุดโครงการ การสนับสนุนการวิจัยและพัฒนานักวิจัยด้านการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ปีก และ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่สนับสนุนทุนในการทำวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่บุคลากรประจำอาคารเครื่องมือ 3 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ให้ความช่วยเหลือในการใช้อุปกรณ์ และเครื่องมือต่างๆ ในการทำวิจัย และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์สุราษฎร์ธานีที่ให้ความช่วยเหลือในการใช้อุปกรณ์, เครื่องมือ และสถานที่ รวมทั้งให้ความอนุเคราะห์สัตว์ทดลอง

ขอขอบคุณ คุณจตุพร คูณแก้ว คุณบังอร บำรุงพงษ์ คุณนิชนันท์ ชูเกิด คุณคีญาภัทร์ กองร้อย คุณกาญจนา ปัญญาไว คุณภาคภูมิ เสาวภาคย์ คุณวลัยลักษณ์ แก้ววงษา คุณกุณฑลี ร่างน้อย คุณณรงค์เดช วงศ์ดี คุณวิจิตรา กลิ่นเจริญ คุณสุวิสา พรานไพร คุณเมฆ ขวัญแก้ว คุณอัจฉรา อินทำนุ เพื่อนๆ และน้องๆ ที่ร่วมเรียนระดับบัณฑิตศึกษาทุกคน ตลอดจนน้องๆ ที่เรียนระดับปริญญาตรีสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยและกำลังใจอย่างดีเสมอมา

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา และน้องสาว ครอบครัวอยู่หัตถ์ ที่ให้การอบรมเลี้ยงดูส่งเสริมการศึกษาเป็นอย่างดีมาโดยตลอด ทำให้ข้าพเจ้ามีความรู้ความสามารถ มีจิตใจที่เข็มแข็งและช่วยเหลือตัวเองได้จนประสบความสำเร็จในชีวิตตลอดมา

กีรณา อยู่หัตถ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย) ..... ก

บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ) ..... ง

กิตติกรรมประกาศ ..... ช

สารบัญ ..... ซ

สารบัญตาราง ..... ฎ

สารบัญภาพ ..... ฐ

บทที่

1 บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 3

1.3 สมมติฐานของการวิจัย 3

1.4 ขอบเขตของงานวิจัย 3

1.5 ประโยชน์ที่จะได้รับจากงานวิจัย 3

1.6 รายการอ้างอิง 4

2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 6

2.1 บทนำ 6

2.2 โรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ หรือกัมโบโร 6

2.2.1 ประวัติ 6

2.2.2 สาเหตุการเกิด 7

2.2.3 การติดต่อ 7

2.2.4 ระยะฟักตัว 8

2.2.5 พยาธิกำเนิด 8

2.2.6 กลุ่มอาการ 8

2.2.7 รอยโรค 9

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.3 ภูมิคุ้มกันโรคในสัตว์ปีก 12
2.3.1 กายวิภาคของระบบภูมิคุ้มกัน (Anatomy of the immune system) 13
2.3.2 ลักษณะทั่วไปของระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ปีก (General features of the immune system) 13
2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างภูมิคุ้มกัน 17
2.4.1 ภูมิคุ้มกันจากแม่ (Maternal immunity) 17
2.4.2 พันธุกรรม 21
2.5 อัตราพันธุกรรมของการตอบสนองต่อการสร้างภูมิคุ้มกันในไก่ 25
2.6 ไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดง 26
2.7 การต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองและไก่เนื้อและสภาวะการเกิดโรคในไก่พื้นเมือง 27
2.8 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) 31
2.9 วิธี ELISA ในการตรวจสอบภูมิคุ้มกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 33
2.9.1 การตรวจวัดระดับภูมิคุ้มกันด้านสารน้ำ (humoral immunity) ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (infectious bursal disease) 33
2.9.2 ไตเตอร์ 34
2.10 รายการอ้างอิง 35
3 การศึกษาความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงและไก่เนื้อที่เลี้ยงเชิงการค้า 41
3.1 บทคัดย่อ 41
3.2 บทนำ 43
3.3 วัตถุประสงค์ 44
3.4 วิธีดำเนินการวิจัย 44
3.4.1 สัตว์ทดลอง 44
3.4.2 การเก็บตัวอย่างและการเตรียมซีรั่ม 46
3.4.3 การตรวจวิเคราะห์หาระดับภูมิคุ้มกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 48

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4.4 การคำนวณหาค่า การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (Titer) 50
3.4.5 การแปลผล 51
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 51
3.6 ผลการทดลอง 51
3.7 วิจารณ์ผลการทดลอง 59
3.8 สรุปผลการทดลอง 66
3.9 รายการอ้างอิง 66
4 การศึกษาหาค่าอัตราพันธุกรรมของการสร้างภูมิคุ้มกันในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 69
4.1 บทคัดย่อ 69
4.2 บทนำ 70
4.3 วัตถุประสงค์ 71
4.4 วิธีดำเนินการวิจัย 71
4.4.1 สัตว์ทดลอง 71
4.4.2 การเก็บตัวอย่างและการเตรียมซีรั่ม 72
4.4.3 การตรวจวิเคราะห์หาระดับภูมิคุ้มกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 73
4.4.4 การคำนวณหาค่า การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (Titer) 75
4.4.5 การแปลผล 76
4.5 การวิเคราะห์ข้อมูล 77
4.6 ผลการทดลอง 78
4.7 วิจารณ์ผลการทดลอง 79
4.8 สรุปผลการทดลอง 81
4.9 รายการอ้างอิง 81
5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ 83

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

5.1 บทสรุป 83
5.2 ข้อเสนอแนะ 84
5.3 รายการอ้างอิง 85
ภาคผนวก
ภาคผนวก ก ข้อมูลพันธุ์ประวัติ 86
ประวัติผู้เขียน 99

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 ความคงทน (persistence) ของระดับภูมิคุ้มกันจากแม่ (MDA) ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อของลูกไก่เนื้อ 19

2.2 ความคงทน (persistence) ของ MDA ในลูกไก่เนื้อ ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 20

2.3 โรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสในไก่พื้นเมืองของต่างประเทศที่สำคัญและช่วงอายุที่มักพบการเกิดโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส 28

2.4 อัตราการตายของไก่พื้นเมืองและไก่เนื้อที่เลี้ยงเชิงการค้าที่ได้รับเชื้อ Infectious bursal disease virus 29

2.5 ค่าเฉลี่ยระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ โดยทำการวัดจากแม่ไก่ไข่แดง และลูกไก่ 30

3.1 การจัดกลุ่มทดลองในการศึกษาที่ 1 45

3.2 โปรแกรมการให้วัคซีนป้องกันโรคในไก่พื้นเมือง ในศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์จังหวัดสุราษฎร์ธานี 46

3.3 ค่าเฉลี่ยระดับ Ab titer ± standard error ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงและไก่เนื้อ 54

3.4 ค่าเฉลี่ย Ab titer ของการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์แดง และไก่เนื้อ และการทดสอบ Polynomial trend 54

3.5 จำนวน serum samples ของไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงและไก่เนื้อพันธุ์อาเบอร์เอเคอร์ส ที่มีภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 58

4.1 โปรแกรมการให้วัคซีนป้องกันโรคในไก่พื้นเมือง ของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์จังหวัดสุราษฎร์ธานี 71

4.2 ค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำ (Ab titer) ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อของไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดง 75

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 รอยโรคที่ชัดเจน คือ สภาพเลือดออกตามกล้ามเนื้อ บริเวณต่อมเบอร์ซ่ามีเมือกหุ้ม มีสภาพเลือดออก ไตบวมซีด และมีสารยูเรตคั่ง 10

2.2 ซากไก่มีสภาพขาดน้ำ กล้ามเนื้อมีสีเข้ม มีเลือดออกทั่วไปตามกล้ามเนื้อ ซึ่งเห็นชัดที่กล้ามเนื้ออกและกล้ามเนื้อขา 10

2.3 ต่อมเบอร์ซ่ามีการอักเสบบวมโตและมีร่องรอยของการตกเลือดมี Gelatinous คลุมอยู่บางต่อมพบหนองอยู่ภายใน 11

2.4 ลักษณะภายในของต่อมเบอร์ซ่า เปรียบเทียบและลักษณะ กลีบของต่อมปกติ (ซ้าย) และต่อมที่ฝ่อจากการเป็นโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (ขวา) 11

2.5 รอยโรคที่ต่อมเบอร์ซ่าของไก่บางฝูง เป็นลักษณะรอยโรคแบบไม่แสดงอาการ ซึ่งต่อมเบอร์ซ่ามีขนาดเล็กลง มีถุงวุ้นหุ้ม มีสีค่อนข้างเหลืองเนื่องจากเนื้อตาย เทียบกับต่อมปกติ (ด้านขวาสุด) 12

2.6 ต่อมเบอร์ซ่าของไก่ที่หายจากการป่วยเป็นโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ มีลักษณะฝ่อเล็กลง (แถวล่าง) บางต่อมยังคงมีหนองอยู่ภายใน (แถวล่างขวาสุด) เปรียบเทียบกับไก่ที่ ปกติที่อายุเท่ากัน (แถวบน) 12

2.7 กลไกการตอบสนองและการป้องกันตัวจากเชื้อโรคในสัตว์ปีก 14

2.8 โครงสร้างของอิมมูโนโกลบูลินในสัตว์ปีก และในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม 16

2.9 การส่งผ่านของ IgG จากแม่ไก่ไปสู่ลูกไก่ 18

2.10 แผนภาพระดับของ MDA ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในลูกไก่เนื้อ 19

2.11 แผนภาพปริมาณการแสดงออกของ chemoattractant gene ในไก่ที่ได้รับเชื้อ *Salmonella enteritidis* 23

2.12 แผนภาพปริมาณการแสดงออกของ anti-infectious cytokine gene ในไก่ที่ได้รับเชื้อ *Salmonella enteritidis* 24

2.13 ไก่พื้นเมืองพันธุ์แดงเพศผู้ และเพศเมีย 27

2.14 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) 33

3.1 วิธีการเจาะเลือดที่ บริเวณปีก (wing vein) 47

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

3.2 ลักษณะของ ELISA Plate 49
3.3 แผนภาพค่าเฉลี่ย Ab titer ของการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์แดงและไก่เนื้อในกลุ่มที่รับและไม่ได้รับวัคซีนใน ช่วงอายุ 9, 16, 23, 30, 37, 44 และ 51 วัน 55
4.1 วิธีการเจาะเลือดที่ บริเวณปีก (wing vein) 72
4.2 ลักษณะของ ELISA Plate 74

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การเลี้ยงไก่พื้นเมืองมีกันอยู่ทั่ว ๆ ไปในชนบท โดยเป็นการเลี้ยงไก่ที่ไม่ใช่ทั้งอาชีพหลักและอาชีพรอง แต่เป็นการเลี้ยงเพื่อไว้สำหรับบริโภคไข่ หรือเอาไว้เพื่อบริโภคเนื้อในยามขาดแคลนหรือต้องการ นอกจากนั้นบางรายก็เลี้ยงเอาไว้ใต้ถุนบ้าน โดยปล่อยให้ไก่หาอาหารกินเองตามธรรมชาติ ในปัจจุบันความต้องการบริโภคไก่พื้นเมืองมีเพิ่มมากขึ้น ทำให้การเลี้ยงไก่พื้นเมืองได้ขยายมาเป็นการเลี้ยงในเชิงพาณิชย์มากขึ้น เนื่องมาจากเมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงไก่เนื้อแล้ว ไก่พื้นเมืองเป็นไก่ที่เลี้ยงง่าย มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมในประเทศไทยได้ดี เหมาะกับเกษตรกรที่ไม่มีความรู้ความชำนาญมาก่อน ประกอบกับความนิยมของผู้บริโภคไก่พื้นเมืองที่มีสูงขึ้นและเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เนื่องจากไก่พื้นเมืองมีรสชาดดี เนื้อแน่น โดยเฉพาะเมื่ออายุประมาณ 5 เดือน จะมีรสชาดดีและราคาไก่พื้นเมืองจะสูงกว่าไก่เนื้อประมาณ 2 เท่า และยิ่งในช่วงเทศกาลต่าง ๆ เช่น ตรุษจีน ปีใหม่ ราคาไก่พื้นเมืองจะสูงขึ้นมาก เพราะไก่พื้นเมืองมีรสชาดที่อร่อย ซึ่งเป็นคุณสมบัติของไก่พื้นเมืองโดยเฉพาะ และนอกจากนี้ความนิยมบริโภคไก่พื้นเมืองนั้นจะมีปริมาณที่สูงตลอดปี (สุพจน์ รอดดำเนิน, 2542) ไก่พื้นเมืองไทยจึงมีบทบาทในการเสริมสร้างเศรษฐกิจซึ่งเป็นรากฐานของประเทศเป็นอย่างมาก และค่าใช้จ่ายในการลงทุนเพื่อเลี้ยงไก่พื้นเมืองจึงใช้น้อย ด้วยเหตุนี้เกษตรกรจึงหันมาเลี้ยงทั้งไก่พื้นเมืองและไก่พื้นเมืองลูกผสมเพื่อสร้างรายได้ให้สูงขึ้นหรือสามารถขยายการผลิตไก่พื้นเมืองสู่ตลาดทั้งภายในและต่างประเทศต่อไป

ซึ่งการที่จะมีการพัฒนาไก่พื้นเมืองที่มีอยู่ในประเทศให้เข้าสู่การผลิตเชิงพาณิชย์นั้นจำเป็นต้องมีการศึกษาไก่พื้นเมืองในหลาย ๆ ด้านในปัจจุบันการคัดเลือกลักษณะที่ดีของไก่จะไม่เพียงแต่ต้องคำนึงถึง ไก่ที่มีการเจริญเติบโตเร็ว การให้ผลผลิตสูง มีความสามารถในการใช้อาหารได้ดีเท่านั้น เนื่องจากสภาวะแวดล้อมในปัจจุบันมีปัจจัยที่ก่อให้เกิดโรคและมีการแพร่กระจายของโรคระบาดเพิ่มมากขึ้น จึงเป็นเหตุที่ทำให้ผู้เลี้ยงไก่ต้องหันมาให้ความสนใจในเรื่องของความสามารถในการต้านทานโรคของไก่เพิ่มมากขึ้น เพื่อเป็นการลดโอกาสในการสูญเสียผลผลิตอันเนื่องมาจากการเกิดโรคได้ ซึ่งโรคระบาดที่มีโอกาสที่จะสูญเสียผลผลิตอย่างมากที่เกิดขึ้นในอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่โรคหนึ่ง คือโรคกัมโบโร หรือโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (Gumboro, Infectious bursal disease: IBD) สาเหตุ เกิดจากเชื้อไวรัส เป็นโรคที่ติดต่อรวดเร็วและรุนแรงทำความเสียหายให้แก่ฝูง

ไก่เนื่องจากมีผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายของสัตว์ โดยเชื้อไวรัสจะเข้าไปทำลายต่อมเบอร์ซ่า (bursa of fabricious) และต่อมไทมัส (thymus) ทำให้เกิดความล้มเหลวในการสร้างภูมิคุ้มกัน (Muller, Islam, and Raue, 2003) เป็นโรคติดต่อที่สำคัญในลูกไก่อายุ 3-6 สัปดาห์ ถ้ามีการติดเชื้อในลูกไก่อายุต่ำกว่า 2 สัปดาห์ จะไม่แสดงอาการป่วยให้เห็น แต่ทำให้ระบบการสร้างภูมิคุ้มกันโรคบกพร่อง ซึ่งการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคจะพบที่แถบทวีปแอฟริกา ทวีปเอเชียและอเมริกาใต้ (Ikuta et al., 2001) แต่ในไก่พื้นเมืองกลับพบว่ามีปัญหาทางด้านโรคที่สำคัญ ได้แก่ โรคนิวคาสเซิล โรคหลอดลมอักเสบ โรคอหิวาต์ โรคฝีดาษ นอกจากนี้ยังมีโรคพยาธิต่าง ๆ ทั้งพยาธิภายนอก เช่น เหา ไร หมัด และพยาธิภายใน เช่น พยาธิไส้เดือน พยาธิตัวแบน พยาธินัยน์ตาไก่ (งานสัตว์ปีก ฝ่ายส่งเสริม กองส่งเสริมการปศุสัตว์, www, 1998) จึงเป็นที่น่าสนใจว่าเหตุใดจึงไม่พบการเป็นโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมือง เพื่อศึกษาถึงความสามารถในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมือง

ซึ่งปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันว่าพันธุกรรมมีบทบาทในการควบคุมความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อซึ่งลักษณะความสามารถดังกล่าวถูกควบคุมโดยกลุ่มของยีนซึ่งเป็นยีนที่ควบคุมความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันชนิดอื่น ๆ ด้วย ซึ่งยีนดังกล่าวได้แก่ MHC หรือ major histocompatibility gene complex ซึ่งเป็นยีนศูนย์กลางที่แสดงบทบาทในการทำหน้าที่เกี่ยวกับภูมิคุ้มกันและการต้านทานโรคทั้งหมด (Warner, Muker, and Rothschild, 1987) แม้ว่าสิ่งแวดล้อมจะเข้ามามีอิทธิพลเกี่ยวข้องด้วย แต่ความสามารถในการต้านทานโรคก็ยังอยู่ภายใต้อิทธิพลของพันธุกรรมเหมือนกัน ดังนั้นการคัดเลือกพันธุ์สัตว์เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่อาจช่วยพัฒนาและปรับปรุงให้สัตว์มีการสร้างภูมิคุ้มกันโรคและช่วยในการเพิ่มจำนวนสัตว์ที่มีความสามารถในด้านการต้านทานโรคได้เพิ่มขึ้น ซึ่งจะได้ผลดีมากขึ้นถ้ามีการปรับปรุงในเรื่องของสภาพแวดล้อมตามไปด้วยเช่นการจัดการโปรแกรมการให้วัคซีนและยา ซึ่งจะมีส่วนช่วยในการกระตุ้นให้ปฏิกิริยาของพันธุกรรมที่แอบแฝงอยู่ในตัวสัตว์แสดงออกมา เป็นการช่วยให้เกิดการป้องกันโรคได้ดีขึ้น พร้อมทั้งทำให้เกิดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันโรคและสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดให้เห็นถึงความสามารถในการต้านทานโรคได้ (Biozzi, Siqueira, and Stiffel, 1980; Buschmann, 1982; Gavora and Spencer, 1983; Buschmann, Krausslich, Hermann, Meyer, and Kleinschmidt, 1985)

ดังนั้นในการศึกษานี้เพื่อต้องการทราบถึงความสามารถในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองพันธุ์แดงและไก่เนื้อที่เลี้ยงเชิงการค้า โดยดูจากระดับการสร้างภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำ และศึกษาถึงค่าอัตราพันธุกรรมที่มีผลต่อความสามารถในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองพันธุ์แดง ซึ่งได้นำวิธีการ Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Alam, Rahman, Sil, Khan, Giasuddin, and Sarker, 2002) มาใช้ในการวัดปริมาณภูมิคุ้มกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อทางด้านสารน้ำ เนื่องจากวิธีการดังกล่าวสามารถวัดได้

ละเอียด แม่นยำ รวดเร็ว และสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้เป็นจำนวนมาก เพื่อที่จะได้ข้อมูลในการนำมาใช้พัฒนาการเลี้ยงไก่พื้นเมืองต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1. เพื่อศึกษาความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรค IBD ในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์แดง ในด้านภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำ (humoral immunity)

1.2.2. เพื่อประมาณค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะการสร้างภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรค IBD ในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดง

1.3 สมมติฐานของงานวิจัย

1.3.1. ไก่พื้นเมืองพันธุ์แดงมีความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อได้ดี โดยสามารถสร้างภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำ ในระดับสูงจนทำให้สามารถป้องกันการเกิดการระบาดของโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่แดงได้

1.3.2. ลักษณะการสร้างภูมิคุ้มกันทางสารน้ำ (Antibody) ที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรค IBD ในไก่พื้นเมืองพันธุ์แดง จะเป็นลักษณะที่มีความแปรปรวนเนื่องจากพันธุกรรมแบบบวกสะสมสูง และความแปรปรวนของลักษณะนี้เป็นผลมาจากพันธุกรรมมากกว่าสิ่งแวดล้อม

1.4 ขอบเขตของงานวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ได้มุ่งเน้นที่จะศึกษาถึงการสร้างภูมิคุ้มกันและอัตราพันธุกรรมของลักษณะการสร้างภูมิคุ้มกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองพันธุ์แดง ภายใต้สภาวะการเลี้ยงในระบบปิด ภายในฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (จังหวัดนครราชสีมา) โดยศึกษาถึงผลจากการให้วัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อเชื้อเป็นด้วยการหาระดับของการสร้างภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อและค่าอัตราพันธุกรรมของการสร้างภูมิคุ้มกันในไก่พื้นเมืองพันธุ์แดง โดยคำนวณจากค่าภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำ (Antibody titer) เท่านั้น

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

1.5.1. ทราบถึงความสามารถในการตอบสนองของภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (infectious bursal disease)ในไก่พื้นเมืองพันธุ์แดง เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการจัดการและการพัฒนาสายพันธุ์

1.5.2. ทราบถึงค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลในการวางแผนการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ เพื่อพัฒนาพันธุ์สัตว์ ให้มีลักษณะที่ต้านทานโรคต่อไป

1.6 รายการอ้างอิง

งานสัตว์ปีก ฝ่ายส่งเสริม กองส่งเสริมการปศุสัตว์ กองปศุสัตว์สัมพันธ์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (1998). **การเลี้ยงและการควบคุมโรคไก่พื้นเมือง** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.doae.go.th/LIBRARY/html/detail/hen/hen9.htm

สุพจน์ รอดดำเนิน. (2542). **การเลี้ยงไก่พื้นเมือง.** กรุงเทพฯ: อักษรสยามการพิมพ์.

Alam, J., Rahman, M. M., Sil, B. K., Khan, M. S. R., Giasuddin, and Sarker, M. S. K. (2002). Effect of maternally derived antibody on vaccination against infectious bursal disease (gumboro) with live vaccine in broiler. **International Journal of Poultry Science**. 1(4): 98-101.

Biozzi, G., Siqueira, M., and Stiffel, C. (1980). Genetic selection for event immunological functions. In: M. Fougereau and J. Dausset (ed.). **Progress in Immunology IV.** (pp. 432-457). New York: Academic Oress.

Buschmann, H. (1982). Development of an immunocompetence profile for pigs as a basis for future selection on disease resistance. **2nd World congress on genetics applied to livestock production.** 7: 351.

Buschmann, H., Krausslich, H., Hermann, H., Meyer, J., and Kleinschmidt, A. (1985). Quantitative immunological parameters in pigs experiences with the evolution of an immunocompetence profile. **Z. Tierz. Zuchtungs biological.** 102-189.

Gavora, J. S., and Spencer, J. L. (1983). Breeding for immuneresponsiveness and disease resistance. **Animal Blood Groups Biochemical Genetic.** 14-159.

Ikuta, N., and others. (2001). Molecular characterization of Brazilian infectious bursal disease viruses. **Avian Diseases**. 45: 297–306.

Muller, H., Islam, Md. R., and Raue, R. (2003). Research on infectious bursal disease-the past, the present and the future. **Veterinary Microbiology.** 97: 153-165.

Warner, C. M., Muker ,D. L., and Rothschild, M. F. (1987). Genetic control of immune responsiveness: a review of the use as a tool for selection for disease resistance. **Journal of Animal Science.** 64: 394-406.

บทที่ 2
ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 บทนำ

การศึกษาความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงและไก่เนื้อที่เลี้ยงเชิงการค้า และการศึกษาหาค่าอัตราพันธุกรรมของการสร้างภูมิคุ้มกันในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในครั้งนี้ได้ทำการรวบรวมเอกสารงานวิจัยและข้อมูลที่เกี่ยวข้องทั้งในทางด้านโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อซึ่งเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส และถือว่าเป็นโรคติดต่อที่มีความสำคัญมากในลูกไก่ อายุ 3-6 สัปดาห์ ซึ่งก่อให้เกิดผลเสียหายอย่างมากต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ และข้อมูลทางด้านระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ กายวิภาคของระบบภูมิคุ้มกัน และกระบวนการตอบสนองของภูมิคุ้มกันทั้งทางด้านสารน้ำและทางด้านเซลล์ รวมทั้งปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างภูมิคุ้มกัน ซึ่งมีการศึกษาถึงพันธุกรรมกับความสามารถในการต้านทานโรค และยีนที่ควบคุมลักษณะความสามารถในการต้านทานโรคต่าง ๆ การต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองและไก่เนื้อ และสภาวะการเกิดโรคในไก่พื้นเมือง เพื่อเป็นข้อมูลในการศึกษาต่อไป

2.2 โรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อหรือ กัมโบโร

2.2.1 ประวัติ

โรคนี้เกิดขึ้นครั้งแรกที่ประเทศสหรัฐอเมริกา ที่เมืองกัมโบโร รัฐเดลาแวร์ หลังจากนั้นมีการระบาดลุกลามไปที่ทวีปยุโรป โดยพบการระบาดรุนแรงในฝูงไก่อายุน้อย และลักษณะเด่นชัด คืออาการไตบวมและการอักเสบของต่อมเบอร์ซ่า และเมื่อทำการตรวจสอบพบว่าไม่ได้มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย จึงตั้งสมมติฐานว่าเกิดจากเชื้อไวรัส และในตอนแรกได้เรียกชื่อโรคนี้ว่าโรคไตเสื่อมในสัตว์ปีก (Avian Nephrosis) และต่อมาได้มีการตรวจพบว่าสามารถแยกเพาะเชื้อไวรัสหลอดลมอักเสบได้จากไก่ที่เป็นโรคและแสดงลักษณะไตบวม จึงได้มีนักวิชาการทำการพิสูจน์ต่อไป เพราะเกิดการสับสนในลักษณะอาการ และสามารถสรุปได้ว่าปัญหาของไตบวมที่พบเกิดขึ้นได้จากเชื้อไวรัส 2 ชนิด คือ ไวรัสหลอดลมอักเสบชนิดที่ก่อให้เกิดอาการไตเสื่อม และอีกชนิดคือไวรัสที่ก่อให้เกิดอาการไตบวมร่วมกับการอักเสบของต่อมเบอร์ซ่า จึงได้มีการตั้งชื่อโรคนี้ว่า โรค

ต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (Infectious bursal disease: IBD) หรือโรคกัมโบโร และก็มีการรายงานการระบาดของโรคนี้แพร่ทั่วทุกภูมิภาคในโลก (เกรียงศักดิ์ พูนสุข, 2536) สำหรับประเทศไทยมีรายงานว่าเกิดขึ้นครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2516 (นพพร ศราธพันธุ์, 2535) ในปี 2517 เกิดการระบาดที่กรุงเทพมหานคร, นครปฐม, ราชบุรี, ฉะเชิงเทรา ในไก่มีอัตราการตาย 8-10% ต่อมา พ.ศ. 2523 เกิดโรคที่จังหวัดนครศรีธรรมราช ไก่ป่วยมีอัตราการตาย 4-5% ปี 2524 เกิดโรคที่จังหวัดนครปฐม ไก่ป่วยมีอัตราการตาย 40-50% และในปี 2525 มีรายงานการเกิดโรคที่จังหวัดขอนแก่น และจังหวัดลำปาง และหลังจากนั้นก็ไม่มีรายงานการระบาด จนกระทั่งในปี 2533-2534 พบว่ามีการระบาดที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 21 ครั้ง และการระบาดที่ภาคกลาง จนถึงภาคใต้ 58 ครั้ง (นพพร ศราธพันธุ์, 2535) เป็นโรคติดต่อที่มีความสำคัญมากในลูกไก่ อายุ 3-6 สัปดาห์ ซึ่งก่อให้เกิดผลเสียหายอย่างมากต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ ในไก่ไข่จะเป็นโรคได้ง่ายกว่าและเสียหายมากกว่าไก่เนื้อ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2533 เป็นต้นมา พบการระบาดของโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อชนิดที่มีความรุนแรงทำให้ไก่ป่วยและตายไปจำนวนมากทั้งในไก่เนื้อและไก่ไข่

2.2.2 สาเหตุการเกิด

เกิดจากเชื้อไวรัสชนิดหนึ่ง มีโครงสร้างเป็นพวก Double-stranded RNA birnavirus (dsRNA virus) มีปลอกหุ้ม 2 ชั้น ซึ่งอยู่ใน family Birnaviridae (Lukert and Saif, 1997; Saif, 1998; Lukert and Saif, 2003) คุณสมบัติเป็นเชื้อไวรัสที่มีขนาดเล็ก มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดีมาก มีความคงทนต่อความร้อนที่ 56 องศาเซลเซียส ได้นาน 5 ชั่วโมง สามารถทนต่อสภาพความแห้งแล้งได้เป็นระยะเวลานานและมีความทนทานต่อน้ำยาฆ่าเชื้อประกอบกับไวรัสมีประสิทธิภาพสูงในการก่อให้เกิดโรค ทำให้การกำจัดโรคให้หมดไปเป็นไปได้ยาก แต่จะถูกทำลายได้โดยน้ำยาฟอร์มาลินที่ความเข้มข้นสูง (1 เปอร์เซ็นต์) ในเวลา 1 ชั่วโมง จะถูกทำลายได้ง่ายโดยระดับความเป็นด่างที่ pH 12 แต่มีความคงทนต่อสภาวะความเป็นกรด (เกรียงศักดิ์ พูนสุข, 2536)

2.2.3 การติดต่อ

ไก่มักจะได้รับเชื้อจากสิ่งแวดล้อม จากอุปกรณ์ที่ใช้ภายในโรงเรือน และจากพาหะต่าง ๆ ซึ่งรวมถึงคน สัตว์ และยานพาหนะ เนื่องจากโรคนี้มีการติดต่อได้รวดเร็วมาก ทั้งนี้การติดเชื้อเป็นไปได้โดยการกินหรือสัมผัสไก่ที่เป็นโรค ไวรัสจะมีการปนเปื้อนลงไปในรางน้ำ รางอาหาร พื้นเล้า และวัสดุรองนอน ซึ่งสามารถตรวจพบเชื้ออยู่ได้นาน 122 วัน ภายหลังจากการกำจัดไก่ที่เป็นโรคออกไปแล้ว ดังนั้น การติดเชื้อในฟาร์มระยะแรกที่สำคัญคือการติดเชื้อจากการปนเปื้อนของไวรัสจากพื้น ในน้ำ และในอาหาร และยังพบว่าเชื้อสามารถแฝงตัวอยู่ในเล้าได้นาน 6 เดือนถึง 1 ปี ในสภาวะที่แห้งแล้ง และไก่ที่มีอุปนิสัยจิกก้นกันก็เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อในฝูงได้อย่างรวดเร็ว (เกรียงศักดิ์ พูนสุข, 2536)

2.2.4 ระยะฟักตัว

โรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อเป็นโรคที่มีระยะฟักตัวสั้นมาก ซึ่งจะพบรอยโรคที่ต่อมเบอร์ซ่าได้ภายในวันที่ 3 หลังจากที่ได้รับเชื้อ ต่อมเบอร์ซ่าจะฝ่ออย่างรวดเร็วภายใน 3 วัน แต่จากการระบาดตามธรรมชาติ ส่วนใหญ่แล้วจะเริ่มแสดงอาการเมื่อไก่อายุได้มากกว่า 3 สัปดาห์คือจะพบได้มากที่อายุ 4-5 สัปดาห์ (เกรียงศักดิ์ พูนสุข, 2536)

2.2.5 พยาธิกำเนิด

ไก่เป็นสัตว์ปีกที่มีการติดเชื้อนี้ง่ายที่สุด ทั้งสายพันธุ์หนัก (Heavy breeds) และสายพันธุ์เบา (Light breeds) โดยพบว่าเม็ดเลือดขาวจะเกิดการติดเชื้อภายใน 4 ชั่วโมงหลังจากได้รับเชื้อ ในเวลาเดียวกันสามารถตรวจพบไวรัสได้ที่ลำไส้เล็กส่วนต้นและส่วนกลาง การติดเชื้อที่ตับและการติดเชื้อในเลือดสามารถตรวจพบได้ที่เวลา 10 ชั่วโมงหลังรับเชื้อไวรัส ซึ่งไวรัสจะเกิดการแบ่งตัวแพร่ไปทั่วร่างกายพร้อม ๆ กันกับการตรวจพบไวรัสที่ต่อมเบอร์ซ่า ไวรัสบางส่วนจะถูกกลืนกินและทำลายโดย Kupffer cells การทำลายเม็ดเลือดขาวของ IBD virus ค่อนข้างจะจำเพาะกับ B lymphocyte (B-cells) ในส่วนที่เรียกว่า surface IgM-bearing B-lymphocytes โดยพบการทำลายและรบกวนการทำงานของ plasma cells และยังพบการทำลายภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ (T-cell) ดังนั้นสามารถสรุปผลของ IBD virus ในการกดการสร้างภูมิคุ้มโรคในไก่ได้ 6 ลักษณะ (เกรียงศักดิ์ พูนสุข , 2536) คือ

1. ทำลายต่อมเบอร์ซ่า โดยเฉพาะในไก่ที่มีอายุน้อย
2. ทำลาย B-cell และกดการสร้างภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำ (Humoral immunity)
3. รบกวนและยับยั้งไม่ให้เม็ดเลือดขาวทุกชนิดเกิดการพัฒนา
4. รบกวนและทำลาย plasma cell ซึ่งเป็นการกดการสร้างภูมิคุ้มกันเฉพาะที่
5. รบกวนการสร้างภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งเซลล์
6. กระตุ้นให้ T-suppressor cell ซึ่งเป็นเม็ดเลือดขาวที่มีหน้าที่ทำลายภูมิคุ้มกันเพิ่มปริมาณมากขึ้น

2.2.6 กลุ่มอาการ

สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 แบบ

1. แบบแสดงอาการ (Clinical Apparent) ส่วนใหญ่จะพบในไก่อายุมากขึ้นคือ มักพบในไก่ที่มีอายุประมาณ 3 สัปดาห์ขึ้นไป โดยอาการที่พบคือ ไก่ป่วยจะเริ่มแสดงอาการซึม ขนยุ่ง กินอาหารน้อยลง ขนลุกชันก่อนตายจะฟุบหมอบ ท้องเสีย มีกลิ่นเหม็นคาวจัดอุจจาระเหนียวติดทวารหนัก รอบปากทวารหนักบวมน้ำ ซึ่งบ่อยครั้งจะมีสีขาวเนื่องจากยูเรต อัตราการตาย อาจตายสูงถึง 60% ในไก่ไข่ หรืออาจตายสูงถึง 30% ในไก่เนื้อ และมีการตายในท่าหมอบ ซึ่งถ้าอัตราการตายสูงถึง 40% จะเป็นเครื่องบ่งชี้ว่าจะมีการติดเชื้อสูงถึง 100% ส่วนพวกที่รอดจากการตายจะมีผลต่อ

การเจริญเติบโตและอ่อนแอ ส่งผลให้เกิดการแทรกซ้อนของเชื้ออื่นได้ง่าย โดยเฉพาะเชื้อ *E .coli* ต่อมเบอร์ซ่าจะฝ่อหรือเสื่อม ระยะเวลาของการระบาดจะอยู่ประมาณ 7-10 วัน อัตราการตายสูงสุดจะอยู่ที่ 4-5 วันหลังแสดงอาการเกิดโรค (เกรียงศักดิ์ พูนสุข, 2536)

2. แบบไม่แสดงอาการ (Sub-Clinical Apparent) พบในไก่อายุต่ำกว่า 3 สัปดาห์ ซึ่งหมายถึงไก่จะเกิดการติดเชื้อในสัปดาห์แรกบางครั้งไม่สามารถสังเกตอาการได้ ซึ่งในช่วงนี้ระบบภูมิคุ้มกันโรคยังมีการเจริญไม่เต็มที่ เชื้อไวรัสที่ไก่ได้รับจะเข้าทำลายระบบภูมิคุ้มกันโรคของร่างกาย โดยเฉพาะที่ต่อมเบอร์ซ่า เป็นผลทำให้ต่อมเบอร์ซ่าเกิดการฝ่อลีบ ไก่จะอ่อนแอและแพ้วัคซีนได้ง่าย มีการติดเชื้อของระบบทางเดินหายใจบ่อย ๆ ร่างกายเจริญเติบโตชะงัก การเป็นโรคแบบไม่แสดงอาการดูเหมือนว่าความรุนแรงของโรคจะต่ำกว่าแบบแสดงอาการมาก แต่ที่จริงแล้วการสูญเสียส่งผลได้กว้างกว่า เนื่องจากไวรัสจะเข้าไปทำลายต่อมเบอร์ซ่าขณะที่ต่อมเบอร์ซ่ายังไม่มีการพัฒนาเต็มที่จะส่งผลให้เกิดการกดภูมิคุ้มกันอย่างรุนแรงและถาวรตลอดอายุของไก่ ซึ่งการเกิดโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อแบบนี้เป็นการติดเชื้อ virulent IBD (เกรียงศักดิ์ พูนสุข, 2536)

2.2.7 รอยโรค

1. แบบแสดงอาการ รอยโรคที่เด่นชัดจะอยู่ที่ต่อมเบอร์ซ่าและต่อมไทมัสที่มีการอักเสบซึ่งขึ้นอยู่กับระยะเวลาและความรุนแรงของโรคที่ต่อมเบอร์ซ่า ทั่วไปจะพบว่าต่อมมีการอักเสบบวมโตและมีร่องรอยของการตกเลือดมี Gelatinous คลุมอยู่ สามารถสังเกตเห็นได้รอบ ๆ ต่อม เมื่อเปิดผ่าดูจะพบภายในร่องมีการอักเสบหรือถูกทำลายตามระดับของความรุนแรงและระยะของการเกิดโรคพบได้ตั้งแต่มีร่องของต่อมเบอร์ซ่าบางร่องภายในถูกทำลาย มีจุดเลือดออก เกิดการฝ่อของต่อมเบอร์ซ่าทั้งหมดหรือบางส่วนมีเลือดคั่งเมือกวุ้นคั่งภายใน หรือพบหนองขุ่นภายในซึ่งเกิดจากการแทรกซ้อนของเชื้อแบคทีเรีย ในช่วงท้าย ๆ ของการระบาดจะพบว่าต่อมเบอร์ซ่าจะฝ่อหดตัวเล็กลงขนาด 1/4 ของขนาดปกติส่วนต่อมไทมัสจะมีการอักเสบแดงเป็นบางก้อน หรือทั่วทั้งหมดตามความรุนแรงของโรค อาการไตบวมจะพบได้ในระยะเวลาที่แสดงอาการในช่วงท้ายของการระบาด และภายในมีเลือดคั่งของสารยูเรตซึ่งเกิดจากการที่ไก่ไม่สามารถกินน้ำได้ รอยโรคอื่น ๆ ที่พบ ได้แก่ การอักเสบของลำไส้โดยเฉพาะที่ลำไส้เล็ก การอักเสบมีจุดเลือดออกที่ต่อมทอนซิลของไส้ตัน ตับมีเนื้อตาย (Focal necrosis) มีการตกเลือด (Haemorrhage) ที่กล้ามเนื้อหน้าอกและกล้ามเนื้อโคนขา (เกรียงศักดิ์ พูนสุข, 2536)

2. แบบไม่แสดงอาการ ไก่ที่เป็นโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อแบบไม่แสดงอาการจะสังเกตอาการได้ยากมาก ควรสังเกตที่ช่วงอายุของการแสดงอาการ คือ ช่วงอายุ 1-3 สัปดาห์ ส่วนใหญ่ไก่จะแสดงรอยโรคอื่นๆ ที่มีการแทรกซ้อนให้ปรากฏ เช่น รอยโรคของระบบทางเดินหายใจ รอยโรคของระบบทางเดินอาหาร ขนาดของต่อมเบอร์ซ่าที่มีการฝ่อเล็กลงอย่างผิดปกติของไก่หลายตัวในฝูงเดียวกันจะเป็นเครื่องบ่งชี้ที่สำคัญของรอยโรคแบบชนิดนี้ ถ้าในกรณีที่ต่อเบอร์ซ่าไม่ฝ่อให้

ตรวจดูว่าบริเวณภายในร่องของต่อมเบอร์ซ่ามีเนื้อตาย (Necrosis) หรือบางบริเวณภายในต่อมเบอร์ซ่ามีการฝ่อไม่สม่ำเสมอ (เกรียงศักดิ์ พูนสุข, 2536)

ภาพที่ 2.1 รอยโรคที่ชัดเจน คือ สภาพเลือดออกตามกล้ามเนื้อ บริเวณต่อมเบอร์ซ่ามีเมือกหุ้ม มีสภาพเลือดออก ไตบวมซีด และมีสารยูเรตคั่ง

ที่มา: จิโรจ ศศิปรียจันทร์, 2541

ภาพที่ 2.2 ซากไก่มีสภาพขาดน้ำ กล้ามเนื้อมีสีเข้ม มีเลือดออกทั่วไปตามกล้ามเนื้อ ซึ่งเห็นชัดที่กล้ามเนื้ออกและกล้ามเนื้อขา

ที่มา: จิโรจ ศศิปรียจันทร์, 2541

ภาพที่ 2.3 ต่อมเบอร์ซ่ามีการอักเสบบวมโตและมีร่องรอยของการตกเลือดมี Gelatinous คลุมอยู่บางต่อมพบหนองอยู่ภายใน

ที่มา: จิโรจ ศศิปรียจันทร์, 2541

ภาพที่ 2.4 ลักษณะภายในของต่อมเบอร์ซ่า เปรียบเทียบและลักษณะ กลีบของต่อมปกติ (ซ้าย) และต่อมที่ฝ่อจากการเป็นโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (ขวา)

ที่มา: จิโรจ ศศิปรียจันทร์, 2541

ภาพที่ 2.5 รอยโรคที่ต่อมเบอร์ซ่าของไก่บางฝูง เป็นลักษณะรอยโรคแบบไม่แสดงอาการ ซึ่งต่อมเบอร์ซ่ามีขนาดเล็กลง มีถุงวุ้นหุ้ม มีสีค่อนข้างเหลืองเนื่องจากเนื้อตายเทียบกับต่อปกติ (ด้านขวาสุด)

ที่มา: จิโรจ ศศิปรียจันทร์, 2541

ภาพที่ 2.6 ต่อมเบอร์ซ่าของไก่ที่หายจากการป่วยเป็นโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ มีลักษณะฝ่อเล็กลง (แถวล่าง) บางต่อมยังคงมีหนองอยู่ภายใน (แถวล่างขวาสุด) เปรียบเทียบกับไก่ที่ปกติที่อายุเท่ากัน (แถวบน)

ที่มา: จิโรจ ศศิปรียจันทร์, 2541

2.3 ภูมิคุ้มกันโรคในสัตว์ปีก

ระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ปีกมีบทบาทหน้าที่ในการป้องกันและต่อต้านเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย โดยระบบและกลไกการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ปีกจะคล้ายกับในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ปีกยังมีการศึกษาอยู่น้อยมากเมื่อเทียบกับในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม มีการศึกษาถึงต่อมเบอร์ซ่า (Bursa of Fabricious) และต่อมไทมัส (Thymus glands) ในไก่ทำให้เราได้ทราบข้อมูลอันเป็นพื้นฐานที่สามารถแยกภูมิคุ้มกันออกเป็น 2 ส่วน คือ B cell และ

T cell ซึ่งข้อมูลเหล่านี้เป็นจุดเริ่มต้นในการศึกษาวิจัยถึงกลไกการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ปีก สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ

ระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ปีกเป็นระบบที่ซับซ้อน ประกอบด้วยเซลล์และสารน้ำจำนวนมากที่เป็นปัจจัยในการทำงาน เพื่อที่จะป้องกันร่างกายและตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน (Immune response) ในไก่ที่เลี้ยงเชิงการค้าระบบภูมิคุ้มกันจะมีบทบาทหน้าที่ที่สำคัญมากเนื่องจากไก่ถูกเลี้ยงในสภาวะที่หนาแน่น ซึ่งภายใต้สภาวะดังกล่าวไก่จะได้รับบาดเจ็บ อ่อนแอ และติดเชื้อได้ง่าย และเชื้อโรคสามารถแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็วในสภาวะนี้จนเกิดการระบาดของโรคต่าง ๆ ซึ่งการแก้ปัญหาดังกล่าวมักนิยมใช้วิธีการให้วัคซีน ซึ่งประสิทธิภาพของวัคซีนนั้นขึ้นอยู่กับการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อวัคซีน ถ้าในสัตว์เกิดการกดระบบภูมิคุ้มกัน (Immunosuppressive) ก็จะมีการตอบสนองต่อวัคซีนอย่างไม่สมบูรณ์ ดังนั้นสัตว์ฝูงนั้นก็จะเกิดการเสี่ยงต่อการเกิดโรคได้ง่าย (Sharma, 2003)

2.3.1 กายวิภาคของระบบภูมิคุ้มกัน (Anatomy of the immune system)

การสร้าง lymphocytes ในสัตว์ปีกสามารถแยกได้เป็น 2 ระบบ คือ

1. ระบบต่อมน้ำเหลืองปฐมภูมิ (Primary Lymphoid System) คือ ต่อมไทมัสและต่อมเบอร์ซ่า ซึ่ง lymphocyte จะเจริญเต็มที่และสร้างความจำเพาะต่อ antigen ในอวัยวะในระบบภูมิคุ้มกันอันดับที่ 1 ชนิดต่าง ๆ ซึ่งจะเจริญและพัฒนาเป็น lymphocyte ที่สามารถทำหน้าที่ตอบสนองในระบบภูมิคุ้มกันได้ ในสัตว์ปีก T-cell (หรือ T-lymphocyte) เจริญพัฒนาในต่อมไทมัส มีหลายต่อมเรียงขนานตามยาวไปกับลำคออยู่ในชั้นใต้ผิวหนัง และ B-cell (หรือ B-lymphocyte) เจริญพัฒนาในต่อมเบอร์ซ่า ซึ่งเป็นอวัยวะที่มีตำแหน่งเกาะติดผนังด้านนอกของทวารรวม (เกรียงศักดิ์ พูนสุข, 2536)

2. ระบบต่อมน้ำเหลืองทุติยภูมิ (Secondary Lymphoid System) ประกอบด้วย ตับม้าม ต่อมฮาร์เดอเรียน (Harderian's Glands) ที่บริเวณตาของสัตว์ปีก ต่อมทอนซิลของไส้ตัน (Cecal Tonsils) และต่อมน้ำเหลือง (Payer's Patches) ขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วไปในผนังลำไส้ (เกรียงศักดิ์ พูนสุข, 2536)

2.3.2 ลักษณะทั่วไปของระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ปีก (General features of the avian immune system)

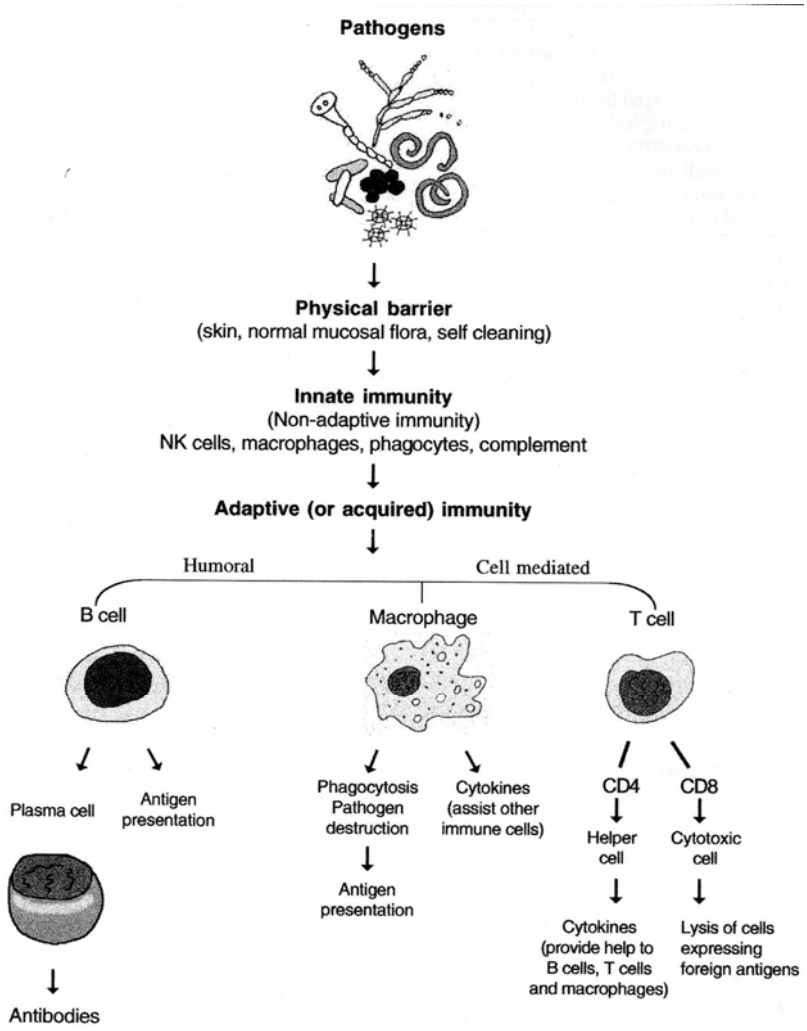
1. ภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติ (Natural or Innate or Non-specific Immunity)

กลไกการตอบสนองและการป้องกันตัวจากเชื้อโรคในสัตว์ปีกดังที่แสดงในภาพที่ 2.7 สัตว์ปีกมีการพัฒนาการของกลไกภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (Innate defense mechanism) ที่ดี ซึ่งเป็นการตอบสนองของภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะต่อสิ่งกระตุ้น เช่น มีสิ่งกีดขวางการบุกรุกของสิ่งแปลกปลอม (ผิวหนัง เยื่อเมือก) แต่ถ้าเชื้อโรคสามารถเข้าสู่ร่างกายได้ก็จะมีกลไกด่านป้องกันด่าน

แรก (the first line of defense) ซึ่งเป็นขบวนการทำหน้าที่ของเม็ดเลือดขาวที่เรียกว่า phagocytic cells เช่น heterophils, macrophage, complement และ natural killer (NK) cells (Sharma, 2003)

Complement เป็นกลุ่มโปรตีนซึ่งเป็นสารประกอบประเภทที่ไม่ทนต่อความร้อน (heat-labile) จะพบในพลาสมาปกติของสัตว์ปีก ระบบ complement เป็นระบบที่สำคัญและจำเป็นต่อการป้องกันและต่อต้านเชื้อแบคทีเรียในสัตว์ปีก (Sharma, 2003)

NK cells จะทำลายสิ่งแปลกปลอมโดยตรง หรือสามารถทำงานร่วมกับ antibody ในการทำลายเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสหรือเซลล์มะเร็ง NK cells ในสัตว์ปีกจะมีการแส 08αα homodimer อยู่บนผิวเซลล์ และเป็น lymphocyte ที่มีแกรนูลขนาดใหญ่ภายในเซลล์ รูปร่างลักษณะจะคล้ายกับในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Sharma, 2003)



ภาพที่ 2.7 กลไกการตอบสนองและการป้องกันตัวจากเชื้อโรคในสัตว์ปีก

ที่มา: (Sharma, 2003)

2. ภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (Specific or Acquired or Adaptive Immunity)

ในส่วนของกลไกการป้องกันตัวแบบจำเพาะ (specific immune response) เป็นกลไกที่ร่างกายสามารถต่อต้านเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอมด้วยปฏิกิริยาที่จำเพาะต่อสิ่งแปลกปลอมนั้น ๆ ซึ่งเป็นกลไกที่เกิดขึ้นภายหลัง (acquired หรือ adaptive immunity) โดยแบ่งการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะออกเป็น 2 แบบ คือ

1. การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันผ่านทางสารน้ำ (Humoral Immune Response : HIR) มีการสร้าง antibody ที่จำเพาะต่อสิ่งแปลกปลอมนั้น ๆ แล้วหลั่งเข้าสู่ระบบเลือดและระบบน้ำเหลือง (ไพศาล สิทธิกรกุล, 2548)

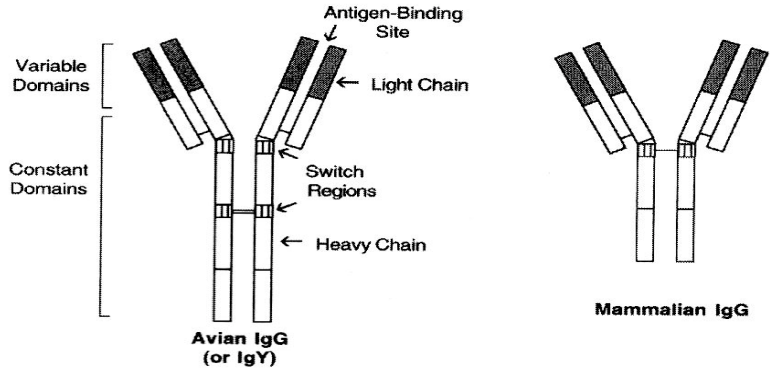
2. การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันทางด้านเซลล์ (Cell-Mediated Immune Response : CMIR) เป็นการกระตุ้น lymphocyte อย่างจำเพาะเพื่อให้เซลล์ทำลายสิ่งแปลกปลอม (ไพศาล สิทธิกรกุล, 2548)

ซึ่งภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะนี้จะมีลักษณะที่สำคัญ คือเป็นกระบวนการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมของโฮสต์ โดยระบบภูมิคุ้มกันจะสามารถจดจำและแยกความแตกต่างของเนื้อเยื่อหรือองค์ประกอบของร่างกายตนเองออกจากสิ่งที่มิใช่ตัวเองได้ และเป็นการตอบสนองที่มีความจำเพาะต่อสิ่งแปลกปลอม นอกจากนี้ยังมีความสามารถที่จะจดจำสิ่งแปลกปลอมเดิมได้ และเมื่อได้รับการกระตุ้นซ้ำจะสามารถตอบสนองได้อย่างรวดเร็วกว่าการพบสิ่งแปลกปลอมในครั้งแรก และภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะจะตอบสนองต่อ antigen เมื่อได้รับสิ่งกระตุ้นในปริมาณที่พอเหมาะ

การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันผ่านทางสารน้ำ (Humoral Immune Response: HIR)

เซลล์ที่ทำหน้าที่สร้าง antibody ได้แก่ B-cell ซึ่ง antibody เป็นไกลโคโปรตีน สามารถจับแบบจำเพาะกับ antigen กลไกการทำงานของ antibody ในการป้องกันและต่อต้านเชื้อโรคมี 3 ทางดังนี้ 1) การลบล้างฤทธิ์ (neutralization) เมื่อ antibody จับกับ antigen ที่จำเพาะแล้ว antibody นั้นมีความสามารถในการลบล้างฤทธิ์ของ antigen นั้น ๆ โดยเฉพาะไวรัส เมื่อ antibody จับกับ ไวรัสทำให้ไวรัสไม่สามารถจับที่ผิวของเซลล์เป้าหมายได้ ดังนั้นไวรัสจึงไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ 2) Opsonization แบคทีเรียสามารถเพิ่มจำนวนได้ภายนอกเซลล์ และจะถูกพวกฟาโกไซต์จับกินและทำลาย ถ้าแบคทีเรียเหล่านั้นถูกจับด้วย antibody ก็จะเป็นการทำให้แบคทีเรียเป้าหมายมีความชัดเจนขึ้นทำให้ฟาโกไซต์เห็นและจับกินได้ 3) กระตุ้นคอมพลีเมนต์ โดย antibody จะจับกับ antigen และสามารถกระตุ้นคอมพลีเมนต์ได้ในสัตว์ปีกจะมีอิมมูโนโกลบุลิน (Immunoglobulin: Ig) อยู่ 3 ชนิด คือ IgM, IgG และ IgA (Sharma, 2003) และในภาพที่ 2.8 แสดงโครงสร้างของอิมมูโนโกลบูลินในสัตว์ปีก และในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยอิมมูโนโกลบูลิน 1 โมเลกุล ประกอบด้วยสาย polypeptide 4 สายคือ Heavy chain 2 สายที่เหมือนกัน และ Light chain 2 สายที่เหมือนกัน (ทัศนีย์ สุโกศล, 2543; Sharma, 2003) ในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำในสัตว์ปีกจะเริ่มต้น

โดย antibody ที่เกิดขึ้นใน primary immune response จะมีปริมาณน้อยกว่า secondary immune response มาก และระดับของ IgM จะสูงขึ้นก่อนแล้วค่อย ๆ ลดลงมา ส่วนระดับของ IgG จะค่อย ๆ ขึ้นตามทีหลัง โดยใน secondary immune response จะพบว่ามีระดับของ IgG สูง และเป็นอิมมูโนโกลบูลินชนิดที่เด่นในเลือดไก่ ทั้งนี้เพราะในสัตว์ปีก (รวมทั้ง สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ สัตว์เลื้อยคลาน และสัตว์เลือดเย็น) IgG มีขนาดใหญ่กว่าของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Sharma, 2003) และในไก่นิยมเรียก IgG ว่า IgY (Warr, Major, and Higgins, 1995) ในส่วนของ IgA จะมีความสำคัญในภูมิคุ้มกันของระบบเยื่อเมือก



ภาพที่ 2.8 โครงสร้างของอิมมูโนโกลบูลินในสัตว์ปีก และในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม
ที่มา: (Sharma, 2003)

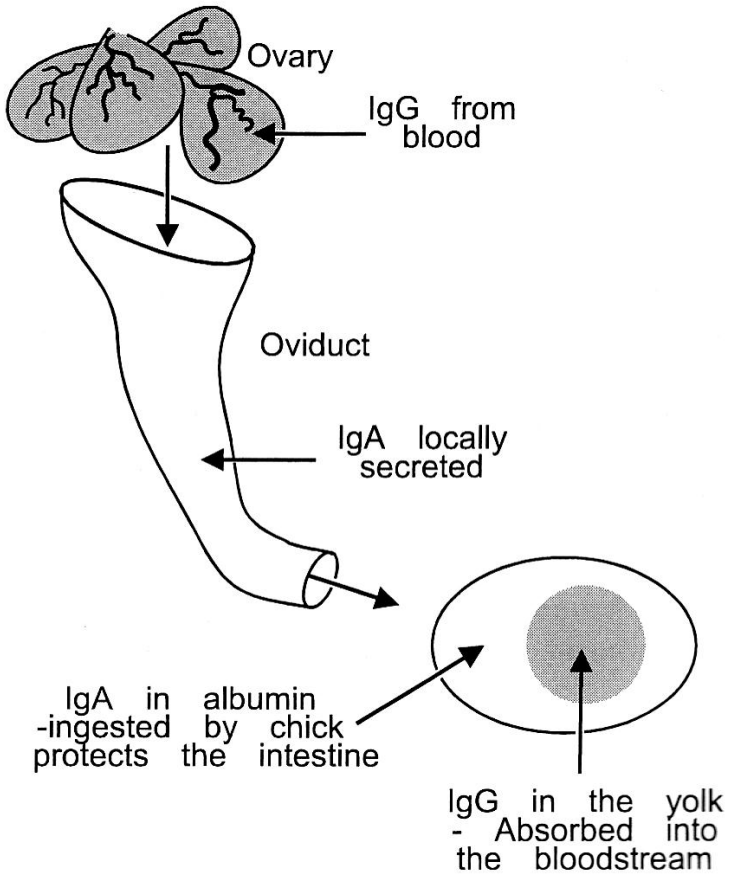
การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันทางด้านเซลล์ (Cell-Mediated Immune Response: CMIR)

ภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์จะตอบสนองโดย T-cell ซึ่ง T-cell จะมีโมเลกุลที่ทำหน้าที่จับ antigen แบบจำเพาะบนผิวเซลล์ และ T-cell จะจับกับ antigen ที่รวมอยู่กับโปรตีนบนผิวเซลล์ที่เรียกว่า Major Histocompatibility Complex (MHC) เท่านั้น โดยจะต้องอาศัยกระบวนการของ antigen-presenting cells เช่น macrophages, dendritic cells และ B-cells ในการที่จะย่อยชิ้นส่วนของ antigen ให้มีขนาดเล็กและนำเสนอให้ T-cell โดยรวมกับ MHC ซึ่ง MHC เป็นกลุ่มของยีนบนโครโมโซม ซึ่งประกอบด้วยยีนที่กำหนดชนิดของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ในไก่จะประกอบด้วย locus B ซึ่งจะมีจำนวนน้อยกว่าและแตกต่างจาก MHC ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่หน้าที่จะมีความคล้ายกัน (Sharma, 2003) ใน locus B ประกอบด้วยยีนหลาย locus สามารถแบ่งได้เป็นกลุ่ม 3 กลุ่ม ดังนี้ 1) ในกลุ่ม class I ประกอบด้วย locus BF 2) ในกลุ่ม class II ประกอบด้วย locus BL 3) ในกลุ่ม class III ประกอบด้วย locus BG (Pink, Droege, HaLa, Miggiano, and Ziegler, 1977) T-cell ในสัตว์ปีกตัวรับที่จับกับ antigen อยู่บนผิวเซลล์มีอยู่ 2

ชนิด คือ TCRαβ หรือ TCRγ∂ โดยในไก่จะมีสัดส่วนของ γ∂ T-cell สูงกว่าในหนูหรือในมนุษย์ ซึ่งในไก่จะพบประมาณ 30-50% ของจำนวน lymphocyte ทั้งหมด (Sharma, 2003)ในไก่เราสามารถแบ่ง T-cell ออกได้เป็นกลุ่มย่อย ๆ เช่นเดียวกับในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยแบ่งออกได้เป็น T-helper cell ทำหน้าที่หลั่งสารน้ำออกมาหลังการได้รับการกระตุ้นจาก antigen จำเพาะ ซึ่งสารน้ำเหล่านี้มีบทบาทต่อการทำงานของเซลล์ทางภูมิคุ้มกันหลายชนิด T-cytotoxic cell เป็น T-cell ที่สามารถทำลายเซลล์แปลกปลอมที่จำเพาะ และ T-suppressor cell ทำหน้าที่ขัดขวางยับยั้งการทำงานของเซลล์อื่น ๆ

2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างภูมิคุ้มกัน

2.4.1. ภูมิคุ้มกันจากแม่ (Maternal immunity) การส่งผ่านของภูมิคุ้มกันจากแม่ไปสู่ลูกแรกเกิดเป็นสิ่งที่สำคัญในการช่วยป้องกันและต่อต้านการติดเชื้อในลูกไก่ในระยะแรกของการฟักออก ซึ่งภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำในไก่ก็ คือ อิมมูโนโกลบูลิน (Immunoglobulin: Ig) ที่สามารถส่งผ่านจากแม่ไปสู่ลูก และมีรายงานพบว่าเกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันของแม่ (mother's immune cells) ที่สามารถส่งผ่านเข้าสู่เอ็มบริโอ (embryo) และในส่วนของ Ig จากแม่ไก่นั้นจะไหลเวียนเข้าสู่ผิวหน้าของ epithelial cell และ glandular cell ของท่อนำไข่ (Kimijama, Hashimoto, Kitagawa, Kon, and Sugimura, 1990) และเมื่อ Ig เข้าสู่ท่อนำไข่ IgG จะถูกเคลื่อนย้ายเข้าสู่ไข่ที่สมบูรณ์ ใน ovarian follicle และสะสมอยู่ในถุงไข่แดง (yolk sac) นอกจากนี้ Ig ยังถูกสร้างขึ้นที่บริเวณท่อนำไข่แต่เป็นสัดส่วนที่น้อย ในถุงไข่แดงจะมีการพัฒนาของ IgG ที่ได้จากแม่ (maternal IgG) เกิดขึ้น ในส่วนของ IgA และ IgM จะถูกขนส่งผ่านทางของเหลวในถุงน้ำคร่ำ (amniotic fluid) การส่งผ่านของ IgG จากถุงไข่แดงไปสู่เอ็มบริโอหรือตัวอ่อนที่กำลังจะฟักออกนั้น เกิดขึ้นโดยผ่านทางการดูดซึมเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิตของตัวอ่อน ซึ่ง IgG จะถูกขนส่งผ่านตัวรับ (receptor) โดยการ endocytosis ผ่านเข้าทาง epithelium ของถุงไข่แดง การขนส่งของ IgG จะเริ่มต้นขึ้นในช่วงสัปดาห์แรกของการพัฒนาเป็นเอ็มบริโอ ดังแสดงในภาพที่ 2.9 และจะเกิดขึ้นมากที่สุดในช่วง 3 สัปดาห์ สุดท้ายก่อนการฟักออก และการขนส่ง IgG จากไข่แดงจะดำเนินต่อไปหลังจากการฟัก ซึ่งระดับของ maternal IgG ในกระแสเลือดของลูกไก่จะสูงที่สุดในช่วงแรกของการฟักออก จนถึงอายุประมาณ 2-3 วัน และหลังจากนั้นจะค่อย ๆ ลดลงและจะตรวจไม่พบหลังจากอายุ 2-5 สัปดาห์ (Sharma, 2003)



ภาพที่ 2.9 การส่งผ่านของ IgG จากแม่ไก่ไปสู่ลูกไก่

ที่มา: Tizard, 1996

ซึ่งมีการทดลองของ Alam et al. (2002) พบว่า ในลูกไก่เนื้อที่มาจากแม่ไก่ฝูงที่ได้รับวัคซีน IBD เชื้อเป็น จะตรวจพบ Maternally derived antibody (MDA) ในช่วงแรกเกิด และปริมาณของ MDA จะลดลงที่อายุ 15-20 วันโดยมี half life ประมาณ 5 วัน ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ความคงทน (persistence) ของระดับภูมิคุ้มกันจากแม่ (MDA) ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อของลูกไก่เนื้อ

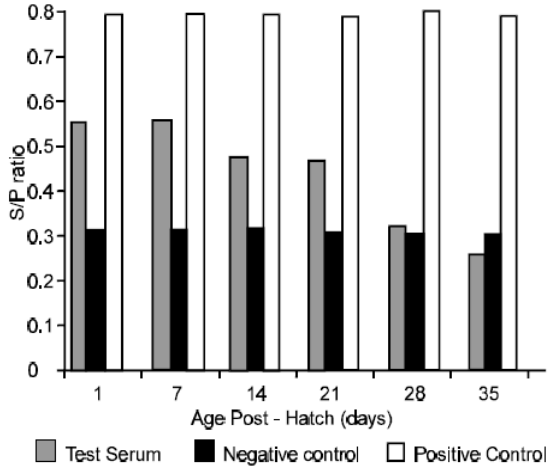
อายุ (วัน)	ค่าเฉลี่ย Ab titer ± SD* ของลูกไก่เนื้อกลุ่มที่แม่ได้รับวัคซีน IBD เชื้อเป็น	ค่าเฉลี่ย Ab titer ± SD* ของลูกไก่เนื้อกลุ่มที่แม่ไม่ได้รับวัคซีน IBD เชื้อเป็น
1 วัน	6294.14 ± 24.95 (5)	219.21 ± 15.36 (5)
5 วัน	3950.45 ± 28.50 (5)	103.45 ± 20.80 (5)
10 วัน	2003.45 ± 20.66 (5)	39.36 ± 10.28 (5)
15 วัน	683.04 ± 17.48 (5)	1.03 ± 0.84 (5)
20 วัน	390.45 ± 19.42 (5)	0 (5)
25 วัน	107.69 ± 20.28 (5)	0 (5)

หมายเหตุ: ค่าในวงเล็บ หมายถึง จำนวนค่าสังเกต

* หมายถึง ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standad Deviation)

ที่มา: Alam et al., 2002

และจากผลการทดลองของ Ahmed and Akhter (2003) ซึ่งทำการศึกษาเกี่ยวกับระดับของ MDA ในไก่เนื้อต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อและความคงทนของ MDA ในลูกไก่จากฝูงที่พ่อแม่พันธุ์ได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ซึ่งผลการทดลองแสดงในภาพที่ 2.10



ภาพที่ 2.10 ระดับของ MDA ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในลูกไก่เนื้อ

ที่มา: Ahmed and Akhter, 2003

จากภาพที่ 2.10 พบว่าระดับ MDA ในลูกไก่เนื้ออายุ 1 วัน มีค่า Sample/Positive (S/P) (โปรดดูรายละเอียดใน 3.4.4 หน้า 48) เท่ากับ 0.56 หรือมีค่า antibody titer เท่ากับ 1,217.7 และยังคงรักษาระดับไปจนถึงอายุ 7 วัน จากนั้นค่อย ๆ ลดลงหลังจากอายุ 7 วัน จนถึงที่อายุ 28 วัน ระดับของ MDA ลดลงจนถึงระดับ negative control และที่อายุ 35 วัน พบว่าปริมาณ MDA มีค่าเท่ากับ 0

ซึ่งจากผลการทดลองของ Alam et al. (2002) และ Ahmed and Akhter (2003) สอดคล้องกับการทดลองของ Tsai et al. (1995) พบว่า half life ของ MDA ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในลูกไก่อยู่ที่ประมาณ 4.2-9.2 วัน และการทดลองของ Saijo and Higashihara (1998) พบ half life ของ MDA ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในลูกไก่อยู่ที่ประมาณ 3.46 วัน และยังมีงานทดลองหลายงานพบว่าปริมาณของ MDA ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในลูกไก่จะคงอยู่จนถึงช่วงอายุที่แตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ความคงทน (persistence) ของ MDA ในลูกไก่เนื้อต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ

ความคงทน (persistence) ของ MDA ในลูกไก่เนื้อ (วัน)	**Reference**
11-19 วัน	Wisniewska and Stosik (1999)
12 วัน	Malay et al. (1998)
20 วัน	Yehuda et al. (2000)
28 วัน	Hitchner (1971)
29 วัน	Wyeth and Cullen (1979)
30 วัน	Iordanides et al. (1991)

ซึ่งจากตารางที่ 2.2 การคงอยู่ของ MDA มีความแปรปรวนแตกต่างกันออกไปอาจเนื่องจากชนิดของวัคซีนที่แม่ไก่ได้รับและโปรแกรมการทำวัคซีนที่แตกต่างกันออกไป (Lukert and Saif, 1997; Alam et al., 2002) และพบว่าไก่สายพันธุ์ที่ต่างกันจะมีความคงทนของระดับ MDA ที่แตกต่างกัน โดยในไก่พื้นเมืองจะตรวจพบระดับของ MDA จนถึงอายุ 14 วัน ส่วนในไก่เนื้อจะตรวจพบระดับของ MDA จนถึงอายุ 18 วัน (Azab, Hassan, and Qubih, 1991)

ในทางกลับกัน MDA มีส่วนในการรบกวนการสร้างภูมิคุ้มกันในลูกสัตว์ เป็นที่ทราบกันดีว่าการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในลูกสัตว์ในขณะที่มีอายุน้อย ๆ มักจะถูกรบกวนจาก MDA ซึ่งระดับของการรบกวนการสร้างภูมิคุ้มกันจะขึ้นอยู่กับระดับของ MDA และปริมาณของ antigen ที่ให้เข้าไป โดยปกติระดับของ MDA ที่สูงมักจะมีผลรบกวนการกระตุ้นการทำงานของ B cell มากกว่า T cell

ทั้งนี้เนื่องจาก MDA ที่ยังคงเหลืออยู่ในลูกสัตว์จะสามารถแย่งจับกับ antigen ได้ก่อนที่ negative B cell ของลูกจะเข้าถึง ในขณะที่การกระตุ้น T cell อาจยังจะเกิดได้ตามปกติ เนื่องจาก immune complex จะยังคงถูกจับโดย antigen presenting cell และเข้าสู่กระบวนการ antigen processing and presentation ได้ตามปกติ แต่ลูกสัตว์จำเป็นที่จะต้องได้รับภูมิคุ้มกันที่ถ่ายทอดจากแม่ เพื่อให้สามารถต้านทานการติดเชื้อและสามารถมีชีวิตรอดจนถึงระยะที่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันได้ด้วยตนเองโดยสมบูรณ์แบบได้ ซึ่งการมีภูมิคุ้มกันที่ถ่ายทอดจากแม่เปรียบเสมือนดาบสองคม เนื่องจาก MDA ในระดับที่สูงอาจช่วยป้องกันลูกสัตว์ได้ในระดับหนึ่ง ถ้าภูมิคุ้มกันที่ได้รับนั้นอยู่ในระดับ protective level แต่ในขณะเดียวกัน MDA ก็จะสามารถรบกวนประสิทธิภาพของวัคซีนหรือ antigen ใด ๆ ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิด active immunity ในตัวลูกสัตว์ได้เช่นกัน และระดับภูมิคุ้มกันที่ถ่ายทอดจากแม่ที่จะไม่รบกวนการสร้างภูมิคุ้มกันในลูกสัตว์จะมีค่าต่ำกว่าระดับ protective level มาก ทำให้ในช่วงชีวิตหนึ่งของลูกสัตว์จะมีช่องว่างเกิดขึ้นระหว่างช่วงเวลาที่ลูกสัตว์ยังได้รับการป้องกันจาก MDA จนถึงช่วงเวลาที่ระดับของ MDA นั้นลดลงไปจนถึงระดับที่สัตว์จะสามารถตอบสนองต่อการให้วัคซีนได้ เรียกช่วงเวลานั้นว่า window of susceptibility หรือ window of vulnerability (สันนิภา สุรทัตต์, 2549)

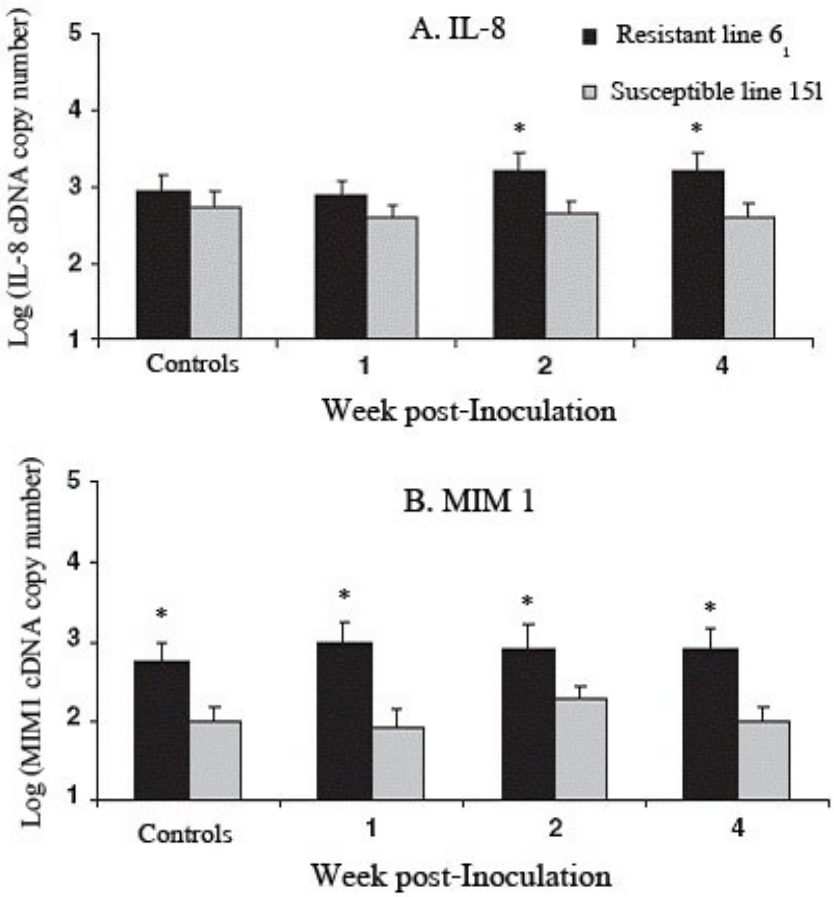
2.4.2. พันธุกรรม การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันส่วนหนึ่งจะอยู่ภายใต้การควบคุมของพันธุกรรม ซึ่งการควบคุมในส่วนของพันธุกรรมนั้นมีการค้นพบเกี่ยวกับกลุ่มของยีนบนโครโมโซมที่ทำหน้าที่ในการกำหนดชนิดของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างภูมิคุ้มกันและต้านทานโรค ยีนกลุ่มนี้มีชื่อเรียกว่า major histocompatibility complex (MHC) ซึ่ง MHC ในสัตว์ปีกจะเรียกว่า B-complex (นภาธร บานชื่น, 2543) มีการศึกษาของ Okoye, Aba-Adulugba, Ezeokonkwo, Udem, and Orajaka (1999) ในไก่พันธุ์ที่เลี้ยงเชิงการค้า และไก่พื้นเมือง พบว่าความสามารถในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองสูงกว่าไก่พันธุ์ที่เลี้ยงเชิงการค้า และอัตราการตายที่เกิดจากโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองต่ำกว่าไก่พันธุ์ที่เลี้ยงเชิงการค้า

สิ่งที่เกี่ยวข้องกับความสามารถในการต้านทานโรคในสัตว์นั้น พบว่าอยู่ภายใต้อิทธิพลของพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม ถ้าหากสัตว์มีความผิดปกติทางด้านพันธุกรรมบางอย่างอาจส่งผลให้สัตว์มีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันและการต้านทานโรคลดลง (พรชุลีย์ นิลวิเศษ และคณะ, 2545)

นอกจากยีนกลุ่มนี้ ยังมีการศึกษาค้นหากลุ่มของยีน (candidate gene) ที่มีผลต่อความสามารถในการต้านทานโรคและการจำแนกกลุ่มยีน (candidate gene) ซึ่ง Hasenstein, Zhang, and Lamont (2006) พบว่า มีความสัมพันธ์ของความผันแปรทางพันธุกรรมของยีน Gallinacin 3 และยีน Gallinacin 7 กับการตอบสนองของวัคซีน *Salmonella enteritidis* อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) Malek, Hasenstein, and Lamount, (2004) ได้ทำการศึกษาถึงกลุ่มของยีนที่มีผลต่อความสามารถใน

การต้านทานโรคที่เกิดจากเชื้อซัลโมเนลลา พบว่า T-cell specific surface protein gene (CD28) มีผลเกี่ยวข้องต่อปริมาณเชื้อซัลโมเนลลาในม้าม (spleen) และ cecum content และยังพบว่า CD28 gene มีผลในการตอบสนองต่อ *Salmonella enteritidis* vaccine ของร่างกายไก่ โดยมีผลต่อปริมาณ antibody ที่ $P<0.05$ และ Hasenstein et al. (2006) ได้ทำการศึกษากลุ่มของยีน (candidate genes) ที่เรียกว่ายีน Gallinacin ต่อการตอบสนองของไก่ที่ได้รับเชื้อ *Salmonella enteritidis* พบว่า ยีน Gallinacin 7 มีผลในการตอบสนองต่อ *Salmonella enteritidis* vaccine ของร่างกายไก่ โดยมีผลต่อปริมาณ antibody ที่ $P<0.02$ และนอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงกลุ่มยีนอีกจำนวนมากที่มีผลต่อการตอบสนองต่อ *Salmonella enterica* serovar Enteritidis จากเซลล์ที่ติดเชื้อซัลโมเนลลา ดังนี้ major histocompatibility complex class I (MHC-I) และ MHC-II, natural resistance-associated macrophage protein 1 (NRAMP1), tenascin C, transforming growth factor -β2 (TGF-β2), TGF-β3, immunoglobulin L, inducible nitric oxide synthase, Toll-like receptor 4, และ MD-2 (Hu et al., 1997; Lamont, Kaiser, and Liu, 2002; Liu, Miller, and Lamont, 2002; Kramer, Malek, and Lamont, 2003; Liu, Kaiser, and Lamont, 2003; Malek and Lamont, 2003; Malek et al., 2004)

ยังมีเอกสารทางวิชาการบางส่วนที่ได้ทำการทดลองศึกษาถึงสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่ตอบสนองต่อเชื้อซัลโมเนลลา โดยศึกษาถึงการแสดงออกของยีนต่าง ๆ รวมทั้งศึกษาถึงผลของระยะเวลาหลังการติดเชื้อซัลโมเนลลาต่อการแสดงออกของยีนในไก่สายพันธุ์ต่าง ๆ ดังที่แสดงในภาพที่ 2.11



ภาพที่ 2.11 ปริมาณการแสดงออกของ chemoattractant gene ในไก่ที่ได้รับเชื้อ *Salmonella enteritidis* โดยศึกษาถึงระดับของ cDNA ของ IL-8 gene (A) และ MIM-1gene (B) ใน cecal tonsilของไก่ 2 สายพันธุ์ คือ line 6_1 และ line 15I

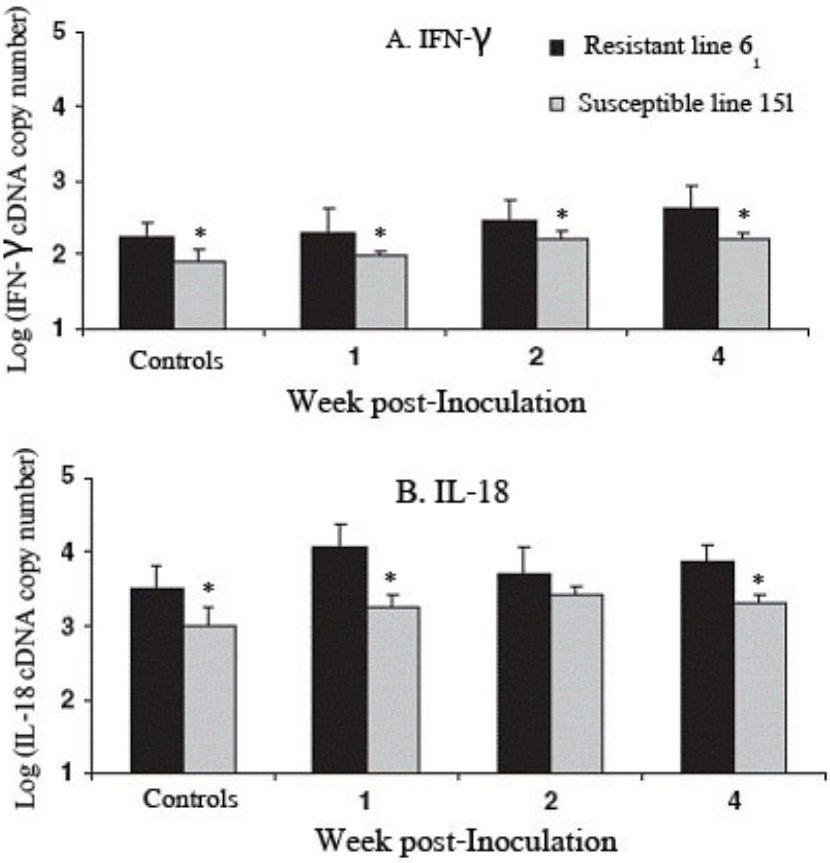
ที่มา: Sadeyen et al., 2006

หมายเหตุ: ระดับนัยสำคัญ (Significant effect) ระหว่างสายพันธุ์ของ IL-8 gene ($P < 0.003$) และ MIM-1gene ($P < 0.02$) ในการแสดงออกของยีน

จากภาพที่ 2.11; A พบว่า 2 สัปดาห์หลังจากที่ไก่ได้รับเชื้อจะมีการแสดงออกของ inflammatory cytokine gene โดยพบว่าการแสดงออกของยีนนี้ มีความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ คือ line 6_1 (resistance line) และ line 15I (susceptible line) ที่ $P<0.003$ และการแสดงออกของ IL-8 gene จะสัมพันธ์กับไก่ line 6_1 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีความต้านทานเชื้อสูง โดยพบว่าการแสดงออกของ IL-8 gene ในไก่ line 6_1 สูงขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 และ 4 และยังพบว่า MIM-1gene (ภาพที่ 2.11B) ซึ่งเป็น chemoattractant gene มีการแสดงออกของยีนในไก่ resistance line มากกว่า susceptible line

(P<0.02) ซึ่งทั้ง IL-8 และ MIM-1 ทำหน้าที่ในการช่วยรวมพล heterophils ในตำแหน่งที่มีการติดเชื้อ

Sadeyen et al. (2006) ได้ทำการศึกษาถึงการแสดงออกของ anti-infectious cytokine gene ในไก่ 2 สายพันธุ์ คือ resistant line และ susceptible line โดยไก่ได้รับเชื้อ *Salmonella enteritidis* ซึ่งผลการศึกษามีดังนี้



ภาพที่ 2.12 ปริมาณการแสดงออกของ anti-infectious cytokine gene ในไก่ที่ได้รับเชื้อ *Salmonella enteritidis* โดยศึกษาถึงระดับของ cDNA ของ IFN-γ gene (A) และ IL-18 gene (B) ใน cecal tonsil ของไก่ 2 สายพันธุ์ คือ line 6_1 และ line 15I

ที่มา: Sadeyen et al., 2006

หมายเหตุ: ระดับนัยสำคัญ (Significant effect) ระหว่างสายพันธุ์ของ IFN-γ gene ($P < 0.002$) และ IL-18 gene ($P < 0.002$) ในการแสดงออกของยีน

จากภาพที่ 2.12 พบว่าใน cecal tonsil ไม่มีความผันแปรในการแสดงออกของ IFN-γ gene และ IL-18 ในระหว่างที่มีการติดเชื้อ และพบว่าการแสดงออกของ IL-18 gene จะมีระดับที่สูงกว่า

การแสดงออกของ IFN-γ gene ในทั้งสองสายพันธุ์ อย่างไรก็ตามการแสดงออกของ cytokine genes ทั้งสองชนิดนี้พบว่าใน resistance line มีปริมาณสูงกว่า susceptible line โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.002$) ซึ่ง IFN-γ gene นั้นทำหน้าที่ในการควบคุมการสร้าง IFN-γ ที่มีฤทธิ์ในการขัดขวางการเพิ่มจำนวนของไวรัสภายในเซลล์ ซึ่งจากการศึกษานี้เพื่อประโยชน์ในการนำมาใช้ในการคัดเลือกพันธุกรรมไก่ที่มีความสามารถในการต้านทานโรคต่อไป

2.5 อัตราพันธุกรรมของการตอบสนองต่อการสร้างภูมิคุ้มกันในไก

ค่าอัตราพันธุกรรมมีความสำคัญในการนำไปพิจารณาถึงแนวทางในการปรับปรุงพันธุ์ของฝูงสัตว์ ซึ่งเป็นค่าเฉพาะของสัตว์ฝูงใดฝูงหนึ่งสำหรับลักษณะปริมาณหนึ่ง ๆ ดังนั้นจึงเป็นค่าที่แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลทางพันธุกรรมต่อการแสดงออกของสัตว์ในประชากรหนึ่ง เปรียบเทียบกับอิทธิพลจากสิ่งแวดล้อม ค่าอัตราพันธุกรรมเป็นค่าเฉพาะสำหรับประชากรหนึ่ง ๆ เท่านั้น ทั้งนี้เพราะประชากรสัตว์ที่ต่างกันย่อมจะมีองค์ประกอบทางพันธุกรรมที่แตกต่างกัน และยังตกอยู่ภายใต้สภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันด้วย (สมชัย จันทร์สว่าง, 2530) ซึ่งสอดคล้องกับ กนก ผลารักษ์ (2521) กล่าวว่า ค่าอัตราพันธุกรรม (h^2) ไม่เพียงแต่เป็นคุณสมบัติของลักษณะเท่านั้น แต่ยังเป็นคุณสมบัติของทั้งฝูงสัตว์หรือประชากร และของสภาพแวดล้อมที่สัตว์นั้นอยู่ด้วย เนื่องจากค่า h^2 ขึ้นอยู่กับค่า variance ต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นทั้งหมด ซึ่งไม่ว่า variance ของอะไรที่เปลี่ยนค่าไปย่อมทำให้ค่า h^2 เปลี่ยนไปด้วยเสมอ ในสัตว์ฝูงเล็กที่เลี้ยงไว้นานหลายชั่วอายุจะมี h^2 ต่ำกว่าสัตว์ฝูงใหญ่ ทั้งนี้เพราะ variance ที่เกิดจากสภาพแวดล้อมขึ้นอยู่กับสภาพทั่วไปและลักษณะการเลี้ยงดู ดังนั้นเมื่อสภาพแวดล้อมและการเลี้ยงดูเปลี่ยนแปลงอยู่เสมอ ก็จะทำให้ h^2 ลดลง ในทางกลับกันสภาพแวดล้อมและการเลี้ยงดูที่สม่ำเสมอจะทำให้ h^2 สูงขึ้น ดังนั้นเมื่อใดที่มีการกล่าวถึงค่าอัตราพันธุกรรม ของลักษณะใด ๆ แล้ว จะต้องระบุเสมอว่าเป็น h^2 ของสัตว์ฝูงไหนหรือประชากรไหน มีสภาพแวดล้อมอย่างใด ดังนั้นการนำเอาค่าอัตราพันธุกรรมที่ประเมินได้ในประชากรหนึ่งมาใช้ในโครงการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ จะต้องพิจารณาความคล้ายคลึงกันของสัตว์และสภาพแวดล้อมในแต่ละประชากรด้วย และจะมีวิธีการประเมินหลายวิธี ซึ่งแต่ละวิธีจะให้ค่าอัตราพันธุกรรมที่แตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากว่าสัดส่วนความแปรปรวนของยีนแบบไม่บวกสะสม (non additive gene) และความแปรปรวนของสภาพแวดล้อมที่คำนวณมาได้มีค่าไม่เท่ากัน นอกจากนี้ ยังพบว่าบางครั้งจะมีความคลาดเคลื่อนเนื่องจากการสุ่ม (sampling error) เกิดขึ้นด้วย ค่าอัตราพันธุกรรมเป็นค่าที่บอกให้เห็นว่าสัตว์ฝูงนั้นควรเน้นการปรับปรุงพันธุ์ในด้านพันธุกรรมหรือสิ่งแวดล้อม (สมชัย จันทร์สว่าง, 2530) ซึ่งค่าอัตราพันธุกรรมมีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 1 หรือถ้าคิดเป็นร้อยละจะมีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 100 ในกรณีที่อัตราพันธุกรรมมีค่าเท่ากับ 1 หมายความว่าลักษณะนั้นถูกควบคุมโดยยีนเพียงอย่างเดียว และถ้าอัตราพันธุกรรมมีค่าเท่ากับ 0 หรือใกล้เคียง 0 หมายความว่าลักษณะนั้นขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อมทั้งสิ้น

หรือเป็นส่วนใหญ่ (จรัส สว่างทัพ, 2548) ซึ่ง อภิชัย เมฆบังวัน (2535) รายงานว่า ถ้าลักษณะใดมีค่าอัตราพันธุกรรมสูง ลักษณะนั้นจะมีอำนาจในการถ่ายทอดไปให้ลูกหลานได้สูง อิทธิพลแบบบวกสะสมในลักษณะนั้นมีมาก และสหสัมพันธ์ระหว่างพันธุกรรมกับลักษณะแสดงออกของลักษณะนั้นมีมาก

ในการศึกษาถึงอัตราพันธุกรรมของลักษณะต่าง ๆ ที่สามารถถ่ายทอดต่อกันไปจนถึงรุ่นลูกรุ่นหลานนั้น ได้มีการศึกษาต่อเนื่องกันมายาวนาน และในส่วนอัตราพันธุกรรมของลักษณะการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ก็ได้มีการศึกษามากมาย ดังที่ Peleg et al. (1976) ได้ทำการศึกษาทดลองถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมต่อการตอบสนองต่อไวรัสนิวคาสเซิลในไก่เนื้อที่อายุ 4 สัปดาห์ โดยใช้วัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อเป็นและเชื้อตาย พบว่าค่าอัตราพันธุกรรมในการตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อเป็นและเชื้อตาย มีค่าเท่ากับ 0.31 และ 0.60 ตามลำดับ เมื่อคำนวณจากส่วนประกอบของความแปรปรวนที่มาจากพ่อ (sire variance component) และ Soller, Heller, Peleg, Ron-Kuper, and Hornstein (1981) ทำการศึกษาค่าอัตราพันธุกรรมของระดับ antibody ที่ตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิล และวัคซีน *E. coli* ในไก่เนื้อที่เลี้ยงเชิงการค้า พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.41 และ 0.25 ตามลำดับ เมื่อคำนวณจากส่วนประกอบของความแปรปรวนที่มาจากพ่อ (sire variance component) และจากการทดลองของ Yonash, Leitner, Waiman, Heller, and Cahaner (1996) ที่ได้ทำการศึกษาในไก่เนื้อที่ถูกคัดเลือกในการตอบสนองต่อวัคซีน *E. coli* โดยการคัดเลือกไก่ที่มีการสร้าง antibody ในระดับสูงและระดับต่ำ ซึ่งในการตอบสนองต่อวัคซีน *E. coli* นั้น ค่าอัตราพันธุกรรมของกลุ่มที่มีการสร้าง antibody ในระดับสูงมีค่าเท่ากับ 0.44 และค่าอัตราพันธุกรรมของกลุ่มที่มีการสร้าง antibody ในระดับต่ำมีค่าเท่ากับ 0.42

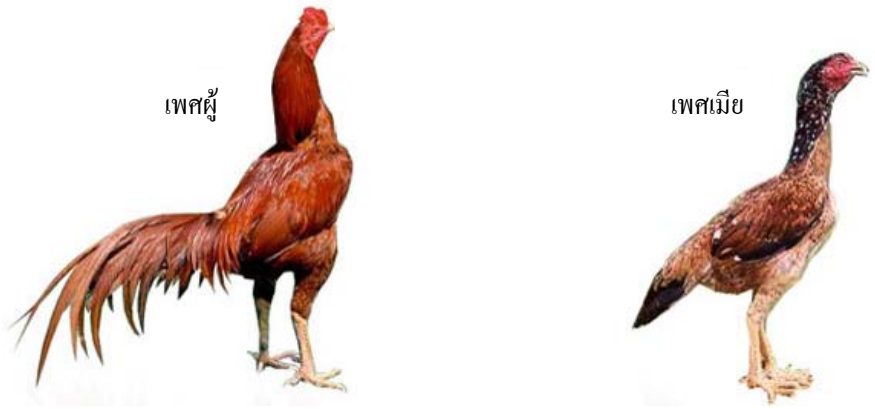
Gyles et al. (1986) ได้ทำการทดลองเพื่อหาค่าอัตราพันธุกรรมของการสร้าง antibody ที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ในไก่อายุ 3 สัปดาห์ ในสัปดาห์ที่ 1, 2, 3 และ 4 หลังการให้วัคซีน ได้ทำการวัดค่า antibody ไตเตอร์พบว่า ค่าอัตราพันธุกรรมมีค่า 0.06-0.58 เมื่อคำนวณด้วยวิธีการ Half-sib analysis

2.6 ไก่พื้นเมืองพันธุ์แดง

ไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์แดง เป็นไก่ที่รู้จักกันมาแต่โบราณ ลักษณะตามอุดมทัศนีย์ไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์แดง สมาคมอนุรักษ์และพัฒนาไก่พื้นเมืองไทย ได้มีการประกาศลักษณะตามอุดมทัศนีย์ของไก่พันธุ์นี้ในเดือนกันยายน 2541 พร้อมกับพันธุ์เหลืองหางขาว ประดู่หางดำ ซึ่งมีชื่อเสียงเป็นที่นิยมเช่นกัน สมาคมอนุรักษ์และพัฒนาฯ ได้กล่าวถึงไก่พันธุ์แดงมีลักษณะเป็นไก่ขนาดกลาง ตัวผู้มีน้ำหนักเฉลี่ย 3-3.5 กิโลกรัม และตัวเมียมีน้ำหนักเฉลี่ย 3 กิโลกรัม ไก่พื้นเมืองพันธุ์แดงมี

คุณลักษณะประจำพันธุ์ที่ชัดเจน ไก่เพศผู้จะมีรูปร่างสูง ทะมัดทะแมง อกกว้าง ลำตัวยาว ไหล่หนา ใหญ่ ขาใหญ่แข็งแรง บั้นท้ายโต ขนพื้นลำตัว หน้าคอ หน้าท้อง ขนใต้ปีก ขนสร้อยคอ สร้อยปีก มีสีแดง ส่วนขนหางมีสีดำหรือแดงเป็นพวงยาว มีขนขาวแซม สีหน้ามีสีแดง สีตามีสีน้ำตาลอมสีเหลือง ปากและแข้งมีสีเหลือง สีผิวหนังขาวอมเหลือ หงอนหิน (ภาพที่ 2.13) ส่วนเพศเมียลักษณะทั่วไป ไหล่หนาใหญ่ ท้ายมน ขนพื้นลำตัวด้านล่าง หน้า คอ หน้าอก ปีก ใต้ท้อง ก้นมีสีแดง ขนหางพัดมีสีดำ ขนทับหางมีสีแดง ปาก แข้ง และเล็บมีสีเหลือง (ดรุณี ณ รังสี, ประพฤทธิ์ จงใจภักดิ์, และทวีศิลป์ จีนด้วง, 2546)

ไก่พื้นเมืองพันธุ์แดงพบว่ามีการเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายทางภาคใต้ของประเทศไทย ทั้งนี้เนื่องจากเป็นไก่ที่เลี้ยงง่าย ทนทานต่อโรคและสภาพแวดล้อม ซึ่งลักษณะที่ทนทานต่อโรคของไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงเป็นที่น่าสนใจ จึงควรที่จะมีการอนุรักษ์พัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ให้เป็นไก่ประจำท้องถิ่นและสามารถทำรายได้ให้กับเกษตรกรท้องถิ่นทางภาคใต้ต่อไป



ภาพที่ 2.13 ไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงเพศผู้ และเพศเมีย
ที่มา: Noppadon, www, 2007

2.7 การต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองและไก่เนื้อ และสภาวะการเกิดโรคในไก่พื้นเมือง

จากการรวบรวมเอกสารงานวิจัยพบว่ามีการศึกษาทดลองเกี่ยวกับการต้านทานโรคและโรคระบาดที่เกิดขึ้นในไก่พื้นเมืองต่างประเทศมากมาย ดังเช่นการรายงานของ Aini (1990) และ Bell (1992) พบว่าโรคที่สำคัญที่เกิดขึ้นในไก่พื้นเมืองที่เลี้ยงในระบบ free-range คือ โรคนิวคาสเซิล และยังพบว่าในช่วงที่มีการระบาดของโรคดังกล่าวจะส่งผลให้ไก่มีการตายถึง 80% แต่ทั้งนี้จะต้องขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของการระบาดด้วย และพบว่าช่วงอายุที่มีการตายอันเนื่องมาจาก

โรคนิวคาสเซิลคือ ไก่ที่มีอายุ 3 เดือน เนื่องจากมีการตายประมาณ 60% (Wilson, Traore, Kuit, and Slingerland, 1987) ในส่วนของการต้านทานโรคจากการศึกษาทดลองของ Bouzoubaa, Lemainguer, and Bell (1992) ในประเทศโมรอกโค พบว่าประมาณ 58% ของไก่พื้นเมืองมี antibody ที่ต้านทานเชื้อ *Salmonella gallinarum* และ *S. pullorum* และ Chrysostome, Bell, Demey, and Verhulst (1995) รายงานว่า 10% ของไก่พื้นเมืองมี antibody ที่ต้านทานเชื้อ *S. pullorum* และ 62% ของไก่พื้นเมืองมี antibody ที่ต้านทานเชื้อ *Mycoplasma gallisepticum* และ 65% ของไก่พื้นเมืองมี antibody ที่ต้านทานโรคนิวคาสเซิล และจากการศึกษาของ Bell, Kane, and Jan (1990) ทำการศึกษาไก่พื้นเมืองในเมืองมาริทาเนีย (Mauritania) พบว่า 17.5% ของไก่พื้นเมืองมี antibody ที่ต้านทานเชื้อ *S. pullorum* และมากกว่า 46.2% ของไก่พื้นเมืองมี antibody ที่ต้านทานต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ และ 7.5% ของไก่พื้นเมืองมี antibody ที่ต้านทานโรคนิวคาสเซิล นอกจากนี้ Permin (1997) ทำการศึกษาในเมืองทานซาเนีย (Tanzania) พบว่าประมาณ 7.3% ของไก่พื้นเมืองมี antibody ที่ต้านทานโรคนิวคาสเซิล และ 2.0% ของไก่พื้นเมืองมี antibody ที่ต้านทานต่อเชื้อ *Salmonella enteritidis* และ 52.7% ของไก่พื้นเมืองมี antibody ที่ต้านทานต่อเชื้อ *Salmonella gallinarum (pullorum)*และ 58.3% ของไก่พื้นเมืองมี antibody ที่ต้านทานโรคหลอดลมอักเสบติดต่อ และ 42.3% ของไก่พื้นเมืองมี antibody ที่ต้านทานต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ แต่การศึกษาในลักษณะที่คล้ายกันนี้ยังมีการศึกษาทดลองอยู่น้อยในแถบเอเชีย

Calnek, Barnes, Beard, McDougald, and Saif (1997) ได้รายงานถึงโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสในไก่พื้นเมืองพันธุ์ต่างประเทศที่สำคัญและช่วงอายุที่มักพบการเกิดโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส ดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 โรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสในไก่พื้นเมืองของต่างประเทศที่สำคัญและช่วงอายุที่มักพบการเกิดโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส

โรค	ช่วงอายุที่พบการเกิดโรค
Mareks disease	ต่ำกว่า 6 สัปดาห์
Leucosis	Adults
Newcastle disease	growers, adults
Fowl Pox	all ages
Infectious Laryngotracheitis	growers, adults
Infectious Bursal disease (Gumboro)	< 8 weeks

ที่มา: Calnek et al., 1997

ได้มีการศึกษาถึงพันธุกรรมในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองพันธุ์ต่าง ๆ ในต่างประเทศ ซึ่งจากการศึกษาของ Okoye et al. (1999) ที่ได้ทำการทดลองศึกษาเกี่ยวกับความไวของการเกิดโรค (susceptibility) ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ในไก่พื้นเมืองของประเทศไนจีเรียเปรียบเทียบกับไก่เนื้อพันธุ์ที่เลี้ยงเชิงการค้า โดยทำการเลี้ยงแบบขังใส่คอก (pen) และให้ไก่ได้รับเชื้อ Infectious bursal disease virus พบว่า ทั้งในไก่พันธุ์พื้นเมืองและไก่เนื้อที่เลี้ยงเชิงการค้า มีอัตราการเจริญเติบโตลดลง และเกิดอาการท้องเสีย ในวันที่ 3 และ 4 หลังจากได้รับเชื้อคล้ายกัน เมื่อศึกษาถึงอัตราการตายพบว่ามีค่าที่แตกต่างกันดังที่แสดงในตารางที่ 2.4 นอกจากนี้ Hassan, Afify, and Aly (2004) ได้ทำการทดลองศึกษาพันธุกรรมกับการต้านทานโรค (Genetic resistance) ในไก่พันธุ์พื้นเมืองของประเทศอียิปต์ (native Egyptian breeds) โดยศึกษาความสามารถในการต้านทานต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ โดยใช้เชื้อไวรัสชนิดรุนแรง (vary virulent infectious bursal disease) พบว่าอัตราการตายมีค่าที่แตกต่างกันดังที่แสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 อัตราการตายของไก่พื้นเมืองและไก่เนื้อที่เลี้ยงเชิงการค้าที่ได้รับเชื้อ Infectious bursal disease virus

พันธุ์ไก่	Mortality rate (%)	References
Local Nigerian Chickens	30%	Okoye et al. (1999)
Exotic Chickens		
- pullets	85%	
- cockerels	66.7%	
- broilers	20%	
Fayoumi	47%	Hassan et al. (2002)
Gimmizah	85%	
Balady	37%	
Golden	21%	
Mandarah	11%	
Foreign white leghorn pullets	20%	
Gimmizah Chickens	55%	Hassan et al. (2004)
Sina Chickens	35%	
Dandrawi Chickens	55%	
Mandarah Chickens	10%	

จากตารางที่ 2.4 พบว่าไก่พื้นเมืองของไนจีเรียมีอัตราการตายอันเนื่องมาจากโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 30% ซึ่งเมื่อเทียบกับไก่พันธุ์ที่เลี้ยงเชิงการค้า ใน pullets และ cockerels ซึ่งมีอัตราการตาย 85% และ 66.7% ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าไก่พื้นเมืองมีอัตราการตายอันเนื่องมาจากโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อต่ำกว่าไก่ที่เลี้ยงเชิงการค้า แต่ไก่พื้นเมืองมีอัตราการตายสูงกว่าไก่เนื้อ (Okoye et al., 1999) และมีการศึกษาในไก่พื้นเมืองของประเทศอียิปต์ (native Egyptian breeds) จากตารางที่ 2.4 พบว่าอัตราการตายอันเนื่องมาจากโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองของประเทศอียิปต์ (native Egyptian breeds) มีความแตกต่างกันแสดงให้เห็นถึงพันธุกรรมที่แตกต่างกันมีผลต่อการต้านทานโรค (Hassan et al., 2002, 2004)

Abdel-Moneim and Abdel-Gawad (2006) ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบในไก่พื้นเมืองของประเทศอียิปต์ (native Egyptian breeds) 4 สายพันธุ์ โดยทำการให้วัคซีนต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ จากนั้นเก็บตัวอย่างเลือดในแม่ไก่ และลูกไก่อายุ 1 วัน เพื่อนำมาหาปริมาณ antibody titer และตรวจหาค่า antibody titer ในไข่แดงจากไข่ที่มาจากชุดเดียวกับลูกไก่ ดังแสดงผลในตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 ค่าเฉลี่ยระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ โดยทำการวัดจากแม่ไก่ ไข่แดง และลูกไก่

พันธุ์ไก่	IBDV ELISA antibody titers		
	แม่ไก่	ไข่แดง	ลูกไก่อายุ 1 วัน
Dokki-4	3895 ± 856^{b}	5856 ± 1330^{a}	1884 ± 101^{b}
Bandara	4164 ± 700^{b}	5222 ± 744^{a}	1449 ± 157^{b}
Montazah	9299 ± 1379^{a}	6570 ± 947^{a}	2327 ± 241^{a}
Dandarawy	3396 ± 753^{b}	2714 ± 544^{b}	1511 ± 94^{b}

ที่มา: Abdel-Moneim and Abdel-Gawad , 2006

หมายเหตุ: Mean titers ± S.E.M.

$^{a-b}$อักษรที่กำกับบนค่าเฉลี่ยในแนวตั้งเดียวกันความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

จากตารางที่ 2.5 พบว่าการตอบสนองต่อวัคซีนโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อมีความแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ โดยในไก่พันธุ์ Montazah มีค่าเฉลี่ยของ antibody titer ต่อวัคซีนโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อสูงที่สุดเมื่อเทียบกับพันธุ์อื่น ($P<0.05$) และยังพบว่าความแตกต่างของค่า antibody titer ในแม่ไก่จะเกิดขึ้นในภาพแบบเดียวกันกับ antibody titer ในลูกไก่ สำหรับ antibody titer ในไข่แดงพบว่าในไก่พันธุ์ Dokki-4, Bandara, และ Montazah ไม่มีความแตกต่างกัน และ

antibody titer ของไก่ทั้ง 3 พันธุ์นี้พบว่ามีค่าสูงเมื่อเทียบกับค่าเฉลี่ยของ antibody titer ในไก่พันธุ์ Dandarawy ($P<0.05$)

2.8 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

ELISA เป็นวิธีตรวจสอบปฏิกิริยาระหว่าง antibody กับ antigen โดยใช้เอ็นไซม์เป็นตัวบ่งชี้แทนการใช้สารกัมมันตรังสี หรือสารเรืองแสง วิธีนี้สามารถใช้ตรวจหา antibody และ antigen ได้อย่างจำเพาะเจาะจง มีความไวสูง ง่าย และรวดเร็ว ซึ่งการทดสอบโดยทั่วไปมักใช้วัสดุ (solid phase) เป็นตัวดูดซับ antigen หรือ antibody ไว้ก่อน และเมื่อปฏิกิริยาระหว่าง antibody และ antigen เกิดขึ้นแล้ว ล้างส่วนของ antibody หรือ antigen ส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยาออกจึงทำได้สะดวก เพราะ antibody และ antigen ที่ทำปฏิกิริยากันจะติดอยู่กับวัสดุ จากนั้นจึงเติม antibody ที่จำเพาะที่ติดฉลากด้วยเอ็นไซม์ลงไป ซึ่งสามารถตรวจสอบได้จากการเปลี่ยนแปลงของสารตั้งต้น (substrate) ที่ใส่ลงไปภายหลัง

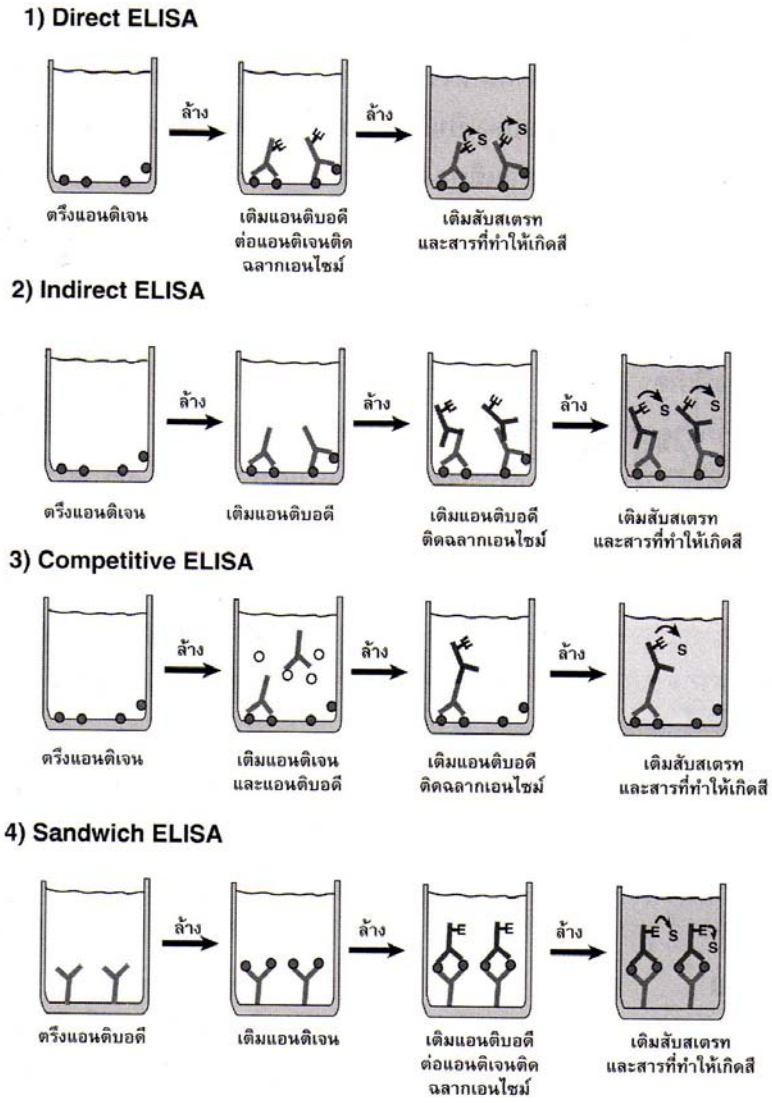
หลักการของ ELISA จะใช้เอ็นไซม์ในการเชื่อมต่อกับ antibody ซึ่งเอ็นไซม์จะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนสารตั้งต้น (substrate)ที่ไม่มีสีเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสี (chromogenic substrate) ซึ่งเอ็นไซม์ต่าง ๆ ที่ใช้ใน ELISA ได้แก่ alkaline phosphatase, horseradish peroxidase, β galactosidase เป็นต้น ส่วนวัสดุโดยทั่วไปมักใช้พลาสติก เช่น พอลิโพรไพลีน (polypropylene) ซึ่งผ่านกระบวนการบางอย่างที่ทำให้พลาสติกเหล่านั้นสามารถดูดซับโปรตีนได้ดีขึ้น ซึ่งมีข้อได้เปรียบที่ความปลอดภัยและประหยัดกว่า วิธี Radioimmunoassay มาก ซึ่งการพัฒนา ELISA รูปแบบต่าง ๆ ทำให้สามารถใช้เทคนิคนี้ในการตรวจสอบทั้ง antigen และ antibody ในแง่คุณภาพหรือปริมาณได้ การตรวจสอบในเชิงปริมาณสามารถทำได้โดยใช้ antigen หรือ antibody ที่ทราบปริมาณเพื่อเตรียมกราฟมาตรฐานสำหรับเปรียบเทียบกับผลที่ได้จากตัวอย่าง ซึ่ง ELISA มีหลายรูปแบบ โดยจะมีแนวทางในการปฏิบัติคล้าย ๆ กัน โดยรูปแบบของ ELISA แบ่งออกได้เป็น 4 รูปแบบ (ไพศาล สิทธิกร, 2548) ดังนี้

1. Direct ELISA วิธี direct ELISA สามารถใช้ตรวจสอบหรือตรวจวัดปริมาณ antibody หรือ antigen (ภาพที่ 2.14) โดยหากต้องการตรวจสอบ antigen จะต้องเติม antibody ที่ติดฉลากด้วยเอ็นไซม์ (Ab1) ลงในหลุมที่เคลือบด้วยตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบว่ามี antigen ในถาดหลุม 96 หลุม ทิ้งไว้ให้ทำปฏิกิริยากับ antigen และล้าง antibody ที่ไม่จับกับ antigen ออก เติมสารตั้งต้น (substrate) ปริมาณสีที่เกิดจากปฏิกิริยาสามารถวัดโดย microplate reader ที่ออกแบบมาสำหรับการอ่านถาดหลุม 96 หลุม ซึ่งสามารถทราบผลค่าการดูดกลืนแสงจากทั้ง 96 หลุม ภายในระยะเวลาไม่ถึงนาที

2. Indirect ELISA วิธี indirect ELISA คล้ายกับ direct ELISA โดยหากจะตรวจสอบ antibody จะใช้ซีรั่มหรือ antibody ที่จะตรวจสอบทำปฏิกิริยาที่จำเพาะต่อ antigen ที่เคลือบถาด 96 หลุม จากนั้นตรวจสอบ antibody ที่จับกับ antigen โดยใช้ antibody ตัวที่ 2 ที่ติดฉลากด้วยเอ็นไซม์ (Ab2) โดย antibody นี้มีความจำเพาะต่อ antibody ตัวแรก หลังจากล้าง antibody อิสระออก เติมสารตั้งต้น (substrate) เช่นเดียวกับ direct ELISA (ภาพที่ 2.14) ซึ่งวิธี indirect ELISA นี้ได้นำมาเป็นวิธีการที่ใช้ตรวจการปรากฏของ antibody ต่อเชื้อ infectious bursal disease virus ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ

3. Competitive ELISA โดยหากต้องการวัดปริมาณ antigen (ภาพที่ 2.14) จะนำ antibody ผสมกับตัวอย่าง antigen มาตรฐานหรือตัวอย่างที่ต้องการตรวจหา antigen จากนั้นเติมลงในถาดหลุม 96 หลุมที่เคลือบด้วย antigen (เหมือนกับกรณีของ indirect ELISA) ซึ่งถ้าในตัวอย่างที่ต้องการตรวจมี antigen มาก antibody ที่เหลือที่จะจับกับ antigen ก้นหลุมจะมีน้อยลง ดังนั้นหลังจากเติม antibody ตัวที่ 2 ที่ติดฉลากด้วยเอ็นไซม์ (Ab2) และมีความจำเพาะต่อ antibody ตัวแรก เพื่อใช้ตรวจสอบปริมาณของ antibody ตัวแรกที่จับกับก้นหลุมคล้ายกับ indirect ELISA ก็จะมีน้อยลงด้วย ดังนั้นตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของ antigen ที่จะตรวจสูงจะให้ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ต่ำ (สีจางลง) กว่าหลุมที่มี antigen ความเข้มข้นต่ำ

4. Sandwich ELISA หากต้องการตรวจหา antigen ตัวอย่างสามารถตรวจสอบและตรวจวัดโดย (ภาพที่ 2.14) โดยใช้ antibody ตรึงในถาดหลุม 96 หลุม จากนั้นเติมตัวอย่างที่ต้องการตรวจหา antigen ทิ้งให้ทำปฏิกิริยากับ antibody ที่ตรึงอยู่ หลังจากล้าง antigen อิสระออก เติม antibody ที่จำเพาะต่ออิพิโทปของ antigen บริเวณที่ต่างจากอิพิโทปที่ antibody ตัวแรกจับอยู่และติดฉลากเอ็นไซม์ หลังจากล้าง antibody อิสระ เติมสารตั้งต้น (substrate)และวัดผลิตภัณฑ์ที่เกิดสีขึ้น ซึ่งกรณีนี้อาจดัดแปลงเป็นแบบวิธีอ้อมได้โดยใช้ antibody ติดฉลากเอ็นไซม์ที่จำเพาะต่อ antibody ตัวที่ 2 แต่กรณีนี้ antibody ตัวที่ 1 และ antibody ตัวที่ 2 ต้องมาจากสัตว์ต่างชนิดกัน (ไพศาล สิทธิกร, 2548)



ภาพที่ 2.14 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)
ที่มา: ไพศาล สิทธิกร, 2548

2.9 วิธี ELISA ในการตรวจสอบภูมิคุ้มกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ

2.9.1 การตรวจวัดระดับภูมิคุ้มกันด้านสารน้ำ (humoral immunity) ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (infectious bursal disease)

ภูมิคุ้มกันที่จำเพาะต่อสารแปลกปลอม (antigen) อาจแบ่งออกได้เป็น 2 ส่วน คือ ภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำ (humoral immunity) และภูมิคุ้มกันทางด้านเซลล์ (cellular immunity) โดยภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำ หมายถึง ภูมิคุ้มกันจำเพาะที่ใช้สารน้ำ (humor) คือ antibody ที่จำเพาะต่อ antigen ในการกำจัด antigen ซึ่ง antibody หรืออิมมูโนโกลบุลิน (immunoglobulin) เป็นสาร

glycoprotein ซึ่งประกอบไปด้วย polypeptide และคาร์โบไฮเดรต ผลิตมาจาก plasma cell และB-lymphocyte antibody ส่วนใหญ่อยู่ในซีรั่มส่วนแกมมาโกลบุลิน (gamma globulin) นอกจากนี้ยังพบในส่วนน้ำอื่น ๆ ของร่างกายและในเนื้อเยื่อ เช่น ปัสสาวะ น้ำนม น้ำไขสันหลัง น้ำลาย ม้าม ต่อมน้ำเหลือง น้ำตา และบนผิวของ B-cell เมื่อมีสารแปลกปลอม (antigen) เข้าสู่ร่างกาย antigen จะไปจับกับ B-cell ที่มีความจำเพาะต่อ antigen นั้น B-cell ก็จะมีปฏิกิริยาตอบสนองด้วยการแบ่งตัว (proliferation) และการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (differentiation) เกิดกลุ่มของ plasma cell ที่ทำหน้าที่ผลิต antibody ซึ่ง antibody จะทำหน้าที่จับกับ antigen นั้น ๆ โดย antibody ทำหน้าที่เป็นตัวจักรสำคัญของระบบภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำ (humoral immunity) และวิธีที่นำมาใช้ในการตรวจหาปริมาณของ antibody ต่อโรค infectious bursal disease คือ ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) เนื่องจากเป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะเจาะจงสูง สามารถอ่านผลด้วยเครื่องวัด ง่ายและรวดเร็ว (นภาธร บานชื่น, 2543)

หลักการ

วิธีการของ ELISA จะใช้หลักการตรวจสอบปฏิกิริยาระหว่าง antigen และ antibody โดยอาศัยเอ็นไซม์ (enzyme) เป็นตัวบ่งชี้ตรวจสอบ ดังที่ได้อธิบายในหัวข้อ 2.8 ซึ่งการทดสอบทั่วไปมักใช้วัสดุ (solid phase) เป็นตัวดูดซับ antigen หรือ antibody ไว้ก่อน และเมื่อปฏิกิริยาระหว่าง antigen และ antibody เกิดขึ้นแล้ว ก็ทำการล้างส่วนของ antigen หรือ antibody ส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยากันออก จากนั้นจึงทำการเติม antibody ที่จำเพาะที่ติดฉลากด้วยเอ็นไซม์ลงไป และสามารถตรวจสอบได้จากการเปลี่ยนแปลงของสารตั้งต้น (substrate)ที่ใส่ลงไปภายหลังทำให้เกิดเป็นสารสี และทำการตรวจวัดโดยใช้เครื่อง ELISA reader และแสดงผลออกมาในรูปของค่าไตเตอร์ (titer, titre) เป็นการอ่านค่าระดับความเจือจางของ antibody ที่ต้องการตรวจ

2.9.2 ไตเตอร์

ในการทดสอบหาระดับของ antigen หรือ antibody ในสิ่งที่ต้องการตรวจ โดยใช้การทดสอบที่อาศัยการทำปฏิกิริยาอย่างจำเพาะระหว่าง antigen และ antibody นั้น วิธีการอย่างหนึ่งที่นิยมคือ การตรวจหาความเจือจางสูงสุดของสิ่งส่งตรวจที่ยังคงให้ผลบวกในการทดสอบนั้น และอ่านระดับความเจือจางนั้นเป็น “ไตเตอร์” หรือ “ติเตอร์” (titre, titer) ของ antigen หรือ antibody ของสิ่งที่ต้องการตรวจ สิ่งส่งตรวจใดมีสารที่ต้องการตรวจอยู่ในระดับสูง ก็จะยังคงสามารถให้ผลบวกได้เมื่อทำการทดสอบสิ่งส่งตรวจนั้นที่ระดับความเจือจางสูง ตัวอย่างเช่น การตรวจหาระดับ antibody ที่จำเพาะต่อ antigen ชนิดหนึ่งในซีรั่ม ก และ ข เมื่อทำการเจือจางซีรั่ม ก 1:10, 1:20, 1:40 … จนถึง 1:640 และทำการทดสอบพบว่าซีรั่มที่เจือจาง 1:10, 1:20, 1:40 ให้ผลบวก แต่ซีรั่มที่เจือจาง 1:80 ให้ผลลบ ดังนั้นจะอ่านว่าไตเตอร์ของ antibody ในซีรั่ม ก เท่ากับ 1:40 ส่วนการทดสอบซีรั่ม ข

ซึ่งมี antibody ในระดับสูงกว่าซีรั่ม ก จะพบได้ว่าไตเตอร์ของ antibody ในซีรั่ม ข สูงกว่าซีรั่ม ก เช่น อาจจะเท่ากับ 1:160 หรือมากกว่า เป็นต้น

2.10 รายการอ้างอิง

กนก ผลารักษ์. (2521). **การปรับปรุงพันธุ์สัตว์เบื้องต้น.** ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

เกรียงศักดิ์ พูนสุข. (2536). **โรคติดเชื้อในไก่.** กรุงเทพฯ: คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

จรัส สว่างทัพ. (2548). **เทคนิคการปรับปรุงพันธุ์สัตว์.** บุรีรัมย์: มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์.

จิโรจ ศศิปรียจันทร์. (2541). **คู่มือโรคไก่.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ ดิออสการ์ แอนด์ เรย์ จำกัด.

ดรุณี ณ รังสี, ประพฤทธิ์ จงใจภักดิ์, และทวีศิลป์ จีนด้วง. (2546). **การศึกษาสหสัมพันธ์ลักษณะปรากฏและสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของผลผลิตในไก่พันธุ์แดงเมื่อถึงชั่วอายุที่ 1-3** [ออนไลน์]. ได้จาก: www.dld.go.th/person/information/wor10/25.doc

ทัศนีย์ สุโกศล. (2543). แอนติเจนและแอนติบอดี. ใน สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ (บรรณาธิการ). **อิมมูโนวิทยา** (หน้า 35-63). พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: บริษัทพีพีเอช ซายน์เทคนิคัล จำกัด.

นพพร ศราธพันธุ์. (2535). ภาวการณ์ระบาดของโรคกัมโบโร่ในประเทศไทยตั้งแต่ 2516 ถึงปัจจุบัน. **จดหมายข่าว สถาบันสุขภาพสัตว์และผลิตสัตว์แห่งชาติ.** 1(11): 40-43.

นภาธร บานชื่น. (2543). หลักการทดสอบในห้องปฏิบัติการสำหรับการตรวจหาแอนติเจนและแอนติบอดี. ใน สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ (บรรณาธิการ). **อิมมูโนวิทยา** (หน้า 165-196). พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: บริษัทพีพีเอช ซายน์เทคนิคัล จำกัด.

นภาธร บานชื่น. (2543). เอช แอล เอ. ใน สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ (บรรณาธิการ). **อิมมูโนวิทยา** (หน้า 91-110). พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: บริษัทพีพีเอช ซายน์เทคนิคัล จำกัด.

พรชุลีย์ นิลวิเศษ และคณะ. (2545). **วิทยาศาสตร์สุขภาพสัตว์.** มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช.

ไพศาล สิทธิกรกุล. (2548). **วิทยาภูมิคุ้มกันสำหรับการเรียนการสอนและการวิจัย.** กรุงเทพฯ: บริษัท พิมพ์ดี จำกัด.

สมชัย จันทร์สว่าง. (2530). **การปรับปรุงพันธุ์สัตว์.** กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สันนิภา สุรทัตต์. (2549). **วิทยาภูมิคุ้มกันทางสัตวแพทย์ภาคปฏิบัติ.** กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ตีรณสาร.

อภิชัย เมฆบังวัน. (2535). **การปรับปรุงพันธุ์สัตว์.** เชียงใหม่: สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม้โจ้.

Abdel-Moneim, A. S., and Abdel-Gawad, M. M. A. (2006). Genetic variations in maternal transfer and immune responsiveness to infectious bursal disease virus. **Veterinary Microbiology.** 114: 16-24.

Ahmed, Z., and Akhter, S. (2003). Role of maternal antibodies in protection against infectious bursal disease in commercial broilers. **International Journal of Poultry Science.** 2(4): 251-255.

Aini, I. (1990). Indigenous chicken production in South-east Asia. **World's Poultry Science Journal.** 46: 51-57.

Alam, J., Rahman, M. M., Sil, B. K., Khan, M. S. R., Giasuddin, and Sarker, M. S. K. (2002). Effect of maternally derived antibody on vaccination against infectious bursal disease (gumboro) with live vaccine in broiler. **International Journal of Poultry Science.** 1(4): 98-101.

Azab, A., Hassan, S. M., and Qubih, T. S. (1991). Determination of maternal immunity against IBD in broiler chicks. **Assiut Veterinary Medical Journal.** 25: 211-215.

Bell, J. G. (1992). The village chicken and disease control. **Tanzania Veterinary Journal.** 12: 44-47.

Bell, J. G., Kane, M., and Jan, L. (1990). An investigation of the disease status of village poultry in Mauritania. **Preventive Veterinary Medicine.** 8: 291-294.

Bouzoubaa, K., Lemainguer, K., and Bell, J. G. (1992). Village chickens as a reservoir of *Salmonella pullorum* and *Salmonella gallinarum* in Morocco. **Preventive Veterinary Medicine.** 12: 95-100.

Calnek, B. W., Barnes, H. J., Beard, C. W., McDougald, L. R., and Saif, Y. M. (1997). **Diseases of Poultry.** Iowa, USA: Iowa State University Press.

Chrysostome, C. A. A. M., Bell, J.G., Demey, F., and Verhulst, A. (1995). Seroprevalences to three diseases in village chickens in Benin. **Preventive Veterinary Medicine.** 22: 257-261.

Gyles, N. R., Fallah-Moghaddam, H., Patterson, L. T., Skeeles, J. K., Whitfill, C. E., and Johnson, L. W. (1986). Genetic aspects of antibody response in chicken to different classes of antigens [Abstract]. **Poultry Science.** 65: 223-232.

Hasenstein, J. R., Zhang, G., and Lamont, S. J. (2006). Analyses of five gallinacin genes and the

Salmonell enterica serovar Enteritidis response in poultry. **Infection and Immunity.** 74: 3375-3380.

Hassan, M. K., Afify, M. A., and Aly, M. M. (2002). Susceptibility of vaccined and unvaccined Egyotian chickens to vary virulent infectious bursal disease virus. **Avian Pathology.** 31(2): 149-156.

Hassan, M. K., Afify, M. A., and Aly, M. M. (2004). Genetic resistance of Egyptian chickens to infectious bursal disease and newcastle disease. **Tropical Animal Health and Production.** 36(1): 1-9.

Hitchner, S. B. (1971). Persistence of parent IBD antibody and its effects on susceptibility of young chickens. **Avian Disease.** 15: 894-900.

Hu, J., Bumstead, N., Barrow, P., Sebastiani, G., Olien, L., Morgan, K., and Malo, D. (1997). Resistance to salmonellosis in the chicken is linked to NRAMP1 and TNC. **Genome Research.** 7: 693–704.

Iordanides, P., Koumpate, M., and Artopois, E. (1991). Role of maternal antibodies in preventing IBD in chicks in the first week of life. **Delteonten kitenaiatrikes Elareias.** 42: 245-249.

Kimijama, T., Hashimoto, Y., Kitagawa, H., Kon, Y., and Sugimura, M. (1990). Localization of immunoglobulins in the chicken oviduct [Abstract]. **Japanese Journal of Veterinary Science.** 52: 299-305.

Kramer, J., Malek, M., and Lamont, S. J. (2003). Association of twelve candidate gene polymorphisms and response to challenge with *Salmonella enteritidis* in poultry. **Animal Genetics.** 34: 339–348.

Lamont, S. J., Kaiser, M. G., and Liu, W. (2002). Candidate genes for resistance to *Salmonella enteritidis* colonization in chickens as detected in a novel genetic cross. **Veterinary Immunology and Immunopathology.** 87: 423–428.

Liu, W., Kaiser, M.G., and Lamont, S. J. (2003). Natural resistance associated macrophage protein 1 gene polymorphisms and response to vaccine against or challenge with *Salmonella enteritidis* in young chicks. **Poultry Science.** 82(2): 259–266.

Liu, W., Miller, M. M., and Lamont, S. J. (2002). Association of MHC class I and class II gene polymorphisms with vaccine or challenge response to *Salmonella enteritidis* in young chicks. **Immunogenetics.** 54: 582–590.

Lukert, P.D., and Saif, Y.M. (2003). Infectious bursal disease. In: Y. M. Saif, H. J. Barnes, J. R. Glisson, A. M. Fadly, L. R. McDougald, and D. E. Swayne (eds.). **Diseases of poultry** (11th ed., pp. 161–179). Iowa, USA :Iowa State University Press.

Lukert, P.D., and Saif, Y.M. (1997). Infectious bursal disease. In: B. W. Calnek (ed.). **Diseases of poultry** (10th ed., pp. 721–738). Iowa, USA :Iowa State University Press.

Malay, M., Bhattacharyya, H. M., Duttagupta, R., Pramanik, A. K., Sen, G. P., and Mitra, M. (1998). Studies on maternally derived antibody level of different viral diseases in broilers. **Indian Veterinary Journal.** 75: 495-497.

Malek, M., and Lamont, S. J. (2003). Association of INOS, TRAIL, TGFbeta2, TGF-beta3, and IgL genes with response to *Salmonella enteritidis* in poultry. **Genetics Selection Evolution.** 35(Suppl. 1): S99–S111.

Malek, M., Hasenstein, J. R., and Lamount, S. J. (2004). Analysis of chicken TLR4, CD28, MIF, MD-2, and LITAF genes in a *Salmonella enteritidis* resource population. **Poultry Science.** 83(4): 544-549.

Noppadon. (2007). **Thai cock fight** [On-line]. Available: http:// www. geocities.com/noppadon2007/page8.html

Okoye, J. O. A., Aba-Adulugba, E. P. R., Ezeokonkwo, C. S., Udem, C., and Orajaka, L. J. E. (1999). Susceptibility of local Nigerian and exotic chickens to infectious bursal disease by contract exposure. **Tropical Animal Health and Production.** 31(2): 75-81.

Peleg, B. A., Soller, M., Ron, N., Hornstein, K., Brody, T., and Kalmar, E. (1976). Familial differences in antibody response of broiler chickens to vaccination with attenuated and inactivated Newcastle disease virus vaccine [Abstract]. **Poultry Science.** 20(4): 661-8.

Permin, A. (1997). A survey of the disease status of scavenging poultry in the Morogoro region, Tanzania. In: Sonaiya E.B. (ed.). **Issues in Family Poultry Development Research, Proceedings of an International Workshop held on December 9-13, 1997** (pp 77-78). Ile-Ife, Nigeria: Faculty of Agriculture, Obafemi Awolowo University.

Pink, J. R. L., Droege,W., HaLa, K., Miggiano, V. C., and Ziegler, A. (1977). A three-locus model for chicken major histocompatibility complex. **Immunogenetics.** 5: 203-216.

Sadeyen, J. R., Trotereau, J., Protais, J., Beaumont, C., Sellier, N., Salvat, G., Velge, P., and Lalmanach, A. C. (2006). Salmonella carrier-state in hens: Study of host resistance by a

gene expression approach. **Microbes and Infection.** 8: 1308-1314.

Saif, Y.M. (1998). Infectious bursal disease and hemorrhagic enteritis. **Poultry Science.** 77(8): 1186–1189.

Saijo, K., and Higashihara, M. (1998). Optimal time of initial administration of live vaccine for IBD in chick with maternally derived antibody. **Journal of the Japan Veterinary Medical Association.** 51: 647-651.

Sharma, J. M. (2003). The Avian Immune System. In: Y. M. Saif, H.J. Barnes, J. R. Glisson, A. M. Fadly, L. R. McDougald, and D. E. Swayne (eds.). **Diseases of poultry** (11th ed., pp. 5-16). Iowa, USA :Iowa State University Press.

Soller, M., Heller, D., Peleg, B., Ron-Kuper, N., and Hornstein, K. (1981). Genetic and phynotypic correlations between immune response to *Escherichia coli* and to Newcastle disease virus vaccines [Abstract]. **Poultry Science.** 60(1): 49-53.

Tizard, I. R. (1996). **Veterinary immunology: An introduction** (5th ed.). Pennsylvania, USA: W.B. Saunders company.

Tsai, H. J., Lin, D. F., Chen, M. J., Chiang, W. C., Lu, Y. S., and Sung, H. T. (1995). Survey of maternal antibody status against IBDV and estimation of the vaccination point. **Journal of the Chinese Society of Veterinary Science.** 21: 223-231.

Warr, G. W., Major, K. E., and Higgins, D. A. (1995). IgY: Clues to origin of modern antibodies. **Immunology Today.** 16: 392-398.

Wilson, R. T., Traore, A., Kuit, H. G., and Slingerland, M. (1987). Livestock production in central Mali: Reproduction, growth and mortality of domestic fowl under traditional management. **Tropical Animal Health and Production.** 19: 229-236.

Wisniewska, J., and Stosik, M. (1999). Serum antibody titer after the first immunization of broilers against IBDV. **Medycyna Weterynaryjna.** 55: 48-51.

Wyeth, P. J., and Cullen, G. A. (1979). Use of an inactivated IBD oil emulsion vaccine in commercial broiler parent chickens. **Veterinary Record.** 104: 188-193.

Yehuda, H., Goldway, M., Gutter, B., Michael, A., Godfried, Y., Shaaltiel, Y., Levi, B. Z., and Pitcovski, J. (2000). Transfer of antibodies elicited by baculo virus derived vp2 of a very virulent bursal disease virus strain to progeny of commercial breeder chickens. **Avian Pathology.** 291: 13-19.

Yonash, N., Leitner, G., Waiman, R., Heller, E. D., and Cahaner, A. (1996). Genetic differences and heritability of antibody response to *Escherichia coli* vaccination in young broiler chicks. **Poultry Science.** 75(6): 683-690.

บทที่ 3
งานวิจัยส่วนที่ 1
การศึกษาความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงและไก่เนื้อที่เลี้ยงเชิงการค้า

3.1 บทคัดย่อ

ศึกษาความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงเปรียบเทียบกับไก่เนื้อที่เลี้ยงเชิงการค้าโดยใช้แผนการทดลองแบบ Completely Random Design with Repeated Measurement และ Polynomial trend ซึ่งได้มีการนำอิทธิพลของทรีทเมนต์และอิทธิพลของระยะเวลาที่เปลี่ยนแปลงมาพิจารณา โดยทำการศึกษาถึงความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์แดงและไก่เนื้อที่เลี้ยงเชิงการค้า ตามโปรแกรมการให้วัคซีนป้องกันโรคในไก่พื้นเมือง ในศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี โดยใช้ไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงจำนวน 100 ตัว และไก่เนื้อที่เลี้ยงเชิงการค้าจำนวน 100 ตัว ซึ่งการดำเนินการใช้ระยะเวลา 7 สัปดาห์ เก็บตัวอย่างซีรั่มที่ไก่อายุ 9, 16, 23, 30, 37, 44 และ 51 วัน ทำการแบ่งไก่ออกเป็น 4 กลุ่มการทดลอง กลุ่มการทดลองละ 5 ซ้ำ โดยแบ่งกลุ่มการทดลองเป็น ไก่แดงที่ไม่ได้รับวัคซีนโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (A), ไก่แดงที่ได้รับวัคซีนโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (B), ไก่เนื้อที่ไม่ได้รับวัคซีนโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (C), และไก่เนื้อที่ได้รับวัคซีนโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (D) ซึ่งผลการทดลองพบว่า ที่อายุ 9 วัน (ก่อนได้รับวัคซีน) ระดับค่าเฉลี่ยของ Antibody (Ab) titer ที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อของไก่เนื้อสูงกว่าไก่แดง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) จากนั้นที่อายุ 16 วันหลังจากได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 1 สัปดาห์พบว่าระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer ของกลุ่ม B คือกลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ได้รับวัคซีนมีค่าสูงที่สุด และกลุ่มที่มีค่าเฉลี่ย Ab titer รองลงมาคือกลุ่ม D ซึ่งเป็นกลุ่มไก่เนื้อได้รับวัคซีน และกลุ่มที่มีค่าเฉลี่ย Ab titer รองจากกลุ่ม D คือกลุ่ม C ซึ่งเป็นกลุ่มไก่เนื้อที่ไม่ได้รับวัคซีน ส่วนกลุ่มที่มีค่าเฉลี่ย Ab titer ต่ำที่สุดคือกลุ่ม A เป็นกลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ไม่ได้รับวัคซีน โดยค่าเฉลี่ย Ab titer ของทั้ง 4 กลุ่มการทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยต่อมาอายุ 23 วันหลังจากได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 2 สัปดาห์พบว่าระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer ของกลุ่ม B และ กลุ่ม A โดยเป็นกลุ่มของไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้

รับวัคซีน พบว่ามีค่าเฉลี่ย Ab titer ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ในส่วนกลุ่ม C และ D กลุ่มไก่เนื้อที่ไม่ได้รับวัคซีนและได้รับวัคซีน พบว่ามีค่าเฉลี่ย Ab titer ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่ค่าเฉลี่ย Ab titer ในกลุ่ม A และ B มีค่าสูงกว่าค่าเฉลี่ย Ab titer ของกลุ่ม C และ D โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และสัปดาห์ถัดมาที่อายุ 30 วัน หลังจากได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 3 สัปดาห์พบว่ากลุ่ม C และ D มีค่าเฉลี่ย Ab titer ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ซึ่งกลุ่ม C และ D มีค่าเฉลี่ย Ab titer ต่ำกว่ากลุ่ม B และ A โดยกลุ่ม B มีค่าเฉลี่ย Ab titer สูงที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม A, C และ D ต่อมาที่อายุ 37 วัน หลังจากได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 4 สัปดาห์ พบว่ากลุ่ม A และ B ซึ่งเป็นกลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงมีค่าเฉลี่ย Ab titer ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และกลุ่ม C และ D ซึ่งเป็นกลุ่มไก่เนื้อมีค่าเฉลี่ย Ab titer ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่พบว่ากลุ่ม A และ B มีระดับค่าเฉลี่ย Ab titer สูงกว่ากลุ่ม D และ C โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ที่อายุ 44 วัน หลังจากได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 5 สัปดาห์ พบว่ากลุ่ม A, B และ D มีค่าเฉลี่ย Ab titer ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) กลุ่ม C มีค่าเฉลี่ย Ab titer ต่ำกว่ากลุ่ม A, B และ D โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับกลุ่ม A และ B แต่กลุ่ม C มีค่าเฉลี่ย Ab titerไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) กับกลุ่ม D ที่อายุ 51 วัน หลังจากได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 7 สัปดาห์พบว่ากลุ่ม C และ D ซึ่งเป็นกลุ่มของไก่เนื้อมีระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่มีระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer ของกลุ่ม C และ D แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับกลุ่ม A และ B ทั้งนี้กลุ่ม A มีระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับกลุ่ม B โดยพบว่ากลุ่ม A มีระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบทั้ง 4 กลุ่มการทดลอง โดยจากผลการทดลองในกลุ่ม A ซึ่งเป็นกลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ไม่ได้รับวัคซีนแต่กลับพบว่ามีระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer สูงที่สุด โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับกลุ่ม B

เมื่อทำการทดสอบอิทธิพลระหว่างทรีทเมนต์และระยะเวลาที่เปลี่ยนไปโดยทำการทดสอบแบบ Repeated Measurement และ Polynomial trend พบว่ามีปฏิกิริยาร่วมกันระหว่างอิทธิพลเนื่องจากทรีทเมนต์และระยะเวลาที่เปลี่ยนไปที่มีผลต่อค่า Ab titer (P<0.001) และเนื่องจากแนวโน้มของเส้นกราฟในกลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงและไก่เนื้อมีแนวโน้มที่ไม่ชัดเจน ในการทดลองนี้จึงได้ทำการแยกวิเคราะห์ Polynomial trend เป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงและไก่เนื้อ โดยจากการศึกษาพบว่าไก่ทั้ง 2 สายพันธุ์มีระดับ Ab titer ในการตอบสนองต่อโรคต่อมเบอร์

ซ่าอักเสบติดต่อที่แตกต่างกัน โดยระดับ Ab titer ของไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงทั้ง 2 กลุ่ม (A และ B) เมื่อเวลาเปลี่ยนไปมีรูปแบบการตอบสนองของ Ab titer ต่อทรีทเมนต์มีแนวโน้มเป็นแบบโค้งยกกำลัง 2 (Linear) ที่ $P<0.02$ และในไก่เนื้อทั้ง 2 กลุ่ม (C และ D) พบว่าระดับ Ab titer ในการตอบสนองต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อเมื่อเวลาเปลี่ยนไปมีรูปแบบการตอบสนองของ Ab titer ต่อทรีทเมนต์มีแนวโน้มเป็นแบบโค้งยกกำลัง 6 (Quintic) ที่ $P<0.01$ จะเห็นได้ว่าไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงมีระดับ Ab titer ในการตอบสนองต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อที่คงทนกว่าไก่เนื้ออย่างชัดเจนซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาถึงความคุมโรค โดยพบว่าที่อายุ 30 วัน ไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงมีความสามารถคุมโรคได้ 100% จนกระทั่งสิ้นสุดระยะเวลาการทดลอง แต่ในไก่เนื้อมีระยะเวลาในการคุมโรคประมาณ 2 สัปดาห์ โดยหลังจาก 2 สัปดาห์ระดับของภูมิคุ้มกันลดลง สรุปได้ว่าไก่พื้นเมืองสายพันธุ์แดงมีความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อได้ดีกว่าไก่เนื้อทั้งในแง่ของระดับภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำและการคงอยู่ของภูมิต้านทานโรค ซึ่งควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของพันธุกรรมกับความสามารถในการต้านทานโรคต่อไป

3.2 บทนำ

ความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันในสัตว์จะมีความแตกต่างกันไปในสัตว์แต่ละชนิด ทั้งขึ้นกับปัจจัยที่เข้ามาเกี่ยวข้อง คือ สายพันธุ์ เพศ อายุ สิ่งแวดล้อม สภาวะร่างกาย ปัจจัยทางสรีรวิทยาของร่างกายสัตว์ (สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ, 2543) ซึ่งลักษณะภาพรวมของการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันภายหลังจากการที่มีเชื้อโรคเข้าสู่ร่างกาย ต้องใช้เวลาสักระยะหนึ่งในการเพิ่มจำนวนเชื้อไปจนถึงระดับที่ระบบภูมิคุ้มกันจะตรวจจับความผิดปกติได้ (activation threshold) จากนั้นจึงมีการเริ่มต้นการทำงานของกลไกของระบบภูมิคุ้มกันต่างๆ ซึ่งจะเริ่มต้นจากการรับรู้ว่ามีการบุกรุกของเชื้อ และการรับรู้ถึงลักษณะทางกายภาพของเชื้อแปลกปลอมด้วย (recognition phase) โดย T และ B lymphocyte จะมีวิธีในการรับรู้ลักษณะของเชื้อแปลกปลอมที่แตกต่างกันออกไป ต่อมาจะมีการกระตุ้นให้มีการเพิ่มจำนวนและพัฒนาเซลล์ที่จำเพาะต่อแอนติเจนนั้นๆ (activation phase) และนำไปสู่การทำงานของกลไกทางภูมิคุ้มกันแบบ adaptive immunity ซึ่งได้แก่การทำงานของ humoral และ cell-mediated immunity (effector phase) พร้อมกับการพัฒนา memory cell ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อแปลกปลอมนั้น เมื่อร่างกายสามารถกำจัดเชื้อได้อย่างสมบูรณ์แล้ว ระบบภูมิคุ้มกันจะเริ่มชะลอการทำงาน เพื่อหยุดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน และกลับเข้าสู่ภาวะสมดุล (homeostasis) ในที่สุด โดยการกำจัด effector cell ให้หมดไปโดยเร็ว ด้วยการเหนี่ยวนำให้เซลล์เหล่านั้นเกิดการตายแบบ apoptosis โดยวิธีกระตุ้นการทำงานของโปรแกรมการทำลายตัวเอง

(internal cell death program) ซึ่งมีอยู่แล้วในเซลล์ทุกเซลล์ในร่างกาย จากนั้นร่างกายจะกลับเข้าสู่ภาวะสมดุลและคงเหลือไว้แต่กลุ่ม memory cell ซึ่งจะสามารถกลับมาทำงานในครั้งถัดไปได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าภายในเวลาที่รวดเร็วกว่าการได้รับเชื้อครั้งแรก (สันนิภา สุรทัตต์, 2549) สำหรับในสัตว์ปีก ในลูกสัตว์ปีกจะมีโอกาสเกิดโรคได้ง่ายกว่าสัตว์ปีกในระยะโตเต็มวัย เนื่องจากลูกสัตว์ยังไม่มีความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันได้เอง ต้องอาศัยภูมิคุ้มกันที่ถ่ายทอดจากแม่ผ่านทางไข่แดง ซึ่งระดับภูมิคุ้มกันโรคที่ถ่ายทอดมาจากแม่จะลดลงครึ่งหนึ่งเมื่อสัตว์ปีกมีอายุได้ 3 วัน (จิตติมา กันตนามัลลกุล, 2545) ดังนั้นร่างกายสัตว์จึงจำเป็นที่จะต้องมีการพัฒนาระบบภูมิคุ้มกันและสร้างภูมิคุ้มกันขึ้นมาเพื่อทดแทนภูมิคุ้มกันที่ได้รับมาจากแม่ และอีกวิธีการคือการให้วัคซีนเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ซึ่งจะต้องทำการให้วัคซีนแก่ประชากรสัตว์ที่อยู่ในกลุ่มเสี่ยงต่อการเป็นโรคมากที่สุด โดยต้องพิจารณาถึงความถี่ของการให้วัคซีนที่ไม่น้อยหรือมากเกินไป ซึ่งการให้วัคซีนต้องมีการพิจารณาด้วยว่าสัตว์ที่จะให้วัคซีนมีความพร้อมในการตอบสนองต่อการให้วัคซีนหรือไม่ ซึ่งความพร้อมในการตอบสนองต่อการให้วัคซีนขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น อายุ immunocompetency สายพันธุ์ รวมถึงปริมาณของภูมิคุ้มกันที่ได้รับการถ่ายทอดมาจากแม่ (maternal-derived antibody) ต่อแอนติเจนในวัคซีน (สันนิภา สุรทัตต์, 2549) จากที่กล่าวมาข้างต้นทั้งความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันและความสามารถในการตอบสนองต่อการให้วัคซีน ล้วนมีปัจจัยของสายพันธุ์เข้ามาเกี่ยวข้อง ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาการสร้างภูมิคุ้มกันและความสามารถในการตอบสนองต่อวัคซีนในการป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดง เปรียบเทียบกับไก่เนื้อที่เลี้ยงเชิงการค้าเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการพิจารณาและประมาณค่าระดับการสร้างภูมิคุ้มกันและความสามารถในการตอบสนองต่อวัคซีนในการป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดง เพื่อใช้พิจารณาในการกำหนดโปรแกรมการให้วัคซีนที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงไก่พื้นเมืองในประเทศไทยต่อไป

3.3 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์แดง ในด้านภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำ (humoral immunity)

3.4 วิธีดำเนินการวิจัย

3.4.1 สัตว์ทดลอง

ใช้พ่อพันธุ์พื้นเมืองไทย สายพันธุ์แดงอายุ 1-2 ปี จำนวน 46 ตัว นำมาทำการผสมพันธุ์กับแม่พันธุ์ไก่พื้นเมืองไทย สายพันธุ์แดงจำนวน 149 ตัว ในอัตราส่วน 1:3 ด้วยวิธีการผสม

เทียมซึ่งปฏิบัติตามวิธีของ สุจินต์ สิมารักษ์ และเทวินทร์ วงศ์พระลับ(2526) โดยการรีดเอาน้ำเชื้อสดจากพ่อพันธุ์มาผสมกับแม่พันธุ์ที่เลี้ยงในกรงตับ โดยการทำหมายเลขประจำตัวติดไว้ที่พ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ เมื่อผสมพันธุ์แล้วเริ่มทำการเก็บไข่ในวันที่ 3 หลังจากการผสมเทียม ไข่ที่นำเข้าฟักจะถูกทำเครื่องหมายไว้เพื่อทำพันธุ์ประวัติ และลูกไก่แต่ละตัวที่ฟักออกมาจะถูกทำเครื่องหมายเลขติดไว้ที่ข้อขา แล้วนำมาเลี้ยงในโรงเรือนเพื่อปรับสภาพตัวสัตว์ก่อนที่จะมีการแบ่งกลุ่มการทดลอง โดยใช้ไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงอายุ 1 วัน จำนวน 100 ตัว และใช้ลูกไก่เนื้อพันธุ์อาเบอร์ เอเคอร์ส (Arbor Acres) อายุ 1 วัน จำนวน 100 ตัว ทำการสุ่มสมบูรณ์จัดกลุ่มลูกไก่ออกเป็น 4 กลุ่มการทดลอง โดยใช้แผนการทดลอง Completely Random Design with Repeated Measurement และ Polynomial trend ซึ่งมีการแบ่งกลุ่มทดลองในการศึกษาที่ 1 ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 การจัดกลุ่มทดลองในการศึกษาที่ 1

ทรีทเมนต์	**Replications**				
	1	**2**	**3**	**4**	**5**
ทรีทเมนต์ A = ไก่แดงไม่ได้รับวัคซีน IBD	10 ตัว	10 ตัว	10 ตัว	10 ตัว	10 ตัว
ทรีทเมนต์ B = ไก่แดงได้รับวัคซีน IBD	10 ตัว	10 ตัว	10 ตัว	10 ตัว	10 ตัว
ทรีทเมนต์ C = ไก่เนื้อไม่ได้รับวัคซีน IBD	10 ตัว	10 ตัว	10 ตัว	10 ตัว	10 ตัว
ทรีทเมนต์ D = ไก่เนื้อได้รับวัคซีน IBD	10 ตัว	10 ตัว	10 ตัว	10 ตัว	10 ตัว

โดยไก่กลุ่มที่ได้รับวัคซีนจะทำวัคซีนตามโปรแกรมที่กำหนดของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์จังหวัดสุราษฎร์ธานี (ตารางที่ 3.2) และสัตว์ในทุกกลุ่มการทดลองจะได้รับอาหารสูตรเดียวกัน โดยที่อาหารและน้ำมีให้สัตว์ได้รับอย่างเต็มที่ (ad libitum) และอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมือนกันภายในโรงเรือนระบบปิดของฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา

ตารางที่ 3.2 โปรแกรมการให้วัคซีนป้องกันโรคในไก่พื้นเมือง ของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์จังหวัดสุราษฎร์ธานี

อายุ (วัน)	ชนิดวัคซีน
1	มาเร็กซ์
7	นิวคาสเซิล-LASOTA (เชื้อเป็น)
10	กัมโบโร
14	หลอดลมอักเสบติดต่อ
21	นิวคาสเซิล-LASOTA (เชื้อเป็น)
35	ฝีดาษไก่
60	อหิวาห์ไก่
90	นิวคาสเซิล-LASOTA (เชื้อเป็น)

3.4.2 การเก็บตัวอย่างและการเตรียมซีรั่ม

3.4.2.1. การเจาะเลือด

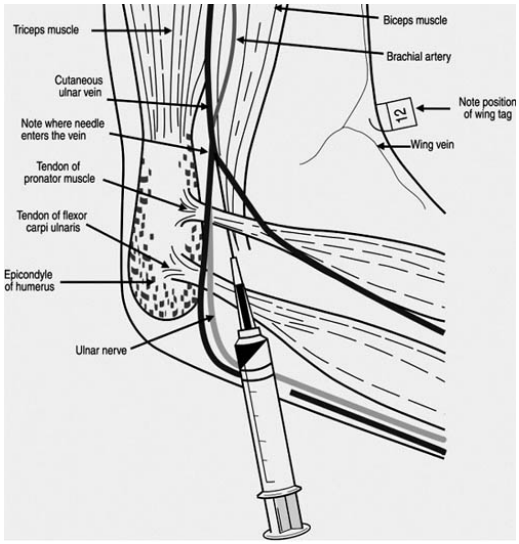
1. อุปกรณ์ในการเจาะเลือด

- syringe 1.0, 2.5 ml
- เข็มเจาะเลือด เบอร์ 21, 22 และ 23
- alcohol 70%
- microcentrifuge tube 1.5 ml
- ปากกาทำเครื่องหมาย
- สำลี

2. วิธีการ

สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดของไก่ทดลองจากทุกกลุ่มการทดลองกลุ่มละ 25 ตัว โดยทำการเก็บที่อายุ 9 วันก่อนได้รับวัคซีนต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (เมื่ออายุ 10 วัน) และเก็บที่อายุ 16, 23, 30, 37, 44 และ 51 วัน โดยทำการเจาะเลือดลูกไก่อายุ 9 และ 16 วันโดยการใช้เข็มเบอร์ 23 และไก่ที่อายุ 23 และ 30 วันใช้เข็มเบอร์ 22 เจาะที่เส้นเลือดบริเวณคอ (neck vein) ปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร ส่วนการเก็บเลือดไก่ที่อายุ 37, 44 และ 51 วัน ใช้เข็มเบอร์ 21 เจาะที่เส้นเลือดบริเวณปีก (wing vein) (ภาพที่ 3.1) ปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร ใส่เลือดที่เจาะในหลอดบรรจุ (micro

tube) ที่ไม่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (anticoagulant) เพื่อที่จะนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของ Ab titer ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ



ภาพที่ 3.1 วิธีการเจาะเลือดที่ บริเวณปีก (wing vein)
ที่มา: FAO , www, 2002

3.4.2.2. การเตรียมซีรั่มและการเก็บรักษาซีรั่ม

นำเลือดที่บรรจุอยู่ในหลอดเก็บเลือดที่ไม่มีสารป้องกันเลือดแข็งตัว (anticoagulant) มาวางบนพื้นราบโดยวางหลอดบรรจุในแนวนอนขนานไปกับพื้น และวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้เลือดแข็งตัว (coagulate) ประมาณ 1-2 ชั่วโมง แล้วทำการปั่นเหวี่ยงตัวอย่างเลือดที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพื่อทำการแยกซีรั่มเลือดที่แข็งจะหดตัว (clot retraction) และแยกออกเป็น 2 ส่วน คือส่วนของเม็ดเลือดและส่วนของซีรั่ม จากนั้นทำการแยกเก็บซีรั่มโดยใช้ micro pipette ดูดเก็บซีรั่มที่ได้ใส่ในหลอดบรรจุ (micro tube) และเก็บรักษาซีรั่มที่ได้ไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำมาวิเคราะห์หาค่า Ab titer ต่อโรค ต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ โดยวิธี ELISA ซึ่งทำการอ่านค่าโดยใช้เครื่อง ELISA reader จะได้ค่าออกมาเป็นหน่วยของค่าความดูดกลืนคลื่นแสง (optical density หรือ OD) ซึ่งจะมีค่าอยู่ระหว่าง 0-2 โดยค่าที่ได้จะนำไปคำนวณให้ได้เป็นค่า Ab titer และนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติต่อไป

3.4.3 การตรวจวิเคราะห์หาระดับภูมิคุ้มกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ

3.4.3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือในการทำ ELISA

1. 1-1,000 microliter pipettes
2. 8 channel microliter pipette
3. graduated cylinder (50 ml)
4. ELISA microtiter plate 96 well
5. ELISA reader
6. Deionized water
7. Glass beaker

3.4.3.2 สารเคมี

1. IBD coated plates
2. IBD positive control – diluted chicken Anti-IBD, Preserved with sodium azide.
3. Negative control – diluted chicken sera non-reactive for anti-IBD, preserved with sodium azide
4. (Goat) anti-chicken: horseradish peroxidase conjugate, preserved with gentamycin
5. Sample dilluent buffer preserved with sodium azide
6. Tetramethylbenzidine (TMB) substrate
7. Stop solution

3.4.3.3 ขั้นตอนการทำ Indirect ELISAใช้เทคนิคของ IDEXX Laboratories, Inc. (2006) มีขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้ คือ

1) การเตรียม plate ละลายซีรั่ม (Serum dilution plate)

1. ก่อนทำการทดสอบนำสารเคมีมาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (20-27 องศาเซลเซียส)
2. เติม dilution buffer 250 µl ทุกหลุมใน ELISA microtiter plate 96 well
3. ใส่ซีรั่มของตัวอย่างที่ต้องการตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน 0.5 µl (ละลายในอัตราส่วน 1:500) ในหลุม A4 ถึง H9 (ภาพที่ 3.2)
4. ทำการผสมให้เข้ากันแล้วนำไปใส่ใน IBD coated plate

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	+	-	+	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12
B	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12
C	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12
D	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12
E	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12
F	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12
G	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9	G10	G11	G12
H	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	-	+	-

ภาพที่ 3.2 ลักษณะของ ELISA Plate

2) วิธีการทดสอบ ELISA (test plate)

1. ทำการจดบันทึกตำแหน่งของตัวอย่างในแต่ละ well
2. เติม negative control – diluted chicken sera non-reactive for anti-IBD 100 µl ในหลุม A2, H10 และ H12
3. เติม IBD positive control – diluted chicken Anti-IBD 100 µl ในหลุม A1, A3 และ H11
4. ใช้ multiple pipette ดูด 100 µl ของซีรั่มตัวอย่าง ที่ทำการละลายแล้วจาก dilution plate มาใส่ใน IBD coated plates ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
5. เมื่อครบกำหนดเวลาให้ทำการเทของเหลวทิ้งและทำการเคาะของเหลวที่เหลืออยู่ใน plate ออกให้หมด
6. ทำการล้าง IBD coated plates โดยใช้ multiple pipette ดูด deionized water 350 µl ใส่ให้เต็มทุกหลุม และตั้งทิ้งไว้ 3 นาที หลังจากนั้นทำการเทของเหลวทิ้งและเคาะของเหลวที่เหลือออกให้หมด แล้วทำซ้ำข้อ 5-6 อีก 4 ครั้ง
7. เติม (Goat) anti-chicken: horseradish peroxidase conjugate 100 µl ต่อ 1 หลุม ทำการเติมทุกหลุม ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
8. เมื่อครบกำหนดให้ทำการเทของเหลวทิ้งและเคาะของเหลวที่เหลือใน plate ออกให้หมด จากนั้น ทำการล้าง plate ตามข้อ 5 และ 6

9. เติม TMB substrate solution 100 µl ต่อ 1 หลุม ทำการเติมทุกหลุม และตั้งทิ้งไว้ 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
10. เติม stop solution 100 µl ต่อ 1 หลุม ทำการเติมทุกหลุม
11. นำ IBD Coated Plates ที่ได้ไปอ่านค่า โดย ELISA plate reader ที่ 650 nm

3.4.4 การคำนวณหาค่า การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (Titer)

1. เมื่อนำตัวอย่างที่ได้ไปเข้าเครื่องอ่านค่าโดย ELISA plate reader ที่ 650 nm จะได้ค่าดูดกลืนคลื่นแสง (OD) ออกมา
2. นำค่าที่ได้มาคำนวณค่าเฉลี่ย Positive Control Mean (PCx) โดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงของหลุม A1, A3 และ H11 ดังแสดงในสมการที่ 3-1

$$PCx = \frac{Well\ A1(650) + Well\ A3(650) + Well\ H11(650)}{3} \quad (3\text{-}1)$$

3. คำนวณค่าเฉลี่ย Negative Control Mean (NCx) จากค่าค่าดูดกลืนคลื่นแสงของหลุมที่ A2, H10 และ H12 ดังแสดงในสมการที่ 3-2

$$NCx = \frac{Well\ A2(650) + Well\ H10(650) + Well\ H12(650)}{3} \quad (3\text{-}2)$$

4. วิธีการคำนวณ Sample/positive (S/P) โดยวิธีการดังที่แสดงสูตรในการคำนวณดังแสดงในสมการที่ 3-3

$$S/P\ Ratio = \frac{Sample\ Mean - NCx}{PCx - NCx} \quad (3\text{-}3)$$

5. IBD ELISA titer (IDEXX Laboratories, Inc., 2006) คำนวณได้จากสมการที่ 3-4 และ 3-5

$$\text{Log}_{10}\ \text{Titer} = 1.09\ (\text{Log}_{10}\ \text{S/P}) + 3.36 \quad (3\text{-}4)$$

Titer = Antilog ของ Log_{10} titer (3-5)

3.4.5 การแปลผล

ระดับของ IBD ELISA titer จะแสดงถึงการเปรียบเทียบระดับภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ โดยใช้ ELISA kit (IDEXX Laboratories, Inc., 2006) ซึ่งค่าที่ได้จะมีการแปลผลดังนี้

- **IBD ELISA titer มีค่าน้อยกว่า 396** แสดงว่าตัวอย่างซีรั่มของไก่ไม่มีความหมายต่อระดับภูมิคุ้มกันในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ คือตัวอย่างซีรั่มของไก่ไม่มีภูมิคุ้มกันในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ซึ่งทำการเปรียบเทียบกับ Positive control และ Negative control sera (IDEXX Laboratories, Inc., 2006)
- **IBD ELISA titer มีค่ามากกว่า 396** แสดงว่าตัวอย่างซีรั่มของไก่มีความหมายทางสถิติต่อระดับภูมิคุ้มกันในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ คือตัวอย่างซีรั่มของไก่มีภูมิคุ้มกันในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ซึ่งทำการเปรียบเทียบกับ Positive control และ Negative control sera (IDEXX Laboratories, Inc., 2006)

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance ; ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ Completely Random Design with Repeated Measurement และ Polynomial trend ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์ (Treatment mean analysis) โดยใช้ Duncan's New Mutiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (1996)

3.6 ผลการทดลอง

การศึกษาถึงความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์แดงและไก่เนื้อที่เลี้ยงเชิงการค้า ตามโปรแกรมการให้วัคซีนป้องกันโรคในไก่พื้นเมือง ในศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี ซึ่งการดำเนินการใช้ระยะเวลา 7 สัปดาห์ เก็บตัวอย่างซีรั่มที่ไก่อายุ 9, 16, 23, 30, 37, 44 และ 51 วัน และทำการเปรียบเทียบระดับ

ของ Ab titer ในไก่แดงที่ไม่ได้รับวัคซีนโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (A), ไก่แดงที่ได้รับวัคซีนโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (B), ไก่เนื้อที่ไม่ได้รับวัคซีนโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (C), และไก่เนื้อที่ได้รับวัคซีนโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (D) เมื่อทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์ (Treatment mean analysis) โดยใช้ Duncan's New Mutiple Range Test (DMRT) ดังที่แสดงผลในตารางที่ 3.4 พบว่าที่อายุ 9 วัน (ก่อนได้รับวัคซีน) ระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer ของกลุ่มทดลองกลุ่ม A, B, C, และ D มีค่าเท่ากับ 60.00, 18.20, 2754.20 และ 2670.90 ตามลำดับ โดยความแตกต่างของค่าเฉลี่ย Ab titer ที่ได้ พบว่าค่าเฉลี่ย Ab titer ของกลุ่ม A ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่ม B ($P>0.05$) และกลุ่ม C ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่ม D ($P>0.05$) แต่พบว่ากลุ่ม A และ B มีค่าเฉลี่ย Ab titer ต่ำกว่ากลุ่ม C และ D อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ที่อายุ 16 วันหลังจากได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 1 สัปดาห์พบว่าระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer ของกลุ่มทดลองกลุ่ม A, B, C, และ D มีค่าเท่ากับ 82.30, 1781.70, 786.70 และ 1184.00 ตามลำดับ ซึ่งค่าเฉลี่ย Ab titer ของกลุ่ม B คือกลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ได้รับวัคซีนมีค่าสูงที่สุด และกลุ่มที่มีค่าเฉลี่ย Ab titer รองลงมาคือกลุ่ม D ซึ่งเป็นกลุ่มไก่เนื้อที่ได้รับวัคซีน และกลุ่มที่มีค่าเฉลี่ย Ab titer รองจากกลุ่ม D คือกลุ่ม C ซึ่งเป็นกลุ่มไก่เนื้อที่ไม่ได้รับวัคซีน ส่วนกลุ่มที่มีค่าเฉลี่ย Ab titer ต่ำที่สุดคือกลุ่ม A เป็นกลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ไม่ได้รับวัคซีน โดยค่าเฉลี่ย Ab titer ของทั้ง 4 กลุ่มการทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ที่อายุ 23 วันหลังจากได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 2 สัปดาห์พบว่าระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer ของกลุ่มทดลองกลุ่ม A, B, C, และ D มีค่าเท่ากับ 2834.30, 3580.30, 525.40 และ 563.80 ตามลำดับ ซึ่งกลุ่ม B และ กลุ่ม A โดยเป็นกลุ่มของไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน พบว่ามีค่าเฉลี่ย Ab titer ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ในส่วนกลุ่ม C และ D กลุ่มไก่เนื้อที่ไม่ได้รับวัคซีนและได้รับวัคซีน พบว่ามีค่าเฉลี่ย Ab titer ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ค่าเฉลี่ย Ab titer ในกลุ่ม A และ B มีค่าสูงกว่าค่าเฉลี่ย Ab titer ของกลุ่ม C และ D โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ที่อายุ 30 วัน หลังจากได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 3 สัปดาห์พบว่าระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer ของกลุ่มทดลองกลุ่ม A, B, C, และ D มีค่าเท่ากับ 4342.50, 5503.60, 121.40 และ 407.40 ตามลำดับ โดยพบว่ากลุ่ม C และ D มีค่าเฉลี่ย Ab titer ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งกลุ่ม C และ D มีค่าเฉลี่ย Ab titer ต่ำกว่ากลุ่ม B และ A โดยกลุ่ม B มี

ค่าเฉลี่ย Ab titer สูงที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม A, C และ D

ที่อายุ 37 วัน หลังจากได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 4 สัปดาห์พบว่าระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer ของกลุ่มทดลองกลุ่ม A, B, C, และ D มีค่าเท่ากับ 6918.00, 6356.00, 312.60 และ 1273.00 โดยพบว่ากลุ่ม A และ B ซึ่งเป็นกลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงมีค่าเฉลี่ย Ab titer ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และกลุ่ม C และ D ซึ่งเป็นกลุ่มไก่เนื้อมีค่าเฉลี่ย Ab titer ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่พบว่ากลุ่ม A และ B มีระดับค่าเฉลี่ย Ab titer สูงกว่ากลุ่ม D และ C โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ที่อายุ 44 วัน หลังจากได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 5 สัปดาห์พบว่าระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer ของกลุ่มทดลองกลุ่ม A, B, C, และ D มีค่าเท่ากับ 8456.00, 7449.00, 4796.00 และ 6396.00 โดยพบว่ากลุ่ม A, B และ D มีค่าเฉลี่ย Ab titer ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) กลุ่ม C มีค่าเฉลี่ย Ab titer ต่ำกว่ากลุ่ม A, B และ D โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับกลุ่ม A และ B แต่กลุ่ม C มีค่าเฉลี่ย Ab titerไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) กับกลุ่ม D ซึ่งเป็นที่น่าสังเกตที่อายุ 44 วัน กลุ่ม C และ D ซึ่งเป็นกลุ่มไก่เนื้อ มีระดับ Ab titer เพิ่มขึ้นสูงที่สุดเมื่อเทียบที่อายุต่างๆ ในการทดลอง แต่เมื่อเปรียบเทียบระดับ Ab titer ที่สูงที่สุดของไก่เนื้อทั้งสองกลุ่มนี้กับกลุ่มของไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงคือกลุ่ม A และ B ก็พบว่าไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงมีระดับ Ab titer ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อสูงกว่าไก่เนื้อทั้ง 2 กลุ่มดังที่แสดงในภาพที่ 3.3 โดยค่าเฉลี่ย Ab titer ในกลุ่ม A และ B สูงกว่ากลุ่ม C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ดังแสดงในตารางที่ 3.4 แสดงให้เห็นว่าระดับของภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงทั้งที่ได้รับโดยวัคซีนโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อและที่ไม่ได้รับการกระตุ้นโดยวัคซีนโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อมีความสามารถในการต้านทานโรคสูงกว่าไก่เนื้อที่ไม่ได้รับการกระตุ้นโดยวัคซีนโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ

ที่อายุ 51 วัน หลังจากได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 7 สัปดาห์พบว่าระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer ของกลุ่มทดลองกลุ่ม A, B, C, และ D มีค่าเท่ากับ 11434.00, 7960.00, 2936.00 และ 3246.00 โดยพบว่ากลุ่ม C และ D ซึ่งเป็นกลุ่มของไก่เนื้อมีระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่มีระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer ของกลุ่ม C และ D แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับกลุ่ม A และ B ทั้งนี้กลุ่ม A มีระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับกลุ่ม B โดยพบว่ากลุ่ม A มีระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบทั้ง 4 กลุ่มการทดลอง โดยจากผลการทดลองในกลุ่ม A ซึ่งเป็นกลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ไม่ได้รับวัคซีนแต่กลับพบว่ามีระดับค่าเฉลี่ยของ Ab titer สูงที่สุด ดัง

แสดงในภาพที่ 3.3 โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับกลุ่ม B ซึ่งเป็นกลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ได้รับวัคซีน ทั้งนี้เนื่องจากความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันและการตอบสนองต่อเชื้อในสัตว์แต่ละตัวมีความแตกต่างกัน ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าเมื่อไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ไม่ได้รับวัคซีนแต่ได้รับเชื้อไวรัสต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อที่กระจายอยู่ในสิ่งแวดล้อมในโรงเรือน (เนื่องจากเป็นวัคซีนเชื้อเป็น) ร่างกายของไก่กลุ่มนี้จึงสร้างภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อเชื้อไวรัสได้ดีและสูงกว่าไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ได้รับวัคซีน

ตารางที่ 3.3 ค่าเฉลี่ยระดับ Ab titer±SE ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงและไก่เนื้อ

อายุ	Antibody titer (Mean±SE)			
(วัน)	กลุ่ม A	กลุ่ม B	กลุ่ม C	กลุ่ม D
9 (PV)[1]	60.00±16.13	18.20±5.07	2754.20±238.23	2670.90±261.44
16	82.30±23.69	1781.70±126.31	786.70±85.62	1184.00±144.97
23	2834.30±410.61	3580.30±430.23	525.40±51.59	563.80±228.67
30	4342.50±610.93	5503.60±438.32	121.40±53.19	407.4±144.98
37	6918.00±407.50	6356.00±509.33	312.60±50.39	1273.00±160.29
44	8456.00±440.77	7449.00±383.55	4796.00±1159.89	6396.00±899.83
51	11434.00±1253.90	7960.00±1512.15	2936.00±167.65	3246.00±157.35

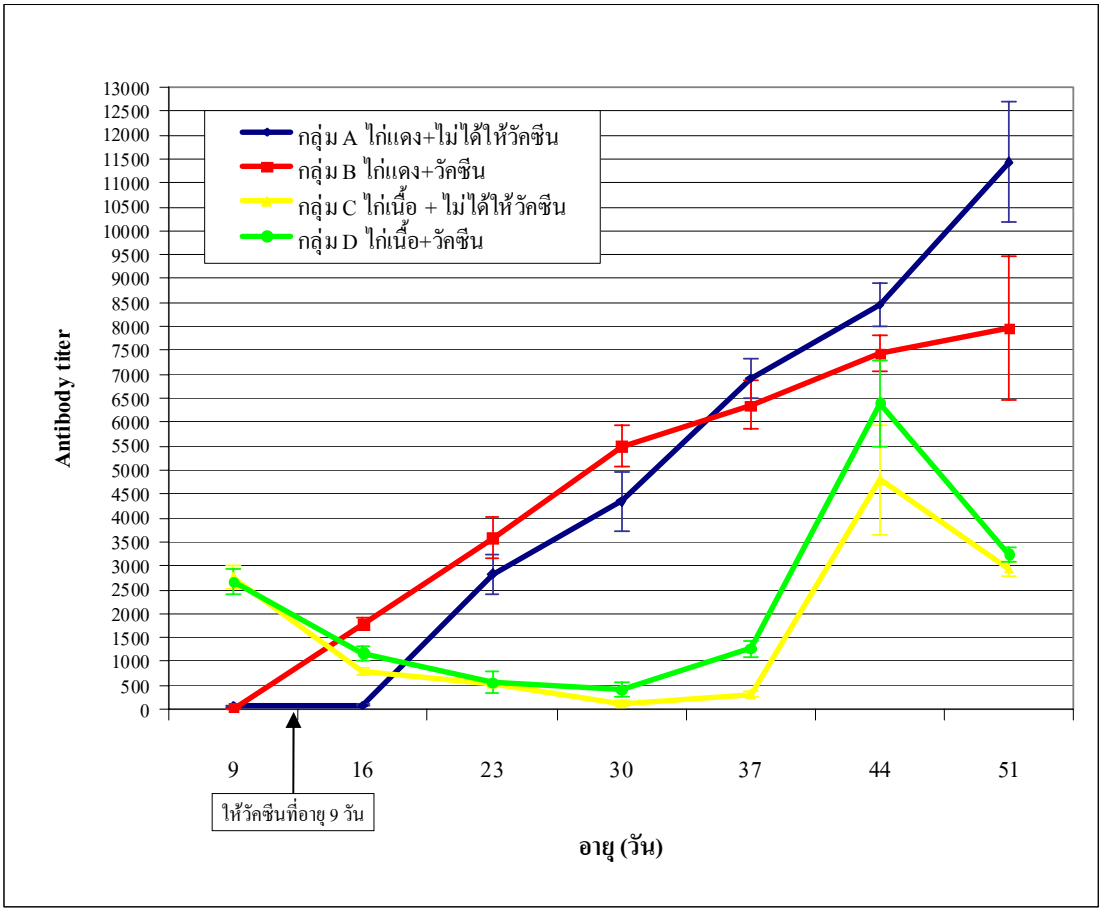
หมายเหตุ: (PV)[1] หมายถึง อายุไก่ก่อนการได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ

ตารางที่ 3.4 ค่าเฉลี่ยระดับ Ab titer ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงและไก่เนื้อ และการทดสอบ Polynomials trend

Treatment	อายุไก่ (วัน)							Trend
	9 (PV)[1]	16	23	30	37	44	51	Analysis
A	60.00^{b}	82.30^{d}	2834.30^{a}	4342.50^{b}	6918.00^{a}	8456.00^{a}	11434.00^{a}	Linear
B	18.20^{b}	1781.70^{a}	3580.30^{a}	5503.60^{a}	6356.00^{a}	7449.00^{a}	7960.00^{b}	P<0.02
C	2754.20^{a}	786.70^{c}	525.40^{b}	121.40^{c}	312.60^{b}	4796.00^{b}	2936.00^{c}	Quintic
D	2670.90^{a}	1184.00^{b}	563.80^{b}	407.40^{c}	1273.00^{b}	6396.00^{ab}	3246.00^{c}	P<0.01

หมายเหตุ: (PV)[1] หมายถึง อายุไก่ก่อนการได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ

$^{a-d}$ ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ (P<0.05)



ภาพที่ 3.3 ค่าเฉลี่ย Ab titer ของการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์แดงและไก่เนื้อในกลุ่มที่รับและไม่ได้รับวัคซีนใน ช่วงอายุ 9, 16, 23, 30, 37, 44 และ 51 วัน

เมื่อทำการทดสอบอิทธิพลระหว่างทรีทเมนต์และระยะเวลาที่เปลี่ยนไปโดยทำการทดสอบแบบ Repeated Measurement และ Polynomial trend พบว่ามีปฏิกิริยาร่วมกันระหว่างอิทธิพลเนื่องจากทรีทเมนต์และระยะเวลาที่เปลี่ยนไปที่มีผลต่อค่า Ab titer ($P<0.001$) และเนื่องจากแนวโน้มของเส้นกราฟในกลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงและไก่เนื้อมีแนวโน้มที่ไม่ชัดเจน ในการทดลองนี้จึงได้ทำการแยกวิเคราะห์ Polynomial trend เป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงและไก่เนื้อ ดังที่แสดงในตารางที่ 3.4 โดยจากการศึกษาพบว่าไก่ทั้ง 2 สายพันธุ์มีระดับ Ab titer ในการตอบสนองต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อที่แตกต่างกัน โดยระดับ Ab titer ของไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงทั้ง 2 กลุ่ม (A และ B) เมื่อเวลาเปลี่ยนไปมีรูปแบบการตอบสนองของ Ab titer ต่อทรีทเมนต์มีแนวโน้มเป็นแบบโค้งยกกำลัง 2 (Linear) ที่ $P<0.02$ กล่าวคือระดับของ Ab titer ในกลุ่ม A

คือไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีน มีระดับของ Ab titer เริ่มต้นที่จะเพิ่มขึ้นหลังจากไก่อายุ 16 วัน และระดับของ Ab titer เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาเปลี่ยนแปลงไปจนตลอดระยะเวลาในการทดลองจนถึงระดับสูงสุดที่อายุ 51 วัน(สิ้นสุดการทดลอง) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากไก่กลุ่มนี้อาจได้รับแอนติเจนของวัคซีนเชื้อเป็นที่แพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อมในโรงเรือน และในกลุ่ม B คือไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงกลุ่มที่ได้รับวัคซีน มีระดับของ Ab titer เพิ่มขึ้นหลังจากได้รับวัคซีน 1 สัปดาห์ คือที่อายุ 16 วัน และระดับของ Ab titer เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาเปลี่ยนแปลงไปจนตลอดระยะเวลาในการทดลองจนถึงระดับสูงสุดที่อายุ 51 วัน(สิ้นสุดการทดลอง) และในไก่เนื้อทั้ง 2 กลุ่ม (C และ D) พบว่าระดับ Ab titer ในการตอบสนองต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อเมื่อเวลาเปลี่ยนไปมีรูปแบบการตอบสนองของ Ab titer ต่อทรีทเมนต์มีแนวโน้มเป็นแบบโค้งยกกำลัง 6 (Quintic) ที่ $P<0.01$ กล่าวคือ ในกลุ่มการทดลอง C ซึ่งเป็นกลุ่มไก่เนื้อที่เลี้ยงเชิงการค้าที่ไม่ได้รับวัคซีน พบว่าระดับ Ab titer ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อมีปริมาณลดลง ตั้งแต่ที่อายุ 9 วัน จนถึงระดับต่ำสุดที่อายุ 30 วัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากระดับภูมิคุ้มกันจากแม่ที่ถ่ายทอดผ่านมาทางไข่แดงลดลง และหลังจากที่อายุ 30 วัน ระดับภูมิคุ้มกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อมีปริมาณเพิ่มขึ้นจนถึงระดับสูงสุดที่อายุ 44 วัน และมีปริมาณลดลงจนถึงระยะเวลาสิ้นสุดการทดลองที่อายุ 51 วัน และกลุ่มการทดลอง D ซึ่งเป็นกลุ่มไก่เนื้อที่เลี้ยงเชิงการค้าที่ได้รับวัคซีนพบว่าระดับภูมิคุ้มกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อมีปริมาณลดลงตั้งแต่ที่อายุ 9 วัน และมีปริมาณลดลงเรื่อยๆ หลังจากที่ได้รับวัคซีน (ที่อายุ 16 วัน) จนถึงระดับต่ำสุดที่อายุ 30 วัน และจากนั้นระดับภูมิคุ้มกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อมีปริมาณเพิ่มขึ้นจนถึงระดับสูงสุดที่อายุ 44 วัน และมีปริมาณลดลงจนถึงระยะเวลาสิ้นสุดการทดลองที่อายุ 51 วัน ดังแสดงในตารางที่ 3.4 และภาพที่ 3.3 จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่าไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงมีระดับ Ab titer ในการตอบสนองต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อที่คงทนกว่าไก่เนื้ออย่างชัดเจน

ซึ่งเมื่อสังเกตจากภาพที่ 3.3 และตารางที่ 3.4 ในภาพรวมก็สามารถสรุปได้ว่าความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อพบว่าไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงทั้งในกลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วยวัคซีนและกลุ่มที่ไม่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วยวัคซีนมีระดับของภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อได้ไม่แตกต่างกัน และเมื่อสังเกตแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของระดับ Ab titer ในกลุ่มไก่เนื้อที่ไม่ได้รับวัคซีนและกลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ไม่ได้รับวัคซีนก็พบว่าในไก่เนื้อกลุ่มนี้ที่อายุ 30 วัน มีระดับ Ab titer เพิ่มขึ้นจนมีระดับสูงที่สุดที่อายุ 44 วัน และหลังจากนั้นก็ลดลง แต่เมื่อสังเกตในกลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ไม่ได้รับวัคซีนจะเห็นได้ว่าระดับ Ab titer เพิ่มขึ้นตั้งแต่ที่อายุ 16 วัน จนถึง 51 วัน (สิ้นสุดการทดลอง) แสดงให้เห็นว่าไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ไม่ได้รับการกระตุ้นภูมิด้วยวัคซีน แต่ถูกกระตุ้นด้วยเชื้อจากสิ่งแวดล้อม

ในโรงเรือนมีระดับภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อที่สูงกว่าและเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ อีกทั้งระยะเวลาการคงอยู่ของภูมิคุ้มกันยาวนานจนสิ้นสุดการทดลอง แต่ในไก่เนื้อที่ไม่ได้รับการกระตุ้นภูมิด้วยวัคซีน แต่ถูกกระตุ้นด้วยเชื้อจากสิ่งแวดล้อมในโรงเรือน (เนื่องจากเป็นวัคซีนเชื้อเป็น) กลับพบว่ามีระดับภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อต่ำกว่าและระยะเวลาการคงอยู่ของภูมิคุ้มกันมีระยะเวลาเพียงแค่ 2 สัปดาห์เท่านั้นซึ่งหลังจากนั้นระดับ Ab titer ก็จะลดลง นอกจากนี้การกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อด้วยวัคซีนในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงทำให้ไก่มีความต้านทานต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อที่ชัดเจนขึ้น และสร้างความมั่นใจได้ว่าไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงมีความสามารถความสามารถในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่ออย่างแท้จริง

จากตารางที่ 3.5 เมื่อทำการศึกษาถึงจำนวน positive serum samples ของไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงและไก่เนื้อที่เลี้ยงเชิงการค้าที่มีภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อตามเทคนิคของ IDEXX Laboratories, Inc. (2006) ได้กำหนดการแปลผล ดังนี้ IBD ELISA titer มีค่าน้อยกว่า 396 แสดงว่าตัวอย่างซีรั่มของไก่ไม่มีความหมายต่อระดับภูมิคุ้มกันในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ คือตัวอย่างซีรั่มของไก่ไม่มีภูมิคุ้มกันในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ(ผลเป็น negative) ซึ่งทำการเปรียบเทียบกับ Positive control และ Negative control sera และIBD ELISA titer มีค่ามากกว่า 396 แสดงว่าตัวอย่างซีรั่มของไก่มีความหมายทางสถิติต่อระดับภูมิคุ้มกันในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ คือตัวอย่างซีรั่มของไก่มีภูมิคุ้มกันในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (ผลเป็น positive) ซึ่งทำการเปรียบเทียบกับ Positive control และ Negative control sera ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าที่อายุ 9 วันก่อนได้รับวัคซีน พบว่าไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงมีเปอร์เซ็นต์ serum samples ที่มีค่า Ab titer สูงกว่า 396 ของระดับภูมิคุ้มกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อมีค่าเท่ากับ 0% ส่วนในไก่เนื้อที่เลี้ยงเชิงการค้ามีค่าเท่ากับ 100%

ที่อายุ 16 วันหลังจากได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 1 สัปดาห์พบว่าไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนมีเปอร์เซ็นต์ serum samples ที่มีค่า Ab titer สูงกว่า 396 ของระดับภูมิคุ้มกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อมีค่าเท่ากับ 0% ส่วนในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีค่าเท่ากับ 96% และไก่เนื้อที่เลี้ยงเชิงการค้าในกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนและกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีค่าเท่ากับ 96%

ที่อายุ 23 วันหลังจากได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 2 สัปดาห์พบว่าไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนและกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีเปอร์เซ็นต์ serum samples ที่มีค่า Ab titer สูงกว่า 396 ของระดับภูมิคุ้มกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อมีค่าเท่ากับ 100% ส่วน

ไก่เนื้อที่เลี้ยงเชิงการค้าในกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนมีค่าเท่ากับ 48% และกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีค่าเท่ากับ 32%

ที่อายุ 30 วัน หลังจากได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 3 สัปดาห์พบว่าไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนและกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีเปอร์เซ็นต์ serum samples ที่มีค่า Ab titer สูงกว่า 396 ของระดับภูมิคุ้มกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อมีค่าเท่ากับ 100% ส่วนไก่เนื้อที่เลี้ยงเชิงการค้าในกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนและกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีค่าเท่ากับ 0% ดังที่แสดงในตารางที่ 3.6 และภายหลังจากอายุ 30 วันไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนและกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมียังคงมีเปอร์เซ็นต์ serum samples ที่มีค่า Ab titer สูงกว่า 396 ของระดับภูมิคุ้มกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อมีค่าเท่ากับ 100% ไปจนถึงระยะเวลาสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งแสดงถึงระยะความคุมโรคในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงตลอดระยะเวลาจนถึงสิ้นสุดการทดลอง

ตารางที่ 3.5 จำนวน serum samples ของไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงและไก่เนื้อพันธุ์อาเบอร์ เอเคอร์ส ที่มีภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ

อายุ (วัน)	ทรีทเมนต์	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวน Positive Samples	จำนวน Negative Samples	Positive Percentage (%)
9	A (DC+No Vac.)	25	0	25	0
(Pre-V[1])	B (DC+Vac.)	25	0	25	0
	C (BC+No Vac.)	25	25	0	100
	D (BC+Vac.)	25	24	1	96
16	A (DC+No Vac.)	25	0	25	0
(1 wk PoV)	B (DC+Vac.)	25	24	1	96
	C (BC+No Vac.)	25	24	1	96
	D (BC+Vac.)	25	24	1	96
23	A (DC+No Vac.)	25	25	0	100
(2 wk PoV)	B (DC+Vac.)	25	25	0	100
	C (BC+No Vac.)	25	12	13	48
	D (BC+Vac.)	25	8	17	32

หมายเหตุ: (Pre-V[1]) หมายถึง อายุก่อนการได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (pre-vaccination)

PoV หมายถึง อายุหลังการได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (post vaccination)

DC หมายถึง ไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดง, BC หมายถึง ไก่เนื้อพันธุ์อาเบอร์ เอเคอร์ส (Arbor Acres)

ตารางที่ 3.5 (ต่อ)

อายุ (วัน)	ทรีทเมนต์	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวน Positive Samples	จำนวน Negative Samples	Positive Percentage (%)
30	A (DC+No Vac.)	25	25	0	100
(3 wk PoV)	B (DC+Vac.)	25	25	0	100
	C (BC+No Vac.)	25	0	25	0
	D (BC+Vac.)	25	0	25	0

หมายเหตุ: (Pre-V[1]) หมายถึง อายุก่อนการได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (pre-vaccination)
PoV หมายถึง อายุหลังการได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (post vaccination)
DC หมายถึง ไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดง, BC หมายถึง ไก่เนื้อพันธุ์อาเบอร์ เอเคอร์ส (Arbor Acres)

3.7 วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองพบว่าระดับภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อเริ่มต้นของไก่พื้นเมืองสายพันธุ์แดงและไก่เนื้อก่อนที่จะได้รับวัคซีนที่อายุ 9 วัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยที่อายุ 9 วันก่อนได้รับวัคซีนไก่เนื้อจะมีปริมาณ Ab titer ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อสูงกว่าไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดง ทั้งนี้เมื่อพิจารณาเนื่องจากในไก่เนื้อยังคงมีภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าติดต่อที่ได้รับมาจากแม่ไก่ (Maternally derived antibodies: MDA) ที่ถูกถ่ายทอดผ่านจากแม่ไก่สู่ลูกไก่โดยผ่านทางไข่แดงและช่วยป้องกันลูกไก่จากการติดเชื้อในช่วงแรกเกิด และ MDA จะมี half life อยู่ประมาณ 3-5 วันในตัวลูกไก่ ซึ่งความแตกต่างของ half life ของ MDA จะขึ้นอยู่กับชนิดของวัคซีนที่แม่ไก่ได้รับ (Lukert and Saif, 1997) ซึ่งภูมิคุ้มกันที่ลูกไก่ได้รับจากแม่ไก่นั้น เกิดจาก antibody ที่อยู่ในซีรั่มส่งผ่านจากแม่ไก่ไปทาง yolk ได้ในขณะที่ไข่ยังอยู่ในรังไข่ (ovary) และเมื่อไข่ตกออกจากรังไข่และผ่านมาที่ท่อนำไข่ (oviduct) โดยบริเวณนี้จะมี oviduct secretion ซึ่งจะพบว่ามี IgM และ IgA อยู่ ทั้ง IgM และ IgA จะรวมเข้ากับ albumin เมื่อตัวอ่อนเจริญเติบโตขึ้นร่างกายก็จะดูดซึม IgG จาก yolk เข้าสู่กระแสเลือด และในส่วนของ IgM และ IgA จะอยู่ใน amniotic fluid และจะเข้าสู่ตัวอ่อนโดยการกลืน เป็นเหตุให้ลูกไก่มี IgG ในกระแสเลือด และพบ IgM และ IgA ในลำไส้ ลูกไก่ที่เกิดใหม่ร่างกายจะดูดซึม antibody ใน yolk sac ทั้งหมดก่อน 24 ชั่วโมงหลังจากฟักเป็นตัว (โสมทัต วงศ์สว่าง, 2538) ซึ่งมีการทดลองของ Alam et al. (2002) พบว่า ในลูกไก่เนื้อที่มาจากแม่ไก่ฝูงที่ได้รับวัคซีน IBD เชื้อเป็น จะตรวจพบ MDA ในช่วงแรกเกิด และปริมาณของ MDA จะลดลงที่อายุ 15-20 วันโดยมี half life ประมาณ 5 วัน ซึ่ง

สอดคล้องกับการทดลองของ Tsai et al. (1995) พบว่า half life ของ MDA ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในลูกไก่อยู่ที่ประมาณ 4.2-9.2 วัน และการทดลองของ Saijo and Higashihara (1998) พบ half life ของ MDA ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในลูกไก่อยู่ที่ประมาณ 3.46 วัน และยังมีงานทดลองหลายงานพบว่าปริมาณของ MDA ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในลูกไก่จะคงอยู่จนถึงช่วงอายุที่แตกต่างกันดังนี้ คือ 20 วัน (Yehuda et al., 2000), 28 วัน (Hitchner , 1971), 29 วัน (Wyeth and Cullen, 1979), และ 30 วัน (Iordanides et al., 1991) ซึ่งการคงอยู่ของ MDA มีความแปรปรวนแตกต่างกันออกไปอาจเนื่องจากชนิดของวัคซีนที่แม่ไก่ได้รับและโปรแกรมการให้วัคซีนที่แตกต่างกันออกไป (Lukert and Saif, 1997; Alam et al., 2002)

จากการทดลองศึกษาความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงเปรียบเทียบกับไก่เนื้อที่เลี้ยงเชิงการค้า เมื่อได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (เชื้อเป็น) ที่อายุ 10 วัน ในกลุ่ม B และ D โดยการหยอดตา ตามโปรแกรมวัคซีนของศูนย์วิจัย และบำรุงพันธุ์สัตว์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี กรมปศุสัตว์ และทำการตรวจวิเคราะห์ระดับของ Ab titer ในสัปดาห์ที่ 1-6 หลังจากได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยวัคซีน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม คือกลุ่ม A และ C โดยศึกษาถึงระดับของ Ab titer ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ พบว่ากลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วยวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อมีระดับ Ab titer ตอบสนองต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อเพิ่มขึ้นภายหลังจากที่ได้รับวัคซีน 1 สัปดาห์ และระดับ Ab titer เพิ่มสูงขึ้นจนถึงสัปดาห์ที่ 6 (อายุ 51 วัน) หลังจากได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยวัคซีนซึ่งเป็นระยะเวลาสิ้นสุดการทดลอง โดยผลสอดคล้องกับตารางที่ 3.6 ซึ่งพบว่าในกลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วยวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อที่ระยะเวลา 1 สัปดาห์ภายหลังได้รับการกระตุ้นโดยวัคซีน (อายุ 16 วัน) มีเปอร์เซ็นต์ระดับภูมิคุ้มกันเป็น positive เพียงพอที่จะป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าติดต่อเท่ากับ 96% จากนั้นที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ภายหลังได้รับการกระตุ้นโดยวัคซีน (อายุ 23 วัน) จนถึงระยะเวลาสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์ภายหลังได้รับการกระตุ้นโดยวัคซีน (อายุ 51 วัน) พบว่ากลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วยวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อมีเปอร์เซ็นต์ระดับภูมิคุ้มกันเป็น positive เพียงพอที่จะป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าติดต่อเท่ากับ 100% ซึ่งแสดงให้เห็นถึงระยะเวลาในการคุมโรคที่ยาวนานเพียงพอที่จะป้องกันการเกิดโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ทั้งนี้เนื่องจากโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อเป็นโรคที่พบการระบาดและก่อให้เกิดผลเสียหายอย่างมากต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ ในช่วงที่ไก่มีอายุ 3-6 สัปดาห์ (จิโรจ ศศิปรียจันทร์. 2541) ดังนั้นการทำวัคซีนโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อให้ไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงจะช่วยให้ไก่มีภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อโดยมีระยะเวลาในการคุม

โรคยาวนานเพียงพอที่จะผ่านช่วงอายุที่ไก่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อได้ ในส่วนของกลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ไม่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วยวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ พบว่าที่อายุ 9 และ 16 วัน มีระดับ Ab titer ตอบสนองต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในระดับที่เป็น negative คือมีค่า Ab titer น้อยกว่า 396 คือมีค่า Ab titer เท่ากับ 60.00 และ 82.30 แสดงว่าตัวอย่างซีรั่มของไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ไม่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วยวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อที่อายุ 9 และ 16 วัน ไม่มีภูมิคุ้มกันในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (IDEXX Laboratories, Inc., 2006) แต่ที่อายุ 23 วันกลับพบว่าระดับของ Ab titer ของกลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ไม่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วยวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อเพิ่มสูงขึ้นโดยมีค่า Ab titer เท่ากับ 2834.30 ซึ่งมีค่าอยู่ในระดับ positive คือมีค่า Ab titer มากกว่า 396 แสดงว่าตัวอย่างซีรั่มของไก่มีภูมิคุ้มกันในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (IDEXX Laboratories, Inc., 2006) ทั้งนี้อาจเนื่องจากโรงเรือนที่ใช้ทำการทดลองเป็นโรงเรือนแบบปิด และวัคซีนโรคต่อเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อที่ใช้ในการทดลองเป็นวัคซีนเชื้อเป็น ซึ่งไก่กลุ่มนี้ได้รับเชื้อที่แพร่กระจายอยู่ในสิ่งแวดล้อมในโรงเรือนซึ่งมาจากวัคซีนโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อเชื้อเป็นที่มาจากไก่กลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยวัคซีน เพราะวัคซีนเชื้อเป็นสามารถก่อให้เกิดการขับเชื้อออกนอกร่างกายไก่ได้ (นิวัตร จันทร์ศิริพรชัย และวิษณุ วรรณแสวง, 2552) และค่า Ab titer ของไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ไม่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วยวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อยังคงสูงขึ้นหลังจากที่อายุได้ 23 วัน จนถึงระยะเวลาที่สิ้นสุดการทดลองที่อายุ 51 โดยผลสอดคล้องกับตารางที่ 3.6 ซึ่งพบว่าในกลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ไม่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วยวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ โดยที่อายุ 9 และ 16 วัน มีเปอร์เซ็นต์ระดับภูมิคุ้มกันเป็น positive ไม่เพียงพอที่จะป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าติดต่อ โดยมีค่าเท่ากับ 0% หลังจากนั้นที่อายุ 23 วัน จนถึงระยะเวลาสิ้นสุดการทดลองที่อายุ 51 วัน พบว่ากลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ไม่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วยวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อมีเปอร์เซ็นต์ระดับภูมิคุ้มกันเป็น positive เพียงพอที่จะป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าติดต่อเท่ากับ 100% ซึ่งแสดงให้เห็นถึงระยะเวลาในการคุมโรคที่ยาวนานเพียงพอที่จะป้องกันการเกิดโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ

ในกลุ่มของไก่เนื้อทั้งสองกลุ่มคือ กลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนและได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อมีระดับ Ab titer เริ่มต้นคือที่อายุ 9 วันก่อนได้รับวัคซีนมีค่าเท่ากับ 2754.20 และ 2670.90 ($P>0.05$) ตามลำดับ ซึ่งไก่ทั้งสองกลุ่มนี้มีค่า Ab titer มากกว่า 396 แสดงว่าตัวอย่างซีรั่มของไก่ทั้งสองกลุ่มมีภูมิคุ้มกันในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (IDEXX Laboratories, Inc., 2006) ทั้งนี้เนื่องจากไก่เนื้อทั้งสองกลุ่มยังคงมีภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่า

อักเสบติดต่อที่ได้รับการถ่ายทอดมาจากแม่ไก่ (MDA) ซึ่งมีงานทดลองหลายงานพบว่าปริมาณของ MDA ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในลูกไก่จะคงอยู่จนถึงช่วงอายุที่แตกต่างกันดังนี้ คือ 20 วัน (Yehuda et al., 2000), 28 วัน (Hitchner , 1971), 29 วัน(Wyeth and Cullen, 1979), และ 30 วัน (Iordanides et al., 1991) โดยการคงอยู่ของ MDA มีความแปรปรวนแตกต่างกันออกไปและในการทดลองนี้พบว่าปริมาณของ MDA ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อคงอยู่ในลูกไก่จนถึงอายุ 23 วัน ในไก่เนื้อทั้งสองกลุ่ม โดยผลสอดคล้องกับตารางที่ 3.6 ซึ่งพบว่าในกลุ่มไก่เนื้อทั้งสองกลุ่มมีเปอร์เซ็นต์ระดับภูมิคุ้มกันจากแม่ (MDA) ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อที่ตรวจพบมีเพียงพอที่จะป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าติดต่อในกลุ่มไก่เนื้อเท่ากับ 100% ที่อายุ 9 วัน และต่อมาที่อายุ 16 วัน กลุ่มไก่เนื้อที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน ยังคงมีเปอร์เซ็นต์ระดับภูมิคุ้มกันจากแม่ (MDA) ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อที่ตรวจพบมีเพียงพอที่จะป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าติดต่อในกลุ่มไก่เนื้อเท่ากับ 96% ต่อมาที่ 23 วัน พบว่าไก่เนื้อกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนมีเปอร์เซ็นต์ระดับภูมิคุ้มกันจากแม่ (MDA) ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อที่ตรวจพบมีเพียงพอที่จะป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าติดต่อในกลุ่มไก่เนื้อเท่ากับ 48% ส่วนกลุ่มไก่เนื้อที่ได้รับวัคซีนมีเปอร์เซ็นต์ระดับภูมิคุ้มกันจากแม่ (MDA) ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อที่ตรวจพบมีเพียงพอที่จะป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าติดต่อในกลุ่มไก่เนื้อเท่ากับ 32% และที่อายุ 30 วันพบว่าไก่เนื้อทั้ง 2 กลุ่ม มีเปอร์เซ็นต์ระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อที่ตรวจพบมีเพียงพอที่จะป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าติดต่อในกลุ่มไก่เนื้อเท่ากับ 0% แสดงให้เห็นถึงระยะเวลาในการคุมโรคในไก่เนื้อทั้ง 2 กลุ่มไม่เพียงพอที่จะป้องกันการเกิดโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ทั้งนี้เนื่องจากโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อเป็นโรคที่พบการระบาดและก่อให้เกิดผลเสียหายอย่างมากต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ ในช่วงที่ไก่มีอายุ 3-6 สัปดาห์ (จิโรจ ศศิปรียจันทร์. 2541) ดังนั้นควรมีการนำเอาระดับของ MDA พิจารณาช่วงอายุที่เหมาะกับการทำวัคซีน เนื่องจากการทำวัคซีนในขณะที่ไก่ยังคงมีภูมิคุ้มกันจากแม่สูงอาจส่งผลให้วัคซีนไม่สามารถกระตุ้นให้ไก่สร้างภูมิคุ้มกันได้ (นิวัตร จันทร์ศิริพรชัย และวิษณุ วรรณแสวง. 2552) และในไก่เนื้อกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีน ก็ควรที่จะมีการให้วัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อที่ไก่อายุประมาณ 16-23 วัน เนื่องจากระดับของภูมิคุ้มกันจากแม่ในลูกไก่ที่อายุ 16-23 วัน ได้มีปริมาณที่ลดลงซึ่งอาจเกิดภาวะการเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อได้ ส่วนกลุ่มไก่เนื้อที่ได้รับวัคซีน มีระดับ Ab titer ลดลง เนื่องจากเมื่อได้รับวัคซีนที่อายุ 10 วัน เกิดปฏิกิริยาการ neutralization ระหว่างวัคซีนเชื้อเป็น กับ MDA จึงส่งผลต่อระดับ Ab titer ที่ตรวจพบที่อายุ 16 วัน มีค่าลดลงเท่ากับ 1184 และกลุ่มไก่เนื้อที่ไม่ได้รับวัคซีนก็มีระดับ Ab titer ลดลงเช่นกัน จากนั้นที่อายุ 30 วัน ไก่เนื้อกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนและกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีระดับ Ab titer ลดลงจนมีค่าน้อยกว่า 396 คือมีค่า Ab titer เท่ากับ 121.40 และ 407.40 ($P>0.05$) ตามลำดับ แสดงว่าตัวอย่างซีรั่มของไก่เนื้อทั้งสอง

กลุ่มที่อายุ 30 วัน ไม่มีภูมิคุ้มกันในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (IDEXX Laboratories, Inc., 2006) ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณของ MDA ในลูกไก่ค่อย ๆ ลดลงเมื่อลูกไก่อายุมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Alam et al. (2002) พบว่า ในลูกไก่เนื้อที่มาจากแม่ไก่ฝูงที่ได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ เชื้อเป็น จะตรวจพบ MDA ในช่วงแรกเกิด และปริมาณของ MDA จะลดลงที่อายุ 15-20 วันโดยมี half life ประมาณ 5 วัน ส่วนกลุ่มไก่เนื้อที่ได้รับวัคซีนมีระดับ Ab titer ลดลง เนื่องจากเมื่อได้รับวัคซีนที่อายุ 10 วัน จึงเกิดการ neutralization ของวัคซีนเชื้อเป็น กับ MDA จึงส่งผลต่อระดับ Ab titer ที่ตรวจพบที่อายุ 16 วัน สอดคล้องกับการทดลองของ Ahmed and Akhter (2003) ที่ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับบทบาทของ MDA ต่อการป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่เนื้อและวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ เชื้อเป็น ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า ไก่เนื้ออายุ 1-7 วัน มีอัตราการตายที่เกิดจากโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 10 และ 20% และมีระดับของ Ab titer ที่อายุ 1-14 วันลดลง มีการตอบสนองต่อวัคซีนที่ต่ำมาก ทั้งนี้เกิดจากการ neutralization ของวัคซีนเชื้อเป็น กับ MDA แต่ที่อายุ 21 วันพบว่า Ab titer เพิ่มขึ้นจนถึงอายุสุดท้ายที่ทำการเจาะเลือด และ Alam et al. (2002) พบว่าก่อนให้วัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ระดับของ MDA สูง แต่หลังจากที่ไก่เนื้อได้รับวัคซีนเชื้อเป็น กลับพบว่าระดับของ Ab titer ลดลง ซึ่ง MDA มีส่วนในการรบกวนการสร้างภูมิคุ้มกันในลูกสัตว์ เป็นที่ทราบกันดีว่าการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในลูกสัตว์ในขณะที่มีอายุน้อยๆ มักจะถูกรบกวนจาก MDA ซึ่งระดับของการรบกวนการสร้างภูมิคุ้มกันจะขึ้นอยู่กับระดับของ MDA และปริมาณของแอนติเจนที่ให้เข้าไป โดยปกติระดับของ MDA ที่สูงมักจะมีผลรบกวนการกระตุ้นการทำงานของ B cell มากกว่า T cell ทั้งนี้เนื่องจาก MDA ที่ยังคงเหลืออยู่ในลูกสัตว์จะสามารถแย่งจับกับแอนติเจนได้ก่อนที่ negative B cell ของลูกจะเข้าถึง ในขณะที่การกระตุ้น T cell อาจยังจะเกิดได้ตามปกติ เนื่องจาก immune complex จะยังคงถูกจับโดย antigen presenting cell และเข้าสู่กระบวนการ antigen processing and presentation ได้ตามปกติ แต่ลูกสัตว์จำเป็นที่จะต้องได้รับภูมิคุ้มกันที่ถ่ายทอดจากแม่ เพื่อให้สามารถต้านทานการติดเชื้อและสามารถมีชีวิตรอดจนถึงระยะที่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันได้ด้วยตนเองโดยสมบูรณ์แบบได้ ซึ่งการมีภูมิคุ้มกันที่ถ่ายทอดจากแม่เปรียบเสมือนดาบสองคม เนื่องจาก MDA ในระดับที่สูงอาจช่วยป้องกันลูกสัตว์ได้ในระดับหนึ่ง ถ้าภูมิคุ้มกันที่ได้รับนั้นอยู่ในระดับ protective level แต่ในขณะเดียวกัน MDA ก็จะสามารถรบกวนประสิทธิภาพของวัคซีนหรือแอนติเจนใดๆ ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิด active immunity ในตัวลูกสัตว์ได้เช่นกัน และระดับภูมิคุ้มกันที่ถ่ายทอดจากแม่ที่จะไม่รบกวนการสร้างภูมิคุ้มกันในลูกสัตว์จะมีค่าต่ำกว่าระดับ protective level มาก ทำให้ในช่วงชีวิตหนึ่งของลูกสัตว์จะมีช่องว่างเกิดขึ้นระหว่างช่วงเวลาที่ลูกสัตว์ยังได้รับการป้องกันจาก MDA จนถึงช่วงเวลาที่ระดับของ MDA นั้นลดลงไปจนถึงระดับที่สัตว์

จะสามารถตอบสนองต่อการให้วัคซีนได้ เรียกช่วงเวลานั้นว่า window of susceptibility หรือ window of vulnerability (สันนิภา สุรทัตต์, 2549) และที่อายุ 37 วัน (4 สัปดาห์หลังจากได้รับวัคซีน) ไก่เนื้อกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีระดับ Ab titer สูงกว่า 396 คือค่า Ab titer เท่ากับ 1273.00 แสดงว่าตัวอย่างซีรั่มของไก่เนื้อกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีภูมิคุ้มกันในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (IDEXX Laboratories, Inc., 2006) โดยเมื่อไก่อายุได้วัน 44 วัน (5 สัปดาห์หลังจากได้รับวัคซีน) ไก่เนื้อกลุ่มนี้ยังคงมีระดับ Ab titer เพิ่มสูงขึ้นโดยมีค่าเท่ากับ 6396.00 โดยในกลุ่มไก่เนื้อที่ได้รับวัคซีนที่มีระดับของ Ab titer เพิ่มสูงขึ้นอาจเนื่องมาจากอายุที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ระดับของ MDA ลดลง (Iordanides et al., 1991; Saijo and Higashihara, 1998; Yehuda et al., 2000) จึงทำให้การ neutralization ของวัคซีนเชื้อเป็นกับ MDA ลดลงจึงทำให้มีระดับ Ab titer ที่เพิ่มขึ้น ซึ่งแตกต่างกับกลุ่มไก่เนื้อที่ไม่ได้รับวัคซีนโดยพบว่าที่อายุ 37 วัน ไก่เนื้อกลุ่มนี้มีระดับ Ab titer เท่ากับ 312.60 ซึ่งมีค่าต่ำกว่า 396 แสดงว่าตัวอย่างซีรั่มของไก่เนื้อกลุ่มนี้ไม่มีภูมิคุ้มกันในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (IDEXX Laboratories, Inc., 2006) ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณ MDA ในกระแสเลือดของไก่เนื้อกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนลดลง และเมื่อไก่เนื้อกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนอายุได้ 44 วัน พบว่าระดับของ Ab titer มีค่าเพิ่มสูงขึ้นเท่ากับ 4796.00 ซึ่งมีค่ามากกว่า 396 แสดงว่าตัวอย่างซีรั่มของไก่เนื้อกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนมีภูมิคุ้มกันในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (IDEXX Laboratories, Inc., 2006) ทั้งนี้เนื่องมาจากอาจมีการแพร่กระจายของเชื้อในโรงเรือน เนื่องจากโรงเรือนที่ใช้ทำการทดลองเป็นโรงเรือนแบบปิด และวัคซีนที่ใช้ในการทดลองเป็นวัคซีนเชื้อเป็นซึ่งอาจมีการปล่อยเชื้อจากไก่กลุ่มที่ได้รับวัคซีนสู่โรงเรือน และเกิดการแพร่กระจายของเชื้อภายในโรงเรือน เพราะวัคซีนเชื้อเป็นสามารถก่อให้เกิดการขับเชื้อออกนอกร่างกายไก่ได้ (นิวัตร จันทร์ศิริพรชัย และวิษณุ วรรณแสวง) ซึ่งเหตุการณ์เหล่านี้ล้วนเป็นตัวกระตุ้นให้ไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนมีระดับของ Ab titer ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อเกิดขึ้นได้ อย่างไรก็ตามระดับ Ab titer ของไก่เนื้อกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนที่เพิ่มขึ้นที่อายุ 44 วัน ก็ยังมีค่าต่ำกว่าระดับ Ab titer ของกลุ่มไก่เนื้อที่ได้รับวัคซีน ($P<0.05$) แต่หลังจากนั้นที่ไก่เนื้ออายุ 51 วัน พบว่าระดับ Ab titer ของไก่เนื้อกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนและกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีค่าลดลง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2936.00 และ 3246.00 ($P>0.05$) ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่เนื้อมี half life สั้นเมื่อเทียบกับไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดง

ซึ่งโดยภาพรวมจากภาพที่ 3.3 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อด้วยวัคซีนในไก่ทั้งสองสายพันธุ์ พบว่าไก่ทั้งสองสายพันธุ์มีความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในระดับที่ต่างกัน และไก่เนื้อมีภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่ออยู่ได้นานเพียง 2 สัปดาห์เท่านั้น ซึ่งเมื่อเทียบกับไก่พื้น

เมืองไทยสายพันธุ์แดงที่มีการตอบสนองต่อการกระตุ้นโดยวัคซีน พบว่าไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงมีระยะการคุมโรคที่นานจนถึงระยะเวลาสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งจะเห็นได้ว่าไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงมีภูมิคุ้มกันที่ยาวนานและสูงกว่าไก่เนื้อ และเมื่อสังเกตในกลุ่มของไก่ทั้งสองสายพันธุ์ที่ไม่ได้รับวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ แต่ได้รับเชื้อที่แพร่กระจายในสิ่งแวดล้อมในโรงเรือน พบว่าไก่ทั้งสองสายพันธุ์มีความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในระดับที่ต่างกัน และไก่เนื้อมีภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่ออยู่ได้นานเพียง 2 สัปดาห์เท่านั้น ซึ่งเมื่อเทียบกับไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่มีการตอบสนองต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันจากเชื้อที่แพร่กระจายในสิ่งแวดล้อมในโรงเรือน พบว่าไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงมีระยะการคุมโรคที่นานจนถึงระยะเวลาสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งมีภูมิคุ้มกันที่ยาวนานกว่าและมีปริมาณสูงกว่าไก่เนื้อ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในไก่สายพันธุ์ที่ต่างกัน รวมถึงไก่พื้นเมืองสายพันธุ์ต่างประเทศ พบว่ามีความสามารถในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อที่แตกต่างกัน (Bumstead, Reece, and Cook, 1993; Okoye and Abulugba, 1998; Nielsen, Sørensen, Hedemand, Laursen, and Jørgensen, 1998; Shaw and Divison ,2000; M-E-Elahi, Habib, Mazumder, Hossain, and Bhattacharjee, 2001; Juul-Madsen et al., 2002)

จากการทดลองเมื่อนำอิทธิพลระหว่างทรีทเมนต์และระยะเวลาที่เปลี่ยนไป โดยทำการทดสอบแบบ Repeated Measurement และ Polynomial trend พบว่ามีปฏิกิริยาร่วมกันระหว่างอิทธิพลเนื่องจาก ทรีทเมนต์และระยะเวลาที่เปลี่ยนไปที่มีผลต่อค่า Ab titer ($P<0.001$) ซึ่งในการทดลองนี้จึงได้ทำการแยกวิเคราะห์ Polynomial trend เป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงและไก่เนื้อ ดังที่แสดงในตารางที่ 3.4 โดยจากการศึกษาพบว่าไก่ทั้ง 2 สายพันธุ์มีระดับ Ab titer ในการตอบสนองต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อที่แตกต่างกัน โดยระดับ Ab titer ของไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงทั้ง 2 กลุ่ม (A และ B) เมื่อเวลาเปลี่ยนไปมีรูปแบบการตอบสนองของ Ab titer ต่อทรีทเมนต์มีแนวโน้มเป็นแบบโค้งยกกำลัง 2 (Linear) ที่ $P<0.02$ และในไก่เนื้อทั้ง 2 กลุ่ม (C และ D) พบว่าระดับ Ab titer ในการตอบสนองต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อเมื่อเวลาเปลี่ยนไปมีรูปแบบการตอบสนองของ Ab titer ต่อทรีทเมนต์มีแนวโน้มเป็นแบบโค้งยกกำลัง 6 (Quintic) ที่ $P<0.01$ ซึ่งสอดคล้องกับของ Juul-Madsen, Dalgaard, Røntved, Jensen, and Bumstead (2006) โดยได้มีการศึกษาถึงปฏิกิริยาร่วมของอิทธิพลของสายพันธุ์และระยะเวลาที่เปลี่ยนไปหลังได้รับวัคซีน พบปฏิกิริยาร่วมระหว่างสายพันธุ์ไก่ที่มี MHC haplotype ต่างกันและระยะเวลาหลังทำวัคซีนอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.0001$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าทั้งสายพันธุ์และระยะเวลาหลังการทำวัคซีนมีอิทธิพลร่วมกันต่อค่า Ab titer ซึ่งต้องนำมาพิจารณาร่วมกัน

3.8 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดง เปรียบเทียบกับไก่เนื้อ ตามโปรแกรมวัคซีนป้องกันโรคของศูนย์วิจัย และบำรุงพันธุ์สัตว์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี เป็นระยะเวลา 7 สัปดาห์ สรุปได้ว่าความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันโรคด้วยการให้วัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อเชื้อเป็น ในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงมีการสร้างภูมิคุ้มกันและมีความคงทน (Persistency) ของระดับภูมิคุ้มกันสูงกว่าไก่เนื้อ โดยมีระยะเวลาในการคุมโรคยาวนานจนสิ้นสุดระยะเวลาการทดลอง (7 สัปดาห์) นอกจากนี้เมื่อสังเกตไก่ทั้งสองสายพันธุ์ในกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีน แต่ได้รับเชื้อที่แพร่กระจายอยู่ในสิ่งแวดล้อมบริเวณโรงเรือน (เนื่องจากใช้วัคซีนเชื้อเป็น) ก็พบว่าการสร้างภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อการติดเชื้อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงสูงกว่าไก่เนื้อและมีระยะเวลาในการคุมโรคยาวนานจนสิ้นสุดระยะเวลาการทดลอง (7 สัปดาห์) โดยสามารถคุมโรคได้ถึง 100% จนกระทั่งสิ้นสุดระยะเวลาการทดลอง แต่ในไก่เนื้อมีระยะเวลาในการคุมโรคประมาณ 2 สัปดาห์ โดยหลังจาก 2 สัปดาห์ระดับของภูมิคุ้มกันลดลง

3.9 รายการอ้างอิง

จิตติมา กันตนามัลลกุล. (2545). **โรคและสาเหตุของโรคสัตว์ วิทยาศาสตร์สุขภาพสัตว์.** ปากเกร็ด นนทบุรี: สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช.

จิโรจ ศศิปรียจันทร์. (2541). **คู่มือโรคไก่.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ ดิออสการ์ แอนด์ เรย์ จำกัด.

นิวัตร จันทร์ศิริพรชัย และวิษณุ วรรณแสวง. (2552). **ระบบภูมิคุ้มกันและการแปลผลซีรัมในสัตว์ปีก.** กรุงเทพฯ: บริษัท ตีรณสาร จำกัด

สันนิภา สุรทัตต์. (2549). **วิทยาภูมิคุ้มกันทางสัตวแพทย์ภาคปฏิบัติ.** กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ตีรณสาร.

สุจินต์ สิมารักษ์ และเทวินทร์ วงศ์พระลับ. (2526). **คู่มือปฏิบัติการผสมเทียมในสัตว์เลี้ยง.** ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ. (2543). การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อสิ่งแปลกปลอม Immune Response. ใน สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ (บรรณาธิการ). **อิมมูโนวิทยา** (หน้า 133-146). พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: บริษัท พีพีเอช ซายน์เทคนิคัล จำกัด.

โสมทัต วงศ์สว่าง. (2538). **วิทยาภูมิคุ้มกันทางสัตวแพทย์.** กรุงเทพฯ: คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Ahmed, Z., and Akhter, S. (2003). Role of maternal antibodies in protection against infectious

bursal disease in commercial broilers. **International Journal of Poultry Science.** 2(4): 251-255.

Alam, J., Rahman, M. M., Sil, B. K., Khan, M. S. R., Giasuddin, and Sarker, M. S. K. (2002). Effect of maternally derived antibody on vaccination against infectious bursal disease (gumboro) with live vaccine in broiler. **International Journal of Poultry Science.** 1(4): 98-101.

Bumstead, N., Reece, R. L., and Cook, J. K. (1993). Genetic differences in susceptibility of chicken lines to infection with infectious bursal disease virus. **Poultry Science.** 72: 403–410.

FAO Regional Office for Asia and the Pacific. (2002). **A basic laboratory manual for the small-scale production and testing of I-2 newcastle disease vaccine** [On-line]. Available: http:// fao.org/docrep/005/AC802E/ac802e0a.htm

Hitchner, S. B. (1971). Persistence of parent IBD antibody and its effects on susceptibility of young chickens. **Avian Disease.** 15: 894-900.

IDEXX Laboratories, Inc. (2006). **Infectious bursal disease (IBD) ELISA kit manual**. Westbrook Maine. U.S.A.

Iordanides, P., Koumpate, M., and Artopois, E. (1991). Role of maternal antibodies in preventing IBD in chicks in the first week of life. **Delteonten kitenaiatrikes Elareias.** 42: 245-249.

Juul-Madsen, H. R., Dalgaard, T. S., Røntved, C. M., Jensen, K. H., and Bumstead, N. (2006). Immune response to a killed infectious bursal disease virus vaccine in inbred chicken lines with different major histocompatibility complex haplotypes. **Poultry Science.** 85: 986–998.

Juul-Madsen, H. R., Nielsen, O. L., Krogh-Maibom, T., Rontved, C. M., Dalgaard, T. S., Bumstead, N., and Jorgensen, P. H. (2002). Major histocompatibility complex-linked immune response of young chickens vaccinated with an attenuated live infectious bursal disease virus vaccine followed by an infection. **Poultry Science.** 81:649–656.

Lukert, P.D., and Saif, Y.M. (1997). Infectious bursal disease. In: B. W. Calnek (ed.). **Diseases of poultry** (10th ed., pp. 721–738). Iowa, USA: Iowa State University Press.

M-E-Elahi, A. T. M., Habib, S., Mazumder, M. S., Hossain M. I., and Bhattacharjee, P. S. (2001). Comparison of genetic susceptibility between local and exotic chickens towards gumboro

disease. **Pakistan Journal of Biological Sciences**. 4(12): 1562-1564.

Nielsen, O. L., Sørensen, P., Hedemand, J. E., Laursen, S. B., and Jørgensen, P. H. (1998). Inflammatory response of different chicken lines and B haplotypes to infection with infectious bursal disease virus. **Avian Pathology.** 27(2): 181–189.

Okoye, J.O.A. and Abulungba, E.P. (1998). Comparative study of the resistance or susceptibility of local Nigerian and exotic chickens to infectious bursal disease. **Avian Pathology.** 27 (2): 168-173.

Pitcovski, J., Cahaner, A., Heller, E. D., Zouri, T., Gutter, B., Gotfried,Y., and Leitner, G. (2001) Immune response and resistance to infectious bursal disease virus of chicken lines selected for high or low antibody response to *Escherichia coli.* **Poultry Science.** 80: 879–884.

Saijo, K., and Higashihara, M. (1998). Optimal time of initial administration of live vaccine for IBD in chick with maternally derived antibody. **Journal of the Japan Veterinary Medical Association.** 51: 647-651.

Shaw, I., and Davison, T. F. (2000). Protection from IBDV-induced bursal damage by a recombinant fowlpox vaccine, fpIBD1, is dependent on the titre of challenge virus and chicken genotype. **Vaccine.** 18: 3230–3241.

Tsai, H. J., Lin, D. F., Chen, M. J., Chiang, W. C., Lu, Y. S., and Sung, H. T. (1995). Survey of maternal antibody status against IBDV and estimation of the vaccination point. **Journal of the Chinese Society of Veterinary Science.** 21: 223-231.

Wyeth, P. J., and Cullen, G. A. (1979). Use of an inactivated IBD oil emulsion vaccine in commercial broiler parent chickens. **Veterinary Record.** 104: 188-193.

Yehuda, H., Goldway, M., Gutter, B., Michael, A., Godfried, Y., Shaaltiel, Y., Levi, B. Z., and Pitcovski, J. (2000). Transfer of antibodies elicited by baculo virus derived vp2 of a very virulent bursal disease virus strain to progeny of commercial breeder chickens. **Avian Pathology.** 291: 13-19.

บทที่ 4
งานวิจัยส่วนที่ 2
การศึกษาหาค่าอัตราพันธุกรรมของการสร้างภูมิคุ้มกันในไก่พื้นเมืองไทย สายพันธุ์แดงในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ

4.1 บทคัดย่อ

การศึกษาหาค่าอัตราพันธุกรรมของการสร้างภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำในไก่พื้นเมืองไทย สายพันธุ์แดงในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ โดยจัดกลุ่มการทดลองเพื่อให้ไก่ได้รับวัคซีนตามโปรแกรมที่กำหนดของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์สุราษฎร์ธานี จำนวน 338 ตัว อยู่ในสภาพแวดล้อมภายในโรงเรือนระบบปิดของฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา โดยนำข้อมูลที่ได้มาทำการประมาณค่าความแปรปรวนและค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมโดยวิธี Restricted Maximum Linkelihood (REML) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป BLUPF90 ChickenPAK 2.5 (Duangjinda, Misztal, and Tsurata, Computer Program, 2004) ซึ่งเป็นการประมาณค่าของอิทธิพลเนื่องจากปัจจัยคงที่ (fixed effect) พร้อมกับการประมาณค่าของอิทธิพลเนื่องจากปัจจัยสุ่ม (random effect) และเป็นการใช้ข้อมูลที่เกี่ยวข้องทางสายเลือดโดยผ่านทางพันธุประวัติ (pedigree) จากการศึกษาค่าอัตราพันธุกรรม (h^2) ของการสร้างภูมิคุ้มกันโรคในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์แดงต่อการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ซึ่งผลการเก็บตัวอย่างซีรั่มในไก่อายุ 51 วัน ซึ่งเป็นสัปดาห์ที่มีระดับ Ab titer สูงที่สุด พบว่าความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อโดยทำการวัดโดยใช้ค่า Antibody (Ab) titer ในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์แดงมีค่าเท่ากับ 0.032 ± 0.024 แสดงให้เห็นว่า อิทธิพลของพันธุกรรมแบบบวกสะสม (additive gene effect) มีส่วนเกี่ยวข้องกับลักษณะการตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อประมาณ 3.2% ดังนั้นการคัดเลือกควรเน้นการจัดการทางด้านสภาพแวดล้อมในด้านต่างๆ จะส่งผลต่อลักษณะการสร้างภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ดียิ่งขึ้น

4.2 บทนำ

ในการศึกษาหาค่าอัตราพันธุกรรมของการสร้างภูมิคุ้มกันในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อเพื่อศึกษาถึงลักษณะความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดง ซึ่งวัดโดยใช้ค่า Ab titer เป็นตัวแปรอยู่ภายใต้อิทธิพลของพันธุกรรมมากน้อยเพียงใด ซึ่งค่าอัตราพันธุกรรมถือได้ว่ามีความสำคัญในการปรับปรุงลักษณะปริมาณโดยวิธีการคัดเลือก ซึ่งเป็นค่าที่แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของพันธุกรรมที่มีต่อลักษณะการแสดงออกของสัตว์ในประชากรหนึ่ง เปรียบเทียบกับอิทธิพลของสภาพแวดล้อม โดยอัตราพันธุกรรมใช้เพื่อกำหนดลักษณะและจำนวนลักษณะ ซึ่งในแผนการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ลักษณะที่มีอัตราพันธุกรรมสูง และมีความสำคัญทางเศรษฐกิจสมควรกำหนดลงในแผนปรับปรุงพันธุ์มากกว่าลักษณะที่มีอัตราพันธุกรรมต่ำ และค่าอัตราพันธุกรรมยังมีประโยชน์สำหรับใช้ในการกำหนดระบบการผสมพันธุ์ (mating system) และกำหนดวิธีการคัดเลือก (selection method) โดยการใช้ค่าอัตราพันธุกรรมเป็นแหล่งข้อมูลของลักษณะต่าง ๆ สำหรับการปรับปรุงลักษณะที่เน้นในการคัดเลือก เนื่องจากลักษณะแต่ละลักษณะมีค่าอัตราพันธุกรรมเฉพาะตัว ซึ่งผู้ที่ทำการคัดเลือกจะได้พิจารณาว่าจะใช้วิธีการคัดเลือกวิธีใด ในกรณีที่ลักษณะหนึ่งมีอัตราพันธุกรรมต่ำและเป็นลักษณะที่ยังไม่แสดงออกได้ในขณะคัดเลือก ก็ใช้วิธีการคัดเลือกโดยดูบันทึกพันธุประวัติ (pedigree selection) นอกจากนี้ค่าอัตราพันธุกรรมเป็นค่าที่นำมาใช้ร่วมกับดัชนีทางพันธุกรรม (genotype parameters) อื่น ๆ เพื่อนำมาคำนวณดัชนีการคัดเลือก (selection index) เพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการเปรียบเทียบเพื่อใช้คัดเลือกไว้ทำพันธุ์ (จรัส สว่างทัพ, 2548)

ในการศึกษาถึงอัตราพันธุกรรมของลักษณะต่าง ๆ ที่สามารถถ่ายทอดต่อกันไปจนถึงรุ่นลูกรุ่นหลานนั้น ได้มีการศึกษาต่อเนื่องกันมายาวนาน และในส่วนอัตราพันธุกรรมของลักษณะการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ก็ได้มีการศึกษามากมาย ดังที่ Gyles et al. (1986) ได้ทำการทดลองเพื่อหาค่าอัตราพันธุกรรมของการสร้างแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ในไก่อายุ 3 สัปดาห์ ในสัปดาห์ที่ 1, 2, 3 และ 4 หลังการให้วัคซีน ได้ทำการวัดค่า Ab titer พบว่า ค่าอัตราพันธุกรรมมีค่า 0.06-0.58 เมื่อคำนวณด้วยวิธีการ Half-sib analysis และจากการทดลองของ Yonash et al. (1996) ที่ได้ทำการศึกษาในไก่เนื้อที่ถูกคัดเลือกในการตอบสนองต่อวัคซีน *E. coli* โดยการคัดเลือกไก่ที่มีการสร้างแอนติบอดีในระดับสูงและระดับต่ำ ซึ่งในการตอบสนองต่อวัคซีน *E. coli* นั้น ค่าอัตราพันธุกรรมของกลุ่มที่มีการสร้างแอนติบอดีในระดับสูงมีค่าเท่ากับ 0.44 และค่าอัตราพันธุกรรมของกลุ่มที่มีการสร้างแอนติบอดีในระดับต่ำมีค่าเท่ากับ 0.4

4.3 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาลักษณะความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดง ซึ่งทำการวัดโดยใช้ค่า antibody titer เป็นตัวแปรอยู่ภายใต้อิทธิพลของพันธุกรรมมากน้อยเพียงใด

4.4 วิธีดำเนินการวิจัย

4.4.1 สัตว์ทดลอง

ใช้พ่อพันธุ์พื้นเมืองไทย สายพันธุ์แดงอายุ 1-2 ปี จำนวน 46 ตัว นำมาทำการผสมพันธุ์กับแม่พันธุ์ไก่พื้นเมืองไทย สายพันธุ์แดงจำนวน 149 ตัว ในอัตราส่วน 1:3 ด้วยวิธีการผสมเทียมซึ่งปฏิบัติตามวิธีของ สุจินต์ สิมารักษ์ และเทวินทร์ วงศ์พระลับ (2526) โดยการรีดเอาน้ำเชื้อสดจากพ่อพันธุ์มาผสมกับแม่พันธุ์ที่เลี้ยงในกรงตับ โดยการทำหมายเลขประจำตัวติดไว้ที่พ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ เมื่อผสมพันธุ์แล้วเริ่มทำการเก็บไข่ในวันที่ 3 หลังจากการผสมเทียม ไข่ที่นำเข้าฟักจะถูกทำเครื่องหมายไว้เพื่อทำพันธุ์ประวัติ และลูกไก่แต่ละตัวที่ฟักออกมาจะถูกทำเครื่องหมายเลขติดไว้ที่ข้อขา แล้วนำมาเลี้ยงในโรงเรือนก่อนที่จะมีการจัดกลุ่มการทดลอง โดยจัดกลุ่มการทดลองเพื่อให้ไก่ได้รับวัคซีนตามโปรแกรมที่กำหนดของศูนย์วิจัย และบำรุงพันธุ์สัตว์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี (ตารางที่ 4.1) จำนวน 338 ตัว พร้อมบันทึกพันธุ์ประวัติ (ภาคผนวก ข) ซึ่งสัตว์ในกลุ่มการทดลองจะได้รับอาหารสูตรเดียวกัน โดยที่อาหารและน้ำมีให้สัตว์ได้รับอย่างเต็มที่ (ad libitum) และอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมือนกัน ภายในโรงเรือนระบบปิดของฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา

ตารางที่ 4.1 โปรแกรมการให้วัคซีนป้องกันโรคในไก่พื้นเมือง ของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี

อายุ (วัน)	ชนิดวัคซีน
1	มาเร็กซ์
7	นิวคาสเซิล-LASOTA (เชื้อเป็น)
10	กัมโบโร
14	หลอดลมอักเสบติดต่อ
21	นิวคาสเซิล-LASOTA (เชื้อเป็น)
35	ฝีดาษไก่
60	อหิวาห์ไก่
90	นิวคาสเซิล-LASOTA (เชื้อเป็น)

4.4.2 การเก็บตัวอย่างและการเตรียมซีรั่ม

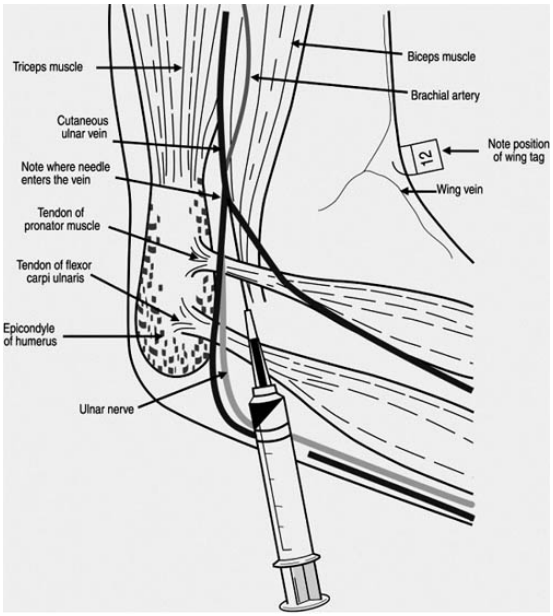
4.4.2.1. การเจาะเลือด

1. อุปกรณ์ในการเจาะเลือด

- syringe 1.0, 2.5 ml
- เข็มเจาะเลือด เบอร์ 21
- alcohol 70%
- microcentrifuge tube 1.5 ml
- ปากกาทำเครื่องหมาย
- สำลี

2. วิธีการ

สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดของไก่ทดลองจากกลุ่มการทดลองทั้งหมด 338 ตัว โดยทำการเก็บที่อายุ 51 วัน โดยการใช้เข็มเบอร์ 21 เจาะที่เส้นเลือดบริเวณปีก (wing vein) (ภาพที่ 4.1) ปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร ใส่เลือดที่เจาะในหลอดบรรจุ (micro tube) ที่ไม่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (anticoagulant) เพื่อที่จะนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของ Ab titer ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ



ภาพที่ 4.1 วิธีการเจาะเลือดที่ บริเวณปีก (wing vein)

ที่มา: FAO , www, 2002

4.4.2.2. การเตรียมซีรั่มและการเก็บรักษาซีรั่ม

นำเลือดที่บรรจุอยู่ในหลอดเก็บเลือดที่ไม่มีสารป้องกันเลือดแข็งตัว (anticoagulant) มาวางบนพื้นราบโดยวางหลอดบรรจุในแนวนอนขนานไปกับพื้น และวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้เลือดแข็งตัว (coagulate) ประมาณ 1-2 ชั่วโมง แล้วทำการปั่นเหวี่ยงตัวอย่างเลือดที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพื่อทำการแยกซีรั่มเลือดที่แข็งจะหดตัว (clot retraction) และแยกออกเป็น 2 ส่วน คือส่วนของเม็ดเลือดและส่วนของซีรั่ม จากนั้นทำการแยกเก็บซีรั่มโดยใช้ micro pipette ดูดเก็บซีรั่มที่ได้ใส่ในหลอดบรรจุ (micro tube) และเก็บรักษาซีรั่มที่ได้ไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำมาวิเคราะห์หาค่า antibody titer ต่อโรค ต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ โดยวิธี ELISA ซึ่งทำการอ่านค่าโดยใช้เครื่อง ELISA reader จะได้ค่าออกมาเป็นหน่วยของค่าความดูดกลืนคลื่นแสง (optical density หรือ OD) ซึ่งจะมีค่าอยู่ระหว่าง 0-2 โดยค่าที่ได้จะนำไปคำนวณให้ได้เป็นค่า antibody titer และนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติต่อไป

4.4.3 การตรวจวิเคราะห์หาระดับภูมิคุ้มกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ

4.4.3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือในการทำ ELISA

1. 1-1,000 microliter pipettes
2. 8 channel microliter pipette
3. graduated cylinder (50 ml)
4. ELISA microtiter plate 96 well
5. ELISA reader
6. Deionized water
7. Glass beaker

4.4.3.2 สารเคมี

1. IBD coated plates
2. IBD positive control – diluted chicken anti-IBD, preserved with sodium azide.
3. Negative control – diluted chicken sera non-reactive for anti-IBD, preserved with Sodium azide
4. (Goat) anti-chicken: horseradish peroxidase conjugate, preserved with gentamycin
5. Sample dilluent buffer preserved with sodium azide

6. Tetramethylbenzidine (TMB) substrate
7. Stop solution

4.4.3.3 ขั้นตอนการทำ ELISAใช้เทคนิคของ IDEXX Laboratories, Inc. (2006) มีขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

1) การเตรียม plate ละลายซีรั่ม (Serum dilution plate)

1. ก่อนทำการทดสอบนำสารเคมีมาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (20-27 องศาเซลเซียส)
2. เติม dilution buffer 250 µl ทุกหลุมใน ELISA microtiter plates 96 well
3. ใส่ซีรั่มของตัวอย่างที่ต้องการตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน 0.5 µl (ละลายในอัตราส่วน 1:500) ในหลุม A4 ถึงH9 (ภาพที่ 4.2)
4. ทำการผสมให้เข้ากันแล้วนำไปใส่ใน IBD Coated Plate

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	+	-	+	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12
B	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12
C	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12
D	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12
E	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12
F	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12
G	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9	G10	G11	G12
H	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	-	+	-

ภาพที่ 4.2 ลักษณะของ ELISA Plate

2) วิธีการทดสอบ ELISA (test plate)

1. ทำการจดบันทึกตำแหน่งของตัวอย่างในแต่ละ well
2. เติม negative control – diluted chicken sera non-reactive for anti-IBD 100 µl ในหลุม A2, H10 และ H12
3. เติม IBD positive control – diluted chicken Anti-IBD 100 µl ในหลุม A1, A3 และ H11
4. ใช้ multiple pipette ดูด 100 µl ของซีรั่มตัวอย่าง ที่ทำการละลายแล้วจาก dilution

plate มาใส่ใน IBD coated plates ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

5. เมื่อครบกำหนดเวลาให้ทำการเทของเหลวทิ้งและทำการเคาะของเหลวที่เหลืออยู่ใน plate ออกให้หมด
6. ทำการล้าง IBD coated plates โดยใช้ multiple pipette ดูด deionized water 350 µl ใส่ให้เต็มทุกหลุม และตั้งทิ้งไว้ 3 นาที หลังจากนั้นทำการเทของเหลวทิ้งและเคาะของเหลวที่เหลือออกให้หมด แล้วทำซ้ำข้อ 5-6 อีก 4 ครั้ง
7. เติม (Goat) anti-chicken: horseradish peroxidase conjugate 100 µl ต่อ 1 หลุม ทำการเติมทุกหลุม ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
8. เมื่อครบกำหนดให้ทำการเทของเหลวทิ้งและเคาะของเหลวที่เหลือใน plate ออกให้หมด จากนั้น ทำการล้าง plate ตามข้อ 5 และ 6
9. เติม TMB substrate solution 100 µl ต่อ 1 หลุม ทำการเติมทุกหลุม และตั้งทิ้งไว้ 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
10. เติม stop solution 100 µl ต่อ 1 หลุม ทำการเติมทุกหลุม
11. นำ IBD coated plates ที่ได้ไปอ่านค่า โดย ELISA plate reader ที่ 650 nm

4.4.4 การคำนวณหาค่า การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (Titer)

1. เมื่อนำตัวอย่างที่ได้ไปเข้าเครื่องอ่านค่าโดย ELISA plate reader ที่ 650 nm จะได้ค่าดูดกลืนคลื่นแสง (OD) ออกมา
2. นำค่าที่ได้มาคำนวณค่าเฉลี่ย Positive Control Mean (PCx) โดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงของหลุม A1, A3 และ H11 ดังแสดงในสมการที่ 4-1

$$PCx = \frac{Well\ A1(650) + Well\ A3(650) + Well\ H11(650)}{3} \quad (4\text{-}1)$$

3. คำนวณค่าเฉลี่ย Negative Control Mean (NCx) จากค่าค่าดูดกลืนคลื่นแสงของหลุมที่ A2, H10 และ H12 ดังแสดงในสมการที่ 4-2

$$NCx = \frac{Well\ A2(650) + Well\ H10(650) + Well\ H12(650)}{3} \quad (4\text{-}2)$$

4. วิธีการคำนวณ Sample/positive (S/P) โดยวิธีการดังที่แสดงสูตรในการคำนวณ

ดังแสดงในสมการที่ 4-3

$$S/P\ Ratio = \frac{Sample\ Mean - NCx}{PCx - NCx} \quad (4\text{-}3)$$

5. IBD ELISA titer (IDEXX Laboratories, Inc., 2006) คำนวณได้จากสมการที่ 4-4 และ 4-5

$$\text{Log}_{10}\ \text{Titer} = 1.09\ (\text{Log}_{10}\ \text{S/P}) + 3.36 \quad (4\text{-}4)$$

$$\text{Titer} = \text{Antilog ของ Log}_{10}\ \text{titer} \quad (4\text{-}5)$$

4.4.5 การแปลผล

ระดับของ IBD ELISA titer จะแสดงถึงการเปรียบเทียบระดับภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ โดยใช้ ELISA kit (IDEXX Laboratories, Inc., 2006) ซึ่งค่าที่ได้จะมีการแปลผลดังนี้

- **IBD ELISA titer มีค่าน้อยกว่า 396** แสดงว่าตัวอย่างซีรั่มของไก่ไม่มีความหมายต่อระดับภูมิคุ้มกันในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ คือตัวอย่างซีรั่มของไก่ไม่มีภูมิคุ้มกันในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ซึ่งทำการเปรียบเทียบกับ Positive control และ Negative control sera (IDEXX Laboratories, Inc., 2006)
- **IBD ELISA titer มีค่ามากกว่า 396** แสดงว่าตัวอย่างซีรั่มของไก่มีความหมายทางสถิติต่อระดับภูมิคุ้มกันในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ คือตัวอย่างซีรั่มของไก่มีภูมิคุ้มกันในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ซึ่งทำการเปรียบเทียบกับ Positive control และ Negative control sera (IDEXX Laboratories, Inc., 2006)

4.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษาที่ 2 นี้เป็นการนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าอัตราพันธุกรรมโดยใช้ โปรแกรมสำเร็จรูป BLUPF90-Chicken PAK 2.5 (Duangjinda et al., Computer Program, 2004) ซึ่งเป็นการประมาณค่าของอิทธิพลเนื่องจากปัจจัยคงที่ (fixed effect) พร้อมกับการประมาณค่าของอิทธิพลเนื่องจากปัจจัยสุ่ม (random effect) และเป็นการใช้ข้อมูลที่เกี่ยวข้องทางสายเลือดโดยผ่านทางพันธุประวัติ (pedigree) ดังนั้นค่าพันธุกรรมที่ประมาณได้จึงมีความแม่นยำสูงและสัตว์ที่ไม่มีบันทึกตัวเองก็สามารถถูกประเมินพันธุกรรมได้ (มนต์ชัย ดวงจินดา, 2548) โดยทำการวิเคราะห์องค์ประกอบความแปรปรวนและประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมด้วยวิธี Retricted Maximum Likelihood (REML) ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้นำข้อมูลค่า antibody titer ที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าอัตราพันธุกรรมโดยใช้ โปรแกรมสำเร็จรูป BLUPF90-ChickenPAK 2.5 (Duangjinda et al., Computer Program, 2004) ตามหุ่นสถิติ (animal model) ซึ่งเขียนในรูปเมทริกซ์ได้ดังแสดงในสมการที่ 4-6

$$y = X\beta + Z\mu + \varepsilon \quad \text{โดย } V\begin{bmatrix}\mu \\ \varepsilon\end{bmatrix} = \begin{bmatrix}G & 0 \\ 0 & R\end{bmatrix} \text{ และ } V(y) = ZGZ' + R = V \qquad (4\text{-}6)$$

โดยที่ Y คือ เวคเตอร์ของค่าสังเกต

β คือ เวคเตอร์ของอิทธิพลคงที่ (ได้แก่ อิทธิพลเนื่องจากแม่ และ plate ที่วิเคราะห์)

μ คือ เวคเตอร์ของอิทธิพลสุ่มเนื่องจากตัวสัตว์ หรือพันธุกรรมแบบบวกสะสม

X คือ incidence matrix ที่แสดงการปรากฏของอิทธิพล β ในแต่ละค่าสังเกต

Z คือ incidence matrix ที่แสดงการปรากฏของอิทธิพล a ในแต่ละค่าสังเกต

ε คือ ความคลาดเคลื่อน

G คือ ความแปรปรวนของปัจจัยสุ่ม เมื่อ $G = A\sigma_{\mu}^2$

R คือ ความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อน เมื่อ $R = I\sigma_{e}^2$

A คือ ความสัมพันธ์ระหว่างตัวสัตว์

I คือ Identity matrix

ประเมินโดยวิธีการประมาณองค์ประกอบความแปรปรวนโดยใช้โปรแกรม BLUP ที่ประเมินด้วยวิธี BLUPF90-ChickenPAK 2.5 (Duangjinda et al., Computer Program, 2004) ประเมินค่าอัตราพันธุกรรมโดยการประเมินองค์ประกอบของความแปรปรวน ดังแสดงในสมการที่ 4-8

$$h^2 = \sigma_a^2 \Big/ (\sigma_a^2 + \sigma_e^2) \quad (4\text{-}8)$$

โดยที่ h^2 คือ ค่าอัตราพันธุกรรม (heritability)

σ_a^2 คือ ความแปรปรวนเนื่องจากอิทธิพลเนื่องจากตัวสัตว์ หรือพันธุกรรมแบบบวกสะสม

σ_e^2 คือ ความแปรปรวนเนื่องจากความคลาดเคลื่อน

4.6 ผลการทดลอง

จากการศึกษาค่าอัตราพันธุกรรมของการสร้างภูมิคุ้มกันโรคในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์แดงต่อการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อตามโปรแกรมวัคซีนป้องกันโรคในไก่พื้นเมือง ในศูนย์วิจัย และบำรุงพันธุ์สัตว์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี ซึ่งผลการเก็บตัวอย่างซีรั่มในไก่อายุ 51 วัน ซึ่งเป็นสัปดาห์ที่มีระดับ Ab titer สูงที่สุด โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป BLUPF90-PAK 2.5 (2004) ประเมินค่าอัตราพันธุกรรมโดยผ่านทางพันธุ์ประวัติ (pedigree) พบว่าความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมโดยทำการวัดโดยใช้ค่า Ab titer ในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์แดงอยู่ภายใต้อิทธิพลของพันธุกรรมเท่ากับ 0.032 ± 0.024 ดังแสดงในตารางที่ 4.2 ซึ่งค่าอัตราพันธุกรรมที่มีค่าต่ำกว่า 0.2 แสดงว่าการแสดงออกของลักษณะนั้น ขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อมควรเน้นการปรับปรุงการผลิตไปในด้านการปรับปรุงสภาพแวดล้อมต่างๆ ลักษณะที่มีค่าอัตราพันธุกรรมสูงกว่า 0.4 แสดงว่าอัตราพันธุกรรมสูงควรเน้นการคัดเลือกพันธุ์ (Acker and Cunningham,1998)

ตารางที่ 4.2 ค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำ (Ab titer) ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อของไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดง

ลักษณะ	ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม			
	$h^2 \pm$ S.E.	σ_a^2	σ_e^2	σ_T^2
ภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำ (Ab titer)	0.032 ± 0.024	0.0011327	0.034316	0.035449

4.7 วิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาหาค่าอัตราพันธุกรรมของการสร้างภูมิคุ้มกันในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์แดงต่อการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ตามโปรแกรมวัคซีนป้องกันโรคในไก่พื้นเมือง ในศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป BLUPF90-ChickenPAK 2.5(Duangjinda et al., Computer Program, 2004) พบว่าอัตราพันธุกรรมของการสร้างภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทย สายพันธุ์แดง ที่อายุ 51 วัน โดยประมาณจากความแปรปรวนที่เกิดจากตัวสัตว์เอง (animal model) ที่เลี้ยงภายใต้สภาพการจัดการของฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี มีค่าอัตราพันธุกรรม (± SE) เท่ากับ 0.032 (±0.024) ซึ่ง จรัส สว่างทัพ (2548) กล่าวว่า ถ้าอัตราพันธุกรรมมีค่าเท่ากับ 0 หรือใกล้เคียง 0 หมายความว่าลักษณะนั้นขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อมทั้งสิ้นหรือเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งจากค่าอัตราพันธุกรรมที่ทำการศึกษาได้ในครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่า อิทธิพลของพันธุกรรมแบบบวกสะสม (additive gene effect) มีส่วนเกี่ยวข้องกับลักษณะการตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อประมาณ 3.2% ส่วนอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมรวมถึงพันธุกรรมแบบ dominant และ epistatic นั้นมีถึง 96.8% ในกรณีที่ลักษณะใดๆสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้ตั้งแต่ระดับปานกลางถึงระดับสูงมาก ซึ่งหมายถึงอยู่ภายใต้อิทธิพลของพันธุกรรมตั้งแต่ร้อยละ 25 ขึ้นไป การปรับปรุงทางพันธุกรรมของลักษณะนั้นจะก่อให้เกิดประโยชน์ในการปรับปรุงในลักษณะนั้นอย่างคุ้มค่า (สมจิตต์, 2530) แต่จะเห็นได้ว่าลักษณะการสร้างภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อมเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งจะทำให้มีความก้าวหน้าช้าในการปรับปรุงลักษณะทางพันธุกรรม จึงควรเน้นการปรับปรุงทางด้านสภาพแวดล้อม เช่น อาหาร การจัดการทางด้านการเลี้ยงและการป้องกันโรค ส่วนการปรับปรุงพันธุ์อาจทำแบบค่อยเป็นค่อยไป ร่วมกับวิธีการเลี้ยงดูและการจัดการสัตว์ ดังนั้นในลักษณะของการตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อของไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงฝูงนี้น่าจะมีการปรับปรุงด้านสภาพแวดล้อมมากกว่าการปรับปรุงทางด้านพันธุกรรม

ซึ่งค่าอัตราพันธุกรรมที่ได้ศึกษาครั้งนี้ถือว่ามีค่าใกล้เคียงกับการทดลองของ Gyles et al. (1986) ซึ่งได้ทำการทดลองเพื่อหาค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะการสร้างภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ในไก่อายุ 3 สัปดาห์ ในสัปดาห์ที่ 1, 2, 3 และ 4 หลังการให้วัคซีน ได้ทำการวัดค่า Ab titer พบว่า ค่าอัตราพันธุกรรมมีค่า 0.06-0.58 เมื่อคำนวณด้วยวิธีการ Half-sib analysis ซึ่งการศึกษาเกี่ยวกับค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะความสามารถของการต้านทานโรคต่างๆในไก่พบว่าได้มีการศึกษากันอย่างแพร่หลาย ซึ่งมีการศึกษาของ หนึ่งฤทัย พรหมวาที (2549) ทำการศึกษาค่าอัตราพันธุกรรมของการสร้างภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลในไก่พื้นเมืองไทย พันธุ์ชี ที่อายุ 7 สัปดาห์ โดยประมาณจากความแปรปรวนที่เกิดจากตัวสัตว์เอง (animal model) ที่เลี้ยงภายใต้สภาพการจัดการของศูนย์วิจัย

และบำรุงพันธุ์สัตว์ท่าพระ จังหวัดขอนแก่น มีค่าอัตราพันธุกรรม (±SE) เท่ากับ 0.02 (±0.05) Soller et al. (1981) ทำการศึกษาค่าอัตราพันธุกรรมของระดับแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิลและวัคซีน *E. coli* ในไก่เนื้อที่เลี้ยงเชิงการค้า พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.41 และ 0.25 ตามลำดับ เมื่อคำนวณจากส่วนประกอบของความแปรปรวนที่มาจากพ่อ (sire variance component) และจากการทดลองของ Yonash et al. (1996) ที่ได้ทำการศึกษาในไก่เนื้อที่ถูกคัดเลือกในการตอบสนองต่อวัคซีน *E. coli* โดยการคัดเลือกไก่ที่มีการสร้างแอนติบอดีในระดับสูงและระดับต่ำ ซึ่งในการตอบสนองต่อวัคซีน *E. coli* นั้น ค่าอัตราพันธุกรรมของกลุ่มที่มีการสร้างแอนติบอดีในระดับสูงมีค่าเท่ากับ 0.44 และค่าอัตราพันธุกรรมของกลุ่มที่มีการสร้างแอนติบอดีในระดับต่ำมีค่าเท่ากับ 0.42 ในส่วนของการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคนิวคาสเซิล ที่มีค่าอัตราพันธุกรรมอยู่ในช่วง0.07-0.77 (Takahashi, Inooka, and Mizuma, 1984; Sacco et al., 1994; จารึก เบี้ยวเก็บ, 2534) ซึ่งจากข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นว่าค่าอัตราพันธุกรรมต่อความสามารถในการต้านทานโรคมีความแปรปรวนเนื่องจากมีค่าที่อยู่ในช่วงกว้าง

เมื่อพิจารณาค่า standard error ของอัตราพันธุกรรมของลักษณะการสร้างภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ที่อายุ 7 สัปดาห์ พบว่ามีค่าค่อนข้างสูง คือประมาณ 75% ของค่าประเมิน ทั้งนี้อาจเนื่องจากการทดลองครั้งนี้ใช้ไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงจำนวน 338 ตัว ซึ่งใกล้เคียงกับการทดลองของ คีญาภัทร์ กองร้อย (2549) ได้ใช้ไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์เหลืองหางขาวจำนวน 210 ตัว พบว่าค่า standard error ของอัตราพันธุกรรมของการสร้างแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลที่อายุ 6 สัปดาห์ มีค่าใกล้เคียงกัน คือประมาณ 55% ของค่าประเมิน และการทดลองของหนึ่งฤทัย พรหมวาที (2549) ได้ใช้ไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์ชีจำนวน 475 ตัว พบว่าค่า standard error ของอัตราพันธุกรรมของการสร้างแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลที่อายุ 7 สัปดาห์ มีค่าประมาณ 250% ของค่าประเมิน ซึ่งอาจจะเป็นไปได้เนื่องจากว่าจำนวนสัตว์ทดลองที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มีจำนวนน้อยเมื่อเทียบกับงานของ จารึก เบี้ยวเก็บ (2534) ได้ใช้ไก่พื้นเมืองไทยจำนวน 1,800 ตัว พบว่าค่า standard error ของอัตราพันธุกรรมของการสร้างแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลมีค่าต่ำมาก คือประมาณ 37% ของค่าประเมิน ทั้งนี้เนื่องจากใช้ไก่ในการทดลองเป็นจำนวนมาก ดังนั้นการประเมินค่าอัตราพันธุกรรมนั้นจะต้องใช้สัตว์ทดลองเป็นจำนวนมาก ถึงจะทำให้ค่า standard error มีค่าต่ำลง

4.8 สรุปผลการทดลอง

ค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะการสร้างภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ที่อายุ 51 วัน ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้มีค่าอัตราพันธุกรรม (±SE) เท่ากับ 0.032 (±0.024) ซึ่งค่าอัตราพันธุกรรมมีค่าเท่ากับ 0 หรือใกล้เคียง 0 หมายความว่าลักษณะนั้นขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อมทั้งสิ้นหรือเป็นส่วนใหญ่ (จรัส สว่างทัพ, 2548) ดังนั้นการเน้นการจัดการทางด้านสภาพแวดล้อมในด้านต่างๆ จะส่งผลต่อลักษณะการสร้างภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงให้ดียิ่งขึ้น และนอกจากนี้เนื่องจาก BLUP สามารถประมาณค่าของอิทธิพลเนื่องจากปัจจัยคงที่ เช่น ฝูง ปีเกิด ฤดูกาล เพศ อายุแม่ เป็นต้น พร้อมกับการประมาณค่าอิทธิพลเนื่องจากปัจจัยสุ่ม เช่น ค่าพันธุกรรม ค่าสภาพแวดล้อมถาวร เป็นต้น ทำให้ค่าพันธุกรรมจากสัตว์ที่ประเมินมีการปรับด้วยอิทธิพลเหล่านั้นสามารถใช้เปรียบเทียบต่างฝูงหรือปีเกิดต่างกันได้ ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในงานประเมินพันธุกรรมสัตว์ที่ต้องมีการเปรียบเทียบพันธุกรรมจากหลายฝูง (มนต์ชัย ดวงจินดา, 2548) ดังนั้นค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะการสร้างภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ที่อายุ 51 วัน ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถที่จะใช้เปรียบเทียบกับฝูงอื่น ๆ ได้ เพื่อเป็นประโยชน์ในงานประเมินพันธุกรรมสัตว์ที่ต้องมีการเปรียบเทียบพันธุกรรมจากหลายฝูง

4.9 รายการอ้างอิง

คีญาภัทร์ กองร้อย. (2549). สภาวะภูมิคุ้มกันและอิทธิพลของพันธุกรรมต่อระดับภูมิคุ้มกันโรคนิวคาสเซิลในไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี: นครราชสีมา.

จรัส สว่างทัพ. (2548). **เทคนิคการปรับปรุงพันธุ์สัตว์.** บุรีรัมย์: มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์.

จารึก เบี้ยวเก็บ. (2534). อิทธิพลของพันธุกรรมต่อระดับภูมิคุ้มกันโรคนิวคาสเซิลในไก่ลูกผสมพื้นเมืองที่เลี้ยงในสภาพชนบท. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยขอนแก่น : ขอนแก่น.

มนต์ชัย ดวงจินดา. (2548). **การประเมินพันธุกรรมสัตว์.** ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สมจิตต์ ยอดเศรณี. (2530). **การคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์สัตว์.** ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุจินต์ สิมารักษ์ และเทวินทร์ วงศ์พระลับ. (2526). **คู่มือปฏิบัติการผสมเทียมในสัตว์เลี้ยง.**

ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

หนึ่งฤทัย พรหมวาที. (2549). ระดับแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชี. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี: อุบลราชธานี.

Acker, D., and Cunningham, M. (1998). **Animal science and industry.** New Jersey: Prentice Hall Upper Saddle River.

Duangjinda, M., Misztal, I., and Tsurata, S. (2002). BLUPF90-ChickenPAK (version2.5) Genetic Evaluation Program for Chicken [Computer solfware]. Department of animal and dairy science, The University of Georgia and Department of animal science, Khon kean University.

FAO Regional Office for Asia and the Pacific. (2002). **A basic laboratory manual for the small-scale production and testing of I-2 newcastle disease vaccine** [On-line]. Available: http:// fao.org/docrep/005/AC802E/ac802e0a.htm

Gyles, N. R., Fallah-Moghaddam, H., Patterson, L. T., Skeeles, J. K., Whitfill, C. E., and Johnson, L. W. (1986). Genetic aspects of antibody response in chicken to different classes of antigens [Abstract]. **Poultry Science.** 65: 223-232.

IDEXX Laboratories, Inc. (2006). **Infectious bursal disease (IBD) ELISA kit manual**. Westbrook Maine. U.S.A.

Sacco, R.E., Nestor, K.E., Saif, Y.M., Tsai, H.J., Anthony, N.B., and Patterson, R.A. (1994). Genetic analysis of antibody responses of turkeys to Newcastle disease virus and *Pasteurella multocida* vaccines. **Poultry Science.** 73 (8): 1169-1174.

Soller, M., Heller, D., Peleg, B., Ron-Kuper, N., and Hornstein, K. (1981). Genetic and phynotypic correlations between immune response to *Escherichia coli* and to Newcastle disease virus vaccines [Abstract]. **Poultry Science.** 60(1): 49-53.

Takahashi, S., Inooka, S., and Mizuma, Y. (1984). Selective breeding for high and low antibody responses to inactivated newcastle disease virus in Japanese quails. **Poultry Science.** 63: 595-599.

Yonash, N., Leitner, G., Waiman, R., Heller, E. D., and Cahaner, A. (1996). Genetic differences and heritability of antibody response to *Escherichia coli* vaccination in young broiler chicks. **Poultry Science.** 75(6): 683-690.

บทที่ 5
บทสรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 บทสรุป

จากการศึกษาความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดง เปรียบเทียบกับไก่เนื้อ ตามโปรแกรมวัคซีนป้องกันโรคของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี เป็นระยะเวลา 7 สัปดาห์ สรุปได้ว่าความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อโดยการกระตุ้นด้วยการให้วัคซีนเชื้อเป็น ในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงมีการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคที่สูงกว่าไก่เนื้อ อีกทั้งยังมีความคงทน (Persistency) ของระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อที่ยาวนานกว่าไก่เนื้อ โดยมีระยะเวลาในการคุมโรคยาวนานจนสิ้นสุดระยะเวลาการทดลอง (7 สัปดาห์) นอกจากนี้เมื่อสังเกตไก่ทั้ง 2 สายพันธุ์ ในกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีน แต่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันจากเชื้อที่แพร่กระจายอยู่ในสิ่งแวดล้อมในโรงเรือน (เนื่องจากวัคซีนที่ใช้เป็นวัคซีนเชื้อเป็น) ก็พบว่าการสร้างภูมิคุ้มกันเพื่อตอบสนองต่อการติดเชื้อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงมีระดับของ Ab titer สูงกว่าไก่เนื้อ อีกทั้งยังมีความคงทน (Persistency) ของระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อที่ยาวนานกว่าไก่เนื้อ และมีระยะเวลาในการคุมโรคยาวนานจนสิ้นสุดระยะเวลาการทดลอง (7 สัปดาห์) โดยสามารถคุ้มโรคได้ถึง 100% จนกระทั่งสิ้นสุดระยะเวลาการทดลอง แต่ในไก่เนื้อมีระยะเวลาในการคุมโรคประมาณ 2 สัปดาห์ โดยหลังจาก 2 สัปดาห์ระดับของภูมิคุ้มกันลดลง

การศึกษาค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะการสร้างภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ที่อายุ 51 วัน ตามโปรแกรมวัคซีนป้องกันโรคในไก่พื้นเมือง ในศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป BLUPF90-Chicken PAK (2006) ซึ่งค่าอัตราพันธุกรรมที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้มีค่าอัตราพันธุกรรม (± SE) เท่ากับ 0.032 (±0.024) โดยมีส่วนของอิทธิพลของพันธุกรรมแบบบวกสะสม (additive gene effect) มีส่วนเกี่ยวข้องกับลักษณะการตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อประมาณ 3.2% ส่วนอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมรวมถึงพันธุกรรมแบบ dominant และ epistatic นั้นมีถึง 96.8% ซึ่งค่าอัตราพันธุกรรมมีค่าเท่ากับ 0 หรือใกล้เคียง 0 หมายความว่าลักษณะนั้นขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อมทั้งสิ้นหรือเป็นส่วนใหญ่ (จรัส สว่างทัพ, 2548) ดังนั้นการเน้นการจัดการทางด้านสภาพแวดล้อมใน

ด้านต่างๆ จะส่งผลต่อลักษณะการสร้างภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ดียิ่งขึ้น และนอกจากนี้เนื่องจาก BLUP สามารถประมาณค่าของอิทธิพลเนื่องจากปัจจัยคงที่ เช่น ฝูง ปีเกิด ฤดูกาล เพศ อายุแม่ เป็นต้น พร้อมกับการประมาณค่าอิทธิพลเนื่องจากปัจจัยสุ่ม เช่น ค่าพันธุกรรม ค่าสภาพแวดล้อมถาวร เป็นต้น ทำให้ค่าพันธุกรรมจากสัตว์ที่ประเมินมีการปรับด้วยอิทธิพลเหล่านั้นสามารถใช้เปรียบเทียบต่างฝูงหรือปีเกิดต่างกันได้ ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในงานประเมินพันธุกรรมสัตว์ที่ต้องมีการเปรียบเทียบพันธุกรรมจากหลายฝูง (มนต์ชัย ดวงจินดา, 2548) ดังนั้นค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะการสร้างภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ที่อายุ 51 วัน ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถที่จะใช้เปรียบเทียบกับฝูงอื่น ๆ ได้ เพื่อเป็นประโยชน์ในงานประเมินพันธุกรรมสัตว์ที่ต้องมีการเปรียบเทียบพันธุกรรมจากหลายฝูงต่อไป

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 เนื่องจากสถานที่ที่ใช้ทำการทดลองเป็นโรงเรือนระบบปิด และวัคซีนที่ใช้ทำการทดลองเป็นวัคซีนเชื้อเป็น จึงเกิดการแพร่กระจายของเชื้อสู่สิ่งแวดล้อม ส่งผลให้ไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนสามารถได้รับเชื้อจากสิ่งแวดล้อมและมีภูมิคุ้มกันเกิดขึ้นได้ ดังนั้นจึงควรทำการแยกไก่กลุ่มที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีนเลี้ยงคนละโรงเรือนเพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อ

5.2.2 จากการศึกษาพบว่าระดับของ maternal antibody ต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่เนื้อยังคงสูงในระดับที่สามารถป้องกันโรคได้ในวันที่มีการให้วัคซีนป้องกันโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อตามโปรแกรมวัคซีนป้องกันโรคในไก่พื้นเมือง ในศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี ซึ่งอาจส่งผลต่อการลบล้างฤทธิ์ของวัคซีน ดังนั้นในไก่เนื้อจึงควรมีการพิจารณาโปรแกรมวัคซีน โดยควรให้วัคซีนในช่วงที่ระดับของ maternal antibody ลดลง

5.2.3 เนื่องจากการทดลองเป็นการกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยวัคซีน ซึ่งผลที่ได้จึงเป็นผลของความสามารถในการตอบสนองต่อวัคซีน ดังนั้นถ้าต้องการทราบความสามารถในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อที่แท้จริง ควรมีการใส่เชื้อ (inoculate) ไวรัสต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อหลังจากที่ได้รับวัคซีนด้วย

5.2.4 เนื่องจากการทดลองนี้เป็นการตรวจวัดปริมาณภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำต่อโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อโดยเป็นโรคที่มีสาเหตุการเกิดจากเชื้อไวรัส ซึ่งความสามารถในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อมีส่วนเกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันทางด้านเซลล์ (Kim, You, Kim, Yeh, and Sharma, 2000; Sharma, Kim, Rautenschlein, and Yeh, 2000; Yeh, Rautenschlein, and Sharma,

2002) แต่เนื่องจากการศึกษาในครั้งนี้มีข้อจำกัดทางด้านงบประมาณ จึงควรมีการศึกษาปริมาณภูมิคุ้มกันทางด้านเซลล์ (cell mediated immune response: CMIR) เพิ่มเติมต่อไป

5.2.5 เนื่องจากในการทดลองโปรแกรมวัคซีนที่ใช้ในไก่แดงและไก่เนื้อเป็นโปรแกรมวัคซีนที่มีการใช้จริงในปัจจุบันตามโปรแกรมของกรมปศุสัตว์และบริษัทเอกชนตามคำแนะนำของสำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย เพื่อให้ทราบถึงการต้านทานโรคในสภาวะจริงที่มีการเลี้ยงในปัจจุบัน อย่างไรก็ตามเพื่อให้ได้ผลที่สามารถเปรียบเทียบกันได้อย่างแท้จริงควรจะมีการทำการทดลองโดยใช้โปรแกรมวัคซีนที่เหมือนกันในไก่ทั้งสองกลุ่มทั้งโปรแกรมวัคซีนในไก่เล็กและไก่พ่อ-แม่พันธุ์

5.3 รายการอ้างอิง

จรัส สว่างทัพ. (2548). **เทคนิคการปรับปรุงพันธุ์สัตว์.** บุรีรัมย์: มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์.

มนต์ชัย ดวงจินดา. (2548). **การประเมินพันธุกรรมสัตว์.** ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Kim, I. J., You, S. K., Kim, H., Yeh, H. Y., and Sharma, J. M. (2000). Characteristics of bursal T lymphocytes induced by infectious bursal disease virus. **The Journal of Virology.** 74: 8884–8892.

Sharma, J. M., Kim, I. J., Rautenschlein, S., and Yeh, H. Y. (2000). Infectious bursal disease virus of chickens: pathogenesis and immunosuppression. **Developmental and Comparative Immunology.** 24: 223–235.

Yeh, H. Y., Rautenschlein, S., and Sharma, J. M. (2002). Protective immunity against infectious bursal disease virus in chickens in the absence of virus-specific antibodies. **Veterinary Immunology and Immunopatholgy.** 89: 149–158.

ภาคผนวก ก

ข้อมูลพันธุ์ประวัติ (pedigree)

ตารางที่ ก.1 ข้อมูลพันธุ์ประวัติ (pedigree) และค่า antibody titer ที่อายุ 51 วันของไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดงที่ใช้ในการคำนวณหาค่าอัตราพันธุกรรม (บทที่ 4)

Sire Animal ID	Dam animal ID	Animal ID	Ab titer
4010287	5021699	143	8760.66
4010287	5021699	144	8952.11
4010287	5021699	146	5297.27
4010287	5021699	680	11394.19
4010287	5021699	145	14599.44
4010287	5010327	147	3536.89
4010287	5010327	148	11433.07
4010287	5010327	149	6931.56
4010287	5010327	150	10525.46
4010287	5010327	151	15922.59
4010287	5021443	152	7652.87
4010287	5010386	681	12717.85
4095852	5021611	153	7527.03
4095852	5010016	159	7150.55
4095852	5010016	158	19769.39
4095852	5010422	155	14304.82
4044024	5021713	162	14789.14
4044024	5021713	163	5172.70
4044024	5021713	164	6869.39
4044024	5021713	166	10654.82
4044024	5021713	167	4054.40
4044024	5021713	169	10041.44
4044024	5021713	165	12357.00
4044024	5021713	168	7792.49
4044024	5010805	160	12939.24
4031537	5020836	172	10267.15
4020608	5010172	176	9111.56
4020608	5010708	178	9815.61

ตารางที่ ก.1 (ต่อ)

Sire Animal ID	Dam animal ID	Animal ID	Ab titer
4020608	5010741	179	6131.69
4020608	5010741	732	12388.53
4020924	5020982	180	15462.40
4020924	5020982	181	13736.83
4020924	5020982	184	11218.26
4020924	5020982	182	11922.21
4020924	5020982	183	16059.75
4020924	5020982	734	3185.10
4020924	5020982	185	10691.87
4020924	5021670	198	6028.64
4020924	5021670	199	10586.63
4020981	5010809	187	18514.79
4020981	5010809	189	13415.24
4020981	5010809	188	10726.79
4020981	5010761	190	16185.89
4020981	5010761	192	3571.86
4020981	5010761	194	16076.97
4020981	5010761	193	3102.76
4020981	5010517	195	14561.41
4020981	5010344	320	6095.79
4020981	5021159	186	2545.90
4020981	5021159	722	9229.30
4020981	5021159	723	7064.86
4041898	5010696	324	3966.86
4041898	5010696	470	13815.82
4041898	5010696	327	18364.77
4041898	5010559	333	9673.28
4041898	5010559	335	11152.49
4041898	5021634	472	10387.13
4041898	5021634	471	9888.70

ตารางที่ ก.1 (ต่อ)

Sire Animal ID	Dam animal ID	Animal ID	Ab titer
4041898	5010108	474	5585.32
4041898	5010108	475	6543.77
4064684	5020900	245	16076.97
4064684	5020900	583	10864.95
4064684	5020900	246	11941.18
4064684	5021114	485	15386.00
4064684	5021114	435	6329.99
4064684	5021025	476	19769.39
4031287	5021304	259	17566.38
4031287	5021215	580	11729.38
4031287	5021505	600	7436.28
4031287	5021505	602	8126.42
4031287	5021505	603	6638.22
4075269	5010804	286	6296.56
4075269	5010804	604	12502.76
4075269	5010457	605	12100.09
4075269	5010457	287	8367.22
4075269	5010457	288	9341.86
4075269	5021211	574	4152.07
4044066	5021188	299	6496.32
4044066	5010281	606	15681.82
4041666	5010508	610	11429.29
4041666	5010004	265	3603.86
4041666	5021321	270	18264.81
4010003	5021325	281	5494.76
4010003	5021325	611	9200.12
4010003	5010085	284	18996.44
4010003	5010272	274	4462.56
4010003	5010272	276	22297.51
4010003	5010272	278	13279.57

ตารางที่ ก.1 (ต่อ)

Sire Animal ID	Dam animal ID	Animal ID	Ab titer
4010003	5010533	715	9011.41
4041674	5021194	233	7608.47
4041674	5021194	231	7004.15
4041674	5021654	721	10912.83
4041674	5021274	234	7896.16
4041674	5021274	237	5721.90
4041674	5010138	238	3406.14
4041674	5021013	243	13620.62
4041674	5021013	242	7189.01
4041720	5010511	434	4418.10
4041720	5021054	203	4216.35
4095828	5010191	209	13279.57
4095828	5010176	212	11152.49
4095828	5010176	214	17267.74
4095828	5021425	219	17566.38
4041741	5021158	221	13085.00
4041741	5021357	464	9768.14
4041741	5021650	465	20373.69
4041741	5021059	466	13767.00
4041741	5021059	467	16274.85
4041741	5021236	469	8964.28
4041741	5021236	313	11500.06
4041741	5021236	315	11681.22
4041741	5021236	316	1222.62
4041741	5021236	468	11200.47
4096014	5021558	78	11056.57
4096014	5021558	633	7370.10
4096014	5021558	80	16040.86
4096014	5021449	84	12674.81
4096014	5021449	85	13431.66
4096014	5021467	86	10331.41

ตารางที่ ก.1 (ต่อ)

Sire Animal ID	Dam animal ID	Animal ID	Ab titer
4096014	5010335	641	4777.36
4096014	5010335	81	11817.64
4096014	5010335	82	7684.23
4096014	5010335	83	3344.36
4096014	5010335	637	7119.38
4096014	5010335	639	5316.54
4096014	5010335	640	7551.04
4020853	5020902	88	7150.55
4020853	5020902	89	6775.70
4020853	5010811	91	8157.93
4020853	5010811	93	6994.29
4020853	5010811	92	11205.86
4020853	5010811	94	14589.52
4020853	5010645	612	8824.61
4020853	5010645	96	7896.16
4020853	5010623	98	5939.04
4020853	5010623	618	11270.59
4020853	5010623	99	11288.39
4020853	5021589	614	7244.65
4020853	5021589	616	7546.86
4010235	5021498	103	8470.44
4010235	5021498	104	8856.34
4010235	5021219	106	10009.38
4010235	5021219	105	10510.44
4010235	5021219	107	6620.14
4010235	5010166	620	11466.02
4010235	5010166	621	5761.70
4010235	5010166	622	5427.68
4010235	5010166	623	9853.48
4010235	5010166	625	10972.03

ตารางที่ ก.1 (ต่อ)

Sire Animal ID	Dam animal ID	Animal ID	Ab titer
4010235	5021142	100	9645.05
4010235	5021142	626	7527.03
4010235	5021142	627	17641.38
4010235	5021238	102	17203.49
4010235	5021238	629	8570.08
4010235	5021238	630	14346.09
4010235	5010246	631	7546.86
4010235	5010246	632	10271.97
4031575	5021508	109	11762.40
4031575	5021508	108	10875.17
4031575	5021508	111	15655.21
4010363	5010553	112	8443.05
4010363	5010553	115	12839.41
4010363	5010553	113	5417.01
4010363	5010553	116	4410.96
4010363	5010553	117	9160.34
4010363	5010553	118	8898.66
4010363	5020936	119	9335.49
4010363	5010266	124	9720.17
4010363	5010266	125	7715.60
4010363	5010266	122	7558.34
4010363	5010266	123	6067.08
4010363	5010266	739	9095.12
4010533	5020959	131	13047.32
4010533	5020959	133	5203.06
4010533	5010573	126	8792.90
4106143	5021311	700	10912.83
4106266	5021383	135	12060.48
4106266	5021383	136	5386.04
4106266	5021383	137	7589.67

ตารางที่ ก.1 (ต่อ)

Sire Animal ID	Dam animal ID	Animal ID	Ab titer
4106266	5010258	141	4055.73
4106266	5010258	142	12648.12
4106266	5010040	140	3285.60
4106266	5010393	362	10960.73
4106266	5010393	651	10960.73
4106266	5010430	652	10446.63
4106266	5010430	653	16149.76
4106266	5021383	139	10937.05
4106266	5010430	654	16694.05
4010219	5010794	340	17666.02
4010219	5010794	643	15932.58
4010219	5010551	660	6868.87
4010219	5010369	656	8608.06
4010219	5010369	658	9540.70
4010219	5010369	659	5795.39
4010219	5010369	366	12793.61
4010219	5010369	367	13474.36
4010219	5010369	657	13648.57
4010219	5010588	370	17367.24
4010219	5010588	372	9910.58
4106323	5020886	342	11008.64
4106323	5021596	644	8589.07
4106323	5021747	645	9784.14
4106323	5021747	646	4048.50
4010109	5010137	647	14312.52
4010109	5010137	650	7955.90
4010109	5010105	1	11693.66
4010109	5010105	2	12679.71
4010109	5010105	3	6734.85
4010109	5010583	350	19517.48

ตารางที่ ก.1 (ต่อ)

Sire Animal ID	Dam animal ID	Animal ID	Ab titer
4010109	5010583	352	16919.32
4010109	5010583	354	15780.53
4031319	5010706	7	9079.75
4031319	5010706	6	11074.35
4031319	5010235	528	8850.52
4031319	5010235	5	7715.60
4031319	5010235	530	5288.66
4106275	5010210	8	9623.75
4106275	5010210	10	12478.28
4106275	5021177	706	10902.61
4085645	5010265	11	7181.73
4085645	5010265	12	3609.75
4085645	5010265	13	4929.34
4085645	5010241	16	8182.63
4085645	5010241	15	11693.66
4085645	5010269	18	6154.78
4085645	5010269	19	8062.90
4085645	5010705	449	5861.81
4085645	5010705	21	7568.26
4085645	5010705	20	9335.49
4085645	5010641	17	7343.02
4085645	5010641	514	10312.67
4085642	5010312	519	5960.02
4085642	5010312	22	4596.21
4085642	5010527	23	9912.72
4085642	5010527	24	11628.74
4085642	5010283	29	5172.70
4085642	5010357	25	8182.63
4085642	5010357	28	9554.01
4085642	5010357	26	3668.97

ตารางที่ ก.1 (ต่อ)

Sire Animal ID	Dam animal ID	Animal ID	Ab titer
4085642	5010357	491	10832.15
4085642	5010357	492	9749.49
4085642	5010599	497	10342.13
4085642	5010599	30	7181.73
4085642	5010599	498	10761.72
4085642	5010599	499	8298.81
4085642	5010208	458	4738.17
4085642	5010208	426	4864.37
4085642	5010208	459	7979.50
4106352	5021345	31	9751.08
4106352	5010469	436	3475.94
4041897	5021463	36	10041.44
4041897	5021463	35	6862.14
4041897	5021463	37	5233.44
4041897	5021011	38	9335.49
4041897	5021618	42	11922.21
4041897	5021618	43	13497.36
4041897	5021618	44	11824.14
4041897	5021618	41	9389.68
4041897	5021063	508	10371.59
4031571	5010185	413	13236.92
4031571	5010185	415	22043.07
4031571	5010185	416	11970.45
4031571	5010185	414	6868.87
4031571	5010798	417	14202.51
4031571	5010798	418	7990.51
4031571	5010798	420	5330.74
4031571	5010798	421	7717.17
4031571	5010410	510	11971.00
4031571	5010410	46	12781.07

ตารางที่ ก.1 (ต่อ)

Sire Animal ID	Dam animal ID	Animal ID	Ab titer
4031571	5021536	676	12773.98
4031571	5021536	47	10783.76
4031571	5021536	48	11041.49
4031571	5021536	384	9531.13
4095988	5021306	423	12348.30
4095988	5021306	422	10339.45
4095988	5021306	454	9853.48
4095988	5021306	424	9194.28
4095988	5020995	428	3094.61
4095988	5020995	460	6565.43
4095988	5020995	461	2685.87
4095988	5020995	462	8195.76
4095988	5010251	678	15968.67
4095988	5010251	389	14992.29
4095988	5010251	390	8494.16
4020805	5010304	443	3284.82
4020805	5010304	408	3063.01
4020805	5021328	410	13273.00
4020805	5021556	440	3796.42
4020805	5021556	407	9436.45
4020805	5021556	441	7751.16
4020805	5021556	442	5695.37
4020805	5021785	445	1345.12
4020805	5021785	409	4607.23
4020805	5021785	446	6733.81
4095776	5010772	668	6028.64
4095776	5010402	374	10100.77
4095776	5020916	376	7745.93
4095776	5021695	671	11851.76
4020778	5021182	672	3603.86

ตารางที่ ก.1 (ต่อ)

Sire Animal ID	Dam animal ID	Animal ID	Ab titer
4020778	5021182	673	7343.02
4020778	5021161	675	8538.97
4020778	5010207	380	7513.46
4020778	5010207	381	4730.13
4075326	5021595	61	10344.80
4075326	5021595	62	6734.85
4075326	5021595	63	6830.55
4075326	5021595	64	7086.66
4075326	5021595	65	7794.59
4075326	5021020	66	6766.39
4075326	5021000	67	6744.67
4075326	5021000	69	8983.87
4020701	5020941	73	17601.64
4020701	5020941	74	11238.22
4020701	5020941	75	11595.75
4020701	5020941	76	8792.90
4020701	5021470	490	16948.89
4020701	5010094	50	17211.87
4020701	5021089	479	6195.85
4020701	5021089	478	15978.11
4020887	5021647	480	13023.30
4020887	5021374	482	10754.74
4020887	5021374	53	3950.73
4031324	5020935	56	6495.81
4031324	5021684	57	10105.58
4031324	5021684	486	6699.69
4031324	5021172	58	19953.69
4020758	5020857	400	9436.45
4020758	5020857	401	14234.58
4020758	5020857	402	15435.27

ตารางที่ ก.1 (ต่อ)

Sire Animal ID	Dam animal ID	Animal ID	Ab titer
4020758	5010801	554	9930.87
4095892	5010127	555	8097.54
4095892	5010127	560	8647.12
4095892	5010127	561	4817.08
4095892	5010127	563	7093.41
4095892	5010643	567	11584.39
4095892	5010643	568	11080.28
4095892	5010643	570	8937.82
4020608	5010741	733	10077.25

ประวัติผู้เขียน

นางสาวกีรณา อยู่หัตถ์ เกิดเมื่อวันที่ 9 มิถุนายน พ.ศ. 2526 ที่จังหวัดนครราชสีมา บิดาชื่อ นายสุเจตน์ อยู่หัตถ์ มารดาชื่อ นางบุญประกอบ อยู่หัตถ์ เริ่มการศึกษาระดับประถมศึกษาที่โรงเรียนบ้านวังม่วง กิ่งอำเภอวังม่วง จังหวัดสระบุรี ศึกษาระดับมัธยมศึกษาที่โรงเรียนบุญวัฒนา อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา เมื่อปี พ.ศ. 2548 จากนั้นศึกษาต่อระดับปริญญาโท สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา ปีการศึกษา 2548 ถึงปัจจุบัน โดยขณะศึกษาได้รับทุนผู้ช่วยสอน (teacher assistance) ปฏิบัติการสรีรวิทยาและกายวิภาคสัตว์ 1 และ 2 และได้รับทุนผู้ช่วยวิจัย (research assistance) สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ และได้รับทุนสนับสนุนการศึกษาระดับปริญญาโทชื่อ “ทุนเรียนดี” ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ตั้งแต่ ปี 2548-2550 และได้รับทุนสนับสนุนการทำวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ภายใต้ชุดโครงการ “การสนับสนุนการวิจัยและพัฒนานักวิจัยด้านการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ปีก”ในหัวข้อโครงการเรื่อง “การศึกษาความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันและค่าอัตราพันธุกรรมในการต้านทานโรคต่อมเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์แดง” นอกจากนี้ระหว่างการศึกษาได้มีโอกาส เข้าร่วมการประชุมและนำเสนอผลงาน The 13th Animal Science Congress of the Asian – Australasian Association of Animal Production Societies (AAAP) held from 22 – 26 September, 2008 at Hanoi – Vietnam โดยได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี